

한국산 논우렁이과 (Family Viviparidae) 2종에서의 동위효소 변이

鄭坪林 · 鄭英憲 · 朴俊佑 · 鄭啓憲*

인하대학교 의과대학 기생충학교실, *순천향대학교 자연과학대학 생명과학부

= Abstract =

Isozyme Variability in Two Species of Freshwater Viviparid Snails in Korea: *Cipangopaludina chinensis malleata* and *C. japonica*

Pyung-Rim Chung, Younghun Jung, Junewoo Park and Kye-Heon Jeong*

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

*Department of Life Science, Soonchunhyang University College of Natural Science, Asan 336-745, Korea

A horizontal starch gel electrophoresis for enzyme proteins extracted from 2 species of Korean viviparid snails: *Cipangopaludina chinensis malleata* and *C. japonica* was carried out in order to elucidate their genetic relationships. A total of 10 enzymes were employed in three different kinds of buffer systems.

Two loci from each enzyme of alcohol dehydrogenase, esterase, glucose phosphate isomerase, isocitrate dehydrogenase, iditol dehydrogenase, malate dehydrogenase and peptidase (VL); and only one locus each from two enzymes, glycerol-3-phosphate dehydrogenase and phosphoglucomutase were detected; but, four loci from peptidase (LGG) were observed.

Most of loci in two viviparid species showed homozygous monomorphic banding patterns and some of them were specific as genetic markers between two different species. However, EST-1, MDH-1 and PEP(VL)-1 loci showed polymorphic banding patterns.

Four populations of *C. chinensis malleata* were more closely clustered in a dendrogram within the range of genetic identity values of 0.928-1.00, and these clusters were lineated with *C. japonica* at the value of 0.355.

In summarizing the above results, two viviparid snail species employed in this study mostly showed monomorphic enzyme protein banding patterns, and genetic differences specific between two species.

Key words : Isozyme, Electrophoresis, Viviparidae, Korea, Allozyme, Genetic Identity

서 론

이 논문은 1995-1997년도 교육부 학술연구 조성비 (기초 의학)에 의하여 연구되었음.

우리 나라 전 담수계에 널리 분포, 서식하고 있는 한국산 논우렁이류(viviparids)는 사람 및 조류를 위식한 각종 척추 동물에 기생하는 수 중 흡충류(trematodes)의 패류 중간 숙주로서의 역할을 하고 있기 때문에 매우 중요한 공중 보건학적 의의를 갖고 있

다. 특히 인체 기생 장흡충의 일종인 어선고환극구흡충(*Echinostoma cinetorchis*)의 제 2 패류 중간숙주의 역할을 하고 있으며 주요 인체 감염원임이 밝혀진 바 있다(Ahn *et al.*, 1989). 그럼에도 불구하고 패류 자체의 정확한 동정 및 체계적인 계통 분류의 기초 연구조차도 미미한 실정이다.

일면, 종 동정에 있어 유전학적 근연 관계를 구명할 수 있는 효소단백 전기영동법이 1960년대 이래 세계적으로 매우 활발히 수행되어져 왔으나(McLeod *et al.*, 1981; Rudolph and Burch, 1989; Hoeh, 1990), 한국산 패류 분류에 관한 보고는 그리 많지 않다. 한국산 담수패류에 대한 효소단백 전기영동 연구로는 Chung과 Burch(1983)와 Chung(1984)의 연구를 들 수 있다. 그들은 한국, 일본, 대만 등지에서 채집된 왜우렁이과(*Bithyniidae*) 3종에 대한 allozyme 변이를 본 바, 3종 간의 유전적 거리가 있음을 밝히게 되었고, 왜우렁이(*Parafossarulus manchouricus*)의 정평 개체군만이 GOT locus에 변이가 dimeric pattern으로 특이하게 나타나 이는 간흡충(*Clonorchis sinensis*) 감염과 관련 있음을 밝힌 바 있다. Kim과 Kim(1990)은 *P. manchouricus*와 *Bithynia misella*는 종간 유전거리가 인정되나 *B. kiusiuensis*는 *B. misella*와 동종이병일 가능성을 제시하였다. 그 외 Kim(1986)에 의해 *Semisulcospira gottschei*에 관한 전기영동 연구가 수행된 바 있으며, Kim (1995)은 한국산 다슬기류의 종별 유전적 변이를 알아보고 계통 분류학적 근거를 제공하기 위하여 다슬기속(*Semisulcospira*) 5종을 전기영동한 바 있다. Lee 등(1996)은 의암호에 서식하는 *S. gottschei*를 대상으로 esterase 동위효소 변이를 관찰한 바 있으며, 한국산 또아리물달팽이과의 3종에 대한 유전적 근연관계를 구명한 보고(Chung *et al.*, 1995)가

