

Original article

국내 수돗물 정수장에서 발견된 깔따구 유충(파리목: 깔따구과)의 유전적-형태적 종 동정 연구

곽인실^{1,2,*} · 박재원² · 김원석² · 박기연¹

¹전남대학교 수산과학연구소, ²전남대학교 해양융합과학과

Morphological and Genetic Species Identification in the *Chironomus* Larvae (Diptera: Chironomidae) Found in Domestic Tap Water Purification Plants. *Ihn-Sil Kwak*^{1,2,*} (0000-0002-1010-3965), *Jae-Won Park*² (0000-0002-4067-7089), *Won-Seok Kim*² (0000-0003-3368-3891) and *Kiyun Park*¹ (0000-0003-2965-6970) (¹Fisheries Science Institute, Chonnam National University, Yeosu 59626, Republic of Korea; ²Department of Ocean Integrated Science, Chonnam National University, Yeosu 59626, Republic of Korea)

Abstract The *Chironomus* (Diptera: Chironomidae) is a freshwater benthic invertebrate that is an important indicator organism used for environmental pollution and water quality monitoring. In this study, we performed morphological classification and genetic species identification using the cytochrome *c* oxidase subunit I (COI) gene on mitochondrial DNA for an accurate species classification of *Chironomus* larvae found in tap water purification plants in Incheon, Korea. Twenty larvae in six water purification plants consist of four species, including twelve *Chironomus kiiensis*, six *Chironomus flaviplumus*, one *Chironomus dorsalis*, and one *Polypedilum yongsanensis* (not included Genus *Chironomus*). Morphological characteristics of each larvae were identified based on the head capsule, the mentum, the mandible, the antenna, and the claw. Based on the COI sequences of 21 individuals of 17 *Chironomus* species registered in NCBI Genbank, phylogenetic analysis indicated that the 20 individuals investigated in this study consist of the same clade with corresponding species of the high homology (99~100%) including *C. kiiensis*, *C. flaviplumus*, *C. dorsalis*, and *P. yongsanensis*. These results will be used as main classification indicator for monitoring freshwater ecosystems by providing integrated morphological and genetic information for the species identification of Korean *Chironomus*.

Key words: Chironomidae, tap water purification plant, morphological classification, mitochondrial DNA, genetic species identification

서 론

깔따구(Chironomids)는 저서성 대형무척추동물로 담수 생태계 건강성 평가에 주요한 지표생물로 다양한 환경변

화와 유해물질 노출에 대한 영향을 유전자 수준에서 개체 변화까지 연구가 이루어지고 있는 종이다(Mantilla *et al.*, 2018). 깔따구의 생활사는 알에서 유충(1~4령기), 번데기, 성충으로 이루어지며 유충시기에는 물에서 서식하고 성충은 곤충 형태로 육상생활을 한다. 생활사가 비교적 짧아 생태독성학적 연구에 널리 이용되고 있다(Planelló *et al.*, 2020; Park and Kwak, 2020; Zhang *et al.*, 2020). 깔따구 유

Manuscript received 3 August 2020, revised 2 September 2020, revision accepted 2 September 2020
* Corresponding author: Tel: +82-61-659-7148, Fax: +82-61-659-7149
E-mail: inkwak@hotmail.com /iskwak@chonnam.ac.kr

충(larvae)은 플랑크톤과 같은 부유성 1령기부터 체색이 붉게 육안으로 뚜렷하게 구분되는 4령기의 단계로 나누어지며 (Anderson, 1980), 비교적 오염에 내성이 강한 *Chironomus* 속의 유충은 혈액 속에 헤모글로빈을 함유하고 있어 체색이 붉으며 산소친화력이 높은 생리적 특성으로 저산소층인 오염지역에서도 서식할 수 있는 것으로 알려져 있다(Kwak, 2015). 성충은 모기와 유사한 형태를 나타내지만 물지 않는 곤충(Non-biting midge)이다. 또한, 수환경 저서에서 깔따구의 활동은 수층과 저서층의 에너지 순환 및 어류와 조류 등 수계 동물의 주된 먹이원으로 역할을 하고 있다(Armitage *et al.*, 1995; Schaller, 2014; Allgeier *et al.*, 2019).

깔따구과는 절지동물문 곤충강 파리목 모기아목에 속하는 분류군으로 주로 수환경 저서에 풍부하게 분포하나 하천, 호수, 해양에 이르기까지 광범위한 서식처를 나타낸다. 깔따구과는 11개 아과로 나누어지며 국내 기록된 깔따구류는 깔따구아과(Chironominae), 깃깔따구아과(Orthocladiinae), 늪깔따구아과(Tanypodinae)의 3아과 24속 43종이 보고되었다(Korea Insect Collection, 1994). 깔따구 유충의 형태적 분류는 두부(Head capsule)의 안테나 및 구강구조, 강모(setae)의 유무와 첫 번째 마디의 전측지, 그리고 마지막 마디의 후측지와 항문 세관 및 강모 등을 기준으로 전문가에 의해 이루어진다(Kwak, 2015). 하지만 깔따구 유충의 분류는 형태

적-발생적 유사성이 높아 구분이 쉽지 않은 현실이다. 이에 담수생태계에서 우점을 나타내는 깔따구 유충분류의 형태적 기준과 더불어 미토콘드리아 DNA (mitochondrial DNA)를 이용한 유전적 종 동정 정보의 보고가 더욱 필요하다.

