

깨알달팽이 속 (*Diplommatina*) 2종의 염색체연구

이준상, 권오길

강원대학교 자연과학대학 생물학과

Chromosomal Studies of Two Species of *Diplommatina* (Mesogastropoda: Diplommatinidae) in Korea

Jun-Sang Lee and Oh-Kil Kwon

Department of Biology, Kangweon National University, Chuncheon, 200-701, Korea

ABSTRACT

Comparative karyological analyses of the Korean land snail, *Diplommatina (Sinica) paxillus* and *Diplommatina (Sinica) changensis*, were performed by the Giemsa-staining and air-drying method. The karyotypes of both species were the same ($2n = 26$). However, the chromosome lengths and arm ratios, and relative chromosome lengths of the two species were distinctly different.

Keywords: Karyotype, Air-drying, *Diplommatina*.

서론

19세기말에서 20세기 초반에 이루어진 초기 연체동물 복족류에 대한 염색체 연구는 파라핀 조직절편법과 낮은 성능의 현미경 사용으로 인하여 그 결과의 정확성을 인정할 수가 없었다 (Patterson, 1967). 근래에 들어 우수한 광학 기기의 보급과 염색체 연구를 위한 실험이 개발되어 유폐류에 대한 염색체 정보를 많이 축적할 수 있었다. 또한 종간의 핵형 차이를 밝힘으로써 계통적 유연관계 파악과 핵형 진화에 관한 다양한 자료를 얻기에 이르렀다. 그러나 현존하는 연체동물 종 수의 0.5% 이하만이 염색체 수가 밝혀졌을 뿐 대부분의 종이 연구되어 있지 않다 (Patterson and Burch, 1978). 이렇듯 연체동물이 타 분류군에 비하여 염색체 연구가 미미한 이유를 Patterson

(1965, 1967, 1973) 은 연체동물이 타 동물에 비하여 분열중의 세포를 발견하기 어렵고 완성된 중기상의 염색체가 적절히 퍼져 있는 경우가 많지 않음을 들고 있다.

국내에 서식하는 육산패류는 모두 29 과 (Kwon, 1990) 로 염색체 수의 범주가 밝혀진 과는 달팽이 과 (Lee and Kwon, 1993) 와 꾀물우렁이 과 (Park and Kim, 1997) 에 지나지 않으며 모두 유폐 아강 (Pulmonata), 기안 목 (Basommatophora) 의 종을 대상으로 이루어졌다.

연구 재료인 깨알달팽이 과 (Diplommatinidae) 패류는 전세 아강 (Prosobranchia), 중복족 목 (Mesogastropoda) 에 속하며 활엽수가 많은 숲 속의 작은 돌무덤 주위에서 비교적 흔하게 발견되는 미소형 육산패류로 국내에 *Arinia*, *Diplommatina*, *Palaina*의 3 속에 7 종이 서식하는 것으로 알려져 있다 (Kwon, 1990).

본 연구는 현재까지 국내에서 밝혀지지 않은 전세 아강, 중복족 목의 깨알달팽이 과, 깨알달팽이 속 (*Diplommatina*) 2종을 대상으로 공기건조법과 일반 염색 방법을 통하여 염색체 수와 종간 핵형 차이를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험에 사용된 *Diplommatina (Sinica) paxillus* Gredler, 1881 (깨알달팽이) 과 *Diplommatina (Sinica) changensis* (Kwon and Lee, 1991) (큰깨알달팽이) 는 경기도 가평군 외서면 호명리와 강원도 정선군 신동읍 조동리에서 2000년 5월과 9월에 채집하였다. 채집된 개체들은 선별하여 증류수로 패각을 세척하고 0.05% colchicine (Sigma) 용액을 적신 거즈가 담겨 있는 1회용 배양접시에 상온에서 48시간 방치한 후 실험재료로 사용하였다. 염색체 관찰은 Lee and Kwon (1993) 의 방법에 따라 0.01% NaCl 용액으로 10분간 저장액 처리를 하였고, 200 g로 10분간 원심분리 한 다음 상

