

## 한국산 또아리물달팽이과(family Planorbidae) 3종에서의 동위효소 변이

鄭 坤 林 · 鄭 英 恵 · 金 基 宣

仁荷大學校 醫科大學 寄生蟲學教室

### = Abstract =

Isozyme Variability in Three Species of Freshwater Planorbid Snails in Korea: *Gyraulus convexiusculus*, *Hippeutis cantori* and *Segmentina hemisphaerula*

Pyung-Rim Chung, Younghun Jung and Ki-Sun Kim

Department of Parasitology, Inha University College of Medicine Inchon 402-751, Korea

A horizontal starch gel electrophoresis for enzyme proteins extracted from 3 species of Korean planorbid snails: *Gyraulus convexiusculus*, *Hippeutis cantori* and *Segmentina hemisphaerula* was carried out in order to elucidate their genetic relationships.

The results from 12 enzymes employed in three different kinds of buffer systems are summarized as follows:

1) Two loci from each enzyme of aldehyde oxidase, esterase, glucose phosphate isomerase, isocitrate dehydrogenase, leucine aminopeptidase, malate dehydrogenase, peptidase and xanthine oxidase were detected, and only one locus was observed from each of the following four enzymes: 6-phosphogluconate dehydrogenase, glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase, glutamate oxaloacetate transaminase and glycerol-3-phosphate dehydrogenase.

2) Most of loci in 3 species of planorbid snails employed showed homozygous and monomorphic banding patterns and some of them were specific as genetic markers among different species. However, a few of loci (EST-1, EST-2 and GPI-2) showed polymorphic banding patterns.

3) *Hippeutis cantori* and *Segmentina hemisphaerula* were more closely clustered in a dendrogram with the genetic identity value of 0.431, and these two species were lineated with *Gyraulus convexiusculus* as another cluster at the value of 0.294.

In summarizing the above results, three species of Korean planorbid snails employed in this study mostly showed monomorphic enzyme protein banding patterns and genetic differences specific among 3 species.

\* 본 연구는 1993년도 한국과학 재단 연구비의 일부지원과 1994년도 인하대학교 교내연구비 지원에 의한 결과임.

## 서 론

우리나라 전 담수계에 널리 분포, 서식하고 있는 한국산 또아리물달팽이류(planorbids)는 사람 및 조류를 위시한 각종 척추 동물에 기생하는 흡충류(trematodes)의 패류 중간 숙주로서의 역할을 하고 있기 때문에 매우 중요한 공중 보건학적 의의를 갖고 있다. 그럼에도 불구하고 패류 자체의 정확한 동정 및 체계적인 계통 분류의 기초 연구조차도 미미한 실정이어서 패류학적 측면 외에도 보건 관리 대책 수립에 어려움을 겪고 있다.

일반, 패류 분류를 위한 유전학적 근연 관계를 구명 할 수 있는 효소 단백 전기 영동법이 1960년대이래 세계적으로 매우 활발히 수행되어져 왔으나(McLeod *et al.*, 1981; Rudolph and Burch, 1989; Hoeh, 1990), 우리나라에서는 몇몇의 보고에 불과하다. 즉, 한국, 일본, 대만 등지에서 채집된 왜우렁과(Bithyniidae) 3종에 대한 allozyme 변이를 본 바. 왜우렁(*Parafossarulus manchouricus*)의 청평 개체군만이 GOT locus에 변이가 dimeric pattern으로 나타났으며, 이는 간흡충(*Clonorchis sinensis*) 감염과 관련 있음을 밝힌 바 있고(Chung and Burch, 1983; Chung, 1984), 1990년 Kim과 Kim은 *Parafossarulus manchouricus*, *Bithynia misella* 및 *B. kiusiuensis*를 동위효소 전기 영동으로 유전적 근연관계를 비교 연구한 바 있다. 그 외 1986년 Kim에 의해 *Semisulcospira gottschei*에 관한 전기영동 연구와 육산 패의 일종인 *Euphaedusa fusaniana*의 개체군간의 유전적 변이에 대한 비교 연구(Hwang 등, 1993)가 보고되었을 뿐 우리나라 또아리물달팽이과(Planorbidae)에 대한 전기영동 실험은 아직 수행되어진 바 없다.

