

## 유기성 슬러지 먹이에 대한 두 근연종인 줄지렁이(*Eisenia fetida*)와 붉은줄지렁이(*Eisenia andrei*)의 생식반응 비교

배윤환<sup>at</sup>, 신현곤<sup>b</sup>

A comparison of the reproduction of two closely related species, tiger worm(*Eisenia fetida*) and red tiger worm(*Eisenia andrei*) when the organic sludge was supplied to them

Yoon-Hwan Bae<sup>at</sup>, Hyun-Gon Shin<sup>b</sup>

(Received: Aug. 4, 2021 / Revised: Sep. 9, 2021 / Accepted: Sep. 10, 2021)

**ABSTRACT:** CO I gene sequence analysis was applied to earthworms that had been used as test animals in toxicity test in Institute of Kyeongbook Agrochemicals and earthworms used as vermicomposting agents in the farm of Youngdong province to identify their species names. In terms of molecular species, the former was identified as *Eisenia fetida* and the latter was *Eisenia andrei*. Cocoons produced from *Eisenia fetida* was more than those from *Eisenia andrei*. And No. of adults developed from eggs of *Eisenia fetida* was more or less higher than those developed from eggs of *Eisenia andrei*. These results were contradictory to previous reports on two *Eisenia* spp.. When *Eisenia fetida* was crossed with *Eisenia andrei*, hybridized eggs were produced and adults were developed from those eggs, but cocoons and adults were much less than those from non-crossed *Eisenia fetida* or *Eisenia andrei*. This indicated that two *Eisenia* spp. were not distinctly different biological species because there was no complete 'reproductive isolation' between *Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*. However, this also meant that *Eisenia fetida* and *Eisenia andrei* had already been on the tract of speciation.

**Keywords:** Earthworm, Organic waste, Vermicomposting, Reproduction, CO I gene

**초 록:** CO I 유전자 염기서열을 분석한 결과 경북농약연구소에서 독성실험에 이용되고 있는 경주집단 *Eisenia*속 지렁이의 '분자생물학적 종'은 줄지렁이(*E. fetida*)로 동정되었고 유기성 폐기물 재활용에 활용되고 있는 영동집단 *Eisenia*속 지렁이의 '분자생물학적 종'은 붉은줄지렁이(*E. andrei*)로 동정되었다. 이들 두 분자생물학적 종의 유기성 폐기물에 대한 생식반응을 비교한 결과 줄지렁이 집단의 산란률과 차세대 성충으로의 성장률이 붉은줄지렁이보다 다소 높게 나타나거나 또는 두 집단 간 유의미한 차이가 없는 것으로 나타났다. 두 집단 간 교잡 후 생산되는 산란수나 차세대 성충 생산수는 같은 집단내 개체들로부터 생산된 것들보다 현저하게 낮은 것으로 나타났다. 따라서 줄지렁이 집단과 붉은줄지렁이 집단 간에 완전한 생식적 격리는 이루어지지 않았지만 이 두 집단 간에 생물학적 종분화가 진행되고 있는 것으로 판단된다.

**주제어:** 지렁이, 유기성 폐기물, 지렁이 처리, 생식, CO I 유전자

<sup>a</sup> 대전대학교 생명화학부 교수(Professor, Division of Life Science and Chemistry, Daejin University)

<sup>b</sup> 신한대학교 에너지환경공학과 교수(Professor, Department of Energy and Environmental Engineering, Shinhan University)

† Corresponding author(e-mail: [yhbae@daejin.ac.kr](mailto:yhbae@daejin.ac.kr))

## 1. 서론

지렁이는 주로 토양환경에 서식하면서 토양 중에 혼합되어 있는 유기물을 먹이로 생명활동을 유지하고 있는 무척추동물이다. 지렁이는 서식하고 있는 토양의 깊이에 따라 상대적으로 깊은 토양에 서식하는 ‘심층종’과 토양의 표층에 서식하는 ‘천층종’으로 나눌 수 있는데<sup>1)</sup> 일반적으로 천층종은 유기물 함량이 상대적으로 높은 먹이와 산소공급이 원활한 토양 환경을 선호한다. 두 엄더미에서 발견되는 지렁이 종은 전형적인 천층종이다.