정수장은 양질의 상수원-수질 자원을 관리하여 깨끗한 수돗물을 공급하기 위해 상수원보호구역의 감시 및 정수장의 수처리 공정과정을 통해 통합적으로 관리하고 있다. 하지만 최근 발생한 수돗물 유충 발견의 민원 발생은 화학처리 공정과정에 의한 안전한 수돗물 공급이 이루어지고 있어 생물학적인 관리지침이 없는 상태에서 발생한 것으로 향후 관리방안이 갖추어져야 하는 실정이다. 이에 본 연구에서는 국내 수돗물 정수장에서 직접적으로 채집된 깔따구류를 형태적-유전적 분류를 통해 종 동정을 수행하였다. 형태적 기준과 DNA 정보를 기반으로 정수장에 분포하는 깔따구 종 분류를 통해 수자원 관리 및 환경 모니터링을 위한 기반 정보를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 국내 수돗물 정수장 깔따구 샘플

본 연구에서 사용된 정수장 깔따구 표본 정보는 Table 1에

Table 1. *Chironomus* species collected from tap water purification plants in Incheon, Korea.

ID	Sampling date	Sampling site	Species	TL* (mm)	SL** (mm)	Volume (mm ³)
GCch1	2020-07-17	Gongchon	<i>Chironomus kiiensis</i>	8	1.0	6.3
GCch2	2020-07-17	Gongchon	<i>Chironomus kiiensis</i>	7	0.7	2.7
GCch3	2020-07-17	Gongchon	<i>Chironomus kiiensis</i>	8	1.0	6.3
GCch4	2020-07-17	Gongchon	<i>Chironomus kiiensis</i>	7	1.0	5.5
GCch5	2020-07-17	Gongchon	<i>Chironomus kiiensis</i>	8	1.0	6.3
BPCch	2020-07-17	Bupyeong Chunma Mountain	<i>Chironomus flaviplumus</i>	5	0.5	1.0
BPFch1	2020-07-18	Bupyeong 1 st plant	<i>Chironomus dorsalis</i>	7	0.1	5.5
BPFch7-1	2020-07-18	Bupyeong 1 st plant No. 7	<i>Polypedilum yongsanensis</i>	6	0.5	1.2
BPFch7-2	2020-07-18	Bupyeong 1 st plant No. 7	<i>Chironomus kiiensis</i>	6	0.5	1.2
BPFch7-3	2020-07-18	Bupyeong 1 st plant No. 7	<i>Chironomus flaviplumus</i>	8	1.0	6.3
BPFch7-4	2020-07-18	Bupyeong 1 st plant No. 7	<i>Chironomus kiiensis</i>	7	1.0	5.5
BPFch7-5	2020-07-18	Bupyeong 1 st plant No. 7	<i>Chironomus kiiensis</i>	6	0.5	1.2
BPFch7-6	2020-07-18	Bupyeong 1 st plant No. 7	<i>Chironomus flaviplumus</i>	7	1.0	5.5
BPFch7-7	2020-07-18	Bupyeong 1 st plant No. 7	<i>Chironomus kiiensis</i>	7	1.0	5.5
BPFch7-8	2020-07-18	Bupyeong 1 st plant No. 7	<i>Chironomus flaviplumus</i>	7	1.0	5.5
BPFch7-9	2020-07-18	Bupyeong 1 st plant No. 7	<i>Chironomus kiiensis</i>	7	1.0	5.5
BPFch3-1	2020-07-18	Bupyeong 3 rd plant No. 3	<i>Chironomus flaviplumus</i>	9	1.5	15.9
BPFch3-2	2020-07-18	Bupyeong 3 rd plant No. 3	<i>Chironomus kiiensis</i>	7	1.0	5.5
BPHch1-1	2020-07-18	Bupyeong Heemang river	<i>Chironomus kiiensis</i>	5	1.0	3.9
BPHch1-2	2020-07-18	Bupyeong Heemang river	<i>Chironomus flaviplumus</i>	5	0.5	1.0

*TL : Total Length, **SL: Standard Length

제시하였다. 2020년 7월 17~18일 공촌정수장을 비롯한 6개 지점에서 총 20마리를 채집하여 80% 에탄올에 보관하여 실험실로 이동하였다. 채집한 갈따구류는 실험실로 옮겨 각각 체장과 직경을 측정하였고, 부피는 갈따구의 체형을 원기둥으로 가정하여 산정하였다. 형태분류를 위해 해부하여 두부와 후측지를 이용하고, 유전적 종 동정 연구를 위해 몸통 부분은 80% 에탄올에 담아 -80°C Deep freezer (Thermo Fisher Scientific)에 보관하였다.

2. 갈따구 형태 분류

갈따구 종 동정을 위해 각 갈따구의 두부와 후측지는 형태적 관찰을 위해 CMC-10을 이용하여 슬라이드 표본을 제작하였다. 갈따구 종 동정을 위한 분류키로 활용되는 두부(Head capsule), 하순기절(Mentum), 대악(Mandible), 안테나(Antenna), 발톱(Claw)의 관찰을 위해 슬라이드 표본을 만들고, 이를 이용하여 현미경(Olympus BX51, Japan) 하에서 종 수준으로 동정하였다. 현미경 하에서 관찰은 두부는 20배로 촬영하였고, 나머지 하순기절, 대악, 안테나, 발톱은 40배로 촬영하였다.

