

다슬기속 3종 (Prosobranchia: Pleuroceridae)에서의 동위효소 변이

정영현, 박갑만¹⁾, 박준우, 김재진²⁾, 민득영³⁾, 정평림

인하대학교 의과대학 기생충학교실, ¹⁾ 연세대학교 의과대학 기생충학교실,
²⁾ 배재대학교 자연과학대학 생물학과, ³⁾ 한양대학교 의과대학 기생충학교실

Allozyme Variability in Three Species of Genus *Semisulcospira* (Prosobranchia: Pleuroceridae)

Younghun Jung, Gab-Man Park¹⁾, Junewoo Park, Jae-Jin Kim²⁾, Duk-Young Min³⁾ and
Pyung-Rim Chung

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

¹⁾ Department of Parasitology, Yonsei University College of Medicine, Seoul 120-752, Korea

²⁾ Department of Biology, PaiChai University College of Natural Sciences, Taejon 302-735, Korea

³⁾ Department of Parasitology, Hanyang University College of Medicine, Seoul 133-791, Korea

ABSTRACT

A horizontal starch gel electrophoresis for enzyme proteins extracted from three Korean species and one Chinese species of *Semisulcospira* 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 GAPDH, GOT, ICDH, IDH and PEP(VL); three loci from each of three enzymes, EST, PEP(LGG) and PGDH; and five loci from GPI were observed. Most of the loci in three pleurocerid species employed showed homozygous monomorphic banding patterns and some of them were specific as genetic markers between two different species. However, EST-2, PEP(LGG-3) and PGDH-1 loci in Korean *S. libertina* and PEP(LGG-3), PGM-1 and PGM-2 loci in Chinese *S. libertina* showed polymorphic banding patterns.

Three Korean *Semisulcospira* species including *S. libertina* were more closely clustered in a dendrogram within the range of genetic identity values of 0.818-0.936, and these clusters were lineated with Chinese *S. libertina* at the value of 0.621.

Key words: Allozyme variability, *Semisulcospira*, Genetic identity

서 론

우리나라를 비롯한 중국 및 일본의 담수계에 널리 분포, 서식하고 있는 다슬기류(pleurocerids)는 사람 및 조류를 위시한 각종 척추동물에 기생하는 수 중 흡충류(trematodes)의 패류 중간숙주로서의 역할을 하고 있기 때문에 매우 중요한 공중 보건학적 의의를 갖고 있다. 특히 인체 기생 폐흡충(*Paragonimus westermani*) 및 요코가와흡충(*Metagonimus yokogawai*) 등의 제 1 패류 중간숙주의 역할을 하고 있으므로 중요시 다루어지고 있다 (Abbott, 1948; Malek, 1962; Kim *et al.*, 1984; Im *et al.*, 1986). 그럼에도 불구하고 이 다슬기류는 동종간에도 외형적으로 변이가 가장 심한 부류이어서 체계적인 계통 분류의 기초를 마련하기가 어려운 실정에 놓여있다.