있었다. 육산패 패류에 관한 연구로는 *Euphaedusa fusaniana*의 개체군 간의 유전적 변이에 대한 비교 연구(Hwang *et al.*, 1993), *Acusta despecta sieboldiana*의 지역별 종내 변이에 관한 연구(Lee and Kwon, 1996)가 있다. 그러나 의용패류로서 또는 식용패류로서 그 가치가 인정되고 있는 우리 나라 눈우렁이과(*Viviparidae*) 권패류에 대한 분류체계가 명백히 수립된 바 없으며 더욱이 전기영동 실험을 통한 유전적 근연관계를 분석한 실험이 수행되어진 바 없다.

본 연구는 우리 나라에 널리 분포하고 있으면서도 패류학적 검토가 없었던 눈우렁이류 2종에 대한 효소단백 전기영동상을 비교하여 이들의 계통 분류학적 위치 및 유전학적 근연관계를 구명하고자 한 것이다.

재료 및 방법

1. 눈우렁이류의 채집

현재까지 우리 나라에 분포되어 있으면서 외형으로 감별이 용이하지 않은 눈우렁이 2종, 즉 눈우렁이(*Cipangopaludina chinensis malleata*)와 큰눈우렁이(*C. japonica*)를 1996년 7월부터 10월까지 수 개 지역에서 채집하였으며 특히 큰눈우렁이는 김해지역에서만 채집되었다(Table 1).

2. 효소단백 전기영동

채집된 각 눈우렁이류의 패각을 깨끗이 닦고 염소가 제거된 수돗물을 부은 작은 비커 내에 실험패를 넣어 흡충류 유충 및 기타 기생충 감염 여부를 확인한 다음, 비감염 개체들만을 선별하였고 소화제 내용물을 제거하기 위하여 이틀간 끓인 후, -70°C deep freezer에 보관하였다가 실험에 사용하였다. 전기영동을 위

Table 1. Snail specimens of *Cipangopaludina chinensis malleata* and *Cipangopaludina japonica* collected from local areas in Korea.

Species	Localities collected	Date collected	Habitat	Catalog number*
<i>C. chinensis malleata</i>	Ilsan, Kyunggi-Do	Oct. 10, 1996	pond	IUMC 87-90
	Jindo, Jeonnam-Do	July 15, 1996	ditch	IUMC 70-74
	Chunchon, Kangwon-Do	July 26, 1996	ditch	IUMC 75-78
	Kimhae, Kyungnam-Do	Sept. 20, 1996	ditch	IUMC 79-82
<i>C. japonica</i>	Kimhae, Kyungnam-Do	Sept. 20, 1996	deep pond	IUMC 83-86

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

Table 2. Ten enzymes assayed in three different buffer systems in this study.

Enzymes (EC No.)	No. loci scored	Abbreviation	Buffer system
Alcohol dehydrogenase (1,1,1,1)	2	ADH	Poulik
Esterase (3,1,1,1)	2	EST	Poulik
Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (1,1,1,8)	1	GPD	MC
Glucose phosphate isomerase (5,3,1,9)	2	GPI	MC
Isocitrate dehydrogenase (1,1,1,42)	2	ICD	MC
Iditol dehydrogenase (1,1,1,14)	2	IDH	Poulik
Malate dehydrogenase (1,1,1,37)	2	MDH	MC
Peptidase (LGG) (3,4,11)	4	PEP-I	LiOH
Peptidase (VL) (3,4,11)	2	PEP-II	LiOH
Phosphoglucomutase (2,7,5,1)	1	PGM	MC

