

## 한국산 왜우렁이 집단의 지역적 Allozyme 변이에 관한 연구(I)

鄭坪林·張在景·安泳謙\*

(연세대학교 의과대학 기생충학교실·연세대학교 원주의과대학 기생충학교실\*)

### Allozyme Variations in Local Populations of *Parafossarulus manchouricus* (Gastropoda: Prosobranchia) in Korea

Chung, Pyung-Rim, Jae-Kyung Chang and Yung-Kyum Ahn\*

(Dept. of Parasitology, College of Medicine, Yonsei University and  
Dept. of Parasitology, Wonju College of Medicine, Yonsei University\*)

#### ABSTRACT

The most medically important snail species of Korea is *Parafossarulus manchouricus*, a member of the freshwater prosobranch family Bithyniidae. The human parasite that this snail transmits is *Clonorchis sinensis*, the "Chinese liver fluke". On the other hand, this snail has physiological characteristics that reduce the turbidity of freshwater by its filter feeding activity. However, a few basic studies have been carried out so far.

The present studies were attempted to know 1) the possibility of culturing the snails and 2) allozyme variations among 5 local populations of this bithyniid snails.

As the results of the studies, *P. manchouricus* was able to be cultivated in the laboratory and showed considerable allozyme variations especially in the Chongpyung and Paldang populations out of those collected from 5 localities in Korea. It is quite suggestive that the endemicity of clonorchiasis might be related to the allozyme variability.

#### 서 론

한국에 분포되어 있는 담수산 연체동물류(molluscs)는 권패류(snail) 29종, 이매패류(bivalve) 20종으로서 도합 49종이 서식하고 있는 것으로 알려져 있다. 이들중 권패류에 속하는 왜우렁이(*Parafossarulus manchouricus*)는 우리나라 5대강유역에 분포 서식하고 있으면서 인체 기생흡충류의 일종인 간흡충(*Clonorchis sinensis*)의 제 1 중간숙주의 역할을 하고 있어 그 관리대책이 시급히 요망되는 Bithyniidae과(科)의 일종이다. 간흡충증(clonorchiasis)에 대한 관리문제가 우리나라에서도 공중보건학적 의의를 가지고 있음에도 패류자체에 대한 기초연구가 희소하므로 관리대책 수립에 어려움이 있다(Chung, 1983). 특히 왜우렁이는 우리

---

본 논문은 1984년도 한국과학재단 연구비로 수행되었음.

나라를 포함한 극동지역 즉 중국대륙, 일본, 대만등지에 분포되어 있어 간흡충증단연과 깊은 관계를 갖이고 있으며 각 지역의 환경조건에 따라 집단유전학적 차이를 보일 것이 분명하다. 우리나라의 경우에도 제주도과 강원도에는 왜우렁이가 서식하고 있지 않아 동물지리학적 특이성이 있음이 시사되고 있으며(Kang *et al.*, 1964; Chung, 1983) 실제 이 지역에서는 간흡충의 생활환이 연결될 수가 없다.

반면 왜우렁이는 그들의 아가미로 여과된 미세 부유물을 점액질로 뭉쳐 섭취하는 특이한 여과섭식(filter feeding)기능을 가진 유개종(有蓋種)으로서 담수 탁도(濁度)를 줄여 수질오염방지에 중요한 몫을 차지하고 있는 패류이기도 하다(Meier-Brook and Kim, 1977). 그러나 실제 여러 채수지역으로부터의 시료를 대상으로 왜우렁이에 의한 탁도 감소 실험을 한 바도 없으며, 한국산 왜우렁이의 형태관찰(Chun, 1964)과 경상북도 금호강 연변에 서식하는 왜우렁이의 계절적 소장등에 관한 연구논문이 발표되었을 뿐이다(Chung *et al.*, 1980).

효소 단백질은 유전학적으로 관리되는 프로그램에 의하여 구성되고 역시 구성 아미노산의 하전에 따라 전기영동상에서 분획이 분리된다. 어떤 효소가 쌍을 이루는 한 유전자 좌(locus)의 변이에 의하여 다른 분획을 나타낸다면 이는 로키스를 구성하고 있는 상대 대립유전자(alleles)의 유전적 변이에 의한 결과라 할 수 있다. 어떤 효소가 앨릴의 변이에 의하여 특이한 주행양상(banding pattern)을 나타낼 때 이를 allozyme이라 하는 바 이 분획상으로 한 종의 생물체간에 생태학적, 유전학적 차이를 양적으로 구명할 수 있다.

연체동물로서는 육산패류의 혈장 단백질을 연구하기 위하여 Deutch와 McShan(1949)에 의하여 처음으로 전기영동이 시도된 이래, 패류분류 및 집단유전학적 연구를 위하여 효소변이에 대한 연구가 많이 시도되어 왔다(Wright and Ross, 1963, 1965, 1966; Davis, 1967; Davis and Lindsay, 1967; Burch and Lindsay, 1968; Wu and Burch, 1975; Wuzinger, 1979; Kitikoon, 1982; Chung and Burch, 1983). Burch와 Lindsay(1968)는 *Bulinus* 속 담수패의 이배체종(diploid species)과 다배체종(polyploid species)에서 esterase 효소의 특이한 분획상을 실험하였고, Kitikoon(1982)은 메콩주혈흡충(*Schistosoma mekongi*)의 중간숙주인 *Tricula aperta*의 세계의 변이종에서 isozyme patterns의 차이를 보았으며 특히 메콩주혈흡충에 대한 *Tricula aperta*의 감염민도는 glutamate-oxaloacetate transaminase(GOT)의 전기영동 주행양상과 상관함을 본 바 있다.

Chung과 Burch(1983)도 한국, 일본, 대만 등지에서 채집한 왜우렁이에서 유독 청평지역에서 채집된 집단만이 GOT slow band가 dimeric하게 나옴을 본 바 있으나 우리나라 전국을 대상으로 총괄적인 효소 단백질의 분획상을 비교 검토한 바는 없다. 특히 왜우렁이의 유전학적 heterozygosity와 간흡충 감염에 대한 민감도의 관련성을 비교한다는 것은 흥미 있는 일이다. 청평지역에서 채집된 왜우렁이에서 유독 나타나는 GOT의 polymorphism과 heterozygosity는 무엇을 의미하는가? 이들은 간흡충 감염민도를 알릴 수 있는 indicator가 될 수 있는가? 김(1974)은 청평지역을 위시한 경기도 지역을 간흡충 감염의 비농후지역(low endemic area)으로 보고한 바 있고, 강원도는 왜우렁이가 분포되어 있지 않는 지역으로서, 청평은 경기도와 강원도의 경계지역에 속한다. 한 종의 생물개체군내의 gene pool은 개체군의 연령, 그 크기, 지리적 여건, 환경조건의 안정성 및 먹이의 안정성에 따라 변한다(Valentine, 1976). 그렇다면 어떤 여건이 변이를 보이게 하는지가 반드시 구명되어야 한 생물의 생태를 파악할 수 있을 것이다. 효소변이를 양적으로 조사함으로써 우리나라 왜우렁이 개체군간에 유전학적 기초조사를 한다는 것은 필수적인 것이다.