패류 allozyme 변이에 대한 연구에 있어 생식 기관이 자웅 동체(hermaphroditic)인 경우 자연 집단 내에서 자가 수정(self-fertilization)이나 단성 생식(parthenogenesis)의 결과에 의해 많은 경우에 동형(homozygous) allozyme 분획을 나타낸다고 보고된 바 있다. 즉, 북미산, 담수패류 중 *Campeloma geniculum*은 단성 생식에 의해(Karlin *et al.*, 1980), *Biomphalaria obstructa*는 자가 수정에 의해 (Mulvey and Vrijenhoek, 1981) homozygous한 allozyme 분획상을 보임이 밝혀졌다. 또

한 *Gyraulus (Torquis)* 그룹에서도 동일한 결과를 보여 주었다(Jung, 1990). 육산 패류에 있어서도 allozyme 변이에 있어 그 pattern이 homozygous 하게 나타남을 많은 경우에서 볼 수 있다. 그 이유에 대해 Nicklas와 Hoffmann(1981)은 단성 생식의 결과라 하였고, 기타 자가 수정에 의하여 homozygous한 allozyme 분획상을 보이는 반면 낮은 변이도(low heterozygosity)를 보인다는 많은 연구 보고가 있다(Selander and Kaufman, 1973; Selander *et al.*, 1974; McCracken and Selander, 1980; Selander and Ochman, 1983; Fortz *et al.*, 1982, 1984).

본 연구는 자웅동체 담수권패류(hermaphroditic freshwater snail)로서 우리나라에 널리 분포하고 있는 또아리물달팽이류 3종에 대한 효소 단백 전기 영동상을 비교하여 이들의 계통 분류학적 위치 및 유전학적 근연관계를 구명하고자 한 것이다.

## 재료 및 방법

### 1. 또아리물달팽이의 채집

한국산 또아리물달팽이 3종, 즉 또아리물달팽이(*Gyraulus convexiusculus*), 수정또아리물달팽이(*Hippeutis cantori*), 배꼽또아리물달팽이(*Segmentina hemisphaerula*)를 1993년 5월부터 10월까지 경기도와 충청남도를 중심으로 하여 수시로 채집하였으며 채집 지역과 내역은 Table 1에 표시된 바와 같다.

### 2. 효소 단백질 전기영동

채집된 각 또아리물달팽이의 패각을 깨끗이 닦고 염소가 제거된 수도수를 부은 세포 배양용 6 well짜리 plastic plate(Nunclon<sup>®</sup>, Delya Co. Denmark) 내에서 흡충류 유충 및 기타 기생충 감염 여부를 확인한 다음 비감염 개체들을 모아 -70°C deep freezer에 보관하였다가 실험에 사용하였다. 전기영동을 위한 각 종의 개체수는 gel 당 7마리씩 사용했으며, 패류 개체의 크기가 작으므로 각 개체를 Coors porcelain spot plate 위에서 15 mm의

**Table 1.** Snail specimens of *Gyraulus convexiusculus*, *Hippeutis cantori* and *Segmentina hemisphaerula* collected from various localities in Korea.

Species	Localities collected	Date collected	Habitat	Catalog number*
<i>G. convexiusculus</i>	Kosam, Kyonggi-do	June 2, 1993	fish farm	IUMC 55
	Onyang-1, Chungchongnam-do	July 7, 1993	rice field	IUMC 50
	Onyang-2, Chungchongnam-do	July 7, 1993	pond	IUMC 56
<i>H. cantori</i>	Kosam, Kyonggi-do	June 2, 1993	fish farm	IUMC 48
	Onyang-1, Chungchongnam-do	July 7, 1993	rice field	IUMC 57
	Koksung, Jeonranam-do	Sept. 1, 1993	ditch	IUMC 52
<i>S. hemisphaerula</i>	Yangsung, Kyonggi-do	June 2, 1993	pond	IUMC 49
	Onyang, Chungchongnam-do	July 7, 1993	rice field	IUMC 58

\*Catalog numbers recorded as Inha University Medical College(IUMC) voucher specimens.

grinding buffer(Tris, 1.2 g; EDTA, 0.04 g; NADP, 0.01 g; NAD, 0.01 g;  $\beta$ -mercaptoethanol, 0.25 ml; in 100 ml D.W., pH 7.0)와 함께 끝이 거친 유리봉으로 crush한 후 그 조직 참출액(extract)을 #3 여과지 조각에 흡입시켜 전기영동 재료로 하였다. 13% starch gel 상에서 3가지 다른 buffer system를 이용하여 12 가지의 효소 단백을 전기영동하였다. 시도된 buffer system은 MC pH 6.0(Clayton and Tretiak, 1972), LiOH pH 8.1(Ashton and Braden, 1961), Poulik pH 8.2(Poulik, 1957)이었다. 전기영동의 지시액으로는 bromophenol blue 염색액(0.1% 중류수 용액)을 사용했으며, gel 당 25 mA 하에서 영동하였다. Poulik buffer system과 LiOH buffer system은 시발점을 음극쪽에서 3 cm 되는 지점에서, MC buffer system은 6 cm 되는 지점에서부터 시작하였다. 각 효소의 기질 및 발색 용액은 Shaw와 Prasad(1970), Siciliano와 Shaw(1976), Wurzinger(1980)의 방법에 따랐다.