한 각 집단이 개체 수는 gel 당 4마리씩 사용했으며 크기가 비슷한 각 실험 개체들을 선정하여 암수를 구분하고 패각과 소화선을 제거한 다음, 연체부를 증류수로 2-3회 수세하여 잘게 저렸다. 각 시료들을 5 ml의 grinding buffer(Tris, 1.2 g; EDTA, 0.04 g; NADP, 0.01 g; NAD, 0.01 g; β -mercaptoethanol, 0.25 ml; in 100 ml D.W., pH 7.0)와 함께 Potter S Homogenizer (B. Braun Co, Germany)로 1,500 rpm으로 약 5분간 분쇄한 후 그 조직 침출액(extract)을 20,000 x g로 원심분리하여 상청액을 얻었다. 각각의 상청액 시료 50 μ l씩을 10 x 3 mm의 # 3 filter paper 조각에 흡입시켜 전기영동 시료로 하였다. 13% starch gel (38 g Connaught starch in 300 ml gel buffer) 상에서 3가지 다른 buffer system을 이용하여 15 가지의 효소단백을 전기영동 하였다. 사용된 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% 증류수 용액)을 사용했으며, gel 당 25 mA하에서 영동시켰으며 Poulik buffer system과 LiOH buffer system은 시발점을 음극 쪽에서 3 cm 되는 지점 및 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 따랐다. 즉, 전기영동 시발점에서 양극 또는 음극 쪽으로 가장 멀리 주행된 분획(locus)을 1로 하고, 다음 주행 분획을 2로 결정하였고, 각 locus의 allozyme(allele)은 R_f 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 유전적 유사도(genetic identity)와 유전적 거리(genetic distance, Nei, 1972)를 구하여 UPGMA(Unweighted pair-group arithmetic average clustering method, Ferguson, 1980) 방법으로 2 종간의 유전거리를 계산하여 dendrogram을 작성하였다.

결 과

각 지역에서 채집된 눈우렁이 및 큰눈우렁이를 3가지 다른 buffer system으로 10 가지 효소단백을 전기영동한 결과 총 20 loci에서 양호한 전기영동상을 얻을 수 있었고 그중 대표적인 영동상을 예기하면 Fig. 1에 서와 같다. 각 분획상으로부터 계산된 locus의 수와 각 효소단백 전기영동에 적합한 buffer system은 Table 2에 표시된 바와 같다. 즉, ADH, EST, GPI, ICD, IDH, MDH 및 PEP(VL)에서는 각각 2개의 loci를, GPD 및 PGM에서는 각각 1개의 locus를, PEP(LGG)에서는 4 loci를 나타내었다. 이들 20 loci에서 관찰 분석된 allele의 수와 R_f 치, 이들의 유전자 빈도(allele frequency), 평균 변이도(average heterozygosity)는 Table 3에 계산되었다. 대부분의 loci는

양극 쪽으로 주행하였고 R_f 값은 0.04에서 1.00 범위에 속했으며, ICD-2 및 MDH-2만이 음극 쪽으로 주행하였고 R_f 값이 -0.05에서 -0.17 범위에 속했다. 대부분의 loci에서 보여진 allele들은 변이 없이 표현된 monomorphic 한 주행 양상을 보였고 표현된 분획상은 2 종간의 뚜렷한 차이를 보이는 genetic marker로서의 역할만을 했으며 눈우렁이의 EST-1, MDH-1 및 PEP(VL)-1에서만 polymorphic한 allozyme 변이를 나타내었다. 평균 heterozygosity는 일산 지역에서 채집된 눈우렁이에서는 0.050, 진도 지역에서는 0.050, 춘천 지역에서는 0.075, 김해 지역에서는 0.025이었으며, 김해 지역으로부터의 큰눈우렁이에서는 0이었다. 이상의 결과를 종합하여 눈우렁이 4 집단과 큰눈우렁이 사이의 유전적 근연 관계를 유전적 유사도(genetic identity, I)와 유전적 거리(genetic distance, D)의 값으로 계산해 보면, 유전적 유사도에 있어 눈우렁이와 큰눈우렁이 사이에서 유전적 유사도가 0.336-0.376 범위로 나타났으며 유전적 거리는 2종간에 0.978-1.091 범위로 충분한 유전적 거리를 보였다. 눈우렁이의 집단간 유전적 유사도를 비교해 보면, 일산지역과 진도지역에서는 1.00으로 동일했으며, 춘천지역과는 0.985로 역시 거의 유사하였고 김해지역과는 0.928 및 0.971로 각각의 집단간 차이는 크지 않았다. 그러나 김해지역에서 채집된 큰눈우렁이와 눈우렁이 집단간에는 각각 0.336, 0.336, 0.376 및 0.355로 나타나 종간의 뚜렷한 차이를 보였다(Table 4).