3. Genomic DNA 추출

각 갈따구 유충의 몸통(body)에서 total genomic DNA 추출은 DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN)를 이용하여 제공되는 Protocol에 따라 수행하였다. 실험 과정은 80% 에탄올에 보관된 각 갈따구의 몸통 조직을 Dry oven에서 에탄올을 제거한 뒤 조직이 담긴 에펜돌프 튜브에 180 μL ATL buffer를 넣고 portable homogenizer를 이용하여 균질하게 갈아준다. 180 μL ATL buffer에 20 μL Proteinase K와 10 μL RNase A를 넣어 추출하고자 하는 DNA 외에 단백질과 RNA를 제거하였다. 66°C shaking water incubator에 homogenize된 조직이 포함된 튜브를 넣고 1시간 lysis 과정을 거친 후 AL buffer를 넣고 원심분리 후 상등액을 column에 취하였다. 80% 에탄올을 통해 washing 과정을 두 번 거친 후 TE buffer로 genomic DNA를 elution하였다. 추출한 DNA는 0.8% 아가로즈 젤과 나노드롭(NanoDrop ND-2000 spectrophotometer) (Implen, Munich, Germany)으로 quality와 quantity를 정량화하였다. 각 genomic DNA는 샘플지점 정보, 추출 날짜 등을 기록하여 -80°C Deep freezer (Thermo Fisher Scientific)에 보관하였다.

4. 갈따구 미토콘드리아 COI 유전자의 PCR 증폭 및 염기서열 분석

갈따구 미토콘드리아 DNA에서 COI 유전자 증폭을 위

해 Bioneer의 AccuPower[®] PCR PreMix & Master Mix를 사용하여 PCR (Polymerase chain reaction)을 수행하였다. PCR 증폭에 이용된 primer는 Forward CCOI_F: 5'-TTTCTACAAATCATAAAGATATTGG-3'와 Reverse CCOI_R: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'이다. 20 μL PCR mixture에 각각의 primer (20 mmol L^{-1})를 1 μL 씩 넣고 genomic DNA template (10 ng μL^{-1})를 5.0 μL 넣은 뒤 final volume은 멸균된 ultrapure water로 맞추어 수행하였다. PCR cycle 조건은 95°C 7분간 초기 변성 후 95°C 에서 40초 변성, 50°C 에서 40초 primer 결합, 72°C 에서 50초 합성 과정을 40회 반복하여 증폭하였으며, 반복 cycle 완료 후 최종은 72°C 에서 7분간 이루어졌다. PCR product 결과는 1.5% 아가로즈 젤을 이용한 전기 영동을 통해 시각적으로 확인하였다. 또한 증폭된 PCR products는 PCR gel purification Kit (Solgent, Daejeon, Korea)를 이용해 젤 조각(gel slices)으로부터 정제하였다. Purified PCR product는 bioneer사의 ABI3730xl DNA Analyzer 플랫폼(Macrogen, Korea)으로 Sequencing하여 염기서열을 분석하였다.

5. 데이터 분석

국내 수돗물 정수장에서 채집된 갈따구류의 COI 서열 다중배열 분석은 Gene Doc Program (version 2.6.001)을 사용하여 나타내었다. COI 유전자 서열을 통한 DNA 데이터베이스 분석은 본 연구에서 조사된 갈따구 염기서열과 근연관계가 있는 NCBI GenBank에 있는 21종의 갈따구 상동 서열(homologous sequences)을 Blastn에 배열하여 염기서열을 비교하였다. 계통유전학적 분석(phylogenetic analysis)은 Mega X software (version 10.04)을 이용하여 1000 bootstrap으로 neighbor-joining tree로 분석하였다.

결과 및 고찰

정수장에서 채집된 갈따구 유충의 두부, 하순기절, 대악, 안테나 및 발톱의 형태적 특징을 살펴보았다. 단단한 큐티클로 덮힌 두부와 전측지를 가지고 있어 기질의 하부로 이동할 수 있으며, 단단한 발톱을 사용하여 부착할 수 있는 능력을 갖추고 있으며, 구강에 위치한 단단한 대악과 하순기절도 먹이를 섭취하는 데 기여하는 구조를 갖추고 있다(Figs. 1~5). 또한 정수장의 정수장 활성탄지에서 직접적으로 채집된 갈따구의 각 부속지에는 활성탄의 흔적이 남겨져 있었다.

인천 수돗물 정수장(공촌정수장, 부평권역 천마산 배수지 유입부, 부평 1공장, 부평 1공장 7호지, 부평 3공장 3호지, 부평권역 희망천 배수지 유입부)에서 발견된 20개체



Fig. 1. Morphological characteristics in Genus *Chironomus*. (A, B): whole body, (C): ventral tubules in abdominal segment (red circle), (D): Head capsule and anterior parapods.

의 깔따구류는 *Chironomus*속에 속하는 안개무늬날개깔따구(*Chironomus kiiensis*), 노랑털깔따구(*Chironomus flaviplumus*), 등갈따구(*Chironomus dorsalis*) 3종과 *Polypedilum*속에 속하는 용산무늬깔따구(*Polypedilum yongsanensis*) 1종으로 총 4종이 본 연구에서 밝혀졌다. 정수장에서 발견된 20개체 깔따구들의 평균 전체장은 6.85 mm, 직경은 0.84 mm, 부피는 4.9 mm³으로 측정되었으며 (Table 1), 4령기에 도달한 1개체의 습중량은 약 4~5 mg, 건중량은 약 1 mg였다.

