

한국산 달팽이속 집단의 계통분류학적 연구

김강산¹, 유인성¹, 이준상²

¹국립생태원 멸종위기종복원센터 곤충·무척추동물연구팀,
²순천향대학교 한국자생동물자원활용융합연구소

Molecular phylogenetic study of the Korean population of *Acusta* (Gastropoda: Stylommatophora: Camaenidae)

Kang-San Kim¹, In-Seong Yoo¹ and Jun-Sang Lee²

¹Insect & Invertebrate Research Team, Research Center for Endangered Species, National Institute of Ecology, Yeongyang 36531, Korea

²Korea Native Animal Resource Utilization Convergence Research Institute, Soonchunhyang University, Asan 31538, Korea

ABSTRACT

The Korean *Acusta* specimens were collected from six sites: Seo-gu, Incheon; Yeongyang, Gyeongsangbuk-do; Hongdo Island, Jeollanam-do; Jodo Island, Jeollanam-do; Chuncheon, Gangwon-do; and Seogwipo, Jeju-do. It was observed that the morphological characteristics follow the typical genus *Acusta*. In order to confirm their phylogenetic position, DNA analyses were conducted targeting three regions, cytochrome c oxidase subunit 1 (CO1), 16S ribosomal RNA (16S), and internal transcribed spacer 2 (ITS2). As a result, the Korean population of *Acusta* specimens were confirmed to be of the same species. In the phylogenetic trees, it was grouped in the same clade as *Acusta redfieldi* (Reeve, 1852) and showed the lowest variation of *Acusta* group. It was also the second most closely related to *A. siebolditina* (L. Pfeiffer, 1850). Therefore, the Korean *Acusta* is regarded as *A. redfieldi* and showed closer genetic similarity to the Chinese population than to the Japanese population. In addition, in this study, the nucleotide sequences of the Korean group *Acusta* are recorded in a public database for the first time, and then a photograph of the individual and a brief morphological description are provided.

Keyword: *Acusta redfieldi*, Camaenidae, DNA sequence, Korean peninsula, terrestrial habitat

서론

달팽이속 (*Acusta* E. von Martens, 1860)의 달팽이는 주변에서 가장 흔히 발견되는 육산 연체동물로, 전국적 분포를 보인다 (Kwon, 1990). 현재 국가생물종목록 (무척추동물)에는 *Acusta* 속에 *A. despecta sieboldina* (Pfeiffer, 1850) (달팽이)와 *A. despecta despecta* (G. B. Sowerby I, 1839) (명주달팽이) 2종이 기록되어있다 (National Institute of

Biological Resources, 2022). 국내의 *Acusta* 속 달팽이는 일본 학자에 의해 동정되어 *A. despecta sieboldina* (Pfeiffer, 1850)의 학명으로 기록되었고, 현재에는 *A. siebolditina* (L. Pfeiffer, 1850)로 표기되고 있다 (MolluscaBase, 2023). 달팽이속 (*Acusta*)의 종들은 패각의 형질이 적고 변이가 거의 없어 형태적 분류에 큰 어려움이 있다 (Kuroda, 1959), 따라서 근래에는 형태적 관찰과 더불어 서식 범위, 분자계통학적 분석 등을 병행하여 유사종을 구분하고 있다. 달팽이속 (*Acusta*)은 주로 동아시아, 일부는 인도차이나반도에 분포하는 것으로 알려져 있으며, 모두 16종으로 구성되어 있다 (MolluscaBase, 2023). 이들의 서식 범위는 일부 겹치기도 하지만 대체로 중별 지리적 분포의 특이성을 보인다 (Hwang *et al.*, 2021).

최근 중국과 일본에서는 달팽이속 (*Acusta*)의 분자계통분류학을 활용한 동아시아 생물지리 연구를 진행하였다. 이들 무리는 동일 속 내의 종간 형태학적 경계가 불분명하여 핵과 미토콘드리아 DNA의 다양한 부위를 활용하여 종을 검증한 뒤

Received: September 15, 2023; Revised: September 20 2023;
Accepted: September 26, 2023

Corresponding author: Jun-Sang Lee

Tel: +82 (41) 530-1445, e-mail: sljun@kangwon.ac.kr
1225-3480/24841

This is an Open Access Article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License with permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproducibility in any medium, provided the original work is properly cited.