### 3. 유전학적 분석

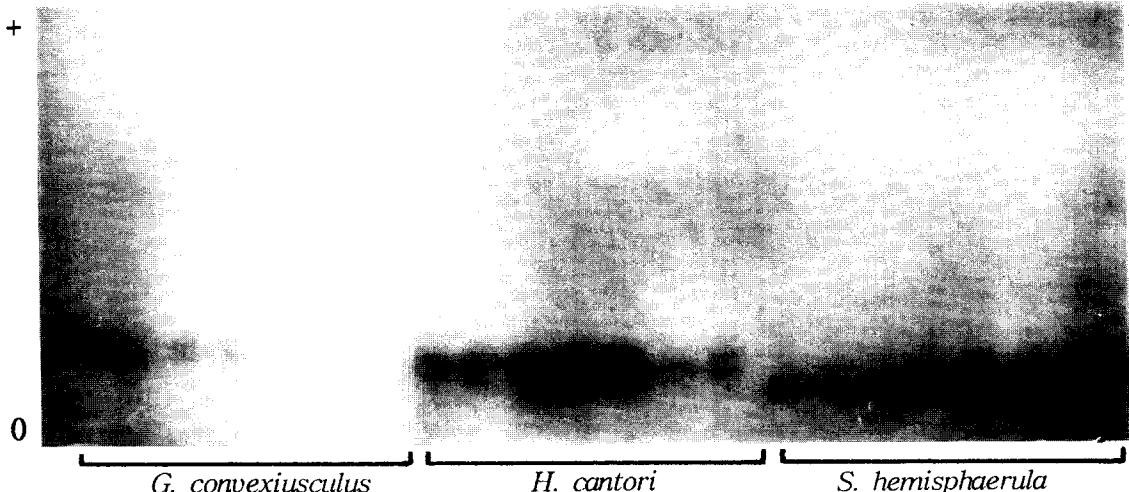
전기영동상 판독 및 대립 유전자 빈도 계산은 Ayala 등(1973) 및 Ferguson(1980)의 방법을 따랐

다. 즉, 전기영동 시발점에서 양극 또는 음극 쪽으로 가장 멀리 주행된 분획(locus)을 1로, 다음 주행 분획을 2로 결정하였고, 각 locus의 allozyme allele은 R<sub>i</sub>치를 계산하여 양, 음극 쪽으로 가장 멀리 주행한 것을 a로, 그 다음을 b로 표시하였다. 분획된 gel banding pattern으로 각 locus의 대립 유전자 빈도(allele frequency)를 구하고 이에 의한 genetic identity와 genetic distance (Nei, 1972)를 구하여 UPGMA(unweighted pair-group arithmetic average clustering method) 방법으로 3종간의 유전거리를 계산하여 dendrogram을 작성하였다(Ferguson, 1980).

### 결 과

한국산 또아리물달팽이 3종, 즉 또아리물달팽이, 수정또아리물달팽이 및 배꼽또아리물달팽이를 3가지 다른 buffer system으로 12종의 효소 단백을 전기영동한 결과 총 20 loci에 대한 양호한 전기영동상을 얻을 수 있었고 그 종 대표적인 영동상을 예거하면 Fig. 1에서와 같다.

각 분획상으로부터 계산된 locus의 수 및 각 효소 단백 전기영동에 적합한 buffer system은 Table 2에 표시된 바와 같다. 즉, 각 효소 단백으로부터 1 내지 2 loci를 관찰할 수 있었던 바 AO, EST,



**Fig. 1-a.** Zymograms of glycerol-3-phosphate dehydrogenase in three species of Korean planorbids (MC. pH 6.0).



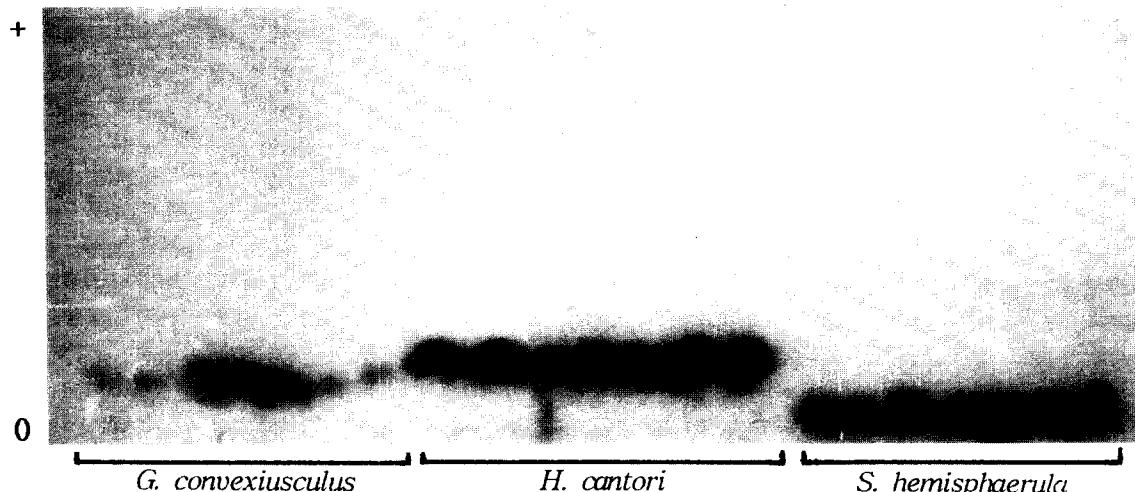
**Fig. 1-b.** Zymograms of isocitrate dehydrogenase in three species of Korean planorbids(MC. pH 6.0).