관찰된 개체들 중 안개무늬날개깔따구(*C. kiiensis*)는 전체장이 5~8 mm로 하순기절은 총 15개로 median teeth (MT) 3개, lateral teeth (LT) 6쌍으로 전체적으로 날카로운 teeth로 6LT-3MT-6LT 형태로 관찰되었다 (Fig. 2A and 2B). 대약은 4개의 inner teeth가 있으며 3개는 검은색, 1개의 옅은색의 teeth로 구성된다 (Fig. 2C). 또한 5개의 segment로 구성된 안테나와 후측지에 claw가 관찰되었다 (Fig. 2D and 2E). 노랑털깔따구(*C. flaviplumus*)는 전체장이 5~9 mm로 하순기절은 총 15개의 teeth로 median teeth 3개, lateral teeth 6쌍으로 6LT-3MT-6LT 형태로 관찰되었다 (Fig. 3A and 3B). Median teeth가 둥근 편으로 대약은 3개의 색이 짙은 inner teeth가

나타났다 (Fig. 3B and 3C). 또한 5개의 segment로 구성된 안테나와 claw가 관찰되었다 (Fig. 3D and 3E). 등갈따구(*C. dorsalis*)는 전체장이 7 mm로 median teeth 3개, lateral teeth 6쌍으로 총 15개의 teeth로 구성된 6LT-3MT-6LT 형태로 관찰되었다 (Fig. 4A and 4B). 4번째 lateral teeth가 3, 5번째 lateral teeth보다 현저히 작고 대약에는 4개의 inner teeth가 있으며 색이 다소 검은 편이었다 (Fig. 4B and 4C). 또한 5개의 segment의 안테나와 claw도 나타났다 (Fig. 4D and 4E). 용산무늬깔따구(*P. yongsanensis*)는 전체장이 6 mm로 하순기절이 총 14개로 4개의 median teeth가 있으며, 안쪽으로 5쌍의 lateral teeth가 있는 5LT-4MT-5LT의 형태로 관찰되었다 (Fig. 5A and 5B). 대약은 3개의 inner teeth가 나타나고 claw와 더불어 5개의 segment로 구성된 안테나는 segment 3, 4의 길이는 비슷하게 관찰되었다 (Fig. 5C, 5D, 5E). 깔따구 유충 동정은 경화되어 있는 두부의 안테나, 구강의 대약, 하순기절 등 다양한 부속지의 배열, 형태 등에 따라 이루어지지만 구분이 쉽지 않다 (Kwak, 2015).

공촌정수장에서는 안개무늬날개깔따구(*C. kiiensis*) 5개체 확인되었고, 부평권역 천마산 배수지 유입부에서는 노랑털깔따구(*C. flaviplumus*) 1개체, 부평 1공장에서는 등갈따구

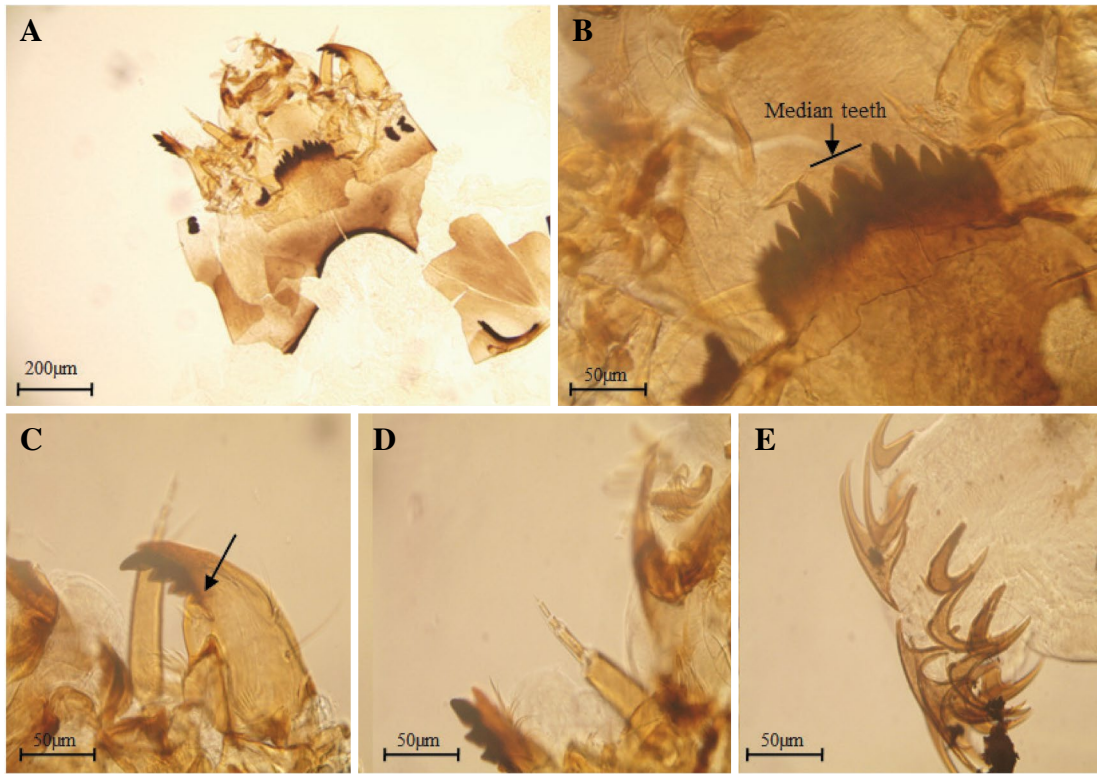


Fig. 2. Morphological classification in *Chironomus kiiensis*. (A): Head capsule, (B): Mentum, (C): Mandible, (D): Antenna, (E): Claw.