분석을 진행하였다. 이들 연구에서는 중국 일부 지역과 한반도 시료가 빠져있어, 추후 연구에 반드시 필요한 부분임을 언급하고 있다 (Hirano *et al.*, 2014; 2015; Hwang *et al.*, 2021; Kimura *et al.*, 2022). 이와 같이 국내 달팽이속 (*Acusta*) 집단에 대한 유전자 염기서열 정보가 확보되어 있지 않아, 이를 토대로 한 분류학적 종의 위치가 불분명한 상태이다.

육산패류는 느린 이동속도와 제한된 서식 범위를 가지고 있어 진화, 생물지리 등 응용연구에 좋은 모델 생물로 알려져 있다 (Pfenninger *et al.*, 1996; Schweiger *et al.*, 2004). 이러한 연구를 위해서는 육산패류에 대한 기반 자료, 특히 DNA 염기서열이 반드시 필요하지만, 국내 서식이 확인된 약 77종의 (National Institute of Biological Resources, 2022) 염기서열 정보는 공공데이터베이스에서 거의 찾아볼 수 없는 실정이다. 이번 연구는 달팽이속 (*Acusta*) 한국 집단의 핵과 미토콘드리아 유래 3개 부위 DNA (CO1, 16S, ITS2) 염기서열을 통한 분류학적 검증과 공공데이터베이스 보고를 목적으로 실시하였다.

재료 및 방법

1. 채집 및 동정

연구에 사용된 달팽이 시료는 인천 서구, 경북 영양, 전남 홍도, 전남 진도, 강원 춘천, 제주 서귀포시 등 국내 6개 지점에서 채집되었다 (표1). 나뭇잎, 건물벽, 돌담 등 육상환경에서 채집되었으며, 수분 유지를 위해 현장에서 휴지를 물에 적서 샘플 상자에 함께 담아 연구실로 옮겨왔다. 형태 관찰과 DNA 추출

을 위해 100% 에탄올에 치환하여 액침표본으로 제작 후 -20℃에 보관하였다. 종명은 이전 연구자료를 참고하여 확인하였고 (Lee and Kwon, 1994; Lee, 2013), 해당 연구의 달팽이 분류체계는 MolluscaBase (2013) 를 따랐다.

2. Genomic DNA 추출 및 증폭

수집된 달팽이 간 계통분류학적 유연관계는 cytochrome c oxidase subunit 1 (CO1), 16S ribosomal RNA (16S) 등 미토콘드리아 내 두개의 유전자와 핵의 internal transcribed spacer 2 (ITS2) 부위를 사용하여 추정하였다. 개체의 배발에서 조직을 일부 떼어내 LaboPass™ Tissue mini (COSMO GENTECH, Seoul, South Korea) 키트를 사용하여 제조사의 프로토콜에 따라 genomic DNA를 추출하였다. 최적화된 PCR 조건은 다음과 같다: CO1, initial denaturation at 94℃ for 2 min, followed by 40 cycles of denaturation at 94℃ for 30 s, annealing at 40℃ for 30 s, extension at 72℃ for 1 min, and a final extension at 72℃ for 2 min; 16S, initial denaturation at 94℃ for 2 min 30 s, followed by 40 cycles of denaturation at 94℃ for 45 s, annealing at 50℃ for 45 s, extension at 72℃ for 1.5 min, and a final extension at 72℃ for 2 min; 18S to 28S for ITS2, initial denaturation at 94℃ for 2 min 30 s, followed by 40 cycles of denaturation at 95℃ for 45 s, annealing at 50℃ for 45 s, extension at 72℃ for 1.5 min, and a final extension at 72℃ for 2 min. 마커 (Primer) 정보는 표2에 제시하였다.

Table 1. Information of sampling sites

No.	Sampling Site	Coordinate	Remark
1	Gajung-dong, Seo-gu, Incheon City	37°31'27"N, 126°40'12"E	IC
2	Daecheon-ri, Yeongyang-gun, Gyeongsangbuk-do	36°38'53"N 129°09'16"E	YY
3	Hongdo-ri, Shinan-gun, Jeollanam-do	34°40'55"N, 125°11'25"E	HD
4	Yeomi-ri, Jindo-gun, Jeollanam-do	34°20'09"N 126°00'02"E	JD
5	Chuncheon-si, Gangwon-do	37°51'17"N 127°47'33"E	CC
6	Seogwipo-si, Jeju-do	33°15'12"N 126°32'46"E	SG