일면, 종 동정에 있어 유전학적 근연 관계를 구명할 수 있는 효소단백 전기영동법이 1960년대 이래 세계적으로

Received February, 11, 1999; Accepted May 21, 1999

Corresponding author: Chung, Pyung-Rim

Tel: (82) 32-890-0981; e-mail: chungpr@dragon.inha.ac.kr

1225-3480/15102

© The Malacological Society of Korea

매우 활발히 수행되어져 왔으나(McLeod *et al.*, 1981; Rudolph 및 Burch, 1989; Hoeh, 1990), 한국산 패류 분류에 관한 보고는 그리 많지 않다. 한국산 담수패류에 대한 효소단백 전기영동 연구로는 Chung and Burch (1983)와 Chung (1984)의 연구를 들 수 있다. 그들은 한국, 일본, 대만 등지에서 채집된 왜우렁과(*Bithyniidae*) 3종에 대한 allozyme 변이를 본 바, 3 종간의 유전적 거리가 있음을 밝히게 되었고, 왜우렁(*Parafossarulus manchouricus*)의 청평 개체군만이 GOT locus에 변이가 dimeric pattern으로 특이하게 나타나 이는 간흡충(*Clonorchis sinensis*) 감염과 관련 있음을 밝힌 바 있다. Kim and Kim(1990)은 *P. manchouricus*와 *Bithynia misella*는 종간 유전거리가 인정되나 *B. kiusiuensis*는 *B. misella*와 동종이명일 가능성을 제시하였다. 특히, 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 5종을 전기영동한 바 있다. Lee *et al.*(1996)은 의암호에 서식하는 *S. gottschei*를 대상으로 esterase 동위효소 변이를 관찰한 바 있으며, 한국산 또아리물달팽이과의 3종에 대한 유전적 근연관계를 규명한 보고(Chung *et al.*, 1995)가 있었다. 또한, Chung *et al.*(1998)은 한국산 논우렁이과 2종에서의 동위효소 변이를 비교하여 2종간의 충분한 유전적 거리가 유지됨을 확인한 바 있었다. 육산패 패류에 관한 연구로는 *Euphaedusa fusaniana*의 개체군 간의 유전적 변이에 대한 비교 연구와(Hwang-Bo *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 우리나라 다슬기과(Pleuroceridae) 권패류는 지리적 변이가 심하여 이들에 대한 분류체계가 명백히 수립된 바 없으며 더욱이 전기영동 실험을 통한 유전적 근연관계를 분석한 실험이 몇몇에 불과하다.

본 연구는 우리 나라에 널리 분포하고 있으면서도 패류학적 검토가 부족한 다슬기류 3종, 즉, 좁주름다슬기(*S. tegulata*), 곳체다슬기(*S. gottschei*) 및 한국산 다슬기(*S.*

libertina)와 중국산 다슬기(*S. libertina*)에 대한 효소단백 전기영동상을 비교하여 이들의 유전학적 근연관계를 규명하고자 한 것이다.

재료 및 방법

1. 다슬기류의 채집

현재까지 우리나라에 분포되어 있으면서 외형으로 감별이 용이하지 않은 다슬기 3종 중 좁주름다슬기(*Semisulcospira tegulata*)는 진위천(1992년 9월)에서, 곳체다슬기(*S. gottschei*)는 춘천(1998년 2월)에서, 한국산 다슬기(*S. libertina*)는 금강(1990년 8월)에서 각각 채집되었고, 중국산 다슬기(*S. libertina*)는 안휘성에서 1997년 7월에 채집되어 본 실험에 사용되었다(Table 1).

2. 효소단백 전기영동

채집된 각 다슬기류는 우선 폐각을 깨끗이 닦고 염소가 제거된 수도수가 담긴 작은 비이커 내에 실험패를 넣어 흡충류 유충 및 기타 기생충 감염 여부를 확인한 다음, 비감염 개체들만을 선별하여 소화계 내용물을 제거하기 위하여 이틀간 굵긴 후, -70°C deep freezer에 보관하였다가 실험에 사용하였다. 전기영동을 위한 각 집단들의 개체 수는 20마리씩 사용했으며 크기가 비슷한 각 실험 개체들을 선정하여 폐각과 소화선을 제거한 다음, 연체부를 증류수로 2-3회 수세하여 잘게 저몄다. 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 μl씩을 10 x 3 mm 크기의 # 3 filter paper 조각에 흡입시켜 전기영동 시료로 하였다. 13% starch gel(38 g Connaught starch in 300 ml gel buffer) 상에서 3가지 다른 buffer system를 이용하여

Table 1. Snail specimens of genus *Semisulcospira* collected from Korea and China.

Species	Localities collected	Date collected	Habitat	Catalog number*
<i>S. tegulata</i>	Jinwichon, Kyunggi-do	Sept. 20, 1992	River	IUMC111-130
<i>S. gottschei</i>	Chunchon, Kangwon-do	Feb. 25, 1998	River	IUMC 151-170
<i>S. libertina</i>	Keum river, Chungnam	Aug. 10, 1990	River	IUMC 91-110
<i>S. libertina</i>	Anhsung, China	July. 20, 1997	River	IUMC 131-150