GPI, ICD, LAP, MDH, PEP 및 XDH에서는 각각 2개의 loci를, GOT, GAPDH, GPD 및 PGD에서는 각각 1개의 locus를 나타내었다.

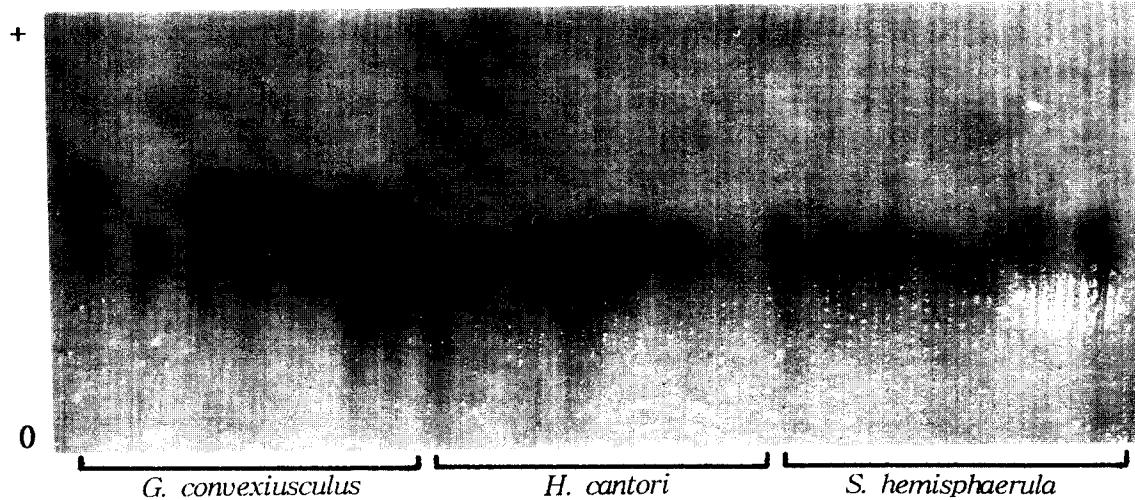
이들 20 loci에서 관찰 분석된 allele의 수 및  $R_t$  치와 이들의 유전자 빈도(allele frequency), 평균 변이도(average heterozygosity)는 Table 3과 같다. 대부분의 loci는 양극 쪽으로 주행하였고  $R_t$ 값은 0.02 - 0.89 범위에 속했으며, ICD-2와 MDH-2만이 음극 쪽으로 주행하였고  $R_t$ 값이 -0.

08에서 -0.14 범위에 속했다. 대부분의 loci에서 보여진 allele들은 변이없이 표현된 monomorphic 한 주행 양상을 보였고 표현된 분획상은 3 종간의 뚜렷한 차이를 보이는 genetic marker로서의 역할만을 하였다. EST-1, EST-2 및 GPI-2에서만 polymorphic한 allozyme 변이를 나타내었다. 평균 heterozygosity는 또아리물달팽이에서는 0.025, 수정또아리물달팽이에서는 0.017, 배꼽또아리물달팽이에서는 0.012이었다.

한국산 또아리물달팽이과(family Planorbidae) 3종에서의 동위효소 변이



**Fig. 1-c.** Zymograms of 6-phosphogluconate dehydrogenase in three species of Korean planorbids (MC, pH 6.0).



**Fig. 1-d.** Zymograms of xanthine oxidase in three species of Korean planorbids(Poulik, pH 8.2).

이상의 결과를 종합하여 3종간의 유전적 근연관계를 genetic identity( $I$ )와 genetic distance( $D$ )의 값으로 계산해 보면, genetic identity에 있어 또아리물달팽이와 수정또아리물달팽이는 0.268, 또아리물달팽이와 배꼽또아리물달팽이는 0.320, 그리고 배꼽또아리물달팽이와 수정또아리물달팽이는 0.431로 나타났다. Genetic distance는 배꼽또아리물달팽이와 수정또아리물달팽이에서 0.841로 3종

내에서 가장 가까운 유전적 근연관계를 보였으며 또아리물달팽이와 배꼽또아리물달팽이는 1.139로, 또아리물달팽이와 수정또아리물달팽이는 1.316으로 3종간에 가장 먼 근연관계를 보였다(Table 4).