Table 2. Information of Primers

Site	Primer	Sequence(5'-3')	Direction	Reference
CO1	LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	Forward	Folmer <i>et al.</i> , 1994
	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	Reverse	Folmer <i>et al.</i> , 1994
16S	16Sar	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	Forward	Kessing <i>et al.</i> , 1989
	16Sbr	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	Reverse	Kessing <i>et al.</i> , 1989
ITS2	18d	CACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTG	Forward	Hillis & Dixon, 1991
	28SC2R	ACTCTCTCTTCAAAGTTCTTTTC	Reverse	Vonnemann <i>et al.</i> , 2005

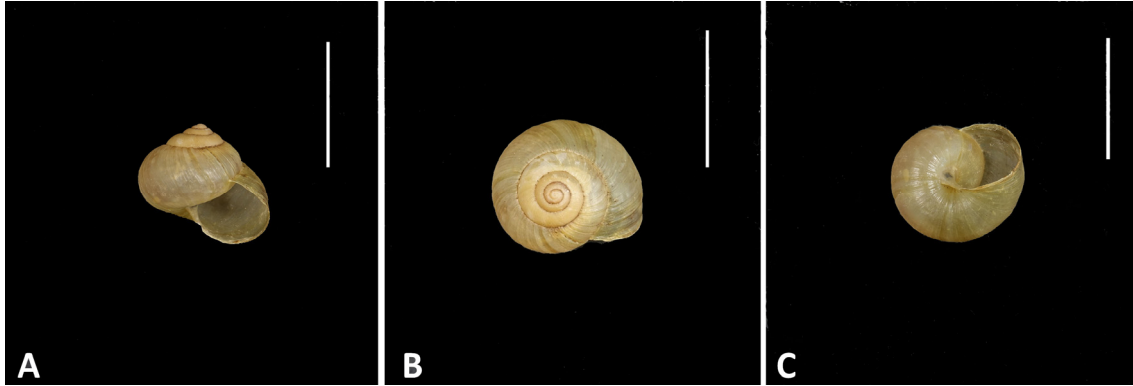


Fig. 1. Photographs of Korean *Acusta*. A, Anterior view of shell; B, Dorsal view of shell; C, Ventral view of shell. Scale bars = 20 mm.

3. 분자 계통 분석

이번 연구에서 결정된 CO1, 16S, ITS2 세 부위의 염기서열은 BioEdit (Hall, 1999) 를 사용하여 정렬 가공하였다. jModelTest 2.1.7 (Darriba *et al.*, 2012) 는 Maximum likelihood (ML) and Bayesian inference (BI) 분석에 적절한 모델을 결정하는데 사용되었으며, CO1은 TPM2uf + I (0.5770) + G (1.3140), 16S는 GTR + I (0.3650) + G (0.3700), ITS2는 TPM2uf + G (0.4570) 모델이 선택되었다. ML 및 BI 분석을 위해 MEGA 7.0 (Tamura *et al.*, 2011) 을 사용하여 FASTA 파일을 NEXUS 및 PHYLIP 파일로 변환했다. ML 분석은 PhyML (version 3.1) 을 1,000 bootstrap replicates를 적용하여 수행하였다 (Guindon *et al.*, 2010). BI 평가는 MrBayes 3.2.2 (Ronquist *et al.*, 2012) 에서 수행되었으며, 체인 길이는 1,000,000 generation, 트리는 100세대마다 샘플링, burn-in은 30%로 설정하였다. 서열 차이 (pairwise distance (p-distance)) 는 Kimura 2-parameter 거리 옵션 (Kimura, 1980) 과 함께 MEGA11 (Tamura *et al.*, 2011) 을 사용하여 계산하였다. 계통수는 FigTree v1.4.1 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>, A. Rambaut) 을 사용하여 시각화하였다.

결과 및 고찰

1. 한국산 달팽이속 달팽이 형태 (Fig. 1)

패각의 크기와 각경은 약 20 mm 이며, 패각은 전체적으로 둥글고 나뭇잎이 솟아있어 끝이 뾰족한 알 모양이다. 열은 갈색의 껍질은 얇고 반투명하며 약한 광택이 난다. 나층은 5.5층이며, 봉합이 깊다. 체층 가장자리에는 각이 없어 둥글며, 각구는 세로 약 12 mm, 가로 약 12.7 mm 정도로 비교적 크고 비스듬한 난형 모양이다. 대부분 축순이 젖혀져 제공을 덮고 있으며, 제공은 닫혀있다.