천층종 중에서 분류학적으로 *Eisenia*속에 해당하는 줄지렁이(*E. fetida*)와 붉은줄지렁이(*Eisenia andre*)는 생태계내 지리적 분포 및 온습도에 대한 내성 범위가 넓고, 먹이내 유기물 함량 요구도가 높다<sup>2)</sup>. 따라서 이들 종들은 유기성 폐기물을 지렁이 먹이로 공급하여 분변토와 지렁이 생체를 생산하는 소위 ‘지렁이 처리법(vermicomposting)’ 적용에 널리 활용되는 지렁이 종이 다<sup>3,4)</sup>. 국내의 경우 현재 농수산식품부는 지렁이를 축산 분야의 ‘기타가축’으로 등록하여 지렁이 사육의 법적 지위를 부여하고 있으며, 환경부에서는 ‘지렁이 처리법’을 유기성 폐기물 재활용 기술로 공시하여 이의 활용을 권장하고 있다.

줄지렁이와 붉은줄지렁이는 ‘지렁이 처리법’에 활용되는 대표적인 두 종으로 알려져 있지만, 생물분류학적으로는 두 종이 명확하게 구분되는지의 여부가 불확실한 상황에서 연구자에 따라 두 종이 혼용되거나 한 종으로 통일(*E. fetida*)되어 기술되는 것이 현실이다<sup>5-10)</sup>.

분류학적으로 서로 다른 종(species)을 구분하는 기준은 시대와 그에 따른 철학적 배경에 따라 달라지고 다변화되어 왔는데 형태학적 종, 생물학적 종, 진화학적 종, 분자생물학적 종 등의 개념이 생물집단의 종 구분에 적용되고 있다<sup>11)</sup>. ‘형태학적 종’의 개념에서는 두 생물집단이 형태적으로 다르면 서로 다른 종의 집단이라고 판정한다. ‘생물학적 종’의 개념에서는 두 생물집단이 생식적으로 격리되어 있으면 서로 다른 종으로 구분한다. ‘진화학적 종’의 개념에서는 두 집단이 서로 다른 진화적 경로를 걷고 있다고 판단되면 서로 다른 종으로 구분한다. ‘분자생물학적 종’의 개념에서는 생물 집단의 생체를 이루고 있는 특정 단백질, DNA, RNA 등 고분자의 구조와 기능이 다르면 다

른 종으로 구분한다. 그러나 두 집단이 ‘다르다’라고 판정하는 다른 정도(degree)의 기준은 판정자의 주관에 따라 달라질 수 있기 때문에 두 생물종을 개관적으로 구분하는 것은 쉽지 않은 일이다.

줄지렁이와 붉은줄지렁이는 몸통 마디 사이의 색상과 전체적인 피부 색깔에서 차이가 있어 서로 다른 형태형(morphotype)으로 간주되고 있다<sup>12)</sup>. 그러나 지렁이를 이용한 유기성 폐기물 처리에서는 두 집단의 형태적 차이보다는 두 집단의 생식 및 성장과 관련된 생물학적 차이가 더 큰 영향을 미칠 것으로 판단된다. 따라서 유기성 폐기물 처리에 이 두 집단을 보다 효율적으로 활용하기 위해서는 두 집단이 생물학적으로 서로 다른 집단인지, 먹이인 유기성 폐기물에 대한 생식 및 성장반응은 어떠한지에 대한 정보가 요구된다.

본 연구에서는 CO I 유전자를 이용하여 두 집단의 분자생물학적 종 동정을 시도하였고, 유기성 슬러지를 먹이로 공급하면서 두 집단을 교배시켰을 때 먹이에 대한 두 집단의 생식력의 차이 및 두 집단의 생식적 격리 여부를 분석하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. CO I 유전자에 의한 지렁이 집단의 종 동정

영동의 지렁이 농장에서 사육되고 있는 지렁이 집단(영동집단)과 경주의 경북농약연구소에서 사육되고 있는 지렁이집단(경주집단)을 분양받아 환경제어실(온도조건 : 25°C, 광조건 : 24L)에서 체지슬러지를 먹이로 사육하던 지렁이 개체들을 실험재료로 사용하였다. 분류학적으로 *Eisenia* 속(genus)에 해당하는 것으로 알려져 있는 영동집단과 경주집단의 분자생물학적 종 동정을 위하여 CO I 유전자(Cytochrome c oxidase subunit I)의 DNA 염기서열을 조사하였다.

Qiagen사의 DNeasy Blood & Tissue kit 제품을 사용하여 각 집단의 개체에서 지렁이의 표피조직에서 DNA를 추출하였다. 각 개체로부터 추출된 DNA에 대하여 Bioneer사의 PCR premix, Macrogen사의 LCO1490/HCO2198 primer를 사용하여 CO I 유전자를 증폭하였다. CO I 유전자에 대한 PCR 조건은 Table 1과 같았다. PCR을 통해 얻은 결과물을 1% 아가로오즈 겔

에 전기영동하여 특이적 증폭 여부를 확인한 후, 국내의 MacroGen사에 CO I 유전자의 DNA 염기서열 분석을 의뢰하였다. 분석된 DNA 염기서열 결과물에 대하여 NCBI blasting하여 두 집단의 종을 동정하였다(배 2018 재인용)<sup>13)</sup>.