본 연구는 우리나라 각지역에 분포되어 있는 왜우렁이를 채집, 지역별로 분류하여 우선

실험실내 배양이 가능한지를 관찰하고, 효소 단백질의 분획상을 비교하여 유전학적 변이도 (average heterozygosity;  $\bar{H}_L$ )를 양적으로 처리하므로써 앞으로의 패류생태학 연구의 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

왜우렁이의 채집

왜우렁이 (*Parafossarulus manchouricus*)의 채집은 1983년 9월부터 1984년 7월까지 전국 5개 지역으로부터 수시로 행하여졌으며 사육실험에 사용한 집단은 1983년도에 채집되어 산란에서 성패(成貝)가 되는 과정을 관찰되었고, 간흡충 감염면도 실험은 사육이 가능했던 집단으로만 행하였다. 채집지역과 내역은 Table 1에 표시된 바와 같다.

Table 1. Snail populations of *Parafossarulus manchouricus* collected from various localities

Population	Locality collected	Date collected	Habitat
1. Chongpyung strain	Chongpyung/Kyung-Ki-Do	Sep. 1983	Fish farm
2. Kunsan strain	Kunsan/Chun-Buk	Sep. 1983	Ditch
3. Chinju strain	Chinju/Kyung-Nam	Oct. 1983	Lake
4. Paldang strain	Paldang/Kyung-Ki-Do	Jul. 1984	River
5. Kimhae strain	Kimhae/Kyung-Nam	May 1984	Ditch

왜우렁이의 사육

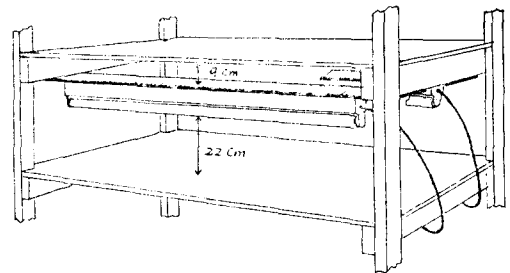
왜우렁이의 사육은 Chung(1983)의 방법에 따라 시행되었다.

배양용기 세로 20 cm, 가로 25 cm, 높이 35 cm의 유리수조에 5% sodium thiosulfate로 처리한 수도수 7l를 담아 왜우렁이의 기본 배양기로 사용하였다. 성패가 산란한 egg mass나 알에서 새로이 깨어나온 유패(幼貝)는 유리주발(glass finger bowls)이나 플라스틱 트레이(green plastic trays; 7.5×20×30 cm)에서 사육되었으며 각 트레이에는 1,500 ml의 처리된 수도수를 담아 사용하였다.

사육조건 수도수는 사용하기전 잔유염소를 제거할 목적으로 5% sodium thiosulfate 용액을 1,000 ml당 1~2방울 적하하여 일주일간 기포발생기를 넣어두었다(aeration). 처리된 수도수의 최후 pH는 6.5~7.0이었다.

광선은 모든 사육수조를 15 Watt 백열등이 달린 선반(Fig. 1)에 놓고 1일 12시간 광선을 조사하였으며 12시간은 꺼두었다.

사육수도수내의 산소분압을 높이기 위하여 항상 기포발생장치(aerator)를 달아두었다. 조그만 플라스틱 통안에는 솟가루와 석회석을 넣고 위에는 슝을 덮어 이들의 유출을 막았으며 그 끝은 air compressor로 연결되게 하여 기포를 발생토록 하였다.



사육실은 냉온방식설이 되어 있는 곳이 Fig. 1. Shelving unit for culturing bithyniid snails. 어서 사육수조의 연중 평균수온은 25°C 내지 27°C가 되도록 하였다.

채집현지에서 자연 periphyton이 밀생되어 있는 작은 돌을 수집하여 사육수조에 넣었던 바 유패사육에 필수적임을 알았다. Periphyton에는 *Navicula* spp.와 *Gomphonema* spp. 등의 benthic diatoms가 주로 밀생해 있었으며, 이들은 발육단계에 있는 유패에 좋은 먹이가 됨을 관찰하였다.

일면 성패사육 먹이로서는 Ceralife®와 Tetra SML®을 사용하였다. 먹이는 주 2회 적당량 투여하였으며 먹이의 초과분이 남아있을 경우는 먹이를 투여하지 않았다.

수조당 왜우렁이 개체수는 20마리씩으로 하였고, 각고(殼高)가 3~7 mm 되는 것들의 수는 50마리를 초과치 않도록 하였다.

### 효소 단백질의 전기영동

새로운 간흡충 침윤지로 알려진 경상남도 진주지역(배 등, 1983), 특이한 allozyme변이를 보였던 왜우렁이의 서식지인 경기도 청평(Chung and Burch, 1983), 경기도 팔당, 경상남도 김해 및 전라북도 군산지역 등의 5개지역으로부터 채집된 왜우렁이로부터 효소 단백질의 전기영동상 분석을 비교하였다.

본 실험에서의 전기영동은 Chung(1983)의 방법을 다소 수정한 horizontal starch gel electrophoresis로 행하여졌다.

왜우렁이의 조직참출액(lysate) 제조 각 왜우렁이의 패각을 깨고 패각내에 들어있는 모든 연체부위를 유리판 위에 놓고 scalpel로 저민 다음 이를 1 ml짜리 Sorvall® 원심침전 튜브에 200  $\mu$ l의 증류수와 함께 넣어 Bronwill Biosonic® III Sonicator로서 수초간 마쇄하였다. 모든 조작은 어름가루를 사용하여 냉동처리된 상태에서 행하였다. 마쇄된 조직액을 다시 30,000 g에서 30분간 냉동원침하고(4°C) 그상청액을 플라스틱 microcentrifuge 튜브에 50  $\mu$ l씩 분주하여 -70°C deep freezer에 보관하였다가 이들을 왜우렁이 효소단백의 조직참출액으로 사용하였다.

이때의 조직참출액의 단백질 함량은 357  $\mu$ g/ml이었으며 효소단백 분석에 적합함을 예비 실험을 통하여 알 수 있었다.

**Starch gel electrophoresis** Electrostarch(Lot #392)와 Connaught starch hydrolysed(Lot #168-1)를 각각 22.5 g 씩 달아 300 ml의 gel buffer와 함께 가지가 달린 1,000 ml짜리 삼각플라스크내에서 섞음으로서 15% starch용액을 만들었다. 이 용액을 개스버너상에서 흔들면서 끓게 될 때까지 열을 가하여(85°C) gel상의 용액을 만든 다음 약 1분간 로터리 펌프로 gel에 함유되어 있는 공기를 빼내었다. 이 starch gel을 즉시 0.63 cm 두께의 유리판 위에 놓인 플라스틱틀(14×14×1 cm)에 붓고, 뜨겁게 한 다른 유리판으로 덮어 실온에서 굳을 때까지 약 1시간 동안 방치하였다가 냉장고에 넣어(2~4°C) 하룻밤을 묵힌 다음날 전기영동시 gel로 사용하였다. 사용시에는 위에 덮힌 유리를 떼고 옆으로 흘러내린 gel들을 깨끗이 제거하였다.