2. 분자 계통 분석

COI 계통수에서 달팽이속은 종별로 8개의 가지를 형성하였으며 (outgroup으로 설정한 *A. ravidula* 제외), 높은 ML, BI (ML, bootstrap support values $\geq 88\%$; BI, the posterior probabilities ≥ 0.99), 값을 보이며 계통수를 지지하였다. 실험에 사용된 국내 달팽이는 *A. redfieldi*와 가장 가까운 근연 관계를 보이며 같은 그룹에 포함되었으며, *A. sieboldtiana* 와는 두 번째로 가까운 근연 관계를 보이며 자매군을 형성하였으며, 그다음은 *A. assimilis* 순으로 나타났다 (Fig. 2). 특히 *A. redfieldi* 그룹에서 한국 달팽이는 중국 단둥 (Dangdon) 의 *A. redfieldi* (MN369669) 과 같은 그룹을 형성하였고, 중국, 대만 집단이 다른 한 그룹으로 분류되는 차이를 보였다. p-distance table 상에서도 제주도 개체를 제외한 한국 달팽이와 단둥 개체는 거의 동종 수준의 염기서열 유사성 (0-0.4% 차이) 을 보였으며, 오히려 제주 서귀포 개체와의 유전적 거리 (4.6-5%) 가 더 높게 측정되었다 (Table 3). 비록 bootstrap support values, posterior probabilities 값이 낮게 산출되었지만, 16S 계통수에서도 이와 비슷한 경향성을 보이며 COI 계통 분석 결과를 지지하였다 (Fig. 3). 반면, ITS2 계통수의 경우, *A. redfieldi*와 *A. sieboldtiana*가 같은 그룹을 형성하였다. 한국 집단은 별개로 그 안에서 중국 단둥 *A. redfieldi* (MN382104) 와 소그룹을 형성하였으며, 일본 집단 (LC169060, MN382063) 이 *A. sieboldtiana*와 같은 그룹으로 분류되었다 (Fig. 4).

계통수를 참고하여 유전적 거리가 가장 가까운 종과 최대 중간 유전적 거리를 보여주는 종들을 선별 후 Pairwise distance 분석을 실시하였다. 정렬된 염기서열 길이는 다음과 같다: COI, 523 bp (CG content, 36.1 %); 16S, 423 bp (CG content, 30.2 %); ITS2, 368 bp (CG content, 60.1 %). 한국 달팽이는 모두 동일종으로 판단되었고, 종내 변이율은 다음과 같이 측정되었다: COI, 0-5 %; 16S, 0-4.8 %;

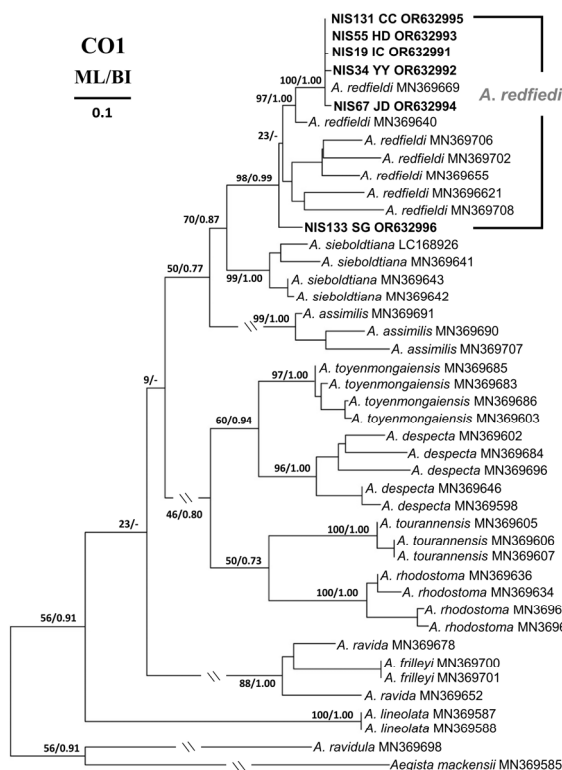


Fig. 2. Maximum likelihood and Bayesian inference analyses based on CO1 gene sequences. The new sequence provided in the present work is in bold. Numbers at nodes indicate the bootstrap values of ML out of 1000 replicates and the posterior probability of BI. The scale bar corresponds to one substitutions per 10 nucleotide positions.