Table 1. Thermo-Cycling Profile for CO I Amplification

	Temperature	Time	No. Cycles
Denaturation	94°C	2 min	1x
Activation			
Denaturation	94°C	30 sec	
Annealing	57°C	30 sec	30x
Elongation	72°C	1 min	
Final extension	72°C	5min	1x

### 2.2. 두 집단의 생식반응 및 생식적 격리 여부

아직 짝짓기를 하지 않은 지렁이 성충을 확보하기 위하여 각 집단의 지렁이 개체군 중에서 조만간 성충이 될 것으로 기대되는 환대가 없는 지렁이 유충을 선별하여 개체사육을 하였다. 이들 유충이 성충이 되었을 때 실험재료로 사용하였다.

두 집단의 생식력을 비교하기 위하여 사육상자당 각 집단(경주, 영동)의 지렁이 성충 2개체를 사육상자에 입식하여 짝짓기를 유도하여 생식하도록 하였다(경주집단 × 경주집단, 영동집단 × 영동집단). 또한 두 집단 간 생식적 격리 정도를 조사하기 위하여 영동집단 1개체와 경주집단 1개체를 한 사육상자에 입식하여 두 집단간 짝짓기를 유도하여 이후의 생식여부를 조사하였다(경주집단 × 영동집단).

지렁이 사육상자는 높이 19cm, 직경 18cm의 원통형 플라스틱 용기를 사용하였다. 사육상자 바닥에 5cm 높이로 분변토를 깔아주고 성충 입식후 보온덮개로 사육상을 덮어 지렁이 사육상에 빛이 들어가는 것을 차단하였다. 먹이는 함수율 80%의 제지슬러지를 사용하였으며, 일주일 간격으로 20g의 먹이를 공급하였다. 사육상의 함수율이 60~80% 정도가 되도록 소형 스프레이를 이용하여 수분을 수시로 분사해 주었다. 모든 처리의 반복수는 10개였다. 지렁이 입식 58일, 112일 후에 각 사육 상자내에서 증식하여 서식하는 난포, 유충, 성충의 개체수를 조사하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. CO I 유전자에 의한 두 Eisenia속 지렁이 집단의 종 동정

DNA는 생물세포 소기관인 미토콘드리아에도 존재한다. 세포질 속에 있는 미토콘드리아 DNA는 모계로만 유전이 되기 때문에 세대가 거듭되어도 종 내 보존력이 높다. 그리고 미토콘드리아 유전자는 비교적 작은 크기로 인해 분석이 용이하며 핵유전자에 비해 높은 돌연변이율을 가지는 것으로 알려져 있어 집단 간 비교 연구에 많이 활용되고 있다<sup>14-16)</sup>. 이중 CO I 유전자는 가장 널리 이용되는 미토콘드리아 유전자이다.

경주집단, 영동집단의 지렁이의 CO I 유전자 염기서열 자료 Table 2, 3, 4, 5에 대하여 NCBI blast로 동정한 결과 경주집단의 지렁이는 줄지렁이(*Eisenia fetida*)로 동정되었다. 그러나 영동집단의 지렁이는 ‘높은 확률’로 붉은줄지렁이(*Eisenia andrei*)인 것으로 동정되었다. 전보<sup>13)</sup>에서는 영동집단 4개체에 대하여 같은 방법으로 CO I 유전자를 추출하여 NCBI blasting하였을 경우 두 개체는 붉은줄지렁이로 동정되었으나 두 개체는 붉은줄지렁이 또는 줄지렁이로 동정되는 결과를 나타낸 바 있어, 영동 집단에 대해서는 분자생물학적 종 차원의 동정이 확정적이지 않은 측면이 있었다.

후술하는 두 집단의 유기성 슬러지에 대한 생식반응 분석에서는 경주집단은 ‘줄지렁이(*E. fetida*)’로 영동집단은 ‘붉은줄지렁이(*E. andrei*)’로 명칭하였다.