왜우렁이 조직참출액은 9×5 mm 크기로 자른 여과지(Whatman 3 MM)에 빨려 들도록하여 starch gel의 한쪽부터(음극쪽) 3 cm 떨어진 곳에 틈을 만들어 수직으로 심었다. 한 판의 gel에는 보통 18내지 20개의 시료를 삽입할 수 있었으며 시료를 심은 gel판은 수평으로 하여 백금 전극이 설치된 두개의 완충액 탱크 사이에 놓고 3내지 4장의 여과지를 gel판의 크기로 잘라(약 14 cm) 양쪽 완충액 탱크와 gel 사이를 연결토록 조작하였다. Gel의 상면은 습기를 보존하기 위하여 얇은 플라스틱막(Handiwrap®)으로 덮었다. 이상의 장치들은 4~5°C의 냉동실(Mini-Cold Lab., LKB, Sweden)에서 조작되어 곧 전원(Power supply; Hea-

thkit model PS-4, IP-32)에 연결되었다.

일정한 시간 전기영동이 끝난 다음, starch gel은 gel slicer를 사용하여 2 mm 두께로 잘라 내어 모두 5장의 gel slices를 만들고 각 slice는 효소활성을 보기 위한 염색 박스에 넣었다. 효소활성 반응은 37°C 항온기내에서 일어나도록 하였으며 각 효소의 발색반응은 약 20분 전후하여 완전히 나타났다. 발색된 각각의 gel slice는 10% acid alcohol 고정액(5 parts of 95% ethanol, 4 parts of water, 1 part of glacial acetic acid)에 10분 동안 고정된 다음 다시 수도수에 씻어서 축축히 적신 플라스틱 주머니에 넣어 4°C 냉장고에 보관하면서 효소분획상을 분석하였다.

전기영동에 사용한 **buffer systems** 본 연구에서 사용한 완충액은 Poulik(1957)의 불연속성 buffer system과 Spencer *et al.* (1964)의 연속성 buffer system을 적용하였다.

Poulik의 buffer system에서는 gel buffer로 76 mM Tris와 5 mM citric acid가 함유되도록 한 것이며, 전극 탱크완충액(electrode buffer)으로 0.3 M boric acid와 60 mM NaOH가 함유되도록 한 것이다.

Spencer의 buffer system은 탱크완충액으로 0.1 M Tris, 0.1 M maleic acid, 10 mM EDTA, 10 mM MgCl<sub>2</sub>를 사용하였고, 용액을 만든 다음 1N NaOH로 pH는 7.4로 조정하였다. Gel buffer는 탱크완충액의 10배 희석액으로 하였다.

전기영동은 지시액으로 사용한 bromphenol blue dye(0.1% 증류수용액)가 시발점으로부터 9 cm 이동하였을 때 끝냈으며 Poulik의 buffer system에서는 25 mA/gel에서 6시간이 소요되었고, Spencer의 buffer system에서는 30 mA/gel에서 약 18시간이 소요되었다.

**효소 분석** 우리나라 5개 지역으로부터 채집된 왜우렁이의 지역적 개체군을 대상으로 총 11개의 효소가 분석된 바 각 효소의 기질 및 발색용액의 구성은 Wurzinger(1979) 및 Chung(1983)의 처방을 따랐다.

## 결 과

### 왜우렁이의 사육실험 성적

Bithyniidae과(科)에 속하는 권패류는 Kruatrachue *et al.* (1982)가 *Bithynia funiculata*와 *B. siamensis*를 인공합성먹이를 사용하여 사육한 바 있고, Chung(1983)이 *Parafossarulus manchouricus*, *Bithynia tentaculata* 및 *Gabbia misella*를 실험실내에서 사육한 바 있으나 그 사육이 거의 불가능한 것으로 알려져 왔다. 본 실험에서는 Chung(1983)의 방법을 토대로 전라북도 군산산 왜우렁이와 경기도 청평산 왜우렁이를 대상으로 왜우렁이 사육 실험을 시도하였던 바 성공적인 결과를 얻을 수 있었다.

1983년 9월 채집된 왜우렁이 암, 수 각 10마리씩을 준비된 사육 수조에 투입하고 사육하면서 이들의 산란현황을 조사한 바 그 성적은 Table 2와 같다.

군산주(株)인 경우 1983년 10월과 11월에 1~2개의 산발적인 난괴(卵塊)를 볼 수 있었으나 대부분 다음해 3월과 4월에 산란하였으며, 청평주는 사육초기에는 산란치 않다가 다음해 3월 산란을 시작하여 5월을 끝으로 모두 산란을 중단하였다. 이상의 관찰로 미루어 왜우렁이는 년 1회 즉 3~5월에 산란하는 권패류임을 알 수 있었다. 난괴는 2줄로 된 지그재그형 난자(卵子)들로 구성되어 있었으며 군산주인 경우 난괴당 난자의 수는 4~44개였고 난자로 부터 유패(幼貝)가 깨어 나오는데 까지는 실온에서 15~17일이 걸렸다.

실험실 사육에서 자연 사망율을 보기 위하여 수조당 20마리(암컷 10, 수컷 10마리)가 든

**Table 2.** Number of egg masses laid by the Chongpyung and Kunsan strains of *Parafossarulus manchouricus*

Year	Month	Number of Egg Masses	
		Chongpyung strain	Kunsan strain
1983	Sep.	—	—
	Oct.	—	1
	Nov.	—	2
	Dec.	—	—
1984	Jan.	—	—
	Feb.	—	—
	Mar.	3	5
	Apr.	13	17
	May	15	—
	Jun.	—	—
	Jul.	—	—
	Aug.	—	—

**Table 3.** Mortality of *Parafossarulus manchouricus* in conventional aquaria

Year	Month	Total No. of living snails	Cumulative percent mortality (%)
1983	Sep.	60	0
	Oct.	58	3.3
	Nov.	57	5.0
	Dec.	57	5.0
1984	Jan.	55	8.3
	Feb.	53	11.7
	Mar.	50	16.7
	Apr.	50	16.7
	May	45	25.0
	Jun.	45	25.0
	Jul.	44	26.7
	Aug.	42	30.0

세계의 수조를 따로이 설치하고 월별 사망율을 집계해 본 결과 군산산인 경우 일년간 총 60마리중 19마리가 죽어 30.0%의 사망율을 보였다(Table 3).

1983년 10월 군산산 왜우렁이군에서 얻은 1개의 난괴로부터 총 23마리의 유패가 깨어나와 두 개의 플라스틱 트레이에 나누어 기르면서 각폭(殼幅)과 각고(殼高)를 배양 108일까지는 3일에 한번씩, 그리고 192일까지는 주 일회 마이크로미터(micrometer)가 설치된 헤부현미경 하에서 측정하였다. 막 깨어나온 유패의 길이는 약 0.9 mm였으며 배양 156일에는 각고가 9.18 mm에 달하였고 이때 비로소 산란하기 시작하여 9개의 난괴를 얻을 수 있었다.

사육초기에는 유패의 성장속도가 매우 빨라 사육 54일째에는 거의 성패(成貝)의 크기로 자랐으며 그 이후 산란기까지는 마디게 성장하는 성장유형을 보였다(Fig. 2). 유패의 사망율은 현지에서 채집되어 온 모패(母貝)의 사망율보다 훨씬 낮아서 23마리의 사육 유패중 10개월간의 사육기간에 단 1마리만이 사망하였다(사망율 : 4.3%).

#### 효소 단백질의 전기영동

총 11가지의 효소가 2가지의 buffer systems로 전기영동되어 분석된 바 Poulik's buffer system(1957)이 보다 좋은 결과를 나타내었다. 효소분석의 결과는 Ayala 등 (1973)의 방법에 의하여 계산 처리되었다.