Received December 28, 2000; Accepted May 25, 2002

Corresponding author: Lee, Jun-Sang

Tel: (82) 33-250-8524 e-mail: sljun@kangwon.ac.kr
1225-3480/18104

© The Malacological Society of Korea

등액을 제거하고 Carnoy's 용액 (Methanol 3 part: Acetic acid 1 part) 을 첨가하여 세포를 고정하였다. 고정된 세포는 원심 분리 후 상등액을 제거하고 최종 volume이 10 ml이 되도록 Carnoy's 용액을 첨가하였다. 이 과정을 2회 반복한 다음, 4°C의 증류수에 보관된 slide glass에 침전된 1-2 ml의 세포 부유액을 3-4방울 적하 시킨 후 실온에서 건조하였다. 건조된 slide glass는 Giemsa (BDH, pH 6.8) 액으로 30분간 염색하였다. 완성된 염색체 표본은 Olympus-Vanox 현미경에서 1,000배의 배율로 ASA 32 micro film (Fuji) 으로 촬영하고 동일 배율로 현상, 인화하였다. 염색체 수 확인은 중기 상의 염색체를 대상으로 숫자를 파악하였다. 각각의 염색체들은 Vernial caliper (1/20 mm) 를 사용하여 염색체 전체 길이와 단완 길이를 측정하여 동원체 계수 (centromeric index) (Paris conference, 1971) 를 산출하였고 각 염색체의 상대적 길이 (relative length) (Tripathy and Das, 1980) 와 완장비 (arm ratio) 를 구하였다. 또한 핵형 분석을 위한 염색체 배열은 각 염색체 type별로 그 크기가 감소되는 순으로 하였다.

결 과

Diplommatina paxillus (깨알달팽이) 는 5 개체에서 14 개, *D. changensis* (큰깨알달팽이) 는 7 개체에서 12 개의 분열상이 관찰되어, 이중 가장 뚜렷한 중기 분열상의 염색체 세포를 이용하여 각 종의 염색체 개수를 헤아리고 핵형 분석을

실시하였다. *D. paxillus*는 13 쌍 ($2n = 26$) 의 배수염색체를 가지고 있으며 이 13 쌍의 상동염색체는 6 쌍의 중부염색체 (No. 1-6) 와 7 쌍의 차중부염색체 (No. 7-13) 로 구성되어 있었다. 중부염색체 group의 크기는 4.81-2.17 μm 이며, 차중부염색체 group은 3.70-2.56 μm 이다. 또한 중부 염색체들의 상대적 길이는 10.88-4.93% 사이이고 완장에 대한 단완의 완장 비는 1.02-1.13 범위이며, 차중부염색체들의 상대적 길이는 8.38-5.78% 사이이고 완장 비는 1.41-1.65범위이다 (Table 1).

*Diplommatina changensis*도 모두 13 쌍 ($2n = 26$)의 배수염색체를 가지고 있으며 *D. paxillus*와 같은 4 쌍의 중부염색체 (No. 1-4) 와 9 쌍의 차중부염색체 (No. 5-13) 로 구성되어 있다. 중부염색체 group의 크기는 5.27-2.81 μm 이며, 차중부염색체 group은 4.85-2.64 μm 이었다. 또한 중부염색체들의 상대적 길이는 10.04-5.71% 사이이고 완장비는 1.04-1.16 범위이며, 차중부염색체들의 상대적 길이는 9.84-5.34% 사이이고 완장 비는 1.39-1.80 범위이다 (Table 2). 이상의 결과로 깨알달팽이와 큰깨알달팽이의 핵형분석 결과 동일한 핵형을 보이고 있으나 이 2 종의 각 염색체 쌍의 크기와 완장비, 상대적 길이 등에서 중간 차이점을 인정할 수 있었다.

고 찰

국내에 서식하는 깨알달팽이 과에는 모두 3속 7종이 서식하

Table 1. Measurement of spermatogonial metaphase chromosomes in *Diplommatina paxillus*.