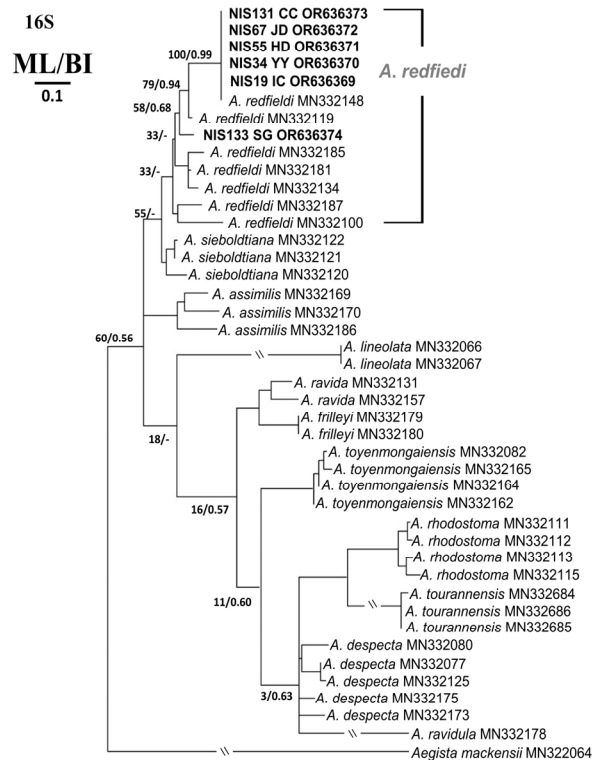


Fig. 3. Maximum likelihood and Bayesian inference analyses based on 16S gene sequences. The new sequence provided in the present work is in bold. Numbers at nodes indicate the bootstrap values of ML out of 1000 replicates and the posterior probability of BI. The scale bar corresponds to one substitutions per 10 nucleotide positions.

Table 3. Pairwise distance between several *Acusta* species CO1 gene sequences and Korean *Acusta* (523bp)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 Incheon OR632991												
2 Yeongyang OR632992	0.006											
3 Sinan (Hongdo) OR632993	0.002	0.004										
4 Jindo (Jodo) OR632994	0.006	0.008	0.004									
5 Chuncheon OR632995	0.002	0.004	0.000	0.004								
6 Seogwipo OR632996	0.048	0.050	0.046	0.050	0.046							
7 <i>A. redfieldi</i> MN369669	0.002	0.004	0.000	0.004	0.000	0.046						
8 <i>A. redfieldi</i> MN369702	0.082	0.080	0.080	0.080	0.080	0.066	0.080					
9 <i>A. siebolditina</i> LC168926	0.104	0.104	0.102	0.106	0.102	0.090	0.102	0.103				
10 <i>A. siebolditina</i> MN369643	0.093	0.093	0.091	0.095	0.091	0.079	0.091	0.101	0.035			
11 <i>A. assimilis</i> MN369707	0.170	0.167	0.167	0.164	0.167	0.169	0.167	0.158	0.174	0.171		
12 <i>A. despecta</i> MN369696	0.178	0.181	0.176	0.179	0.176	0.168	0.176	0.189	0.153	0.153	0.215	
13 <i>A. rhodostoma</i> MN369632	0.191	0.189	0.189	0.186	0.189	0.179	0.189	0.191	0.186	0.183	0.195	0.212

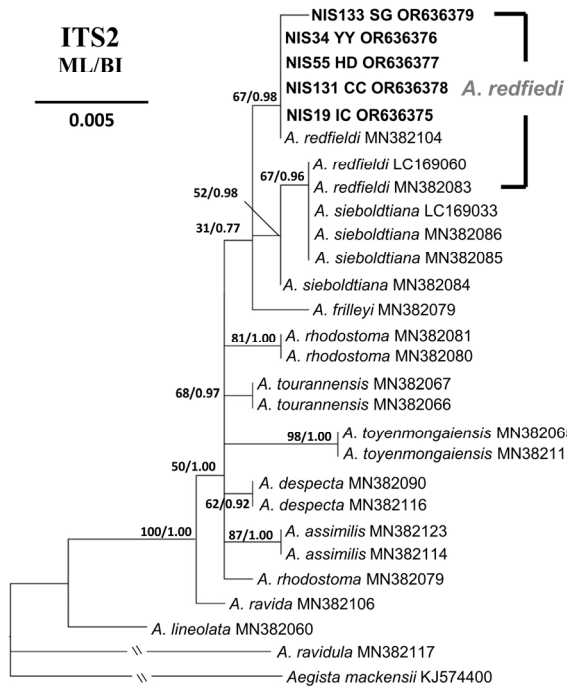


Fig. 4. Maximum likelihood and Bayesian inference analyses based on ITS2 sequences. The new sequence provided in the present work is in bold. Numbers at nodes indicate the bootstrap values of ML out of 1000 replicates and the posterior probability of BI. The scale bar corresponds to five substitutions per 1000 nucleotide positions.

