

# 서로 다른 지역에서 유기성 폐기물 처리에 이용되는 두 지렁이 집단의 생식 및 CO I 유전자 분석

배운환<sup>†</sup>

대진대학교 생명화학부

## Analysis of Reproduction and CO I Gene Sequence between Two Earthworm Populations Used in Vermicomposting Organic Wastes in Different Localities

Yoon-Hwan Bae<sup>†</sup>

Dept. of Life Science and Chemistry, Daejin University

(Received: Sep. 3, 2018 / Revised: Sep. 14, 2018 / Accepted: Sep. 15, 2018)

**ABSTRACT:** Two domestic earthworm populations used in vermicomposting in different localities were collected. The one was from Hongcheon (Kangwon province) and the other was from Youngdong (Chungcheong province). Reproductive capacities and the degree of reproductive isolation of two population were investigated. CO I gene sequences were also compared. There was no difference in their reproductive capacities. And there was no reproductive isolation between two populations. Two populations were identified as *Eisenia andrei* or *Eisenia fetida* by CO I gene biomarkers. Phylogenetic tree formulated by CO I gene sequence strongly suggested that two populations were just the same species.

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

**초 록:** 유기성 폐기물 처리를 위해 강원도 홍천과 충청도 영동에서 사육되고 있는 두 지렁이 집단의 생식력 차이, 생식적 격리 정도 및 CO I 유전자의 서열을 비교하였다. 두 집단의 생식력에 큰 차이가 없었으며, 두 집단 간에 생식적 격리도 전혀 이루어지지 않았다. CO I 유전자 염기 서열을 분석하여 두 집단의 종을 동정한 결과 붉은줄지렁이 또는 줄지렁이로 확인되었고, 두 집단의 유연관계가 매우 가까운 것으로 나타났다. 따라서 두 집단은 같은 지렁이 종임을 강력히 시사하였다.

**주제어:** 지렁이 집단, 유기성 폐기물, 지렁이 처리, 생식적 격리, CO I 유전자

### 1. 서 론

하수, 인분, 제지, 각종 식품 공정 오니를 처리하고

재활용하기 위한 ‘지렁이처리방법(vermicomposting)’이 국내외적으로 활발하게 적용되고 있다<sup>1-6)</sup>. 특히 최근 미세먼지 문제가 국민건강을 심각하게 위협하

<sup>†</sup> Corresponding author(e-mail : yhbae@daejin.ac.kr)

고 있는 국내의 상황에서는 유기성 폐기물의 상당부분을 소각처리에 의존하는 방식을 지양하고 지렁이 처리법과 같은 환경친화적인 처리방법을 적용할 필요가 증대되고 있다.

세계적으로 기록된 육상지렁이 종은 약 3,700 종에 이르고<sup>7)</sup>, 이중에 유기성 폐기물의 대량처리에 활용되고 있는 지렁이 종은 5종 정도에 그치고 있다<sup>2)</sup>. 그리고 국내에서 지렁이 처리방법에 이용되고 있는 지렁이 종은 붉은줄지렁이 (*Eisenia andrei*)로 알려져 있다.

토양동물인 지렁이는 이동 반경이 크지 않은 식물적 특성과 주변 환경의 자극에 민감하게 반응하는 동물적 특성을 동시에 가지고 있어서 서식장소의 환경조건이 지렁이 집단의 생물적 특성에 큰 영향을 미치게 된다. 유기성 폐기물 처리에 이용되고 있는 붉은줄지렁이 역시 특정 지역의 농장에서 먹이나 기후 등 특정 환경에 노출된 상태로 수 십년 동안 수십에서 수 백 세대가 경과했을 가능성이 있다. 이 경우 서로 다른 지역에서 사육된 지렁이는 동종의 지렁이라도 그 지역의 집단 수준에서 생물학적 변화를 수반할 가능성이 있으며, 이러한 변화는 유기성 폐기물에 대한 지렁이처리의 효율에 영향을 미치는 중요한 변수가 될 수 있다.