No.	LA (μm)	SA (μm)	TL (μm)	AR	RL (%)	CI	Type
1	2.44	2.37	4.81 \pm 0.00	1.02	10.88	49.2 \pm 0.00	M
2	2.19	2.13	4.32 \pm 0.40	1.02	9.78	49.3 \pm 0.00	M
3	2.18	1.92	4.10 \pm 0.01	1.13	9.28	46.8 \pm 0.00	M
4	2.08	1.87	3.95 \pm 0.02	1.11	8.96	47.3 \pm 0.00	M
5	1.48	1.40	2.88 \pm 0.14	1.05	6.52	48.6 \pm 0.00	M
6	1.14	1.03	2.17 \pm 0.09	1.10	4.93	47.4 \pm 0.00	M
7	2.19	1.51	3.70 \pm 0.06	1.45	8.38	40.8 \pm 0.00	S
8	2.00	1.42	3.42 \pm 0.14	1.40	7.74	41.5 \pm 0.00	S
9	2.04	1.24	3.28 \pm 0.05	1.65	7.42	37.8 \pm 0.00	S
10	1.91	1.33	3.24 \pm 0.06	1.43	7.35	41.0 \pm 0.00	S
11	1.84	1.25	3.09 \pm 0.08	1.47	7.00	40.4 \pm 0.00	S
12	1.62	1.02	2.64 \pm 0.48	1.58	5.97	38.6 \pm 0.00	S
13	1.50	1.06	2.56 \pm 0.60	1.41	5.78	41.4 \pm 0.01	S

LA: Long arm, SA: Short arm, TL: Total length, AR: Arm ratio, RL: Relative length, CI: Centromeric index, M: Metaphase chromosome, S: Submetaphase chromosome

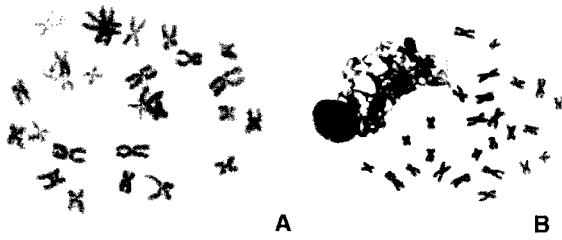


Fig. 1. Spermatogonial metaphase and karyotype. A: *Diplommatina (Sinica) paxillus*, B: *Diplommatina (Sinica) changensis*.

며 각고가 4 mm에서 2 mm에 이르는 미소형의 산지성 육산패류이다. 본 연구의 재료인 *Diplommatina (Sinica) paxillus* (깨알달팽이)의 모식산지는 중국으로 한반도와 제주도까지 분포하며 일본에는 서식하지 않는다 (Higo and Goto, 1993). 또한 *D. (S.) changensis* (큰깨알달팽이)는 Kwon and Lee (1991)에 의하여 신아종 [*Diplommatina (Sinica) paxillus changensis*]으로 발표된 종으로 한국의 내장산이 모식산지이다.

Patterson (1967)은 *Streponeura (= Prosobranchia)*의 염색체는 $n = 7-36$ 의 범위에 있고 이중 *Archeo-*

*gastropoda*는 $n = 9-21$, *Mesogastropoda*는 $n = 7-20$ 의 염색체 수 범위를 가진다고 하였다. 또한 Burch (1969)는 태평양 연안 도서 국가 육산패류의 염색체 수를 조사한 결과 *Archeogastropoda*의 *Helicinidae* 3종에서 $n = 18$, *Mesogastropoda*의 *Pupinidae* (번데기우렁이과)와 *Assimineidae* (기수우렁이과)의 3종에서는 $n = 13-17$ 의 염색체 수를 확인하였다. Ieyama and Ogaito (1998, 2000), Ieyama and Tada (1991)는 일본산 *Diplommatinidae* 24종이 모두 $2n = 26$ 의 염색체를 가지며 중부염색체와 차중부염색체로 구성되어 있음을 보고하였다. 본 연구 결과 국내의 *Diplommatina (Sinica) paxillus*와 *Diplommatina (Sinica) changensis*의 염색체 수는 $2n = 26$ 이며 중부염색체와 차중부염색체로 구성되어 일본산 *Diplommatinidae*의 결과와 일치하였으나 동일한 핵형을 보이지는 않았다.

요 약

경기도 가평군 외서면 호명리와 강원도 정선군 신동읍 조동리에서 채집된 깨알달팽이, *Diplommatina (Sinica) paxillus*와 큰깨알달팽이, *Diplommatina (Sinica) changensis*를 대상으로 공기전조법에 의한 염색체 관찰을 실시하였다. 실험결과 2종 모두 $2n = 26$ 의 염색체 수를 지니며 6쌍의 중부염색체와 7쌍의 차중부염색체로 구성된 동일한

Table 2. Measurement of spermatogonial metaphase chromosomes in *Diplommatina changensis*.