이들 2 종간의 생화학적, 유전학적 근연관계를 그들의 유전적 유사도 값을 기초로 하여 dendrogram화하여 보면, 일산산과 진도산 눈우렁이는 유전적 유사도 값이 1.00으로 동일하여 하나의 cluster로 이어졌고 이들이 다시 유전적 유사도 값 0.985에서 춘천산과 cluster되었고, 이들이 다시 유전적 유사도 값 0.943에서 김해산과 cluster되었으나, 이들 눈우렁이 4 집단이 유전적 유사도 값 0.355에서 김해산 큰눈우렁이와 cluster되어 눈우렁이의 종내 집단간 유전적 거리는 매우 가까웠으나 큰눈우렁이와의 종간 유전적 거리는 구별되어 있음을 알 수 있었다(Fig. 2).

고 찰

눈우렁이류는 우리 나 널리 분포하는 담수패류로서 대형 종이다. 이들 2종 중 눈우렁이는 형태적으로 나

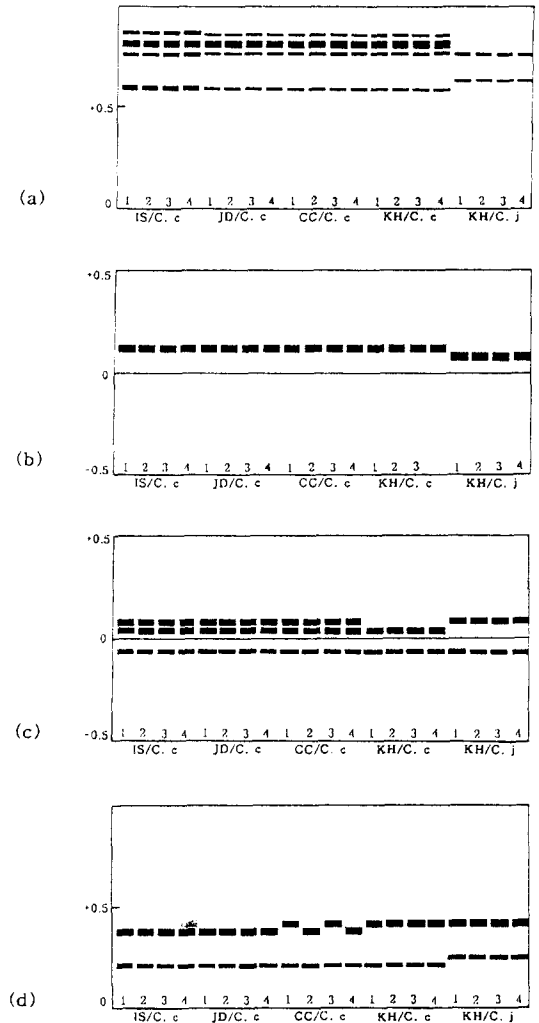


Fig. 1. Zymograms of major enzymes of Korean viviparid snails: (a) esterase, (b) glucose phosphate isomerase, (c) malate dehydrogenase and (d) peptidase (VL).