한편, 생물세포내의 미토콘드리아 유전자는 비교적 작은 크기로 인해 분석이 용이하며 핵유전자에 비해 높은 돌연변이율을 가지는 것으로 알려져 있어 집단 간 비교 연구에 많이 활용되고 있다<sup>8-11)</sup>.

본 연구에서는 국내의 서로 다른 두 지역의 지렁이 농장에서 유기성 폐기물 처리에 이용되고 있는 지렁이 집단에 대하여 두 집단의 생식력 차이 및 생식적 격리정도를 비교하였으며 미토콘드리아 분자마커의 하나인 CO I 유전자의 염기서열을 비교하여 두 집단의 분자생물학적 차이를 파악하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 두 지역 지렁이 집단의 생식력

#### 2.1.1. 지렁이 집단 선별

지역적으로 서로 다른 지역에서 사육되고 있는 지

렁이 집단, 즉 강원도 홍천과 충북 영동지역에서 유기성 폐기물 재활용에 이용되고 있는 지렁이 집단 중 성적 성숙의 형태적 특징인 환대가 없는 유충 그러나 조만간 성충으로 발육될 것으로 기대되는 유충 개체들을 선별하였다. 선별된 개체들 중 가능한 개체의 크기가 유사한 것들을 실험에 이용하였다.

#### 2.1.2. 생식력 및 생식적 격리 정도 실험

직경 18cm, 높이 18cm의 원통형 플라스틱 사육상자의 바닥에 bed material로서 수분 70% 분변토를 3cm 두께로 깔고 각 지역 집단의 지렁이 유충을 입식하였다. 각 집단의 생식력을 비교하기 위하여 사육상자당 각 지역(홍천, 영동)의 지렁이 유충 2개체를 사육상자에 입식하여 짝짓기를 유도하여 생식하도록 하였다(영동집단 지렁이 × 영동집단 지렁이, 홍천집단 지렁이 × 홍천집단 지렁이).

그리고 집단 간 생식적 격리 정도를 조사하기 위하여 홍천집단 1개체와 영동집단 1개체를 한 사육상자에 입식하여 두 집단간 짝짓기를 유도하여 이후의 생식여부를 조사하였다. 이때 각 지역 개체의 자가수정 가능성을 조사하기 위해서 사육상자에 각 지역의 유충을 1개체씩 입식하여 생식여부를 조사하였다. 지렁이는 자웅동체이며 보통은 자가수정을 하지 않는 것으로 알려져 있으나 상황에 따라서는 자가수정을 하는 경우도 알려져 있다<sup>2)</sup>. 모든 처리의 반복수는 7개였다.

사육상자내의 지렁이들은 온도 조건 25°C, 광주 조건 16:1(L:D)의 환경제어실에서 제지슬러지와 인분 슬러지를 혼합한 먹이로 사육하였고, 먹이는 2주 간격, 수분은 1주 간격으로 공급하였다. 지렁이 입식 후 36일, 92일후에 각 사육상자 당 증식된 성충, 유충, 난포의 개체수를 조사하였다.

### 2.2. 영동집단, 홍천집단 지렁이의 CO I 유전자 비교

Qiagen 사의 DNeasy Blood & Tissue kit 제품을 사용하여 각 집단의 네 개체 지렁이의 표피조직에서 DNA를 추출하였다. 각 개체로부터 추출된 DNA에 대하여 Bioneer 사의 PCR premix, Macrogen 사의 LCO1490/HCO2198 primer를 사용하여 CO I 분자마커

Table 1. Thermo-cycling profile for CO I amplification

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

(Cytochrome c oxidase subunit I)를 증폭하였다. CO I 유전자에 대한 PCR 조건은 Table 1과 같았다. PCR을 통해 얻은 결과물을 1% 아가로오스 겔에 전기영동하여 특이적 증폭 여부를 확인한 후, 국내의 MacroGen사에 CO I 유전자의 DNA sequence 분석을 의뢰하였다. 분석된 DNA sequence 결과물을 이용하여 NCBI blast를 이용하여 종을 동정하였으며, DNA sequence 결과물에 대하여 Seqman 프로그램(DNASTAR Lasergene 8)과 MEGA6를 이용해 각 개체간의 계통유연관계를 추정하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 두 집단 지렁이의 자가수정 여부