ITS2, 0-0.3 %. 계통수 분석에서 한국의 달팽이와 같은 그룹으로 분류된 *A. redfieldi*와의 분석결과, 중국 단둥 집단과의 최대 변이율은 COI, 16S, ITS2에서 각각 4.6 %, 4.8 %, 0.3 %로 나타났으며, 단둥 집단 제외, *A. redfieldi* 나머지 집단

과의 변이율은 최대 COI, 8 %; 16S, 7.5 %; ITS2, 1.1 %로 측정되었다. 한국 집단을 *A. redfieldi*로 가정 후 달팽이속 중간 변이율을 측정한 결과는 다음과 같다: COI, 7.9-19.1 %; 16S, 5.1-20.6 %; ITS2, 0-1.9 % (표 3-5).

이번 연구를 통해 한국의 달팽이는 분자계통학적으로 *A. sieboldtiana* 보다 *A. redfieldi*와 더욱 가까운 근연 관계를 보여주었다 (중간 변이율: COI, 7.9-10.4 %; 16S, 5.1-7.5%; ITS2, 0-1.1 %). 이 두 종은 패각의 형질이 거의 유사하며, 서식지도 매우 가깝고 일부 겹치기도 한다 (Hwang *et al.*, 2021). *A. redfieldi*는 중국 (북부, 서부, 남서부), 대만, 일본에 분포하여 달팽이속 (*Acusta*) 육산패류 중 가장 넓은 분포역을 보여준다. 반면 *A. sieboldtiana*는 대부분 일본에 서식하고 있고 *A. redfieldi*로 분류된 개체들도 함께 출현하는 것으로 알려졌다 (Hwang *et al.*, 2021).

ITS2 분석에서 일본의 두 종 (*A. redfieldi*, *A. sieboldtiana*) 이 중국 내륙 *A. redfieldi* 보다 더 낮은 유전적 변이를 보이는 것을 확인하였고, 특히 일본에 서식하는 두 종의 ITS2 염기서열이 완벽하게 일치하여 일본 *A. redfieldi*의 계통학적 분류의 재검증을 시사하고 있다. 또한 COI, 16S 분석에서도 이 두 종이 가장 가까운 근연 관계를 보여주고 있어, 이 두 종은 형태는 물론 분자계통학적으로도 밀접하게 이어져 있다고 볼 수 있다.

이번 연구를 통해 일본과 중국 집단 사이 간격에 대한 실마리를 얻을 수 있었다. 제주도 서귀포 개체의 경우 한국을 포함한 내륙 집단과 일본 집단 모두와 차이를 보이며 두 집단의 중간종 또는 *A. redfieldi*의 다른 그룹으로서의 가능성을 보였다. 이를 확인하기 위해서는 제주도 달팽이 시료의 추가 확보는 물론, 국내 집단 간 변이율 분석 확대를 위해 울릉도를 포함한 더욱 다양한 지역의 달팽이 샘플링이 필요하다.

Table 4. Pairwise distance between several *Acusta* species 16S gene sequences and Korean *Acusta* (423bp)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 Incheon OR636369												
2 Yeongyang OR636370	0.000											
3 Sinan (Hongdo) OR636371	0.000	0.000										
4 Jindo (Jodo) OR636372	0.000	0.000	0.000									
5 Chuncheon OR636373	0.000	0.000	0.000	0.000								
6 Seogwipo OR636374	0.048	0.048	0.048	0.048	0.048							
7 <i>A. redfieldi</i> MN332148	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.048						
8 <i>A. redfieldi</i> MN332100	0.075	0.075	0.075	0.075	0.075	0.064	0.075					
9 <i>A. sieboldtiana</i> MN332120	0.061	0.061	0.061	0.061	0.061	0.051	0.061	0.075				
10 <i>A. assimilis</i> MN332186	0.108	0.108	0.108	0.108	0.108	0.092	0.108	0.111	0.094			
11 <i>A. despecta</i> MN332173	0.131	0.131	0.131	0.131	0.131	0.137	0.131	0.152	0.134	0.144		
12 <i>A. rhodostoma</i> MN332115	0.161	0.161	0.161	0.161	0.161	0.152	0.161	0.172	0.167	0.152	0.106	
13 <i>A. tourannensis</i> MN332086	0.180	0.180	0.180	0.180	0.180	0.186	0.180	0.206	0.177	0.200	0.150	0.144