각 효소의 약호는 그 효소를 coding하는 유전자(genes 또는 loci)를 상징하는 것으로 간주하였으며 한 효소에 대하여 여러 곳의 반응 구획이 나타났을 때는 효소 약호에 숫자를 붙여 그 효소구획에 대한 loci로 표시하였다. 즉 양극 쪽으로 가장 멀리간 효소반응 구획을 1로, 그 다음을 2, 3, 4 등으로 하였다.

한 loci에 가장 빈번히 나타나는 반응 bands (common allele; electromorph)를 100으로 표시하여 각 locus를 나타내는 효소 약호위에 기입토록 하고 기타 bands는 표준 band인 100으로 부터 실제 mm수로 가감하여 표시하였다. 일면 음극 쪽으로 이동한 bands는 (-)로 표기하여 구별하였다. 한 band군(allele)의 빈도(frequency)는 다음 수식에 의하여 계산되었다.

$$\frac{2 H_o + H_e}{2N}$$

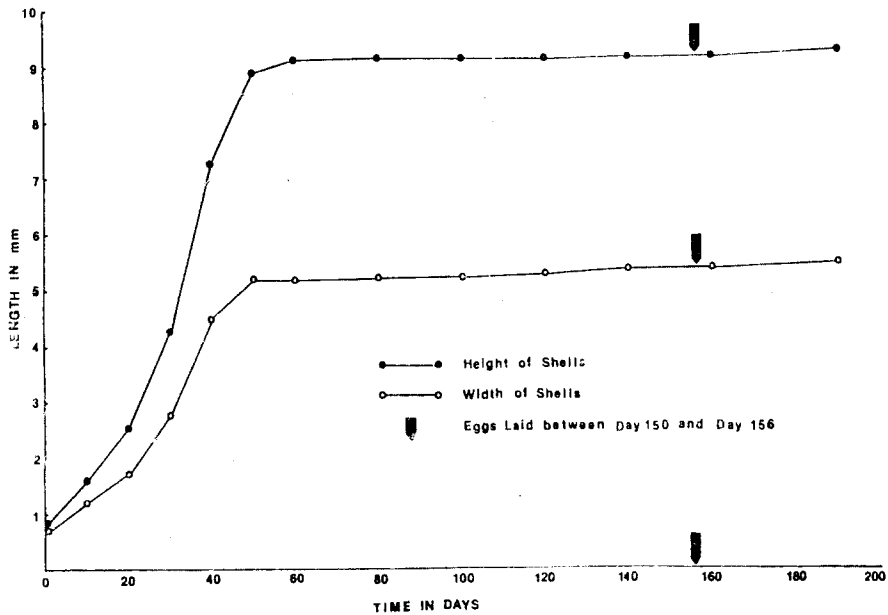


Fig. 2. Growth curves of the first generation (F<sub>1</sub>) of *Parafossarulus manchouricus* (Kunsan strain).

여기에서  $H_o$ 는 그 allele의 homozygotes를 나타내었고,  $H_e$ 는 그 allele의 heterozygotes를 나타내었으며  $N$ 은 전기영동된 총 개체수를 표시한 것이다.

각 locus의 유전자 변이도(heterozygosity) "h"치는

$$h=1-\sum x_i^2$$

로 계산 처리된 바  $x_i$ 는 그 locus의  $i$ 번째 allele의 빈도를 나타낸 것이다. 각 왜우렁이 군집의 평균 유전자 변이도( $\bar{H}_L$ )는 변이가 전연 없는 loci(monomorphic loci 이때  $h=0$ )를 포함한 전체 loci의  $h$ 치를 합하여 실험 확인된 전체 loci의 총수로 나눈 수치로 나타내었다(Ferguson, 1980). 또한 allele의 빈도가 0.95 이상인 것은 변이가 없는 loci로 간주하였고 0.95 이하의 빈도를 가진 loci만 변이가 있는 것으로(polymorphic loci)간주하였다.

본 실험에서는 총 11가지의 효소단백이 분석되었는데 그 중 9가지의 효소가 분석 가능하였다. 그 이유는 lactate dehydrogenase(LDH)는 각 왜우렁이 개체군에서 전연 검출되지 않았으며, phosphoglucose isomerase 활성은 각군에서 확인 가능하였으나 해석이 불가능하여 삭제 처리되었기 때문이다. 아홉가지의 효소에서 총 25 loci가 분석 가능하였으며 각 locus 당 allele의 수는 하나(monomorphic)에서 두개(polymorphic)였으며 세개 이상의 alleles가 한 locus의 allozyme 변이에 관여한 예는 찾아 볼 수 없었다.

왜우렁 개체군에서 allele 변이에 관여한 loci는 총 25 loci 중 5 loci여서 20.0%의 변이율을 보였고 이들은 GOT, AIP-2(우), EST-4, EST-5와 PGM-2 loci였다. 특히 AIP-2와 AIP-3 loci는 왜우렁이의 성과 관련이 있는 특이한 전기영동 주형양상(banding pattern)을 나타내는 loci로서 반드시 왜우렁이의 암컷에서만 나타났다.

우리나라 왜우렁이 개체군에서 평균 유전자 변이도(average heterozygosity;  $\bar{H}_L$ )를 계산 추계하여 비교한 것은 본 연구가 처음인 것으로서 진주, 김해 집단에서는 전연 변이를 볼 수 없는 반면 군산주에서 0.01, 청평주에서 0.023, 팔당주에서 0.072의 유전자 변이를 보

**Table 4.** Allozyme frequencies and average heterozygosities for five local populations of *Parafossarulus manchouricus*

Locus	Allozyme (allele)	<i>Parafossarulus manchouricus</i>				
		Chongpyung	Paldang	Chinju	Kimhae	Kunsan
GOT	100	0.34	1.00	1.00	1.00	1.00
	95	0.66	—	—	—	—
	n	19	10	20	20	20
	h	0.45	0	0	0	0
AIP-1	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	19	10	20	20	20
	h	0	0	0	0	0
AIP-2(♀)	100	1.00	0.5	1.00	1.00	1.00
	95	—	0.5	—	—	—
	n	8	6	10	10	10
	h	0	0.5	0	0	0
AIP-3(♀)	100(—)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	8	6	10	10	10
	h	0	0	0	0	0
AcP-1	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	19	10	20	20	20
	h	0	0	0	0	0
AcP-2	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	19	20	20	20	20
	h	0	0	0	0	0
AcP-3	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	19	20	20	20	20
	h	0	0	0	0	0
XO	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	19	20	20	20	20
	h	0	0	0	0	0
MDH-1	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	19	20	20	20	20
	h	0	0	0	0	0
MDH-2	100(—)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	19	20	20	20	20
	h	0	0	0	0	0
EST-1	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	15	10	10
	h	0	0	0	0	0
EST-2	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	15	10	10
	h	0	0	0	0	0