사육상자에 1 개체의 지렁이 유충을 입식한 후 먹이를 공급하면서 지렁이 입식 36일, 92일 후 사육상자내 지렁이 개체수를 조사한 결과, 유충, 난포가 존재하지 않은 것으로 보아 입식된 개체가 자가수정을 하지 않았다고 판단할 수 있었다(Table 2). 따라서 사육상자에 두 개체를 입식하여 증식된 개체들은 두 개체가 짝짓기하여 유전자를 교환한 후 산란 및 부화를 거쳐 성장한 개체들일 것임을 확인할 수 있었다.

#### 3.2. 두 집단 지렁이의 생식력 및 생식적 격리 정도

홍천의 지렁이 농장과 영동의 지렁이 농장에서 사육중인 지렁이를 두 개체씩 사육상자에 입식한 후, 일반적으로 지렁이가 잘 먹는 먹이로 알려진 인분을

Table 2. Earthworm densities when an uncopulated earthworm was introduced into nursery boxes (No./box)

Locality	Life stage of earthworm	36 days after earthworm introduction	92 days after earthworm introduction
Hongcheon	Egg	0	0
	Jevenile	0	0
	Adult	1	0
Youngdong	Egg	0	0
	Jevenile	0	0
	Adult	1	0

리와 제지슬러지의 혼합물을 먹이로 공급하면서 두 지역 지렁이의 생식력 및 생식적 격리 정도를 조사하였다(Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3).

홍천집단×영동집단, 홍천집단×홍천집단, 영동집단×영동집단 교배실험에서 지렁이 입식 36일후에는 차세대 성충이 아직 출현하지 않았으며, 입식 92일후에도 한두 개체 증식하는데 그쳤다(Fig. 1). 이것은 차세대 성충으로 집단이 성장하는데 필요한 충분한 시간이 경과하지 않았기 때문이었던 것으로 생각된다.

그러나, 유충과 난포의 경우에는 모든 교배 실험에서 지렁이 입식 36일후에 개체수가 증가한 것으로 나타났고, 입식 92일후에는 증식된 개체수가 더 많아졌다(Fig. 2, Fig. 3). 홍천집단의 지렁이 증식률이 영동지역의 그것보다 높은 것으로 나타났으나 큰 차이는 없는 것으로 보인다.

홍천집단×영동집단 교배실험에서 차세대 성충, 유충, 난포가 출현하여 증식하고 있으며 지렁이 입식 92일후 증식된 개체수는 홍천집단×홍천집단,

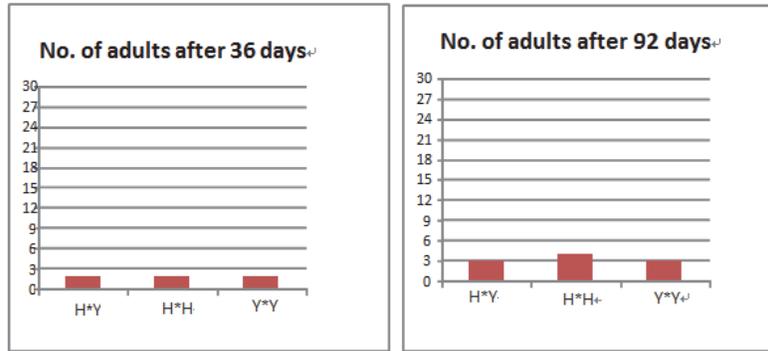


Fig. 1. No. of earthworm adults 36 and 92 days after introduction of one pair of earthworm into the rearing box

H\*Y : An earthworm from Hongcheon was paired with the one from Youngdong.

H\*H : Two earthworms from Hongcheon were paired.

Y\*Y : Two earthworms from Youngdong was paired.