* 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
Esterase (3.1.1.1)	3	EST	LiOH
Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (1.2.1.12)	2	GAPDH	LiOH
Glucose phosphate isomerase (5.3.1.9)	5	GPI	Poulik
Glutamate oxaloacetate transaminase (2.6.1.1)	2	GOT	LiOH
Iditol dehydrogenase (1.1.1.14)	2	IDH	Poulik
Isocitrate dehydrogenase (1.1.1.42)	2	ICDH	MC
Peptidase (LGG) (3,4,11)	3	PEP(LGG)	LiOH
Peptidase (VL) (3,4,11)	2	PEP(VL)	LiOH
Phosphogluconate dehydrogenase (1.1.1.44)	3	PGDH	MC
Phosphoglucomutase (2.7.5.1)	2	PGM	MC

15가지의 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 지점에서 MC buffer system은 6 cm 되는 지점에서부터 시작하였다. 각 효소의 기질 및 발색 용액은 Shaw 및 Prasad(1970), Siciliano and Shaw(1976), Wurzinger(1980)의 방법에 따랐다.

3. 유전학적 분석

전기영동상 판독 및 대립 유전자 빈도 계산은 Ayala *et al.*(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 Rf치를 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, Ferguson, 1980) 방법으로 2 종간의 유전거리를 계산하여 dendrogram을 작성하였다.

결 과

한국산 다슬기 3종 및 중국산 다슬기 1종을 3가지 다른 buffer system으로 10가지 효소단백을 전기영동한 결과

총 26 loci에서 양호한 전기영동상을 얻을 수 있었고, 그 중 대표적인 영동상을 예거하면 Fig. 1에서와 같다. 각 분획상으로부터 계산된 locus의 수 및 각 효소단백 전기영동에 적합한 buffer system은 Table 2에 표시된 바와 같다. 즉, glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (GAPDH), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), isocitrate dehydrogenase(ICDH), iditol dehydrogenase(IDH) 및 peptidase(PEP(VL))에서는 각각 2개의 loci를, esterase(EST), peptidase(PEP(LGG)) 및 phosphogluconate dehydrogenase(PGDH)에서는 각각 3개의 loci를, glucose phosphate isomerase(GPI)에서는 5 loci를 나타내었다. 이들 26 loci에서 관찰 분석된 allele의 수 및 Rf치와 이들의 유전자 빈도(allele frequency), 평균 변이도(average heterozygosity)는 Table 3에 계산되었다.

대부분의 loci는 양극 쪽으로 주행하였고 Rf값은 0.06에서 0.77 범위에 속했으며, ICDH-2, PGDH-2, PGDH-3만이 음극 쪽으로 주행하였고 Rf값은 각각 -0.26, -0.06, -0.09이었다. 대부분의 loci에서 보여진 allele들은 변이 없이 표현된 monomorphic한 주행 양상을 보였고 표현된 분획상은 종간의 뚜렷한 차이를 보이는 genetic marker로서의 역할만을 했으며 중국산 다슬기는 한국산 다슬기류 3종 3집단에 비해 전기영동상에 많은 차이를 보였으며, 금강지역 다슬기의 EST-2, PEP(LGG-3), PGDH-1과 중국산 다슬기의 PEP(LGG-3), PGM-1, PGM-2에서만 polymorphic한 allozyme 변이를 나타내었다. 평균 heterozygosity는 진위천 지역에서의 좁주름다슬기와 춘천 지역에서의 꽃체다슬기에서는 0, 금강지역에서의 한국산 다슬기와 중국산 다슬기에서는 각각 0.05이었다.

이상의 결과를 종합하여 한국산 다슬기류 3종 3집단과 중국산 다슬기 사이의 유전적 근연 관계를 genetic identity(I)와 genetic distance(D)의 값으로 계산해 보면,

Allozyme Variability in Three Species of Genus *Semisulcospira* (Prosobranchia: Pleuroceridae)