Abbreviations: IS/C.c=Ilsan population of *Cipangopaludina chinensis malleata*, JD/C.c=Jindo population of *C. chinensis malleata*, CC/C.c=Chunchon population of *C. chinensis malleata*, KH/C.c=Kimhae population of *C. chinensis malleata* and KH/C.j=Kimhae population of *C. japonica*.

Table 3. Allele frequencies and average heterozygosities at 20 loci in *Cipangopaludina chinensis malleata* and *Cipangopaludina japonica*.

Locus	Allozyme (allele/R _i)	<i>C. chinensis malleata</i>				<i>C. japonica</i>
		Ilsan	Jindo	Chunchon	Kimhae	Kimhae
ADH-1	a (0.67)	1.00	1.00	1.00	1.00	ND
	h	0	0	0	0	0
ADH-2	a (0.56)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0	0
EST-1	a (0.88)	0.50	0.50	0.50	0.50	-
	b (0.76)	0.50	0.50	0.50	0.50	1.00
	h	0.50	0.50	0.50	0.50	0
EST-2	a (0.64)	-	-	-	-	1.00
	b (0.59)	1.00	1.00	1.00	1.00	-
	h	0	0	0	0	0
GPD	a (0.19)	1.00	1.00	1.00	1.00	-
	b (0.09)	-	-	-	-	1.00
	h	0	0	0	0	0
GPI-1	a (0.11)	1.00	1.00	1.00	1.00	ND
	h	0	0	0	0	0
GPI-2	a (0.06)	ND	ND	ND	ND	1.00
	h	0	0	0	0	0
ICD-1	a (0.17)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0	0
ICD-2	a (-0.17)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0	0
IDH-1	a (0.62)	1.00	1.00	1.00	1.00	-
	b (0.49)	-	-	-	-	1.00
	h	0	0	0	0	0
IDH-2	a (0.41)	1.00	1.00	1.00	1.00	ND
	h	0	0	0	0	0
MDH-1	a (0.11)	0.50	0.50	0.50	-	1.00
	b (0.04)	0.50	0.50	0.50	1.00	-
	h	0.50	0.50	0.50	0	0
MDH-2	a (-0.05)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0	0
PGM	a (0.08)	1.00	1.00	1.00	1.00	ND
	h	0	0	0	0	0
PEP(LGG)-1	a (0.19)	1.00	1.00	1.00	1.00	ND
	h	0	0	0	0	0

PEP(LGG)-2	a (0.21)	1.00	1.00	1.00	1.00	ND
	h	0	0	0	0	0
PEP(LGG)-3	a (0.36)	ND	ND	ND	ND	1.00
	h	0	0	0	0	0
PEP(LGG)-4	a (0.44)	1.00	1.00	1.00	1.00	ND
	h	0	0	0	0	0
PEP(VL)-1	a (0.42)	-	-	0.50	1.00	1.00
	b (0.40)	1.00	1.00	0.50	-	-
	h	0	0	0.50	0	0
PEP(VL)-2	a (0.28)	-	-	-	-	1.00
	b (0.22)	1.00	1.00	1.00	1.00	-
	h	0	0	0	0	0
H _L		0.050	0.050	0.075	0.025	0

Remark : Negatively moved monomorphic bands were observed in ICD-2 and MDH-2 locus. h=heterozygosity per locus, HL=average heterozygosity in all loci, ND=not detected.

답이 동원데 비해 큰논우렁이는 각이 저 있음이 일차적 차이점이기는 하나 감별이 쉽지 않다. 또한, 논우렁이류 2종의 해부학적 특성도 연체부의 각 기관에서 큰 차이점을 찾아 볼 수 없고(Park *et al*, 1997a), 염색체의 핵형 분석에서도 두 종간에 전체 염색체 크기에 차이를 보였을 뿐 염색체 수는 같았으며 2종 모두에서 성염색체(sex chromosome)는 관찰되지 않음이 보고된 바 있다(Park *et al*, 1997b). 이와 같이 두 종은 분류학

자들에 의하여 구별되어 있음에도 형태적으로 유사성이 높기 때문에 β -분류학적 접근이 시도되어야 할 필요성이 있어 본 연구에서는 이들 논우렁이류를 전기영동하여 종간, 종내의 동위효소 변이를 보고자 한 것이다.