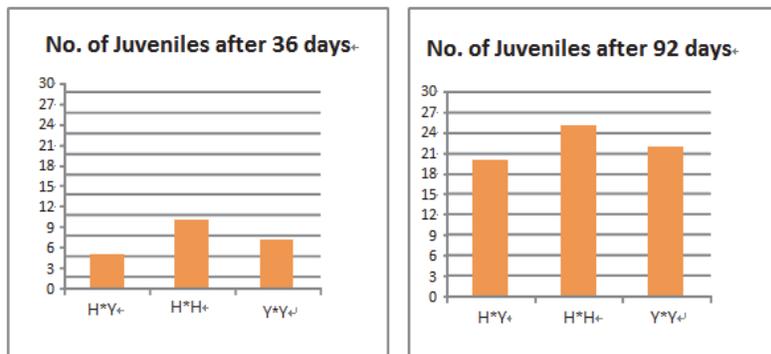


Fig. 2. No. of earthworm juveniles 36 and 92 days after introduction of one pair of earthworm into the rearing box

H\*Y : An earthworm from Hongcheon was paired with the one from Youngdong.

H\*H : Two earthworms from Hongcheon were paired.

Y\*Y : Two earthworms from Youngdong was paired.

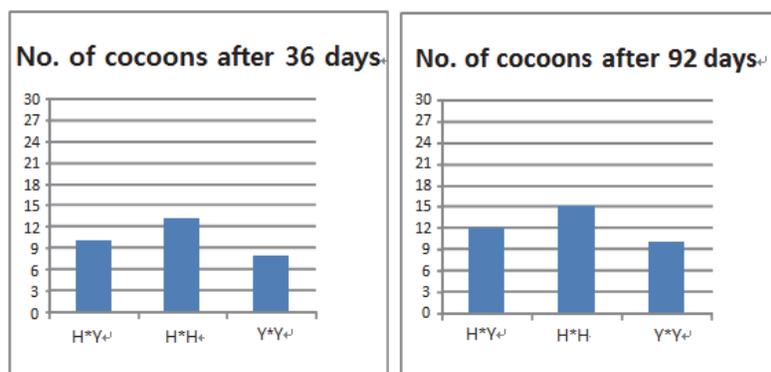


Fig. 3. No. of earthworm cocoons 36 and 92 days after introduction of one pair of earthworm into the rearing box

H\*Y : An earthworm from Hongcheon was paired with the one from Youngdong.

H\*H : Two earthworms from Hongcheon were paired.

Y\*Y : Two earthworms from Youngdong was paired.

영동집단×영동집단 교배실험의 경과와 큰 차이가 없는 것으로 보아 홍천집단과 영동집단 간에 생식적 격리가 전혀 이루어지지 않았음을 알 수 있었다.

탐문조사 결과 홍천집단 지렁이는 홍천지역에서 1998년도부터 사육되고 있었으며, 영동집단 지렁이는 1990년대부터 경남 김해지역에서 사육되고 있던 집단을 2002년도부터 영동지역으로 분양되어 사육돼 온 것으로 파악되었다. 따라서 홍천집단과 영동집단 지렁이는 최소한 20년 이상 지리적으로 격리되어 서로 다른 환경에서 서식한 것으로 볼 수 있다. 그럼에도 불구하고 이 두 집단 간에 생식력의 차이나 생식적 격리 현상은 발생되지 않은 것으로 판단된다.

통상 두 집단이 생식적으로 격리되어 있으면 다른 종, 생식적으로 격리되지 않고 서로 유전자를 교환하여 차세대를 유지시켜 나가면 같은 종으로 정의하는 생물학적 종의 개념에서 볼 때 홍천집단과 영동집단은 같은 지렁이 종임을 시사하고 있다.

### 3.3. 두 지렁이 집단의 분자생물학적 계통유연관계

Hong 등<sup>12)</sup>은 동물계의 종 식별용 유전자로 CO I,

ITS, cyto b등이 널리 이용되고 있으나 이들 유전자는 상호보완적인 관계에 있으며, 모기를 제외한 3배엽성 동물에는 CO I이 훨씬 유용한 식별용 분자마커로 활용된다고 하였다.