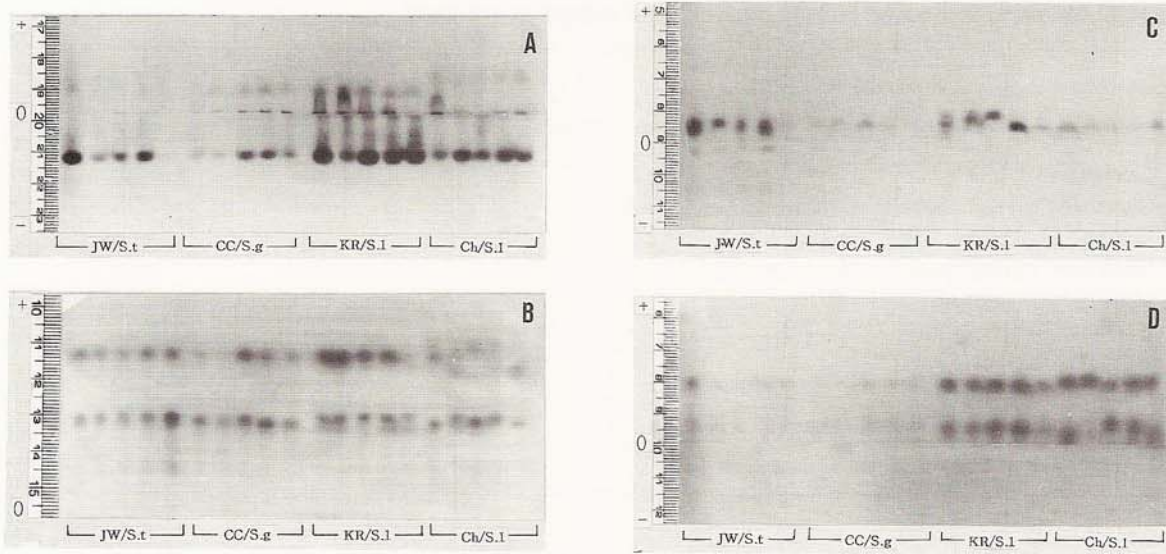


Fig. 1. Zymograms of major enzymes of three species of *Semisulcospira*: A, isocitrate dehydrogenase; B, leucine aminopeptidase(LGG); C, phosphogluconate dehydrogenase; D, phosphoglucomutase. Abbreviations: JW/S.t= Jinwicon population of *S. tegulata*, CC/S.g=Chunchon population of *S. gottschei*, KR/S.l=Keum river population of *S. libertina*, and Ch/S.l=Chinese population of *S. libertina*.

Table 3. Allele frequencies and average heterozygosities at 26 loci in three species of *Semisulcospira*.

Locus	Allozyme (allele/Rf)	<i>S. tegulata</i> (Jinwicon)	<i>S. gottschei</i> (Chunchon)	<i>S. libertina</i> (Keum River)	<i>S. libertina</i> (China)
EST-1	a (0.58)	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0
EST-2	a (0.36)	-	-	0.40	ND
	b (0.32)	1.00	1.00	0.60	ND
EST-3	a (0.10)	1.00	ND	ND	ND
	h	0			
GAPDH-1	a (0.50)	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0
GAPDH-2	a (0.18)	ND	ND	1.00	ND
	h			0	
GPI-1	a (0.34)	ND	ND	ND	1.00
	h				0
GPI-2	a (0.32)	ND	ND	ND	1.00
	h				0
GPI-3	a (0.26)	ND	1.00	1.00	ND
	h		0	0	
GPI-4	a (0.22)	1.00	1.00	1.00	ND
	h	0	0	0	
GPI-5	a (0.14)	1.00	ND	ND	ND
	h	0			
GOT-1	a (0.56)	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0