이들 3종간의 생화학적, 유전학적 근연관계를 그들의 genetic identity값을 기초로 하여 dendrogram화하여 보면(Fig. 2), 수정또아리물달팽이와 배꼽또아리물달팽이 2종이 genetic identity

**Table 2.** Twelve enzymes assayed in three different buffer systems.

Enzymes (EC No.)	No. loci scored	Abbreviation	Buffer system
Aldehyde oxidase (1.2.3.1)	2	AO	MC
Esterase for hemolysate (3.1.1.1)	2	EST	LiOH
Glucose phosphate isomerase (5.3.1.9)	2	GPI	MC
Glutamate-oxaloacetate transaminase (2.6.1.1)	1	GOT	Poulik
Glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase (1.2.1.1.2)	1	GAPDH	LiOH
Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (1.1.1.8)	1	GPD	MC
Isocitrate dehydrogenase (1.1.1.42)	2	ICD	MC
Leucine aminopeptidase (3.4.11.1)	2	LAP	LiOH
Malate dehydrogenase (1.1.1.37)	2	MDH	MC
Peptidase (3.4.11)	2	PEP	LiOH
6-Phosphogluconate dehydrogenase (1.1.1.44)	1	PGD	MC
Xanthine oxidase (1.2.3.2)	2	XDH	Poulik

0.431에서 하나의 cluster로 이어졌고 이들이 다시 genetic identity 값 0.294에서 또아리물달팽이와 cluster되어 수정또아리물달팽이와 배꼽또아리물달팽이가 또아리물달팽이에 비해 보다 가까운 유전적 근연관계를 갖고 있음을 알 수 있었다.

## 고 찰

효소 단백 전기영동 의한 유전적 유사도 산정에 있어 자매종(sibling species)은 그치가 0.626(무척추 동물 0.539-0.777 범위) 정도이고 특정종(distinct species)은 0.567(무척추 동물 0.300-0.833 범위)로 보고된 바 있다(Ferguson, 1980). 본 연구에서 또아리물달팽이와 수정또아리물달팽이의 유사도 치가 0.268. 또아리물달팽이와 배꼽또아리물달팽이는 그 값이 0.320이어서 이들은 Ferguson(1980)의 무척추동물에 대한 범위 값보다 낮거나 매우 낮은 범주에 속하였다. 또한 배꼽또아리물달팽이와 수정또아리물달팽이의 유사도가 0.431이어서 상호 격리된 종임을 알 수 있었고. 또아리물달팽이와는 보다 격리된 유전적 거리를 보였다.

유전적 유사도 치를 기초로 하여 작성된 UPG-

MA cluster analyses에 의한 3종간의 근연관계를 보면. 유사도치 0.431을 갖는 수정또아리물달팽이와 배꼽또아리물달팽이가 하나의 cluster를 이루며 또 아리물달팽이는 이들과 상호 격리된 그룹을 이루고 있었다(유사도치 : 0.294). 한국산 또아리물달팽이 3종간의 유전학적 상호 관계는 이들의 패각 형태 및 내. 외부 연체부의 해부학적 특성을 근거로 하여 작성된 계통분지분석(cladistic analysis)의 결과 (Chung et al., 1993)와 일치함을 볼 수 있어 효소 단백 전기 영동은 분류를 위한 형태 분석 결과를 잘 뒷받침하고 있음을 알 수 있었다.

생식 기관이 자웅 동체인 유폐류는 자연 집단에서 자가수정의 기회가 많지만 cross-breeding을 한다고 가정되어져 왔으나 그들의 mating partner를 찾을 수 없을 경우 자가 수정을 할 수 있다고 알려져 왔다. 즉 Wu(1972)는 자웅동체인 *Bulinus tropicus* 자연집단에서 상호 cross-breeding하여 allosperm이 타개체의 난자와 수정할 수 있으나 이들 개체들이 서로 접촉할 수 없도록 격리시켜 놓으면 autosperm이 그 개체 내의 난자와 수정하는 양면성을 갖고 있다고 보고하였다. 그러나 교접을 위한 가능한 개체가 있음에도 불구하고, 많은 종의 육산 패류에

한국산 또아리물달팽이과(family Planorbidae) 3종에서의 동위효소 변이

**Table. 3.** Allele frequencies and average heterozygosities at 20 loci for *Gyraulus convexiusculus*, *Hippeutis cantori* and *Segmentina hemisphaerula*.