Continued

Locus	Allozyme (allele)	<i>Parafossarulus manchouricus</i>				
		Chongpyung	Paldang	Chinju	Kimhae	Kunsan
EST-3	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	15	10	10
	h	0	0	0	0	0
EST-4	103	0.07	0.75	—	—	—
	100	0.93	0.25	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	15	10	10
	h	0.13	0.38	0	0	0
EST-5	106	—	0.45	—	—	0.15
	100	1.00	0.55	1.00	1.00	0.85
	n	14	10	15	10	10
	h	0	0.50	0	0	0.26
EST-6	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	15	10	10
	h	0	0	0	0	0
EST-7	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	15	10	10
	h	0	0	0	0	0
EST-8	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	15	10	10
	h	0	0	0	0	0
HK-1	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	15	10	10
	h	0	0	0	0	0
HK-2	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	15	10	10
	h	0	0	0	0	0
ME-1	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	20	10	10
	h	0	0	0	0	0
ME-2	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	20	10	10
	h	0	0	0	0	0
PGM-1	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	20	10	10
	h	0	0	0	0	0
PGM-2	106	—	0.3	—	—	—
	100	1.00	0.7	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	20	10	10
	h	0	0.42	0	0	0
PGM-3	100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	n	14	10	20	10	10
	h	0	0	0	0	0

Continued

Locus	Allozyme (allele)	<i>Parafossarulus manchouricus</i>				
		Chongpyung	Paldang	Chinju	Kimhae	Kunsan
LDH	100	ND	ND	ND	ND	ND
	n	14	10	20	10	10
	h	—	—	—	—	—
	$\bar{H}_L$	0.023	0.072	0	0	0.01

Remarks: AIP-2(♀) and AIP-3(♀) bands were associated only with female snails.

100(-)=cathodally migrated zone in AIP-3 and MDH-2 loci.

ND=not detected.

n=number of individuals examined.

h=heterozygosity per locus.

$\bar{H}_L$ =average heterozygosity in each local population.

였다. 특히 왜우렁이 서식지역과 비서식지역의 경계지인 청평과 팔당에서 유전자 변이도가  
은 것은 흥미로운 일이었다(Table 4).

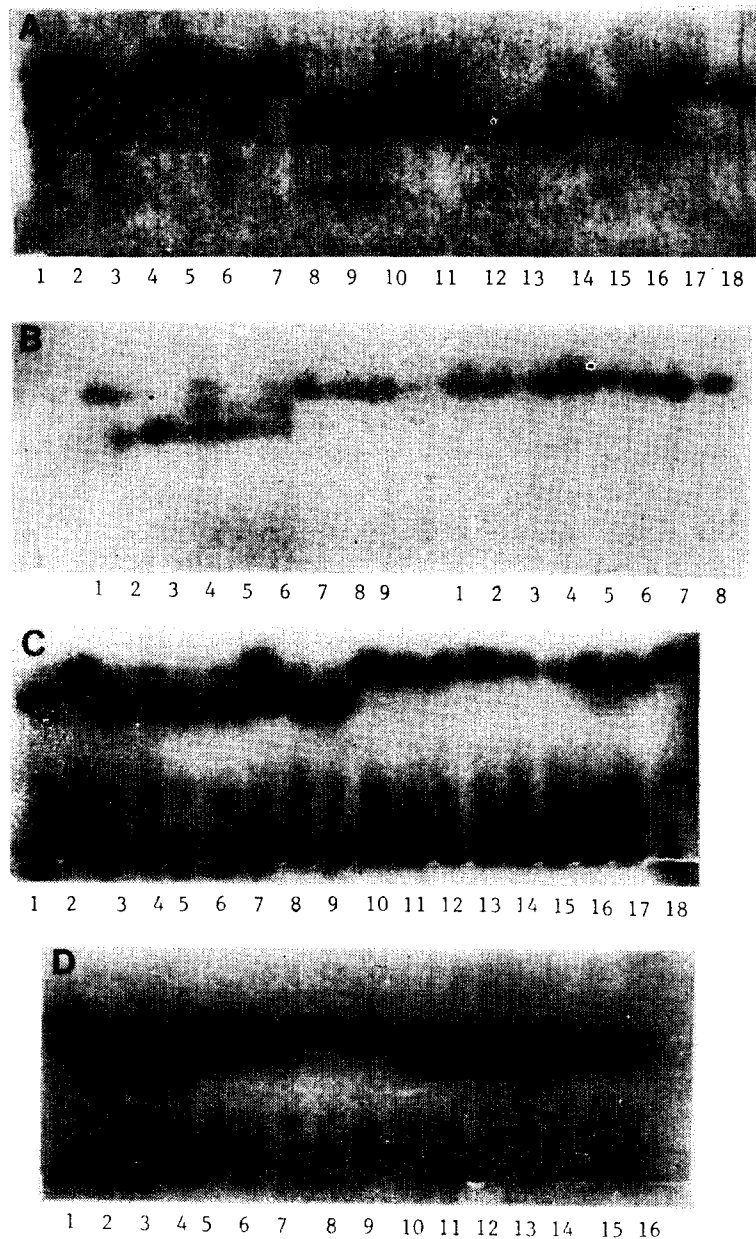
효소활성 자체는 인정되었으나 그 해석이 모호했던 phosphoglucose isomerase와 전연 효  
소활성이 없었던 lactate dehydrogenase를 제외한 9가지의 효소활성에 대한 내용을 보면 다  
음과 같다.

**Glutamate-oxaloacetate transaminase(GOT)** 청평군을 제외한 모든 왜우렁이 집단에  
서는 변이가 없는 fast band (GOT<sup>100</sup>)를 가진 개체만이 검출되었고, 청평집단에서만이 이 fast  
band는 물론 slow band (GOT<sup>95</sup>)를 가진 개체들이 검출되었으며 fast band와 slow band  
사이에 intermediate band까지 가진 개체가 혼재되어 있었다. 즉 청평군에서 검출된 slow  
band (GOT<sup>95</sup>)는 타군에서 찾아볼 수 없었다(Figs. 3, 4).