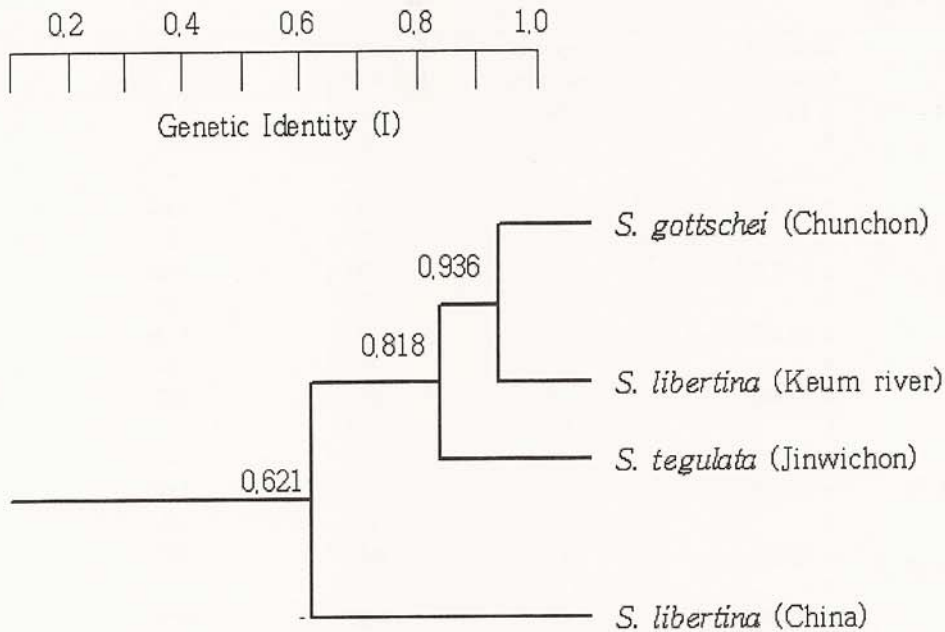


Fig. 2. A dendrogram showing genetic relationships of three species of *Semisulcospira*.

genetic identity가 0.581-0.936 범위로 나타났다. 이들 다슬기류의 genetic identity를 비교해 보면, 춘천지역과 금강지역의 꺾개다슬기와 다슬기간에는 0.936으로 거의 유사하였고 진위천 지역의 쭈름다슬기는 이들과 0.847 및 0.789로 큰 차이는 보이지 않았다. 그러나 중국산 다슬기와는 각각 0.646, 0.636 및 0.581로 나타나 종간의 뚜렷한 차이를 보였다(Table 4). 이들 3종, 4집단간의 생화학적, 유전학적 근연관계를 그들의 genetic identity 값을 기초로 하여 dendrogram화하여 보면, 춘천지역과 금강지역의 꺾개다슬기와 다슬기간에는 genetic identity 값이 0.936으로 하나의 cluster로 이어졌고, 이들이 다시 genetic identity 값 0.818에서 진위천의 쭈름다슬기와 cluster되었고, 이들이 다시 genetic identity 값 0.621에서 중국산 다슬기와 cluster되어 한국산 다슬기류의 종간 유전적 거리는 매우 가까웠으나 중국산 다슬기와의 종간 유전적 거리는 떨어져 있었음을 알 수 있었다(Fig. 2).

고 찰

다슬기류는 우리나라의 산간지역과 하천지역 등에 널리 분포하고 있으며, 이들은 인체기생 폐흡충 및 요코가와흡충의 패류 중간숙주의 역할 때문에 매우 중요시되고 있는 담수 패류군이다. Kim *et al.*(1986)은 전남 완도군 보길도에서 다슬기를 채집하여 흡충류 유미유충 감염상태를 조

사하였던 바, 요코가와흡충의 유미유충 유출을 관찰한 바 있다. 그러나 다슬기류는 동종간에도 집단간의 외형적 변이가 심하기 때문에 종의 감별이 쉽지 않음을 알 수 있다. 이와 같이 형태적 감별이 용이치 않기 때문에 본 연구에서 이들을 전기영동하여 종간, 종내의 동위효소 변이를 보고자 한 것이다. 특히, 한국산 및 중국산 다슬기(*S. libertina*)의 집단 변이를 보고자 한 것은 의의 있는 일일 것이다.

효소단백 전기영동에 의한 유전적 유사도(genetic identity) 산정에 있어 자매종(sibling species)은 그 치가 0.626(무척추동물 0.539-0.777 범위) 정도이고 특정종(distinct species)은 0.567(무척추동물 0.300-0.833 범위)로 보고된 바 있다(Ferguson, 1980). 본 연구에서 춘천지역에서의 꺾개다슬기와 금강지역의 한국산 다슬기는 유사도치가 0.936으로 매우 가까운 유사성을 갖고 있어 분류학적 재검토가 요구된다. 그러나 진위천의 쭈름다슬기와는 유사도치가 0.818로서 가까운 유사성을 갖고 있었고, 한국산 다슬기류는 중국산 다슬기와 유사도 치가 0.581-0.646 범위이어서 이들은 Ferguson의 무척추동물에 대한 특정종의 평균 범위 값에 근접됨을 알 수 있었다.