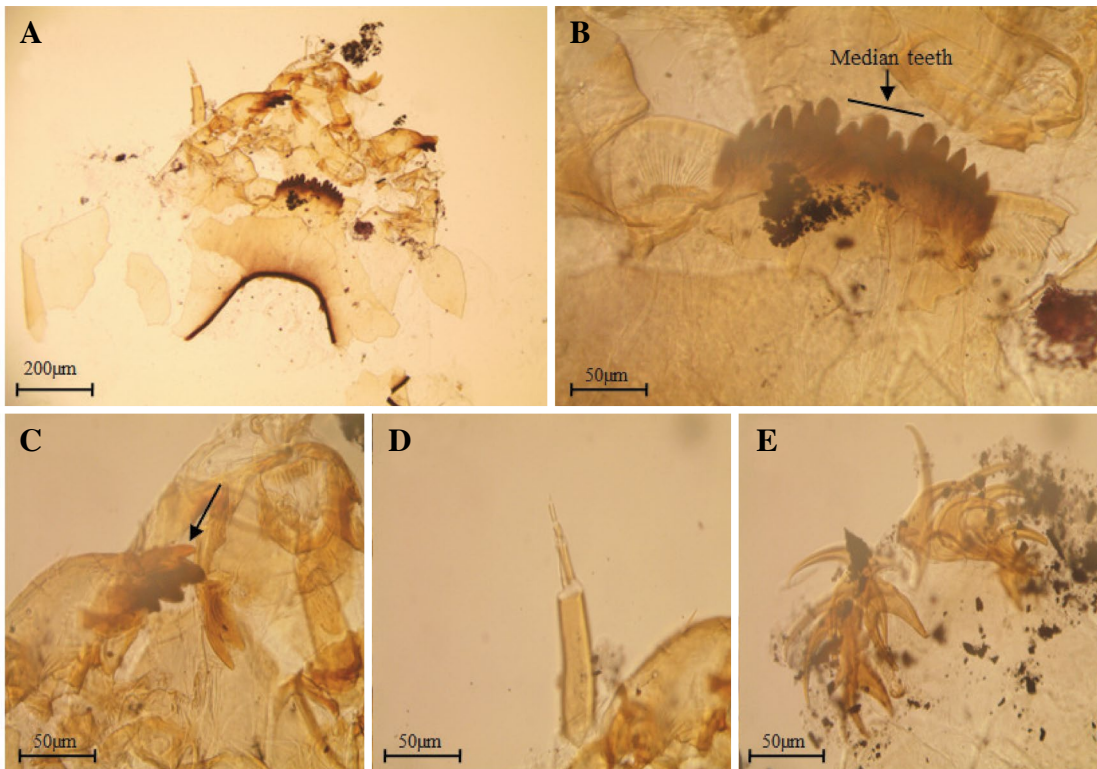


Fig. 3. Morphological classification in *Chironomus flaviplumus*. (A): Head capsule, (B): Mentum, (C): Mandible, (D): Antenna, (E): Claw.

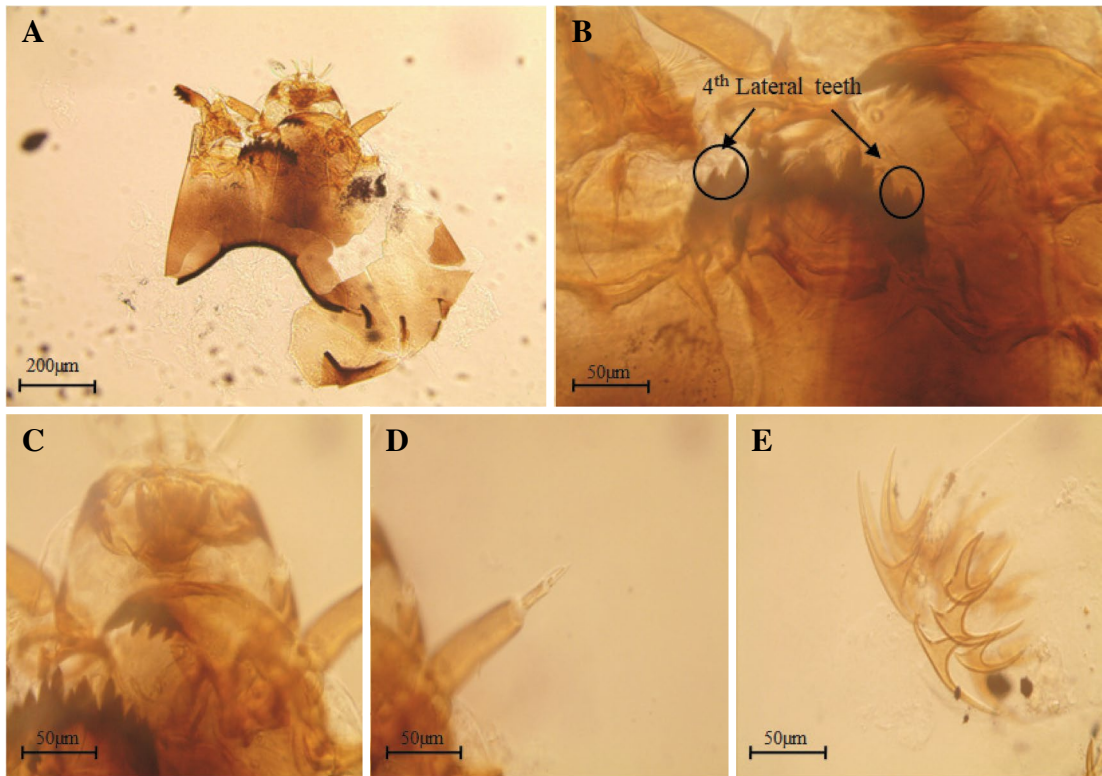


Fig. 4. Morphological classification in *Chironomus dorsalis*. (A): Head capsule, (B): Mentum, (C): Mandible, (D): Antenna, (E): Claw.