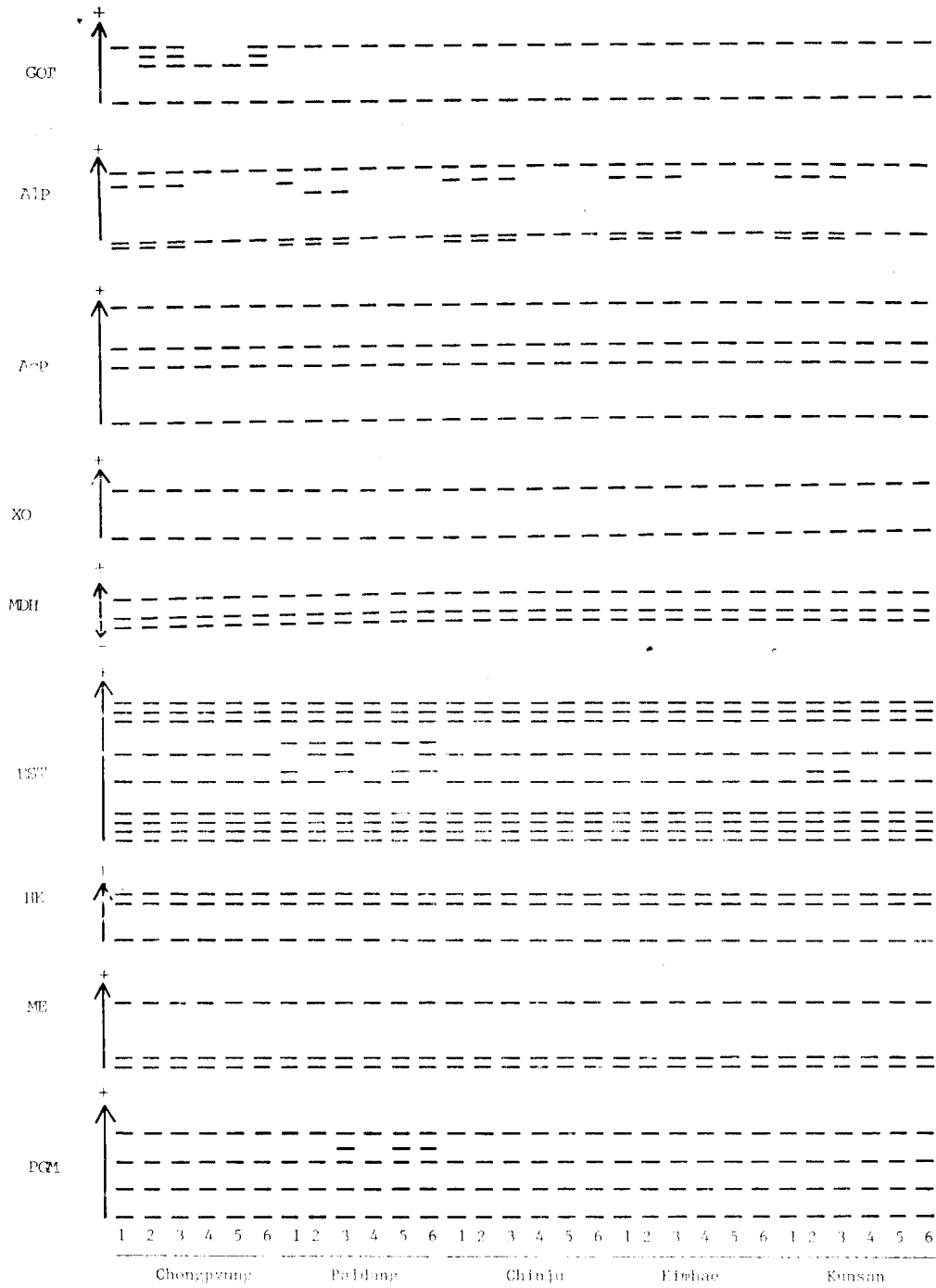
이 banding patterns로 보아, 청평군의 왜우렁이에 있어 GOT는 하나의 locus에 있는 alleles  
의 변이로 조정된 것임이 분명하였다. 그리고 fast band와 slow band를 가진 암, 수 개체  
의 교잡에 의하여 탄생된 잡종(heterozygotes)에서 한개의 intermediate band가 나타나는 것  
으로 보아 GOT 효소단백은 dimer로 구성된 것으로 간주되어진다. 청평군의 slow band  
(GOT<sup>95</sup>)는 집단 특이성을 나타내는 것이 되겠고 모두 전형적인 멘델 집단(Mendelian  
population)임을 확인할 수 있었다.

**Alkaline phosphatase (AIP)** 모두 세개의 loci가 인정되었다. AIP-1 locus는 어느 왜  
우렁이 집단에서나 동일 주형거리의 하나의 band(AIP-1<sup>100</sup>)만을 encoding하여서 변이가 없  
었으며 AIP-2와 AIP-3 loci에 의한 allozymes는 모두 암컷의 왜우렁이에서만 관여되어 있었  
다. 양극(陽極)으로 이동된 AIP-2 locus의 allozymes는 모두 fast band (AIP-2<sup>100</sup>; F/F)로  
그 활성이 실현되었는데 slow band (AIP-2<sup>95</sup>; S/S)는 팔당군에서만 나타나 allozyme의 변  
이를 보였다. AIP-3 locus로 encoding 된 allozyme은 그 활성이 음극쪽으로 수행되었고 변  
이가 없는 monomorphic한 주형양상을 보였으며 집단간에 차이를 볼 수 없었다(Figs. 3, 4).

**Acid phosphatase (AcP)** Acid phosphatase 활성에서는 모두 세개의 monomorphic한 주  
형양상군이 인정되어(AcP-1, AcP-2, AcP-3) 왜우렁이 집단간에 차이가 없었다(Table 4,  
Fig. 4). 때로는 AcP의 주형 bands들이 확산되어 해석이 곤란한 gel들이 있었으며 이들의  
해석은 본 연구에서 삭제되었다.



**Fig. 3.** Electromorphs of glutamate-oxaloacetate transaminase(A and B) and alkaline phosphatase(C and D) activities of *Parafossarulus manchouricus*. A, GOT banding patterns in Chongpyung population; B, GOT banding patterns in Chongpyung and Paldang populations(the first number series 1-9=Chongpyung population and the following number series 1-8=Paldang population); C, AIP banding patterns in Chongpyung population, the numbers 1-9=female snails and 10-18=male snails; D, AIP banding patterns in Paldang and Chinju populations, the numbers 1-6=female snails and 7-9=male snails in Paldang population, and 10-16=female snails in Chinju population.



**Fig. 4.** Diagrammatic representation of all the electromorphs in 5 local populations of *Parafossarulus manchouricus* (No. 1~3=female; No. 4~6=male).

**Xanthine oxidase (XO)** XO의 활성은 어느 왜우렁 집단에서나 동일 주형양상을 보이는 monomorphic한 band군이 나타나서 XO locus에는 어떤 변이도 나타나지 않았다(Table 4, Fig. 4).

**Malate dehydrogenase (MDH) 및 malic enzyme (ME)** MDH의 활성인 경우 MDH-1, MDH-2, 그리고 ME인 경우도 ME-1 및 ME-2의 각 2 loci 씩의 주형양상군이 인정되었으나 모두 monomorphic한 것이어서 왜우렁이 집단간에 아무런 변이의 차이를 읽을 수 없었다(Table 4, Fig. 4).

**Esterase (EST)** EST 활성을 보기위한 기질(基質)로서는 a-naphthyl acetate를 사용하였다. 모두 8가지의 loci가 확인되었고 (EST-1~EST 8) polymorphic한 주형양상을 보인 loci는 EST-4, EST-5 였으며 변이를 보이지 않았던 loci는 EST-1, EST-2, EST-3, EST-6, EST-7 및 EST-8 이었다. EST-4 locus에 의한 allozyme 변이는 청평 및 팔당군에서 있었고 (EST-4<sup>103</sup>) 기타 지역군에서는 monomorphic한 주형양상을 보여 (EST-4<sup>100</sup>) allozyme 변이의 차이를 찾아 볼 수 없었다. EST-5 locus인 경우 팔당 및 군산집단에서만 allozyme의 변이를 보였고 (EST-5<sup>106</sup>) 기타군은 EST-5<sup>100</sup> allele에 의한 monomorphic한 효소활성만을 보여 그 변이를 볼 수 없었다(Table 4, Fig. 4).

**Hexokinase (HK)** 두개의 monomorphic한 주형양상군(HK-1, HK-2 loci)이 인정되었으나 왜우렁이 집단간에 변이적 차이는 관찰할 수 없었다(Table 4, Fig. 4).

**Phosphoglucose mutase (PGM)** PGM-1, PGM-2, PGM-3의 세 loci에 의한 효소활성군이 인정되었으며 PGM-2 locus에 의한 allozyme만이 팔당 왜우렁이 집단에서 변이되었음을 관찰할 수 있었을 뿐 (PGM-2<sup>106</sup>) 기타 집단에서는 모두 monomorphic한 allozyme의 주형양상을 보여 변이의 차이를 보이지 않았다(Table 4, Fig. 4).