중국산 다슬기는 폐흡충 만연지역에서 채집되어 폐흡충 유미유충(microcercous cercariae)의 검출은 확인된 바 없으나 틀림없이 패류 중간숙주로서의 역할을 할 것이 유추된다. 그러나 한국산 다슬기에 대한 폐흡충 감염민도 실

Table 3. continued

Locus	Allozyme (allele/Rf)	<i>S. tegulata</i> (Jinwicon)	<i>S. gottschei</i> (Chunchon)	<i>S. libertina</i> (Keum River)	<i>S. libertina</i> (China)
GOT-2	a (0.52)	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0
ICDH-1	a (0.20)	-	-	-	1.00
	b (0.13)	1.00	1.00	1.00	-
ICDH-2	a (-0.26)	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0
IDH-1	a (0.48)	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0
IDH-2	a (0.43)	1.00	ND	ND	ND
	h	0			
PEP(LGG-1)	a (0.77)	-	-	-	1.00
	b (0.73)	1.00	1.00	1.00	-
PEP(LGG-2)	a (0.66)	ND	ND	ND	1.00
	h				0
PEP(LGG-3)	a (0.46)	1.00	1.00	0.50	0.40
	b (0.41)	-	-	0.50	0.60
PEP(VL-1)	a (0.68)	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0
PEP(VL-2)	a (0.43)	1.00	1.00	1.00	1.00
	h	0	0	0	0
PGDH-1	a (0.19)	-	-	0.40	-
	b (0.11)	1.00	1.00	0.60	1.00
PGDH-2	a (-0.06)	1.00	ND	ND	ND
	h	0			
PGDH-3	a (-0.09)	1.00	ND	ND	ND
	h	0			
PGM-1	a (0.41)	-	-	-	0.40
	b (0.37)	1.00	1.00	1.00	0.60
PGM-2	a (0.09)	1.00	1.00	1.00	0.50
	b (0.06)	-	-	-	0.50
	h	0	0	0	0.50
	- H _L	0	0	0.05	0.05

Remark: Negatively moved monomorphic bands were observed in ICDH-2, PGDH-2 and PGDH-3 loci. h-heterozygosity per locus, HL-average heterozygosity in all loci, ND=not detected.

험이 행해진 바가 없어 민도 실험(susceptibility test)에 의한 종감별을 확인할 수 없었다. 다만 유전적 유사도로 보아 별종일 가능성이 있었다.

한국산 다슬기의 EST-2, PEP(LGG-3) 및 PGDH-1 loci와 중국산 다슬기의 PEP(LGG-3), PGM-1, PGM-2에

서 heterozygous한 효소단백 분획상을 보였다.

본 연구를 통해 한국내에 분포하고 있는 곳체다슬기(*S. gottschei*)와 좁주름다슬기(*S. tegulata*), 2종이 다슬기(*S. libertina*)의 종내 2 집단간의 유사성에 비해 가까운 유사성을 보였으며, 비록 동종이라 할 지라도 지리적으로 멀리

떨어진 2집단(한국의 금강, 중국의 안휘성)에서의 다슬기 (*S. libertina*)는 오히려 유전적으로 많은 차이를 보였다. 그러므로 지리적 변이가 심한 이들 다슬기에 관한 분류학적 재검토가 요구됨을 알 수 있었다.

결 론

담수 수계에 널리 분포하고 있으면서 수 중 흡충류 (trematodes)의 중간 숙주 역할을 하고 있는 다슬기류 (pleurocerids) 중, 한국산 다슬기류 3종과 중국산 다슬기 1종에 대한 유전학적 근연 관계를 구명하여 이들에 대한 계통 분류의 기초를 마련하고자 효소단백 전기영동을 시도 하였다. 10종의 효소단백을 세 가지의 buffer system으로 전기영동한 결과를 요약하면 다음과 같다.

GAPDH, GOT, ICDH, IDH 및 PEP(VL)에서는 각각 2개의 loci를, EST, PEP(LGG) 및 PGDH에서는 각각 3개의 loci를, PGI에서는 5 loci를 나타내어 총 26개의 loci에 대한 분석이 가능하였다.