### 3.2. 두 집단의 생식력 및 생식적 격리 정도

줄지렁이(*E. fetida*)와 붉은줄지렁이(*E. andrei*)의 유기성 슬러지에 대한 생식반응을 비교하기 위하여 사육상자에 1쌍의 줄지렁이(*E. fetida* × *E. fetida*), 또는 1쌍의 붉은줄지렁이(*E. andrei* × *E. andrei*)를 입식하여 제지슬러지를 먹이로 공급하면서 짝짓기 및 생식을 유도하였으며, 두 집단의 생식적 격리 정도를 알아보기 위하여 1마리의 줄지렁이, 1마리의 붉은줄지렁이를 한 개의 사육상자에 입식(*E. fetida* × *E. andrei*)하여 짝짓기 및 생식을 유도하였다. Fig. 1, 2, 3은 지렁이 입식 58일, 112일후에 각 사육상자내에 서식하는 난포수, 유충수, 성충수를 조사한 결과이다.

Table 2. CO I Gene Sequence of *Eisenia* spp. from Gyeongjoo (Forward)

CCGTGCGATCGGTGTCCAGCAGTTTAAAAGCTCTATTGGGCTGTTTATTCCTGGTTAACCCCATGAATAAATTATTTAA  
 TTCCAATATTTGTTGATTTGTTGACCAATTTATGATTTGTTGACCAAGTCCATGTGGGGTGATGGCGATCTTCTTGT  
 TATACCTGGTTTTATTGGTGGATTTGGAAATTGGTTGCCACTTATACTGGGGGCTCCAGATATCGCTTTCCACGTC  
 TAAATAACATAAGCTTCCGACTTCTGCCCCCTCTAAGTCTACTAGTCTCCTCCGCTGCAGTAGAAAAGGGGACTGG  
 GACAGGATGAACGGTATATCCCCCCTATCCAGTAATTTAGCCCATGCTGGGCCCTCATTAGACCTAGACATTTTTTCT  
 TTACACTTAGCAGGTGCTTCCATTCGAGCAATTAATTTTATTACCACAGTAATCAACATACGATGAAGGGGGC  
 TTCGACTAGAACGAATCCCCTATTTGTTGAGCAGTAGTTATTACAGTAGTACTTCTACTTCTATCCTTACCAGTCTT  
 GCTGGGGCTACTATACTTTAACAGATCGAAACCTCAACACCTCATTCTTTGATCCTGCTGGTGGTGGGGGATCCC  
 ATTCTATACCAACATCTATTTTGATTTTTGGTCACCTGGGAAGATTTAAACGG

Table 3. CO I Gene Sequence of *Eisenia* spp. from Gyeongjoo (Reverse)

AAAATATCGTTGATGATTTTTGTTGGACAACACACCATCCGCAGGATCGTAGAATGAGGTGTTGATGGTTTCGATCTGCT  
 ACTAGTATAGTTGATTTTTTCGGTCCGATGTGAGTTTAAATTGAAGTTGAAGTACTACTGTCATAACTACTGCTTCTATG  
 AATAGGGGAATTCGTTCTAGTCTGAAGCCCCCTTTCATCGCATGTTGATTTTTTTGGTACACCTATAGAATTTAATCCG  
 AGAATTGAGGAAGCACCTGCTAAGTGTAAGAAAAAATGGCTAGGTCTACTGAGGGCCAGCATGGGCTAAATTA  
 GGATAGGGGGGATATACCGTTCATCCTGTCCAGCCCCCTTTTCTACTGCAGCGGAGGAGACTAGTAGAATTAGAGA  
 GGGGGGCAGAAGTCAGAAGCTTATGTTATTTAGACGTGGAAAGCTATATCTGGAGCCCCAGTATAAGAGGTAGCA  
 ACCAATTTCCAAATCCACCAATAAAAACAGGTATAACAAGAAAGAAAATTATCACGAATGCATGGGCTGTGACAATT  
 GTATTGTATAATTGGTCACTTCTAGGAAGGCACCTGGTTGTCTTAGCTCAATTCGAATAAGGAGCCTCATAACAGCAC  
 CTACTATTCCTGCCCAAACCCCAAGAATAAAAATAAGAGTTCCAATATCTTTATATTTGGTTGACCAATTAATTTCAA

Table 4. CO I I Gene Sequence of *Eisenia* spp. from Youngdong (Forward)