Table 5. Pairwise distance between several *Acusta* species ITS2 sequences and Korean *Acusta* (368bp)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1 Incheon OR636375													
2 Yeongyang OR636376	0.000												
3 Sinan (Hongdo) OR636377	0.000	0.000											
4 Chuncheon OR636378	0.000	0.000	0.000										
5 Seogwipo OR636379	0.003	0.003	0.003	0.003									
6 <i>A. redfieldi</i> MN382104	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003								
7 <i>A. redfieldi</i> LC169060	0.008	0.008	0.008	0.008	0.011	0.008							
8 <i>A. siebolditina</i> LC169033	0.008	0.008	0.008	0.008	0.011	0.008	0.000						
9 <i>A. despecta</i> MN382090	0.008	0.008	0.008	0.008	0.011	0.008	0.011	0.011					
10 <i>A. assimilis</i> MN382114	0.011	0.011	0.011	0.011	0.014	0.011	0.014	0.014	0.008				
11 <i>A. ravidia</i> MN382106	0.011	0.011	0.011	0.011	0.014	0.011	0.014	0.014	0.008	0.011			
12 <i>A. toyenmongaiensis</i> MN382111	0.017	0.017	0.017	0.017	0.019	0.017	0.019	0.019	0.011	0.017	0.017		
13 <i>A. rhodostoma</i> N382080	0.008	0.008	0.008	0.008	0.011	0.008	0.011	0.011	0.006	0.008	0.008	0.014	
14 <i>A. tourannensis</i> N382067	0.008	0.008	0.008	0.008	0.011	0.008	0.011	0.011	0.006	0.008	0.008	0.014	0.006

결론적으로 이번 연구에서 한국의 달팽이 집단은 *A. redfieldi*와 동일종 수준의 계통분류학적 유연관계를 보임으로써 *A. siebolditiana*가 아닌 *A. redfieldi*로 판단되었다. 물론 일본 집단에서 애매모호한 결과를 보였지만, 이는 재검증이 필요한 부분이다. 또한 제주 서귀포 개체의 경우 비교적 큰 유전적 거리를 내포하고 있지만, 계통수 및 p-distance 분석에서 *A. redfieldi* 그룹에 속해 있음을 확인하였다.

현재 국내 달팽이속에는 달팽이 (*A. siebolditiana*)와 명주달팽이 (*A. despecta*) 2종이 기록되어있지만, 과거의 기록에서 명주달팽이는 찾아볼 수 없었다 (권, 1990; 이와 민, 2005; Lee, 2013; 권과 이, 2021). 과거 연구와 이번 연구를 통해서 redfieldi-siebolditiana group 과 *A. despecta*는 유전적으로 큰 차이가 있음을 확인하였고, 유전적 거리와 분포역과의 상관관계를 고려하였을 때 (Hirano *et al.*, 2014; 2015; Hwang *et al.*, 2021), *A. despecta*는 대만, 오키나와 등 동아시아 남동 도서 지방의 특산종으로 예상된다. 국내 명주달팽이 (*A. despecta*)의 서식 가능성을 배제할 수는 없지만, 달팽이속 (*Acusta*)의 외형적 형질 유사성과 생물지리학적 연구 결과를 고려하면, 현재 국내 주변에서 흔히 볼 수 있는 달팽이는 *A. despecta* (명주달팽이)가 아니며, *A. siebolditiana* (달팽이)도 아닌 *A. redfieldi* 일 가능성이 높다고 추정된다.

요 약

한국 집단 달팽이는 국내 6개 지점에서 (인천 서구, 경북 영양, 전남 홍도, 전남 진도, 강원 춘천, 제주 서귀포시) 채집되었다. 형태학적 특징은 전형적인 달팽이속 (genus *Acusta*)의

형태를 따르며, 외부 형질로는 달팽이속의 종 구분이 불가능하여, 3개의 DNA 부위를 대상으로 연구를 진행하여 이들의 분자계통학적 위치를 확인하였다. COI, 16S, ITS2 phylogenetic tree 분석을 통해 국내 집단 *Acusta*는 모두 *A. redfieldi* 동일종 임이 확인되었으며, *A. siebolditiana*와는 두 번째로 가까운 근연 관계를 보였다. 유전적 거리 역시 *A. redfieldi*와 동종 수준의 유사도를 보였으며, *A. redfieldi* 그룹 내에서는 일본 집단보다 중국 내륙 집단과 더욱 가까운 계통학적 유연관계에 있음을 확인하였다. 따라서 이번 연구 결과, 주변에서 흔하게 목격되는 달팽이는 *A. siebolditiana*보다는 *A. redfieldi* 일 가능성이 높다고 판단된다.