홍천집단, 영동집단 지렁이의 CO I 유전자의 염기서열(Table 3)을 이용하여 NCBI blast로 동정한 결과 두 집단 모두 붉은줄지렁이(*Eisenia andrei*) 또는 줄지렁이(*Eisenia fetida*)로 동정되었다(Table 4). 현재 붉은줄지렁이와 줄지렁이에 대해서는 이들이 동종이명인지 아닌지에 관한 논란이 있으며<sup>13-16)</sup>, 생물집단의 형태적 분화가 이루어졌다고 하더라도 유전적으로는 동질성을 나타낼 수 있음<sup>12)</sup>을 감안할 때, 정확한 종명 확정에는 신중을 기할 필요가 있다.

Bradley와 Baker<sup>17)</sup>는 cyto b 유전자의 유전적 거리가 2% 이하인 경우에는 그 거리가 같은 종내 집단의 변이에 의해서 나타날 수 있다고 하였다. CO I 유전자의 염기서열을 이용하여 홍천집단과 영동집단 개체들에 대한 계통수(Fig. 4)를 보았을 때, 이 두 집단은 단일 종일 것임을 강력히 시사하고 있다.

Table 3. CO I gene sequences of earthworms from Hongcheon and Youngdong

Locality and Individual	CO I gene sequence
Hongcheon-1	CCCCTTCCCCTGCACTTAACGMAASCAGGACAATYAGKGAACGTGGCTAWWTTTTCCCTCCTATKATSA TGAGACTCCTCAATKYTAKGKSCGRWMTCTTACTACTAMGGTTATWAWCATACTATGAAKTSGGCTT CGACTAGGAYGAATCCCCCTATWTGTATGAGMIGTATGYATKACCGKGRITGTGCGACTTTTATCTCTK CTMGYATYTGCGGRAGCTATCASTATRCYATWGAYMGATYCAAACCTAAATACCTCATICTTTGACCCT GCWGGAGSTGGCAACCCCTATTCTCTACYAACATTTATcTCAGATCTTTTGWYCYKRAMAAAA
Hongcheon-2	CCCCTTCCCTAATTCTCCTAGTATCCTCTGCTGTCAGTGGAAAAGGGTGTGGAACAGGGTGGACAGTTTA CCCACCCCTATCCAGTAACCTTAGCGCACGCGGGGCCCTCAGTGGACCTGGCTATTTTTTCCCTCCATTTA GCAGGTGCCTCCTCAATTTTAGGGGCAATTAACCTTCACTACTACAGTTATTAACATACGATGAAGTGGGC TTCGACTAGAACGAATCCCCCTATTTGTATGAGCTGTAGTTATTACCGTGGTGTGCTACTTTTATCTCTT CCAGTACTTGCAGGAGCTACTATACTATTGACAGATCGAAACCTAAATACCTCATTCTTTGACCCTG CTGGAGGTGGCGACCCTATTCTCTACCAACATTTATTCTGATTTTTTGGTCCACCCTGAAGTTTA
Hongcheon-3	TCAATAGTATAGTGATAGCTCCCGCAAGTACTGGAAGAGATAAAAGTAGTAACACCACGGTAATAACTA CAGCTCATACAAATAGGGGGATTCTGTTCTAGTCGAAGCCCACTTCATCGTAKGTTAATAACTGTAGTAAT GAAGTTAATTGCCMTAAAATTGAGGAGGCACCTGCTAAATGGAGGGAAAAAATAGCCAGGTCCACTG AGGGCCCCGCGTGCYTAAGTTACKGGATAGGGGTGGGTAAACTGTCCACCCTGTTCCAGCACCCTTTT CCACTGCAGCAGAGGATACTAGGAGAATTAGGAAAGGGGCGAGAAGTCAAATCTTATGTTGTTGAGA CGTGKAAAGGCTATGTCTGGAGCTCTAGTATAAGAGGTAGAAGTCAGTTTCCAAATCCACCAATAAAT ACAGGTATTACCAGAAAGAAAATTATTACRAATGCATGGGCTGTAACAATTGTATTATATAGTTGGTCC CTTCKAGGAAGGCACCTGGWTGCCTTAGCTCGATTcGAATGAGAAGKCTTATACCAGCACCAACCATA CCTGCTCAGACC