No.	LA (μm)	SA (μm)	TL (μm)	AR	RL (%)	CI	Type
1	2.69	2.58	5.27 ± 0.02	1.04	10.04	48.95 ± 0.00	M
2	2.45	2.25	4.70 ± 0.00	1.08	9.53	47.87 ± 0.54	M
3	2.36	2.03	4.39 ± 0.00	1.16	8.91	46.24 ± 0.02	M
4	1.78	1.70	3.48 ± 0.04	1.04	7.06	48.85 ± 0.29	M
5	1.68	1.56	3.24 ± 0.02	1.07	6.57	48.14 ± 0.16	M
6	1.46	1.35	2.81 ± 0.00	1.08	5.71	48.04 ± 0.41	M
7	3.02	1.83	4.85 ± 0.00	1.65	9.84	37.73 ± 0.51	S
8	2.61	1.73	4.34 ± 0.04	1.50	8.81	39.86 ± 0.27	S
9	2.52	1.69	4.21 ± 0.08	1.49	8.56	40.14 ± 0.21	S
10	2.16	1.40	3.56 ± 0.07	1.54	7.23	39.32 ± 0.51	S
11	1.81	1.30	3.11 ± 0.07	1.39	6.31	41.80 ± 0.72	S
12	1.77	1.22	2.99 ± 0.01	1.45	6.07	40.80 ± 0.10	S
13	1.70	0.94	2.64 ± 0.11	1.80	5.34	35.60 ± 0.19	S

LA: Long arm, SA: Short arm, TL: Total length, AR: Arm ratio, RL: Relative length, CI: Centromeric index, M: Metaphase chromosome, S: Submetaphase chromosome

핵형을 나타내었으나 각 염색체 쌍의 크기와 완장비, 상대적 길이 등에서 종간 차이를 발견할 수 있었다.

REFERENCES

- Burch, J.B. (1969) Cytological studies of Pacific land snails. Proc. Symp. Moll. II. Mar. Bid Assoc. India. 616-625.
- Ieyama, H. and Ogaito, H. (1998) Chromosomes and nuclear DNA contents of two subspecies in the Diplommatinidae. *Venus*, **57**(2): 133-136.
- Ieyama, H. and Ogaito, H. (2000) Chromosomes and nuclear DNA contents of some species in the Diplommatinidae. *Venus*, **59**(3): 217-224.
- Ieyama, H. and Tada, A. (1991) Chromosomal studies and the quantitative evolution of nuclear images stained with Feulgen Day in the Diplommatinidae. *Venus*, **50**(1): 68-78.
- Kwon, O.K. and Lee, J.S. (1991) New land snails in Korea. *Kor. J. Malacol.*, **7**(1): 1-11. [in Korean]
- Kwon, O.K. (1990) Illustrated Encyclopedia of Fauna and Flora of Korea. Vol. 32. Mollusca (I). Ministry of Education, Seoul, Korea. [in Korean]
- Lee, J.S. and Kwon, O.K. (1993) Chromosomal studies of eight species of Bradybaenidae in Korea. *Kor. J. Malacol.*, **9**(2): 30-43. [in Korean]
- Paris conference, (1971) Standardization in human cytogenetics. Cytogenetics. In: Birth Defects. (ed. (D. Bergsma, D.), *Orig. Art. Ser.*, **22**: 317-362.
- Park, G.M. and Kim, J.J. (1997) Chromosome study on the *Oxyloma hirasei* (Gastropoda: Succineidae) in Korea. *Kor. J. Malacol.*, **13**(2): 21-26. [in Korean]
- Patterson, C.M. and Burch, J.B. (1978) Chromosomes of pulmonate molluscs. In: Pulmonates. (ed. by Fretter, V. and Peake, J.), Academic Press, Vol. 2A: 171-217.
- Patterson, C.M. (1973) Cytogenetics of Gastropod mollusks. *Malacological Review*, **6**: 141-150.
- Patterson, C.M. (1965) The chromosomes of *Tulotoma angulata* (Streptoneura: Viviparidae). *Malacologia*, **2**(2): 259-265.
- Patterson, C.M. (1967) Chromosome number and systematics in Streptoneuran snails. *Malacologia*, **5**(2): 111-125.
- Tripathy, N.K. and Das, C.C. (1980) Chromosome in three species of Asian Catfish. *Copeia*, **4**: 916-918.