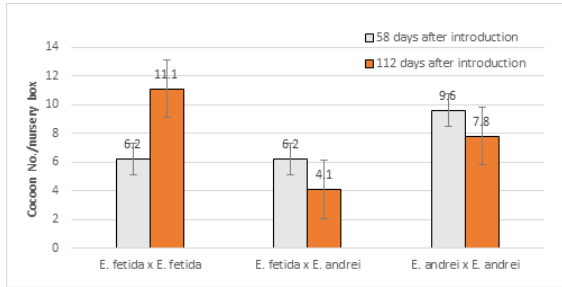
CCCAAACACTGGTACTCTGTGCGCCGAGGTACCTGCGGGTGTCTGTCATGAGCAGTCCCATTCTGTCTGGCTAAG  
 GCAACCAGGTGCCTTCTAGGGAGGTGATTTATGCAAAACAGTGGTTCAACCCATGCATTTGTAATAATTTCTTTCT  
 GGTTATGCCTGATTTTATTGGTGGATTTGGAACTGACTTCTACCTTTATACTGGGAGCTCCAGACATAGCCTTTCCAC  
 GTCTCAACAACATAAGATTTGACTTCTGCCCTTCCCTAATTCCTAGTATCCTCTGCTGCAGGGGAGAAGGGGGCT  
 GGAACAGGGTGGACGGTTACCCACCCCTATCCAGTAACTAACGCACGCGGGACCCTCAGTGGACCTGGCTATTTTT  
 CCCTCCATTTAGCAGGTGCCCTCAATTTAGGGCAATTAACCTCATTACTACAGTTATTAACATACGGTGAAGTGGG  
 CTTGACTAGAACGAATCCCCCTATTTGTATGATCTGTAGTTATTACCGTGGTGTACTACTTTTTATCTCTTCCAGCACTT  
 GCGGGAAGGGCTCCGGTACTTTTTGACCGATCGAAACAGAGGGCTTAAATCTATGAACCTGCAGGAGGGGGGAACGA

Table 5. CO I Gene Sequence of *Eisenia* spp. from Youngdong (Reverse)

ACGCGGTACTGCTGCTCTTCTGTCTCGTTGAGCAGGAACAGGACACTGGGTAGCAGAGTACGCGGACATAAGAGGG  
 GGCGCAGAGAGGACACAACGGGAGACCAATATCTTTATGATTTGTTGACCCAACCCAAATAACTACAACAAATTTCTT  
 TCTGGTTATTCCTGCTTTTATTGGTGGCTTCACAACTGACTTCTACCTTTATACTGGGAGCTCTGGACATAGCCTTTC  
 CACGTCTCAACAACATAAGATTTTGACTTCTGCCCCCTTCCCTAATTCCTAGTATCCTCTGCTGCAGGGGAGAAGGG  
 TGCTGGAACAGGGTGGACAGTTTACCCACCCCTATCCAGTAACTTAGCGCACGCGGGGCCCTCAGTGGACCTGGCTAT  
 TTTTTCCCTCCATTTAGCAGGTGCCTCCTCAATTTAGGGGCAATTAACCTCATTACTACAGTTATTAACATACGGTGAA  
 GTGGGCTTCGACTAGAACGAATCCCCCTATTTGTATGAGCTGTAGTTATTACCGTGGTGTACTACTTTTTATCTCTTCCA  
 GTACTTGCAGGAAAGCTACTATACTATTGACAGATCGAAACCTGAATACCTCATTCTTTGACCCTGCTGGAGGTGGC  
 GATCCCTATTCTCTACCAGCATTATTCTGATTTTTTTGGTCACCTGGAGAGTAAAAAAA

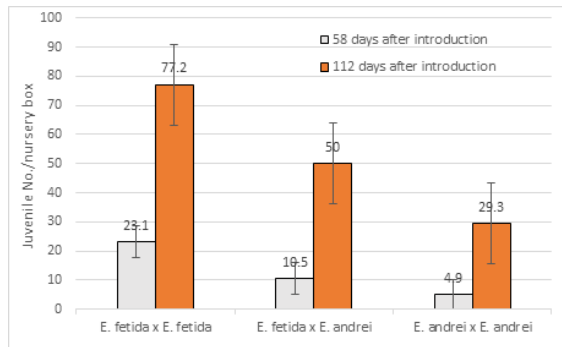
지렁이는 자웅동체이며 보통은 자가수정을 하지 않는 것으로 알려져 있으나 경우에 따라서는 자가수정을 하는 경우도 알려져 있다<sup>4)</sup>. 그러나 영동집단 지렁이의 경우 짝짓기를 하지 않은 성충개체를 한 마리씩

사육하였을 때 난포 생산을 전혀 하지 않는 것으로 보고 된 바 있어<sup>13)</sup> 본 조사의 *Eisenia* 집단에서 자가수정에 의해 증식된 지렁이는 없었던 것으로 판단된다. 지렁이 입식 58일 후 난포 수 Fig. 1는 줄지렁이(E.