## 고 찰

### 담수 권패류의 사육

담수산 권패류는 대개가 인간을 포함한 동물흡충류 기생충의 중간숙주로서 그 역할을 하는 일면이 있기 때문에 이들의 실험실내 사육은 필수적인 것이다. 그러나 성공적인 사육을 위한 부단한 노력이 있었으나 현재까지 대부분 실패의 연속이었다. 그 이유는 설혹 성패(成貝)가 사육된다 하더라도 그 생활환(生活環)이 사육조내에서 연결되지 않거나 된다해도 몇 대(代)에서 끊어지기 때문이다.

왜우렁이가 속해있는 Bithyniidae과(科)에 속하는 *Bithynia siamensis*와 *B. funiculata*는 Kruatrachue *et al.* (1982)에 의하여 성공적으로 사육된 바 있다. 그러나 대를 거듭하여 실험패류의 산란이 가능하였는지 의심가는 바 있고 수조의 substratum으로서 진흙(mud)과 인공배합사료를 먹이로 사용한 번거로움이 있었다. 수조의 substratum이 진흙인 경우 실험패류가 산란한 알의 수를 정확히 파악할 수 없고 이들이 유출한 기생유미유충(cercariae)의 정확한 숫자와 생물학적 성상을 파악하는데 어려움이 있다.

본 실험에서 사육시도한 왜우렁이는 간흡충(肝吸蟲)의 중간숙주로서 문제가 되고 있는 담수권패로서 이들의 배양이 비교적 성공적이었고 사육에 따른 생물학적 성상들이 부분적으로나마 밝혀진 것은 처음있는 일이다. 패류사육의 조건으로서 온도, 광선, 수질, 밀도, 수

조의 형태, substratum, 패류기생충과 천적등이 고려되어야 하겠고 무엇보다도 계속적인 패류사육이 중요하다 할 것이다. 본 실험에서는 substratum으로서 자연산 수석과 상품화된 먹이를 사용한 것이 특징이고 유패(幼貝)를 사육하기 위하여 돌말류(diatoms)가 필요함을 알았다. 돌말류의 공급이 과학화된다면 substratum으로서 반드시 수석이 아니더라도 가능할 것이 기대된다. Vincent 등(1981)은 2년간 *Bithynia tentaculata*의 생활사를 자연 상태에서 관찰한 바 있다. *B. tentaculata*는 년 1회 산란하며 수온이 찬 겨울동안 (6개월) 성장이 정지되었다. 이 관찰결과는 본 실험의 결과와 일치되는 바가 있는 것으로서 왜우렁이의 경우도 1년중 3월 내지 4월내에 1회에 걸쳐 산란한다는 것을 볼 수 있었다.

### 효소 단백질 전기영동

수종의 Bithyniidae과(科) 권패류에 대한 전기영동분석이 시도된 바 있으나 (Kitikoon, 1982; Chung, 1983) 우리나라 왜우렁이집단을 대상으로 allozyme의 변이를 유전학적 접근으로 분석한 것은 처음 시도된 것이다.

GOT활성에서 모든 왜우렁이집단은 monomorphic한 fast bands (GOT<sup>100</sup>)만 시험했으나 오직 청평집단의 왜우렁이 slow bands (GOT<sup>95</sup>)의 allozyme 변이를 보였으며 hybrid bands까지 관찰될 수 있어 적어도 왜우렁이에서의 GOT는 dimer로 된 효소단백임을 알 수 있었다. 청평과 인접해 있는 팔당군에서조차 이 slow bands를 encoding하는 allele이 나타나지 않는 것은 청평집단과 타 지역군집간에 유전자유입(gene flow)이 없음을 시사하고 있었다. 생물집단의 유전자 풀(gene pool)은 군집(群集)의 연령, 크기, 지리적 분포, 물리적 환경요소의 안정성, 먹이의 안정성 등의 여건에 따라 변이가 일어날 것으로 간주된다. 특히 Levins (1968)는 유전자 변이는 불안정한 환경여건에서 빈번히 일어날 것으로 보고한 바 있거니와 위도(緯度)가 타 지역군보다 높고 왜우렁이의 서식이 불가능한 강원도지역과 경계를 이루고 있는 청평과 팔당군에서 높은 유전자 변이도를 보인 것은 Levins(1968)의 보고와 일치되는 바 있다.

그러나 청평왜우렁이 집단에서 GOT allozyme의 변이가 일어나게 된 원인은 무엇인지 알 길이 없으나 왜우렁이 간흡충의 숙주가 된다는 점을 고려할 때 그 감염밀도와 관련짓는다는 것은 흥미로운 일이다.

AIP활성에서 특히 흥미있는 것은 AIP-2와 AIP-3에 의한 electromorphs가 암컷의 왜우렁이에서만 나타나 이 두 loci는 왜우렁이의 성(sex)과 연관되어 있다는 점이다. 그러나 이 두 loci가 암컷의 생식기관이나 성염색체(性染色體)와 연관이 있는지 또는 다른 원인에 기인하는지는 불명확하다. 성(性)과 관련이 되어 있는 효소단백은 때로 마우스, 캥가루, 초파리 및 사람에서 확인된 바는 있으나 (Shaw and Koen, 1963; Doane *et al.*, 1975; Cooper *et al.*, 1975)패류에서 관찰되기는 본 실험에서 처음있는 일이다.

EST-4, EST-5, PGM-2 loci의 allozyme 변이는 주로 청평과 팔당집단에서 확인될 수 있었다. Levins(1968)의 보고에 의한다면 이 두 지역이 왜우렁이 성장에 있어서 불안정한 환경여건을 가진 곳으로 간주되나 어떤 심해생물의 유전적 변이는 천해 생물의 변이도 보다 그리 높지 않은 예도 있기 때문에 (Ayala and Valentine, 1974)유전자 변이와 환경요인만을 관련지을 수도 없다.

### 적 요

우리나라에 분포되어 있는 담수패(淡水貝)의 일종인 왜우렁이(*Parafossarulus manchouri*-

cus)는 간흡충(*Clonorchis sinensis*)의 중간숙주로서 공중보건학적 의의를 가지고 있는 반면, 모두 여과섭식(filter feeding)을 하는 생리학적 특성 때문에 담수 탁도(turbidity)를 줄이게 하여 수질오염 방지에 중요한 몫을 차지하고 있다.

본 연구는 우리나라의 5개 지역으로부터 채집 사육된 왜우렁 집단을 대상으로 1) 이들의 실험실 사육 가능성 여부와 생물학적 성상 및 2) 효소단백질의 전기영동으로 분석한 allozyme 변이를 개체군별로 비교하였다.

본 연구에서 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. 왜우렁이 사육은 실험실 내에서 가능하였으며 필수조건은 유패(幼貝) 사육시 돌말류(diatoms)를 먹이로서 투여하는 일이었다. 왜우렁이는 연 1회 산란하는 담수패였으며 부화하여 산란기능을 가지는 성패(成貝)가 될 때까지 약 150~156일이 소요되었다.