Locus	Allozyme (allele/R <sub>t</sub> )	<i>Gyraulus convexusculus</i>	<i>Hippeutis cantori</i>	<i>Segmentina hemisphaerula</i>
AO-1	a (0.29)	-	-	1.00
	b (0.23)	1.00	1.00	-
	h	0	0	0
AO-2	a (0.18)	ND	-	1.00
	b (0.08)	-	1.00	-
	h	0	0	0
EST-1	a (0.89)	0.50	1.00	-
	b (0.84)	0.50	-	1.00
	h	0.50	0	0
EST-2	a (0.79)	1.00	0.21	-
	b (0.71)	-	0.78	1.00
	h	0	0.35	0
GAPDH	a (0.33)	-	1.00	-
	b (0.28)	-	-	1.00
	c (0.17)	1.00	-	-
	h	0	0	0
GPD	a (0.18)	1.00	-	-
	b (0.14)	-	1.00	-
	c (0.10)	-	-	1.00
	h	0	0	0
GOT	a (0.48)	-	-	1.00
	b (0.43)	1.00	-	-
	c (0.37)	-	1.00	-
	h	0	0	0
GPI-1	a (0.33)	ND	1.00	1.00
	h	0	0	0
GPI-2	a (0.10)	1.00	-	0.14
	b (0.02)	-	1.00	0.86
	h	0	0	0.24
ICD-1	a (0.25)	1.00	-	1.00
	b (0.22)	-	1.00	-
	h	0	0	0
ICD-2	a (-0.10)	-	1.00	1.00
	b (-0.08)	1.00	-	-
	h	0	0	0
LAP-1	a (0.73)	1.00	-	-
	b (0.70)	-	1.00	-
	c (0.67)	-	-	1.00
	h	0	0	0
LAP-2	a (0.19)	1.00	ND	ND
	h	0	0	0
MDH-1	a (0.06)	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0

Locus	Allozyme (allele/R <sub>f</sub> )	<i>Gyraulus</i> <i>convexusculus</i>	<i>Hippeutis</i> <i>cantori</i>	<i>Segmentina</i> <i>hemisphaerula</i>
MDH-2	a (-0.14)	1.00	-	-
	b (-0.08)	-	1.00	1.00
	h	0	0	0
PGD	a (0.18)	-	1.00	-
	b (0.12)	1.00	-	1.00
	c (0.08)	-	-	-
PEP-1	h	0	0	0
	a (0.66)	-	1.00	-
	b (0.60)	-	-	1.00
	c (0.57)	1.00	-	-
PEP-2	h	0	0	0
	a (0.40)	1.00	1.00	1.00
XDH-1	h	0	0	0
	a (0.51)	1.00	ND	ND
XDH-2	h	0	0	0
	a (0.46)	1.00	1.00	1.00
$\bar{H}_L$		0.025	0.017	0.012

Remark: Negatively stained monomorphic bands were observed in ICD-2 and MDH-2 locus. ND= not detected. 14 specimens for each species were used for scoring data per each locus. h= heterozygosity per locus.  $\bar{H}_L$ = average heterozygosity in all loci.

서 자가 수정의 예를 볼 수 있다. 이들의 효소 단백 영동상은 대립 유전자의 변이를 볼 수 있는 polymorphic한 분획상을 나타내기보다는 inbreeding에 의한 monomorphic한 효소 단백의 주행 양상을 나타내어 종간의 특이성을 보여줄 수 있다(Selander and Kaufman, 1973; Selander et al., 1974; McCracken and Selander, 1980; Fortz et al., 1982, 1984; Selander and Ochman, 1983). Nicklas와 Hoffmann(1981), Hoffmann(1983)은 민달팽이 일종인 *Deroceras laeve*가 적어도 실험실 배양에서 단성 생식을 하고 있다고 밝혔다.

또한 담수 유폐류(pulmonates)에 있어서도 개체 간의 접합 없이 자가수정으로 대를 유지한다는 보고

가 많다. Colton과 Pennypacker(1934)는 *Lymnaea (Pseudosuccinea) collomella*가 개체 간의 교접 없이 우수하게 93대를 유지함을 관찰하였다. Mulvey와 Vrijenhoek(1981)도 *Biomphalaria obstructa*에서 자가 수정의 예를 볼 수 있었으며 Jung(1990)은 4종의 북미산 *Gyraulus (Torquis)* 그룹의 효소 단백 전기 영동 결과 많은 개체군으로부터 500개체 중 1개체만이 6-phosphogluconate dehydrogenase에서 heterozygous한 분획상을 보였을 뿐 기타 효소 단백 모두에서는 homozygous한 분획상을 보여서 *Torquis* 그룹의 자연 집단 역시 자가 수정이나 단성 생식에 의해 그들의 생식이 유지됨을 밝힌 바 있다.

한국산 또아리물달팽이 3종에 대한 효소 단백 전기

영동 결과 역시 EST-1, EST-2 및 GPI-2 loci에서 약간의 heterozygous한 효소 단백 분획상을 보였을 뿐 나머지 모든 loci에서 monomorphic한 분획상을 보인 것은 자가 수정에 의했던 단성 생식에 의했던 monogenic한 생식 방법에 의해 자연 집단 내에서 colonization되어짐을 시사한다.