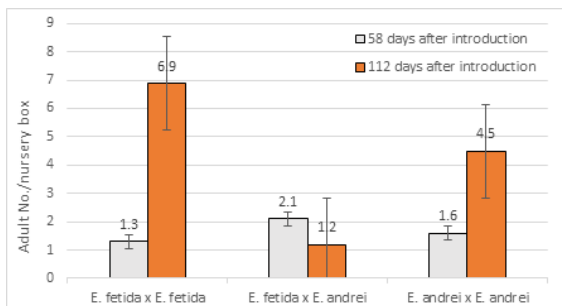
*E. fetida* × *E. fetida* : Two virgin adults of *E. fetida* were paired  
*E. fetida* × *E. andrei* : One virgin adult of *E. fetida* and one virgin adult of *E. andrei* were paired  
*E. andrei* × *E. andrei* : Two virgin adults of *E. andrei* were paired

Fig. 1. Cocoon No. of Eisenia spp. after 58 and 112 days after introduction of two virgin adults into nursery box.



*E. fetida* × *E. fetida* : Two virgin adults of *E. fetida* were paired  
*E. fetida* × *E. andrei* : One virgin adult of *E. fetida* and one virgin adult of *E. andrei* were paired  
*E. andrei* × *E. andrei* : Two virgin adults of *E. andrei* were paired

Fig. 2. Juvenile No. of Eisenia spp. after 58 and 112 days after introduction of two virgin adults into nursery box.



*E. fetida* × *E. fetida* : Two virgin adults of *E. fetida* were paired  
*E. fetida* × *E. andrei* : One virgin adult of *E. fetida* and one virgin adult of *E. andrei* were paired  
*E. andrei* × *E. andrei* : Two virgin adults of *E. andrei* were paired

Fig. 3. Adult No. of Eisenia spp. after 58 and 112 days after introduction of two virgin adults into nursery box.

*fetida* × *E. fetida*)의 경우 6.2개/박스, 붉은줄지렁이 (*E. andrei* × *E. andrei*)의 경우 9.6개로 붉은줄지렁이에서 다소 높았다. 줄지렁이와 붉은줄지렁이가 교배된 경우(*E. fetida* × *E. andrei*)에는 6.2개로 줄지렁이의 경우와 차이가 없었다. 그러나 지렁이 입식 112일 후의 난포수는 줄지렁이의 경우 11.1개/박스, 붉은줄지렁이의 경우 7.8개로 줄지렁이에서 다소 높게 나타났다. 그러나 줄지렁이와 붉은줄지렁이가 교배된 경우 (*E. fetida* × *E. andrei*)에는 4.1개로 줄지렁이(*E. fetida* × *E. fetida*)나 붉은줄지렁이(*E. andrei* × *E. andrei*)끼리 교배된 경우보다 낮게 나타났다. 이것은 줄지렁이와 붉은줄지렁이가 교잡된 경우 시간이 가면서 동일종끼리 교배된 경우보다 산란능력이 저하될 수 있음을 시사하는 것이다.

지렁이 입식 58일 후 유충 수 Fig. 2는 줄지렁이 (*E. fetida* × *E. fetida*)의 경우 23.1마리/박스, 붉은줄지렁이(*E. andrei* × *E. andrei*)의 경우 4.9마리로 줄지렁이에서 현저하게 높았다. 줄지렁이와 붉은줄지렁이가 교잡된 경우(*E. fetida* × *E. andrei*)에는 10.5마리로 줄지렁이보다는 낮고 붉은줄지렁이보다는 높은 것으로 나타났다. 지렁이 입식 112일 후의 유충 수에 있어서도 유사한 경향을 나타내었다.

지렁이 입식 58일 후 성충 수 Fig. 3는 줄지렁이 (*E. fetida* × *E. fetida*)의 경우 1.3마리/박스, 붉은줄지렁이(*E. andrei* × *E. andrei*)의 경우 1.6마리, 줄지렁이와 붉은줄지렁이가 교잡된 경우(*E. fetida* × *E. andrei*)에는 2.1마리로 각 교배집단간에 큰 차이가 없다. 이것은 성충 입식후 차세대 개체들이 아직 성충으로 성장하지 않았기 때문인 것으로 판단된다. 그러나 지렁이 입식 112일 후 성충 수는 줄지렁이(*E. fetida* × *E. fetida*)의 경우 6.9마리/박스로 붉은줄지렁이(*E. andrei* × *E. andrei*)의 경우 4.5마리보다 다소 높았다. 그러나 줄지렁이와 붉은줄지렁이가 교잡된 경우(*E. fetida* × *E. andrei*)에는 1.2마리로 차세대 성충으로의 발육이 잘 이루어지지 않고 있음을 알 수 있었다.