효소단백 전기영동에 의한 유전적 유사도(genetic identity) 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 논우렁이와 큰논우렁이의 유사도 치가 0.355이어서 이들은 Ferguson(1980)의 무척추 동물에 대한 범위 값보다 낮은 범주에 속하여, 상호 충분히 격리된 종임을 알 수 있었다.

논우렁이 4집단과 큰논우렁이 사이에서 생화학적, 유전학적 근연 관계를 그들의 유전적 유사도 값을 기초로 하여 dendrogram화하여 보면, 일산산과 진도산 논우렁이는 유전적 유사도가 1.00으로 동일하여 하나의 cluster로 이어졌고 이들이 다시 유전적 유사도 값 0.985에서 춘천산과 cluster되었고, 이들이 다시 유전적 유사도 값 0.943에서 김해산과 cluster되었으며, 이들 논우렁이 4 집단이 유전적 유사도 값 0.355에서 김해

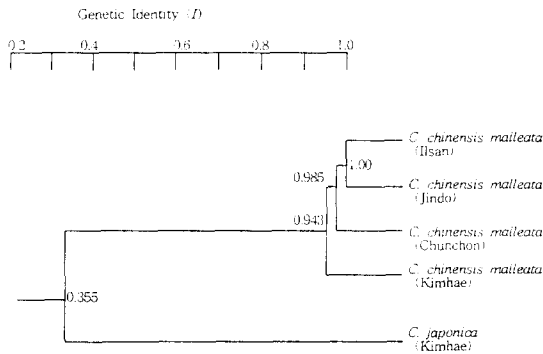


Fig. 2. A dendrogram showing genetic relationships of two species of Korean viviparid snails.

산 큰눈우렁이와 cluster되어 종내 집단간 유전적 근연 관계와 종간의 충분한 유전적 거리가 유지됨을 확인할 수 있었다. 이와 같은 효소 유전학적 상호관계는 눈우렁이과의 2종 사이의 패각 형태, 내, 외부 연체부의 해부학적 특성, 치설, 핵형 분석 등에서의 유사성이 높은데 반해(Park *et al.*, 1997a, b), 효소단백 분석으로 2종간에 충분한 유전적 거리가 있음을 알 수 있었다(유전적 유사도치; 0.355). 일면, 눈우렁이의 EST-1, MDH-1 및 PEP(VL)-1 loci에서만 약간의 heterozygous한 효소단백 분획상을 보였을 뿐 나머지 모든 loci에서 개체간에 변이 없이 monomorphic한 분획상을 보인 것은 이들 눈우렁이류가 자연 집단 내에서 충분한 유전적 안정성이 유지되는 것으로 사료된다.

결 론

담수 수계에 널리 분포하고 있으면서 수 중 흡충류(trematodes) 기생충의 중간 숙주 역할을 하고 있는 눈우렁이류(family Viviparidae) 중 한국에 서식하고 있는 눈우렁이(*C. chinensis malleata*) 및 큰눈우렁이(*C. japonica*) 2종에 대한 유전학적 근연 관계를 구명하여 이들에 대한 계통 분류의 기초를 마련하고자 효소단백 전기 영동을 시도하였다. 10종의 효소단백을 세 가지의 buffer system으로 전기 영동한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) Alcohol dehydrogenase, esterase, glucose phosphate isomerase, isocitrate dehydrogenase, iditol dehydrogenase, malate dehydrogenase 및 peptidase (VL) 등 7개 효소 분석에서는 각각 2개의 loci를 얻을 수 있었고, glycerol-3-phosphate dehydrogenase 및 phosphoglucomutase의 2개 효소 분석에서는 각각 1 locus씩을, peptidase (LGG)에서는 4개의 loci를 관찰할 수 있어 총 20개의 loci에 대한 분석이 가능하였다.

2) 대부분의 loci는 2종간에 서로 주형거리가 다른 monomorphic한 효소 분획상을 보여 각 분획상은 중간 genetic marker로서의 역할을 할 수 있었으며, allozyme 변이를 보인 locus는 EST-1, MDH-1 및 PEP(VL)-1이었다.