## 결 론

담수 수계에 널리 분포하고 있으면서 수 종의 기생 흡충류의 중간 숙주 역할을 하고 있는 또아리물달팽이류(family Planorbidae) 중, 한국에 서식하고 있는 또아리물달팽이(*Gyraulus convexiusculus*), 수정또아리물달팽이(*Hippeutis cantori*) 및 배꼽또아리물달팽이(*Segmentina hemisphaerula*) 3종에 대한 유전학적 근연 관계를 구명하여 이들에 대한 계통 분류의 기초를 마련하고자 효소 단백 전기 영동을 시도하였다.

12종의 효소 단백을 세 가지의 buffer system으로 전기 영동한 결과를 요약하면 다음과 같다.

Aldehyde oxidase, esterase, glucose phosphate isomerase, isocitrate dehydrogenase, leucine aminopeptidase, malate dehydrogenase, peptidase, xanthine oxidase 등 8개 효소 분석에서는 각각 2개의 loci를 얻을 수 있었고, 6-phosphogluconate dehydrogenase, glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase, glutamate oxaloacetate transaminase, glycerol-3-phosphate dehydrogenase 등 4개 효소 분석에서는 각각 1 locus씩을 관찰할 수 있어 총 20개의 loci에 대한 분석이 가능하였다.

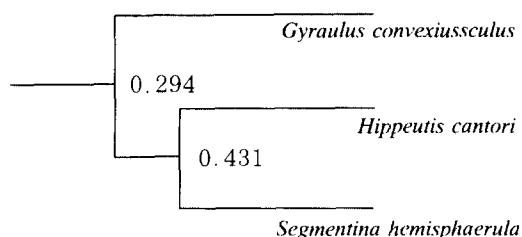
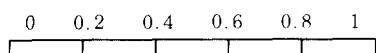
대부분의 loci는 3종간의 서로 다른 monomorphic한 효소 분획상을 보여 각 종의 banding pattern은 종간 genetic marker로서의 역할을 할 수 있었으며 allozyme 변이를 보인 locus는 EST-1, EST-2 및 GPI-2이었다.

수정또아리물달팽이와 배꼽또아리물달팽이 사이의 유전적 유사도(genetic identity)치는 0.431로 상호 cluster되었고, 이들과 또아리물달팽이는 그 유사도치가 0.294로서 cluster되어 있어 또아리물달팽이가 다른 2종에 비하여 보다 먼 유전적 근연 관계를 갖고 있었고, 3종은 상호 충분한 종간의 유전적 거리를 유지하였다.

이상의 결과로 보아 한국산 또아리물달팽이류 3종은 종간에 충분한 유전학적 차이를 보였으며 이들의 효소 단백 전기 영동 결과는 3종의 계통 분류에 기초자료로 이용될 수 있을 것이다.

**Table 4.** Genetic identity(*I*)(above diagonal) and genetic distance(*D*)(below diagonal) for three species of Korean planorbid snails.

	<i>Gyraulus convexiusculus</i>	<i>Hippeutis cantori</i>	<i>Segmentina hemisphaerula</i>
<i>Gyraulus convexiusculus</i>	-	0.268	0.320
<i>Hippeutis cantori</i>	1.316	-	0.431
<i>Segmentina hemisphaerula</i>	1.139	0.841	-

Genetic Identity (*I*)

**Fig. 2.** A dendrogram showing genetic relationships based on electrophoretic data of three species of Korean planorbid snails.

감사의 말씀

본 연구를 수행함에 있어 여러 면으로 기술적 지원을 해 주시고 폐류 채집에 시간을 할애해 주신 본 교실 金載立 기사님께 심심한 사의를 표합니다.