Elvira 등<sup>7)</sup>은 붉은줄지렁이(*E. andrei*)가 줄지렁이 (*E. fetida*)보다 난포생산력과 생장율이 약간 높으나 두 집단 전체적인 개체군 생장율, 생활사 및 생존 자원에 대한 요구도 등에는 큰 차이가 없다고 하였다. 그러나 본 조사 결과에서는 줄지렁이의 난포 생산 및

유충과 성충으로의 발육율이 붉은줄지렁이보다 높은 것으로 나타나 두 집단의 개체군 성장에 대한 보다 정밀한 분석이 요구된다.

Jaenike<sup>17)</sup>, McElroy와 Diehl<sup>18)</sup>, Dominguez 등<sup>19)</sup>은 줄지렁이와 붉은줄지렁이를 교배시켰을 경우 후대가 생산되지 않으므로 이 두 집단은 서로 다른 생물학적 종으로 간주할 수 있다고 하였으나, Andrei<sup>12)</sup>, Sheppard<sup>20)</sup>는 두 집단이 생물학적으로 같은 종이라고 주장한 바 있다.

본 조사 결과 줄지렁이와 붉은줄지렁이를 교배시켰을 경우 생물학적으로 완전히 생식적 격리가 이루어진 것은 아니지만, 후대의 난포생산력이 저하되고 (Fig. 1), 특히 교미후 차세대 성충으로의 발육이 상당히 저해되는 것(Fig. 3)으로 보아 이 두 집단은 생물학적으로 다른 종으로 분화해가는 여정에 있는 것으로 판단된다. Dominguez 등<sup>19)</sup>은 이 두 집단이 교잡을 시도할 경우 이종 개체간 교미는 이루어질 수 있으나, 교미 후 형성된 접합자의 발육저해에 의한 소위 ‘교미후 생식적 격리 기작’이 작동된다고 하였다.

#### 4. 결론

CO I 유전자 분석에 의해 현재 경북농약연구소에서 독성실험에 이용되고 있는 경주집단 *Eisenia*속 지렁이의 ‘분자생물학적 종’은 줄지렁이(*E. fetida*)로 동정되었고 유기성 폐기물 재활용에 활용되고 있는 영동집단 *Eisenia*속 지렁이의 분자생물학적 종은 붉은줄지렁이(*E. andrei*)로 동정되었다.

이들 두 분자생물학적 종의 유기성 폐기물에 대한 생식반응을 비교한 결과 이미 알려진 것과는 달리 줄지렁이 집단의 산란력과 차세대 성충으로의 성장률이 붉은 줄지렁이보다 다소 높게 나타나거나 또는 두 집단 간 유의미한 차이가 없는 것으로 나타났다. 그러나 보다 정확한 분석을 위해서는 유기성 폐기물에 대한 두 집단의 생식반응을 다세대에 걸쳐 장기간 조사할 필요가 있는 것으로 판단된다.

보통 줄지렁이는 자연상태에서 많이 서식하고, 붉은 줄지렁이는 지렁이 양식장에서 서식한다. 이러한 이유로 토양에 혼입되는 화학물질의 독성 평가에는 줄

지렁이를 이용하고<sup>21)</sup>, 양식장에서는 생식율과 생장율이 높은 붉은줄지렁이를 활용할 것이 권고된다<sup>19)</sup>. 그러나 본 조사 결과에서는 지렁이 집단의 생식과 생장만을 고려했을 경우 두 집단 중에 어느 것이 유기성 폐기물 처리에 효율적인지를 논하기는 어려운 것으로 나타났다.

줄지렁이 집단과 붉은줄지렁이 집단 간에 완전한 생식적 격리가 이루어지지 않은 것으로 보아 ‘생물학적 종’ 개념의 측면에서는 완전히 서로 다른 종(species)이라고 판단할 수 없다. 그러나 두 집단간 교잡 후 생산되는 산란 수나 차세대 성충 발육률이 같은 집단 내 개체들에 의한 산란 수나 차세대 성충 발육률보다 현저하게 낮은 것으로 보아 이 두 집단은 생물학적 종분화가 상당히 진행된 것으로 판단된다.