Table 3. (Continued)

Hongcheon-4	<p>CCTCCAGCAGGGTCAAAGAATGAGGTATTTAGGTTTCGATCTGTCAATAGTATAGTGATAGCTCCCGCA              AGTACTGGAAGAGATAAAAAGTAGTAACACCACGGTAATAACTACAGCTCATACAAATAGGGGGATTTCG              TTCTAGTCGAAGCCCCTTCATCGTATGTTAATAACTGTAGTAATGAAGTTAATTGCCCTAAAATTGAG              GAGGCACCTGCTAAATGGAGGGAAAAAATAGCCAGGTCCACTGAGGGCCCCGCGTGCCTAAGTTACT              GGATAGGGGTGGGTAAACTGTCCACCCTGTTCCAGCACCCCTTTTCCACTGCAGCAGAGGATACTAGGAG              AATTAGGGAAGGGGGCAGAAGTCAAAATCTTATGTTGTTGAGACGTGGAAAGGCTATGTCTGGAGCTCC              TAGTATAAGAGGTAGAAGTCAGTTTCCAAATCCACCAATAAATACAGGTATTACCAGAAAGAAAATTAT              TACAAATGCATGGGCTGTAACAATTGTATTATATAGTTGGTCCCTTCTAGGAAGGCACCTGGTTGCCTT              AGCTCGATTGGAATGAGAAGGCTTATACCAGCACCAACCATACTGCTCAGA</p>
Youngdong-1	<p>CCTCCAGCAGGGTCAAAGAATGAGGTATTTAGGTTTCGATCTGTCAATAGTATAGTGATAGCTCCCGCA              AGTACTGGAAGAGATAAAAAGTAGTAACACCACGGTAATAACTACAGCTCATACAAATAGGGGGATTTCG              TTCTAGTCGAAGCCCCTTCATCGTATGTTAATAACTGTAGTAATGAAGTTAATTGCCCTAAAATTGAG              GAGGCACCTGCTAAATGGAGGGAAAAAATAGCCAGGTCCACTGAGGGCCCCGCGTGCCTAAGTTACT              GGATAGGGGTGGGTAAACTGTCCACCCTGTTCCAGCACCCCTTTTCCACTGCAGCAGAGGATACTAGGAG              AATTAGGGAAGGGGGCAGAAGTCAAAATCTTATGTTGTTGAGACGTGGAAAGGCTATGTCTGGAGCTCC              TAGTATAAGAGGTAGAAGTCAGTTTCCAAATCCACCAATAAATACAGGTATTACCAGAAAGAAAATTAT              TACAAATGCATGGGCTGTAACAATTGTATTATATAGTTGGTCCCTTCTAGGAAGGCACCTGGTTGCCTT              AGCTCGATTGGAATGAGAAGGCTTATACCAGCACCAACCATACTGCTCAGA</p>
Youngdong-2	<p>GTAGAGAATAGGATCGCCACCTCCAGCAGGGTCAAAGAATGAGGTATTCAGGTTTCGATCTGTCAATAGT              ATAGTGATAGCTCCCGCAAGTACTGGAAGAGATAAAAAGTAGTAACACCACGGTAATAACTACAGCTCAT              ACAAATAGGGGGATTTCGTTCTAGTCGAAGCCCCTTCACCGTATGTTAATAACTGTAGTAATGAAGTTAA              TTGCCCTAAAATTGAGGAGGCACCTGCTAAATGGAGGGAAAAAATAGCCAGGTCCACTGAGGGCCCCG              CGTGCCTAAGTTACTGGATAGGGGCGGGTAAACTGTCCACCCTGTTCCAGCACCCCTTTTCCACTGCAGC              AGAGGATACTAGGAGAATTAGGGAAGGGGGCAGAAGTCAAAATCTTATGTTGTTGAGACGTGGAAAGGC              TATGTCTGGAGCTCCAGTATAAGAGGTAGAAGTCAGTTTCCAAATCCACCAATAAATACAGGCATAACC              AGAAAGAAAATTATTACAAATGCATGGGCTGTAACAATTGTATTGTATAGTTGGTCCCTTCTAGGAAGG              CACCTGGTTGCCTTAGCTCGATTGGAATGAGAAGGCTTATACCAGCACCAACCATACTGCTCAGACC</p>