대부분의 loci는 3종간에 서로 주행거리가 다른 monomorphic한 효소 분획상을 보여 각 분획상은 종간 genetic marker로서의 역할을 할 수 있었으며, allozyme 변이를 보인 중국산 다슬기는 한국산 다슬기류 3종 3집단에 비해 전기영동상에 많은 차이를 보였으며, 금강지역의 한국산 다슬기의 EST-2, PEP(LGG-3), PGDH-1과 중국산 다슬기의 PEP(LGG-3), PGM-1, PGM-2에서 polymorphic한 allozyme 변이를 나타내었다.

한국산 다슬기류 3종 3집단 사이의 유전적 유사도 (genetic identity)치가 0.818-0.936 범위로 종간의 가까운 근연관계를 보였으며, 이들은 중국산 다슬기와 유전적 유사도치 0.621로 상호 cluster되어 상당한 유전적 거리를 유지하였다.

이상의 결과로 보아 다슬기류 3종은 종간에 유전적 차이를 보였으며, 특히 한국산 다슬기와 중국산 다슬기의 분류학적 재검토가 요망됨을 알 수 있었다.

ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by a grant (#HMP-97-M-2-0015) of the Good Health Research and Development Project, Ministry of Health and Welfare, Republic of Korea.

REFERENCES

Abbott, L.R.T. (1948) Handbook of medically important mollusks of the orient and the Western Pacific. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, **100**(3): 245-328.

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., Jung, Y.H., Park, J.W. and Jeong, K.H. (1998) Isozyme variability in two species of freshwater viviparid snails in Korea: *Cipangopaludina chinensis malleata* and *C. japonica*. *Korean J. Malacol.*, **14**(1): 33-40. [in Korean]

Chung, P.R., Jung, Y.H. and Kim, K.S. (1995) Isozyme variability in three species of freshwater planorbid snails in Korea: *Gyraulus convexiusculus*, *Hippeutis cantori* and *Segmentina hemisphaerula*. *Korean J. Malacol.*, **11**(1): 51-61. [in Korean]

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. John Willey and Sons, New York and Toronto. pp. i-ix, 1-194.

Hoeh, W.R. (1990) Phylogenetic relationships among Eastern North American *Anodonta* (Bivalvia: Unionidae). *Malacological Review*, **23**: 63-82.

Hwang-Bo, H., Lee, J.S. and Cho, D.H. (1993) The isozyme variations of *Euphaedusa fusaniana* in Korea. *Korean J. Malacol.*, **9**(1): 39-45.

Im, S.K., Joung, I.S., Chung, P.R. and Lee, K.T. (1986) Residual chlorinated hydrocarbon pesticides in *Semisulcospira* spp. (Gastropoda: Pleuroceridae) collected at the endemic and non-endemic areas of paragonimiasis in Korea.

- Korean J. Malacol.*, **2**(1): 13-25. [in Korean]
- Kim, C.H. (1986) Electrophoretic study of *Semisulcospira gottschei* in Korea. *Korean J. Malacol.*, **2**(1): 30-34. [in Korean]
- Kim, J.J. (1995) Isozyme variations of the genus *Semisulcospira* (Pleuroceridae; Gastropoda) in Korea. *Korean J. Malacol.*, **11**(2): 171-179. [in Korean]
- Kim, J.J., Chang, J.K., Chung, P.R. and Soh, C.T. (1985) A study on the intermediate hosts of *Paragonimus westermani* in Bogil Islet, Chonra-nam-do, Korea. *Korean J. Malacol.*, **1**(1): 19-23. [in Korean]
- 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. [in Korean]
- 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. [in Korean]
- Malek, E.A. (1962) Laboratory guide and notes for medical malacology. Burgess Publ. Co., Minneapolis, 154 pp.
- 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.
- 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. pp. 185-209. In: Smith, I. (Ed.), *Chromatographic and electrophoretic techniques*, Vol. II. Zone electrophoresis, Wm. Heinemann, London.
- Wurzinger, K.H. (1980) Allozyme variation in the African freshwater snail genus *Bulinus*. Ph.D. Thesis, Department of Zoology, University of Michigan. pp. i-viii, 1-19.