감사의 말씀

이 논문은 2021년도 정부 (교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업 (NRF-2021R1A6A1A03039503)입니다.

REFERENCES

- Hullis, D.M., Dixon, M.T. (1991) Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology*, **66**(4): 411-453.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., and Vrijenhoek, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular marine biology and biotechnology*, **3**(5): 294-299.
- Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M.,

- Hordijk, W., and Gascuel, O. (2010) New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, **59**: 307–321.
- Hall, T. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series. Ser.* **41**: 95–98.
- Hirano, T., Kameda, Y., Kimura, K., and Chiba, S. (2014) Substantial incongruence among the morphology, taxonomy, and molecular phylogeny of the land snails *Aegista*, *Landouria*, *Trishoplita*, and *Pseudobuliminus* (Pulmonata: Bradybaenidae) occurring in East Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **70**: 171–181.
- Hirano T, Kameda Y, Kimura K, Chiba S. (2015) Divergence in the shell morphology of the land snail genus *Aegista* (Pulmonata: Bradybaenidae) under phylogenetic constraints. *Biological Journal of the Linnean Society*, **114**: 229–241.
- Hwang, C.C., Zhou, W.C., Ger, M.J., Guo, Y., Qian, Z.X., Wang, Y.C., Tsai, C.L., and Wu, S.P. (2021) Biogeography of land snail genus *Acusta* (Gastropoda: Camaenidae): Diversification on East Asian islands. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **155**(2021): 106999, <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106999>.
- Kessing, B., Croom, H., Martin, A., McIntosh, C., McMillan, W.O., and Palumbi, S. (1989) The Simple Fool's Guide to PCR (Version 1.0). University of Hawaii, Honolulu.
- Kimura, M. (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, **16**: 111–120.
- Kimura, K., Chiba, S., Prozorova, L., and Pak, J.H. (2022) Long-distance dispersal from island to island: colonization of an oceanic island in the vicinity of the Asian continent by the land snail genus *Karatohelix* (Gastropoda: Camaenidae). *Molluscan Research*, <https://doi.org/10.1080/13235818.2022.2066454>.
- Kuroda, T. (1959) Land-shell fauna of Japan (5). *Venus*, **20**: 363–380.
- Lee, J.S. (2013) Flora and Fauna of Korea. *National Institute of Biological Resources*, **19**: 1–103.
- National Institute of Biological Resources. (2022) National List of Species of Korea. online at <https://kbr.go.kr/> accessed on (date of access).
- MolluscaBase eds. (2023) MolluscaBase. Accessed at <https://www.molluscabase.org> on 2023-09-15. doi: 10.14284/448
- Pfenninger, M., Bahl, A., and Streit, B. (1996) Isolation by distance in a population of small land snail *Trochoidea geyeri*: Evidence from direct and indirect methods. *Proceedings of the Royal Society of London*, **263**: 1211–1217.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Mark, P.V.D., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., et al., (2012) MrBayes 3.2: efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, **61**: 539–542.
- Schweiger, O., Frenzel, M., and Durka, W. (2004) Spatial genetic structure in a metapopulation of the land snail *Cepaea nemoralis* (Gastropoda: Helicidae). *Molecular Ecology*, **13**: 3645–3655.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., and Kumar, S. (2011) MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, **28**: 2731–2739.
- Tamura, K., Stecher, G., and Kumar, S. (2021) MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, **38**: 3022–3027.
- Vonnemann, V., Schrödl, M., Klussmann-Kolb, A., and Wägele, H. (2005) Reconstruction of the phylogeny of the Opisthobranchia (Mollusca: Gastropoda) by means of 18S and 28S rRNA genes sequences. *Journal of Molluscan Studies*, **71**: 113–125.
- 권오길. (1990) 한국동식물도감 제32권 동물편(연체동물I). 문교부, p. 446.
- 권오길, 이준상. (2021) 달팽이는 왜?. 지성사, p. 168.
- 이준상, 민덕기. (2005) 우렁이와 달팽이. 도서출판 한글, p. 134.