#### 사 사

본 논문은 대진대학교에서 지원된 연구비에 의해 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

#### References

1. [최성식, 토양동물학, 1판, 원광대학교 출판국] Choi, S. S., Soil Zoology, 1st ed., Wonkwang University Press, p. 488. (1996).
2. Dominguez, J., “State of the art and new perspectives on vermicomposting research”, In Edwards, C. A. (Ed.), Earthworm Ecology, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 401~424. (2004).
3. Choi, H. G., “A study on sludge feed and breeding condition in vermicomposting of organic sludge”, Ph. D. thesis, Dept. of Environmental Engineering, Univ. of Seoul City. (1992).
4. Edwards, C. A. and Bohlen, P. J., Biology and Ecology of earthworm, 2nd ed., Chapman and Hall, p. 426. (1996).
5. Sims, R. W. and Gerard, B. M., “Earthworms”, In Kemac, D. M. and Bames, R. S. K. (Eds.), Synopses

- of the British Fauna (New Series), N0. 31, Published for the Linnean Society of London and the Estuarine and Brackish-water Science Association, London. (1985).
6. Reineke, A. J. and Viljoen, S. A., "A comparison of the biology of *Eisenia fetida* and *Eisenia andrei* (Oligochaeta)", *Biol. Fertil. Soils*, 11, pp. 295~300. (1991).
  7. Elvira, C., Dominguez, J. and Briones, M. J., "Growth and reproduction of *Eisenia andrei* and *E. fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae) in different organic residues", *Pedobiologia*, 40, pp. 377~384. (1996).
  8. Dominguez, J., Edwards, C. A. and Webster, M., "Vermicomposting of sewage sludge: effect of bulking materials on the growth and reproduction of the earthworm *Eisenia andrei*", *Pedobiologia*, 44, pp. 24~32. (2000).
  9. Park, K. I. and Bae, Y. H., "Feeding efficiencies and growth rates of tiger worm(*Eisenia fetida* Savigny) when they are fed with differently pretreated sewage sludges", *J. of KORRA*, 11(4), pp. 66~78. (2003).
  10. Bae, Y. H. and Choi, S. S., "Accumulation of Chromium and Manganese in the earthworm *Eisenia andrei* (Annelida; Oligochaeta) in relation to the supply of organic sludges", *J. of KORRA*, 24(3), pp. 101~108. (2016).
  11. [한국동물분류학회 편저, 동물분류학, 1판, 집현사] Compilation of The Korean Society of Systematic Zoology, Zoological Taxonomy, 1st ed., Ziphyunsa Press, p. 458. (2003).
  12. Andrei, F., "Contribution a l'analyse experimental de al reproduction des lombriciens", *Bull. Biol. Fr. Belg.*, 97, pp. 1~101. (1963).
  13. Bae, Y. H., "Analysis of reproduction and CO I gene sequence between two earthworm populations used in vermicomposting organic wastes in different localities", *J. of KORRA*, 26(3), pp. 39~46. (2018).
  14. Moritz, C., Dowling, T. E. and Brown, W. A., "Evolution of animal mitochondria : relevance for population biology and systematics", *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 187, pp. 269~292. (1987).
  15. Kim, H. K., Lee, M. Y., Lee, M. L., Choi, Y. S., Hong, I. P., Kim, N. S., Lee, K. G. and Jin, B. R., "Genetic diversity of the *Apis cerana* in Korea by mitochondrial DNA and ITS ribosomal DNA sequence", *Korean J. Apiculture*, 25(1), pp. 9~16. (2010).
  16. Hong, Y., James, S. W., Hwang, U. W., Lee, B. E., Park, S. C. and Kim, T. H., "Molecular phylogeny of the *Amyntas*-complex (Oligochaeta: Megascolecidae) inferred from ITS nucleotide sequences", *Korean J. Environ. Biol.*, 25(4), pp. 349~355. (2007).
  17. Jaenike, J., "*Eisenia foetida* is two biological species", *Megadrilogica*, 4, pp. 6~8. (1982).
  18. McElroy, T. C. and Diehl, W. J., "Heterosis in two closely related species of earthworm (*Eisenia fetida* and *E. andrei*)", *Heredity*, 87, pp. 598~608. (2001).
  19. Dominguez, J., Velando, A., Ferreiro, A., "Are *Eisenia fetida* (Savigny) and *Eisenia andrei* (1972) (Oligochaeta, Lumbricidae) different biological species?", *Pedobiologia*, 49, pp. 81~87. (2005).
  20. Sheppard, P. S., "Specific differences in cocoon and hatchling production in *Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*", In Edwards, C. A. and Neuhauser, E. F. (Eds.), *Earthworms in Waste and Environment Management*, SPB, The Hague, pp. 83~92. (1988).
  21. OECD, "Guidelines for testing of chemicals no. 207. Earthworm, Acute Toxicity Test", OECD, Paris, France. (1984).