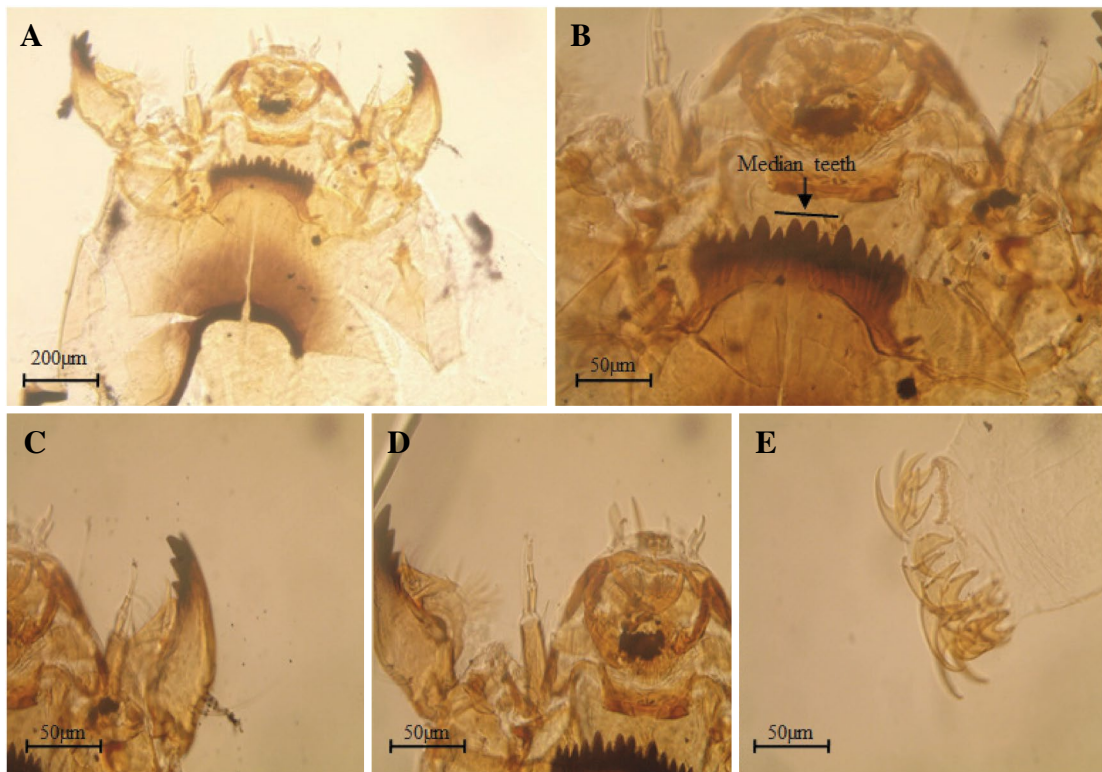


Fig. 5. Morphological classification in *Polypedium yongsanensis*. (A): Head capsule, (B): Mentum, (C): Mandible, (D): Antenna, (E): Claw.

Table 2. The number of individuals of *Chironomus* species collected from tap water purification plants in Incheon, Korea.

Species	Korean name	Gongchon	Bupyeong Chunma Mountain	Bupyeong 1 st plant	Bupyeong 1 st plant No. 7	Bupyeong 3 st plant No. 3	Bupyeong Hope river	Total
<i>Chironomus kiiensis</i>	안개무늬날개깔따구	5			5	1	1	12
<i>Chironomus flaviplumus</i>	노랑털깔따구		1		3	1	1	6
<i>Chironomus dorsalis</i>	등깔따구			1				1
<i>Polypedilum yongsanensis</i>	용산무늬깔따구				1			1
Total		5	1	1	9	2	2	20