2. 효소단백의 전기영동으로 모두 25 loci가 분석가능하였고 이들중 5 loci에서 allozyme 변이가 관찰되었다(GOT, AIP-2, EST-4, EST-5, PGM-2). 특히 AIP-2와 AIP-3는 자패(雌貝)에서만 그 활성이 출현되어 왜우렁이의 성과 관련되는 loci임이 확인되었다. GOT locus에 의한 allozyme 변이는 유독 청평집단의 왜우렁이에서만 나타나서 dimeric한 효소구조임을 확인할 수 있었고 이는 간흡충 감염도와 밀접한 관련이 있을 것으로 보여졌다. 종합적인 유전자 변이도(average heterozygosity)를 왜우렁이 집단별로 비교해 본 결과 간흡충 비만연 지역인 강원도와 인접되어 있는 경기도 청평과 팔당개체군에서 타 개체군에 비하여 월등히 높음을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과로 보아 왜우렁이는 실험실 배양이 가능하였고 지역적 집단간에 상당한 유전학적 변이의 차이를 보여 개체생태계(個體生態系)의 특이성을 나타내고 있었으며 이는 간흡충의 유행도를 비교할 수 있는 기초적 근거가 됨을 알 수 있었다.

## 인 용 문 헌

- Ayala, F.J., D. Hedgecock, G.S. Zumwalt and J.W. Valentine. (1973). Genetic variation in *Tridacna maxima*, an ecological analog of some unsuccessful evolutionary lineages. *Evolution*, 27: 177~191.
- Ayala, F.J. and J.W. Valentine. (1974). Genetic variability in the cosmopolitan deep-water ophiuran *Ophiomusium lymani*. *Mar. Biol.*, 27: 51~75.
- Bae, K.H., Y.K. Ahn and C.T. Soh. (1983). Epidemiological studies on *Clonorchis sinensis* infection along the Nam-river in Gyeongnam Province. *Korean J. Parasitol.*, 21: 167~186.
- Burch, J.B. and G.K. Lindsay. (1968). Electrophoretic analysis of esterases in *Bulinus*. *Annu. Rep. Am. Malacol. Union 1967*, 34: 39~40.
- Chun, S.K. (1964). Studies on *Parafossarulus manchouricus* Bourguignat in Korea. *Korean J. Parasitol.*, 2: 27~34.
- Chung, B.J., C.Y. Joo and D.W. Choi. (1980). Seasonal variation of snail population of *Parafossarulus manchouricus* and larval trematode infection in River Kumho, Kyungpook Province, Korea. *Korean J. Parasitol.*, 18: 54~64.
- Chung, P.R. (1983). A comparative study of three species of Bithyniidae(Mollusca: Prosobranchia): *Parafossarulus manchouricus*, *Bithynia tentaculata* and *Gabbia misella*. Ph. D. thesis, University of Michigan, 1983.
- Chung, P.R. and J.B. Burch. (1983) Glutamate-oxaloacetate transaminase variability in four popula-

- tions of *Parafossarulus manchouricus* (Gastropoda: Prosobranchia). Malacol. Rev., **16** : 89~90.
- Cooper, D.W., P.G. Johnson, C.E. Murtagh, G.B. Sharman, J.L. Vandeberg and W.E. Poole. (1975). Sex-linked isozymes and sex chromosome evolution and interaction in kangaroo. *In*, Isozymes, Vol. III, C.L. Markert (ed.) Academic Press, London. pp. 559~573.
- Davis, G.M. (1967). The systematic relationship of *Pomatiopsis lapidaria* and *Oncomelania hupensis formosana* (Gastropoda: Hydrobiidae). Malacologia, **6** : 1~143.
- Davis, G.M. and G.K. Lindsay. (1967). Disc electrophoresis of molluscan individuals and populations. Malacologia, **5** : 311~334.
- Deutch, H.F. and W.H. McShan. (1949). Biophysical studies of blood plasma proteins. XII. Electrophoretic studies of blood serum proteins of some low animals. J. Biol. Chem., **180** : 219~234.
- Doane, W.W., I. Abraham, M.M. Kolar, E. Martenson and G.E. Deibler. (1975). Purified *Drosophila*  $\alpha$ -Amylase isozymes: Genetical, biochemical, and molecular characterization. *In*, Isozymes, Vol. IV, C.H. Markert (ed.) Academic Press, London. pp. 587~607.
- Ferguson, A. (1980). Biochemical systematics and evolution. John Wiley and Sons, Ltd., 194pp.
- Kang, S.Y., I.K. Loh, Y.H. Park and B.C. Kim. (1964). Field survey on the freshwater snails in Cheju Province (Quelpart Island), Korea: Especially on presence or not of *Parafossarulus manchouricus*. Korean J. Parasitol., **2** : 47~52.
- Kim, D.C. (1974). Ecological studies of *Clonorchis sinensis*—endemicity and propagation of clonorchiasis in high and low endemic areas in Korea. Yonsei Rep. Trop. Med., **5** : 3~44.
- Kitikoon, V. (1982). Studies on *Tricula aperta* and related taxa, the snail intermediate hosts of *Schistosoma mekongi*. V. Electrophoretic studies. Malac. Rev., **15** : 43~57.
- Kruatrachue, M., S. Jantataeme, S. Ratanatham, S. Vichasri and E.S. Upatham. (1982). A culture method for *Bithynia* (Prosobranchia: Bithyniidae), snail hosts for the trematode *Opisthorchis viverrini*. Malac. Rev., **15** : 63~67.
- Levins, R. (1968). Evolution in changing environments. Princeton Univ. Press, Princeton Monogr. Pop. Biol. 120pp.
- Meier-Brook, C. and C.H. Kim. (1977). Notes on ciliary feeding in two Korean *Bithynia* species. Malacologia, **16** : 159~163.
- Poulik, M.D. (1957). Starch gel electrophoresis in discontinuous system of buffers. Nature, **180** : 1477~1479.
- Shaw, C.R. and A.L. Koen. (1963). Hormone-induced esterase in mouse kidney. Science, **140** : 70~71.
- Spencer, N., D.A. Hopkinson and H. Harris. (1964). Phosphoglucomutase polymorphism in man. Nature, **204** : 742~745.
- Valentine, J.W. (1976). Genetic strategies of adaptation. *In*, Molecular Evolution, F.J. Ayala, (ed.) Sinauer Associates, Massachusetts. pp. 78~94.
- Vincent, B., G. Vaillancourt and M. Harvey. (1981). Cycle de développement, croissance, effectifs, biomasse et production de *Bithynia tentaculata* L. (Gastropoda: Prosobranchia) dans le Saint-Laurent (Québec). Can. J. Zool., **59** : 1237~1250.
- Wright, C.A. and G.C. Ross. (1963). Electrophoretic studies of blood and egg proteins of *Australorbis glabratus* (Gastropoda: Planorbidae). Ann. Trop. Med. Parasitol., **57** : 47~51.
- Wright, C.A. and G.C. Ross. (1965). Electrophoretic studies of some planorbid egg proteins. Bull. W.H.O., **32** : 709~712.
- Wright, C.A. and G.C. Ross. (1966). Electrophoretic studies on planorbid egg proteins: The



- Bulinus africanus* and *B. forskali* species groups. Bull. W.H.O., 35 : 727~731.
- Wu, S.K. and J.B. Burch. (1975). *Bulinus sericinus* (Gastropoda: Planorbidae) from Ethiopia. Malac. Rev., 8 : 31~46.
- Wurzinger, K.H. (1979). Allozymes of Ethiopian *Bulinus sericinus* and Egyptian *Bulinus truncatus*. Malac. Rev., 12 : 51~58.

(1987年 11月 7日 接受)