참 고 문 현

- Ashton, G.C. and Braden, A.W.H. (1961) Serum beta-globulin polymorphism in mice. *Australian Journal of Biological Sciences*, **14**(2): 248-253.
- Ayala, F.J., Hedgecock, D., Zumwalt, G.S. and Valentine, J.W. (1973) Genetic variation in *Tridacna maxima*, an ecological analog of some unsuccessful evolutionary lineages. *Evolution*, **27**(2): 177-191.
- Chung, P.R. (1984) A comparative study of three species of Bithyniidae (Mollusca: Prosobranchia): *Parafossarulus manchouricus*, *Gabbia misella* and *Bithynia tentaculata*. *Malacological Review*, **17**: 1-66.
- Chung, P.R. and Burch, J.B. (1983) Glutamate-oxaloacetate transaminase variability in four populations of *Parafossarulus manchouricus* (Gastropoda: Prosobranchia). *Malacological Review*, **16**: 89-90.
- Chung, P.R., Jung, Y.H. and Jung, E.K. (1993) Cladistic analyses of three planorbid snail species (Gastropoda: Planorbidae) in Korea: *Gyraulus convexiusculus*, *Hippeutis cantori* and *Segmentina hemisphaerula*. *Korean J. Malacol.*, **9**(2): 57-67.
- Clayton, J.W. and Tretiak, D.N. (1972) Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. *Journal of the Fisheries Research Board Canada*, **29**: 1169-1172.
- Colton, H.S. and Pennypacker, M. (1934) The result of twenty years of self-fertilization in the pond snail *Lymnaea columella* Say. *The American Naturalist*, **68**: 129-136.
- Foltz, D.W., Ochman, H. and Selander, R.K. (1984) Genetic diversity and breeding systems in terrestrial slugs of the families Limacidae and Arionidae. *Malacologia*, **25**(2): 593-605.
- Foltz, D.W., Schaitkin, B.M. and Selander, R.K. (1982) Gametic disequilibrium in the self-fertilizing slug *Derooceras laeve*. *Evolution*, **36**(1): 80-85.
- Ferguson, A. (1980) Biochemical systematics and evolution. pp. i-ix, 1-194. *John Wiley and Sons, New York and Toronto*.
- Hoeh, W.R. (1990) Phylogenetic relationships among Eastern North American *Anodonta* (Bivalvia: Unionidae). *Malacological Review*, **23**: 63-82.
- Hoffmann, R.J. (1983) The mating system of the terrestrial slug *Derooceras laeve*. *Evolution*, **37**(2): 423-425.
- Hwang, B.H., Lee, J.S. and Cho, D.H. (1993) The isozyme variations of *Euphaedusa fusaniана* in Korea. *Korean J. Malacol.*, **9**(1): 39-45.
- Jung, Y.H. (1990) The *Gyraulus* subgenus *Tor quis* (Mollusca: Gastropoda: Planorbidae) in North America. VII. Electrophoresis. pp. 110-150. *Ph. D. Thesis, University of Michigan*.
- Karlin, A.A., Vail, V.A. and Heard, W.H. (1980) Parthenogenesis and biochemical variation in southeastern *Campeloma geniculum* (Gastropoda: Viviparidae). *Malacological Review*, **13**: 7-15.
- Kim, C.H. (1986) Electrophoretic study of *Semisulcospira gottschei* in Korea. *Korean J. Malacol.*, **2**(1): 30-34.
- Kim, J.J. and Kim, S.C. (1990) Allozyme analyses of *Bithynia manchourica*, *B. misella* and *B. kiusiuensis* (Gastropoda: Prosobranchia). *Korean J. Malacol.*, **6**(1): 11-21.
- McCracken, G.F. and Selander, R.K. (1980) Self-fertilization and monogenic strains in natural populations of terrestrial slugs. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **77**(1): 684-688.
- McLeod, M.J., Hornbach, D.J., Guttman, S.I..

- Way, C.M. and Burky, A.J. (1981) Environmental heterogeneity, genetic polymorphism and reproductive strategies. *The American Naturalist*, **118**: 129-134.
- Mulvey, M. and Vrijenhoek, R.C. (1981) Multiple paternity in the hermaphroditic snail, *Biomphalaria obstructa*. *The Journal of Heredity*, **72**: 308-312.
- Nei, M. (1972) Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, **106**(949): 283-292.
- Nicklas, N.L. and Hoffmann, R.J. (1981) Apomorphic parthenogenesis in a hermaphroditic terrestrial slug, *Derooceras laeve* (Müller). *Biol. Bull.*, **160**: 123-135.
- Poulik, M.D. (1957) Starch gel electrophoresis in discontinuous system of buffers. *Nature*, **180**: 1477-1479.
- Rudolph, P.H. and Burch, J.B. (1989) Electrophoretic analysis of enzymes in three species of *Stagnicola* (Pulmonata: Lymnaeidae). *J. Med. & Appl. Malacol.*, **1**: 57-64.
- Selander, R.K. and Kaufman, D.W. (1973) Self-fertilization and genetic population structure in a colonizing land snail. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **70**(4): 1186-1190.
- Selander, R.K., Kaufman, D.W. and Ralin, R.S. (1974) Self-fertilization in the terrestrial snail *Rumina decollata*. *Veliger*, **16**(3): 265-270.
- Selander, R.K. and Ochman, H. (1983) The genetic structure of populations as illustrated by molluscs. In: Isozymes: Current Topics for Biological and Medical Research, Vol. 10. Genetics and Evolution. pp. 93-123.
- Shaw, C.R. and Prasad, R. (1970) Starch gel electrophoresis of enzymes - a compilation of recipes. *Biochemical Genetics*, **4**: 297-320.
- Siciliano, M.J. and Shaw, C.R. (1976) Separation and visualization of enzymes on gels. In: Chromatographic and electrophoretic techniques. Vol. II. Zone electrophoresis (ed. by Smith, I.). pp. 185-209. Wm. Heinemann, London.
- Wu, S.K. (1972) Comparative studies on a polyploid series of the African snail genus *Bulinus* (Basommatophora: Planorbidae). *Malacological Review*, **5**(2): 95-164.
- Wurzinger, K.H. (1980) Allozyme variation in the African freshwater snail genus *Bulinus*. pp. i-viii, 1-197. Ph. D. Thesis, Department of Zoology, University of Michigan.