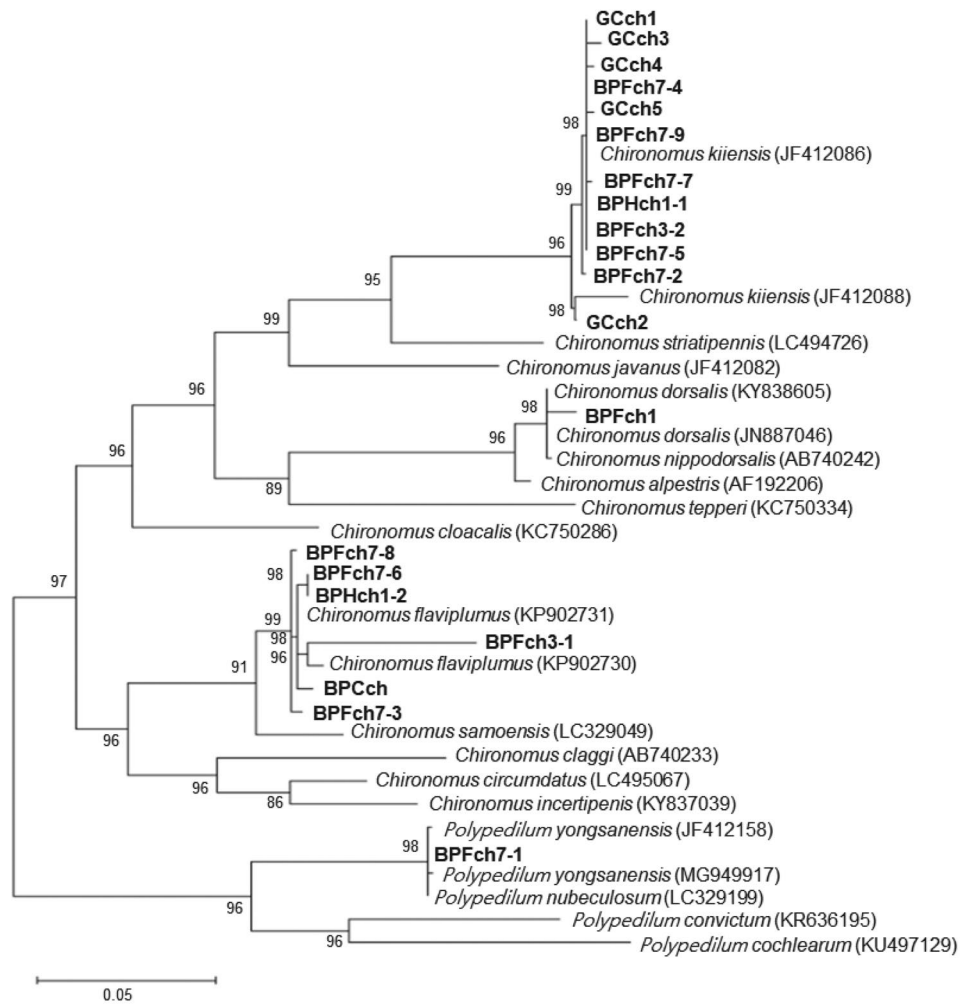


Fig. 6. Phylogenetic tree of the COI sequences in 17 species of the *Chironomus* with 20 individuals from Incheon constructed by neighbor-joining analysis (bootstrap value 1000). The numbers at the nodes are the percentage bootstrap values. The bold letter indicated to 20 individuals collected from Incheon purification plants.

(*C. dorsalis*) 1개체, 부평 1공장 7호지에서는 안개무늬날개 깔따구 (*C. kiiensis*) 5개체, 노랑털깔따구 (*C. flaviplumus*) 3개체, 용산무늬깔따구 (*P. yongsanensis*) 1개체가 확인되었

다 (Table 2). 또한 부평 3공장 3호지와 부평권역 희망천 배수지 유입부에서는 각각 안개무늬날개깔따구 (*C. kiiensis*) 1개체와 노랑털깔따구 (*C. flaviplumus*) 1개체가 확인되었다

(Table 2). 국내 수돗물 정수장에 발견된 깔따구 유충에 대한 종 동정 결과를 처음으로 제시하고 있다. 본 연구는 정수장 수환경에서 깔따구 유충의 발생에 대한 생물학적 관리 방안을 수립하기 위한 기초자료가 될 것이다.

깔따구 미토콘드리아 DNA의 COI 유전자의 부분 염기서열을 기반으로 계통진화적 분석(Phylogenetic analysis)을 수행하였다(Fig. 6). NCBI Genbank에 등록된 17종 21개체의 깔따구 COI 염기서열을 본 연구에서 조사한 인천 정수장의 20개체와 진화적 근연관계를 분석한 결과, 12개체(GCch1, GCch2, GCch3, GCch4, GCch5, BPFch7-2, BPFch7-4, BPFch7-5, BPFch7-7, BPFch7-9, BPFch3-2, and BPHch1-1)는 NCBI에 등록된 안개무늬날개깔따구(JF412086 and JF412088)와 같은 계통군을 형성하였고, 6개체(BPCch, BPFch7-3, BPFch7-6, BPFch7-8, BPFch3-1, and BPHch1-2)는 노랑털깔따구(KP902731 and KP902730)와 같은 계통군을 형성하였다. 또한 BPFch1은 등갈따구(KY838605 and JN887046)와 같은 계통군을 BPFch7-1은 용산무늬깔따구(JF412158 and MG949917)와 같은 계통군으로 나타냈다(Fig. 6). 같은 계통군 내의 염기서열 상동성은 99~100%로 확인되었다. 나아가 *Chironomus striatipennis* (LC494726)는 안개무늬날개깔따구(*C. kiiensis*)와 *Chironomus samoensis* (LC329049)는 노랑털깔따구(*C. flaviplumus*)와 *Chironomus nipodorsalis* (AB740242)는 등갈따구(*C. dorsalis*)와 *Polypedilum nubeculosum* (LC329199)는 용산무늬깔따구(*P. yongsanensis*)와 각각 가까운 근연관계를 나타냈다. 깔따구 유충의 형태적 종 동정이 유충단계에 따라 쉽지 않기에 DNA 바코딩과 같은 유전자 종 동정의 연구는 계속적으로 보고되고 있다(Tautz *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2012; Failla *et al.*, 2016; Hajibabaei *et al.*, 2019). 하지만 불충분한 깔따구류 미토콘드리아 DNA 염기서열 정보로 인해 형태적 분류 없는 유전적 종 동정은 오히려 깔따구 유충 분류의 제한과 혼란을 초래한다. 이에 본 연구에서는 인천 수돗물 정수장에서 발견된 깔따구 유충들의 종 분류를 형태적-유전적 동정을 동시에 진행하여 보고함으로써 사람의 서식공간인 생활 환경의 관리를 위해 깔따구류(Park and Kwak, 2020)의 생태적, 생리적인 특성을 파악하여 안전한 수돗물을 관리하기 위해 수생물에 대한 기초연구의 필요성을 알리고자 하였다.