3) 눈우렁이 집단간의 유전적 유사도(genetic identity) 치는 0.928-1.00범위로 종내의 가까운 근연관계를 보였으며, 눈우렁이와 큰눈우렁이 사이의 유전적 유사도치는 0.355로 상호 cluster되어 눈우렁이류 2종은 상호 충분한 종간의 유전적 거리를 유지하였다.

이상의 결과로 보아 한국산 눈우렁이류 2종은 종간에 충분한 유전학적 차이를 보였으며 이들의 효소단백 전기영동 결과는 2종의 계통 분류에 좋은 기초 자료를 제공하였다.

감사의 말씀

본 연구를 수행함에 있어 여러 면으로 기술적 지원을 해 주시고 패류 채집에 시간을 할애해 주신 본 교실 황명기 선생께 심심한 사의를 표합니다.

참 고 문 헌

Ahn, Y.K., Ryang, Y.S., Chai, J.Y. and Shon, W.M. (1989) Cercarial shedding of *Echinostoma cinetorchis* and experimental infection of the cercariae to several kinds of snails. *Korean J. Parasitology*, 27(1): 203-211.

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

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

	<i>C. chinensis malleata</i>		<i>C. japonica</i>		
	Ilsan	Jindo	Chunchon	Kimhae	
<i>C. chinensis</i> (Ilsan)	-	1.00	0.985	0.928	0.336
<i>C. chinensis</i> (Jindo)	0	-	0.985	0.928	0.336
<i>C. chinensis</i> (Chunchon)	0.015	0.015	-	0.971	0.376
<i>C. chinensis</i> (Kimhae)	0.075	0.075	0.029	-	0.355
<i>C. japonica</i> (Kimhae)	1.091	1.091	0.978	1.036	-

- 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., Jung, Y.H. and Kim, K. S. (1995) Isozyme variability in three species of freshwater planorbid snails in Korea: *Gyraulus convexiusculus*, *Hipppeutis cantori* and *Segmentina hemisphaerula*. *Korean J. Malacol.*, **11**(1): 51-61.
- 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.
- 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.
- 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.
- Hwang, B.H., Lee, J.S. and Cho, D.H. (1993) The isozyme variations of *Euphaedusa fusaniensis* in Korea. *Korean J. Malacol.*, **9**(1): 39-45.
- Kim, C.H. (1986) Electrophoretic study of *Semisulcospira gottschei* in Korea. *Korean J. Malacol.*, **2**(1): 30-34.
- Kim, J.J. (1995) Isozyme variations of the genus *Semisulcospira* (Pleuroceridae: Gastropoda) in Korea. *Korean J. Malacol.*, **11**(2): 171-179.
- 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.
- Lee, J.S., Kim, S.K. and Cho, D.H. (1996) Esterase isozyme of *Semisulcospira gottschei*. *Korean J. Malacol.*, **12**(1): 39-45.
- Lee, J.S. and Kwon, O.K. (1996) Studies on the intraspecific variations on geological distributions of *Acusta despecta sieboldiana* in Korea. *Korean J. Malacol.*, **12**(1): 19-31.
- 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.
- Nei, M. (1972) Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, **106**(949): 283-292.
- Park, G.M., Jeong, K.H., Jung, Y.H. and Chung, P.R. (1997a) A comparative study of two species of Viviparidae (Mollusca: Prosobranchia): *Cipangopaludina chinensis malleata* and *C. japonica* in Korea. *Korean J. Malacol.*, **13**(1): 9-19.
- Park, G.M., Jung, Y.H. and Chung, P.R. (1997b) Cytological studies of two species of genus *Cipangopaludina* (Mesogastropoda: Viviparidae) in Korea. *Korean J. Malacol.*, **13**(1): 21-27.
- 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.
- 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.
- Wurzinger, K.H. (1980) Allozyme variation in the African freshwater snail genus *Bulinus*. Ph. D. Thesis, pp. i-viii, 1-19. Department of Zoology, University of Michigan.

Received November 23, 1997

Accepted April 11, 1998