적 요

깔따구(Diptera: Chironomidae)는 저서성 대형무척추동물로 환경오염 및 수질 모니터링에 이용되는 중요한 지표생

물이다. 본 연구에서는 인천 수돗물 정수장에서 발견된 깔따구류의 정밀한 종 동정을 위해 형태적 분류와 미토콘드리아 DNA에서 cytochrome *c* oxidase subunit I (COI) 유전자의 염기서열을 이용하여 분석하였다. 정수장 6곳의 20개체는 안개무늬날개깔따구(*Chironomus kiiensis*) 12개체, 노랑털깔따구(*Chironomus flaviplumus*) 6개체, 등갈따구(*Chironomus dorsalis*) 1개체, 용산무늬깔따구(*Polypedilum yongsanensis*) 1개체 등 4종으로 확인되었다. 각 깔따구 종의 형태적 특징은 두부, 하순기질, 대악, 안테나, 발톱의 형태적 특징을 살펴보았다. NCBI Genbank에 등록된 깔따구 17종 21개체의 COI 염기서열을 바탕으로 본 연구에서 조사된 20개체의 계통진화적 분석한 결과 각 4종의 깔따구 COI 염기서열은 등록된 동인 종과 높은 상동성을 보이며(99~100%) 같은 계통군(clade)으로 나타났다. 이러한 결과는 국내 깔따구의 종 동정을 위한 형태적-유전적 정보를 통합적으로 제공함으로써 담수생태계의 모니터링을 위한 주요한 정보로 활용될 것이다.

저자정보 광인실(전남대학교 교수), 박재원(전남대학교 학부생), 김원석(전남대학교 대학원생), 박기연(전남대학교 연구교수)

저자기여도 개념설정: 광인실, 방법론: 광인실 & 박기연 & 김원석, 분석: 광인실 & 박기연 & 박재원 & 김원석, 자료제공: 광인실 & 박기연 & 박재원, 자료관리: 광인실 & 박기연 & 박재원, 원고 초안작성: 박기연 & 박재원, 원고 교정: 광인실 & 박기연, 원고 편집 및 검토: 광인실 & 박기연, 과제관리: 광인실, 연구비 수주: 광인실. 모든 저자는 논문의 결과에 동의하였고, 출판될 최종본을 검토하고 동의하였습니다.

이해관계 이 논문에는 이해관계 충돌의 여지가 없음.

연구비 이 논문은 한국연구재단 중점연구사업의 지원을 받아 수행된 연구임 [NRF-2018-R1A6A1A-03024314], [NRF-2020-R1A2C-1013936].

REFERENCES

- Allgeier, S., A. Kastel and C.A. Bruhl. 2019. Adverse effects of mosquito control using *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*: reduced chironomid abundances in mesocosm, semi-field and field studies. *Ecotoxicology Environmentak Safety* **169**: 786-796.
- Anderson, R.L. 1980. Chironomidae toxicity tests - biological background and procedures. In: Buikema, A.L. Jr and J. Jr Cairns (eds.), *Aquatic invertebrate bioassays*, ASTM STP

715. American Society for Testing and Materials, PA, pp. 70-80.
- Armitage, P.D., L.C. Pinder and P. Cranston. 1995. *The Chironomidae: Biology and Ecology of Non-biting Midges*. Springer, Netherlands.
- Failla, A.J., A.A. Vasquez, P. Hudson, M. Fujimoto and J.L. Ram. 2016. Morphological identification and COI barcodes of adult flies help determine species identities of chironomid larvae (Diptera, Chironomidae). *Bulletin of Entomological Research* **106**: 34-46.
- Hajibabaei, M., T.M. Porter, M. Wright and J. Rudar. 2019. COI metabarcoding primer choice affects richness and recovery of indicator taxa in freshwater systems. *PLoS One* **14**: e0220953.
- Kim, S., K.H. Song, H.I. Ree and W. Kim. 2012. A DNA barcode library for Korean Chironomidae (Insecta: Diptera) and indexes for defining barcode gap. *Molecular Cell* **33**: 9-17.
- Kwak, I.S. 2015. Introduction to the Chironomidae as a water pollution indicator. Chonnam National University Press, pp. 13-156.
- Mantilla, J.G., L. Gomes and M.A. Cristancho. 2018. The differential expression of *Chironomus* spp genes as useful tools in the search for pollution biomarkers in freshwater ecosystems. *Briefings in Functional Genomics* **17**: 151-156.
- Park, K. and I.S. Kwak. 2020. Cadmium-induced developmental alteration and upregulation of serine-type endopeptidase transcripts in wild freshwater populations of *Chironomus plumosus*. *Ecotoxicology Environmental Safety* **192**: 110240.
- Planelló, R., O. Herrero, P. García, E.M. Beltrán, L. Llorente and P. Sánchez-Argüello. Developmental/reproductive effects and gene expression variations in *Chironomus riparius* after exposure to reclaimed water and its fortification with carbamazepine and triclosan. *Water Research* **178**: 115790.
- Schaller, J. 2014. Bioturbation/bioirrigation by *Chironomus plumosus* as main factor controlling elemental remobilization from aquatic sediments? *Chemosphere* **107**: 336-343.
- The entomological society of Korea, 1994. Korea Insect Collection. Konkuk University Press.
- Tautz, D., P. Arctander, A. Minelli, R.H. Thomas and A.P. Vogler. 2002. DNA points the way ahead in taxonomy. *Nature* **418**: 479-479.
- Zhang, L., J. Yang, H. Li, J. You, N. Chatterjee and X. Zhang. 2020. Development of the transcriptome for a sediment ecotoxicological model species, *Chironomus dilutus*. *Chemosphere* **244**: 125541.