Youngdong-3	<p>CCCCTCCCTAATTCTCCTAGTATCCTCTGCTGCAGTGGAAAAGGGTGTGGAACAGGGTGGACAGTTTA              CCCACCCCTATCCAGTAACTTAGCGCACGCGGGGCCCTCAGTGGACCTGGCTATTTTTCCCTCCATTTA              GCAGGTGCCTCCTCAATTTTAGGGGCAATTAACCTTCACTACTACAGTTATTAACATACGATGAAGTGGGC              TTCGACTAGAACGAATCCCCCTATTTGTATGAGCTGTAGTTATTACCGTGGTGTACTACTTTTATCTCTT              CCAGTACTTGCGGGAGCTATCACTATACTATTGACAGATCGAAACCTAAATACCTCATTCTTTGACCCCTG              CTGGAGGTGGCGACCCTATTCTCTACCAACATTTATTCTGATTTTTTGGTACCCAGAAAGTTTA</p>
Youngdong-4	<p>CCCCTCCCTAATTCTCCTAGTATCCTCTGCTGCAGTGGAAAAGGGTGTGGAACAGGGTGGACAGTTTA              CCCACCCCTATCCAGTAACTTAGCGCACGCGGGGCCCTCAGTGGACCTGGCTATTTTTCCCTCCATTTA              GCAGGTGCCTCCTCAATTTTAGGGGCAATTAACCTTCACTACTACAGTTATTAACATACGATGAAGTGGGC              TTCGACTAGAACGAATCCCCCTATTTGTATGAGCTGTAGTTATTACCGTGGTGTACTACTTTTATCTCTT              CCAGTACTTGCGGGAGCTATCACTATACTATTGACAGATCGAAACCTAAATACCTCATTCTTTGACCCCTG              CTGGAGGTGGCGACCCTATTCTCTACCAACATTTATTCTGATTTTTTGGTACCCCTGAAGTTTACATTCTC              ATCTTACCTGGATTTGGAGCAATCTCACATATCGTTAGTACTATACTGCAAAACTGGAACCATTTGGGG              CTCTCGGGATAATTTATGCCATGCTCGGAATTGCTGTATTGGGATTTATTGTGTGAGCACATCACATATT              CACAGTAGGACTTGATGTAGATACACGAGCATACTTACGGCAGCTACCATAATTATCGCAGTACCCAC              AGGTATTAAGTATTTAGATGGTTGGCCACCCTTCATGGGTCAAATAAATCAAAATATGAGACCCCTATTTTA              TGGGCTCTTGATTTATTTTTCTGTTACTACAGGAGTCTTACCGGATTATTCTATCTAATTCTCATT              AGATATTATCCTTACGATACTTACTATGTTGTAGCCATTTTCATTATGTACTAAGAATGGGGCAGTA              TTCGCAATCTTTGCTGCTTTTACTACTGATTCCCACTCCTAACAGGATTAACCTTACCAGCGATGAGC              CAATGCACAATTTTTCTCATATTCTTAGGGGTCAACATTACCTTCTTCTCAACACTT</p>

Table 4. Identification of earthworms using CO I gene sequence

Locality and Individual	Species name
Hongcheon - 1	<i>Eisenia andrei</i>
Hongcheon - 2	<i>Eisenia andrei</i> or <i>Eisenia fetida</i>
Hongcheon - 3	<i>Eisenia andrei</i> or <i>Eisenia fetida</i>
Hongcheon - 4	<i>Eisenia andrei</i> or <i>Eisenia fetida</i>
Youngdong - 1	<i>Eisenia andrei</i> or <i>Eisenia fetida</i>
Youngdong - 2	<i>Eisenia andrei</i>
Youngdong - 3	<i>Eisenia andrei</i>
Youngdong - 4	<i>Eisenia andrei</i> or <i>Eisenia fetida</i>

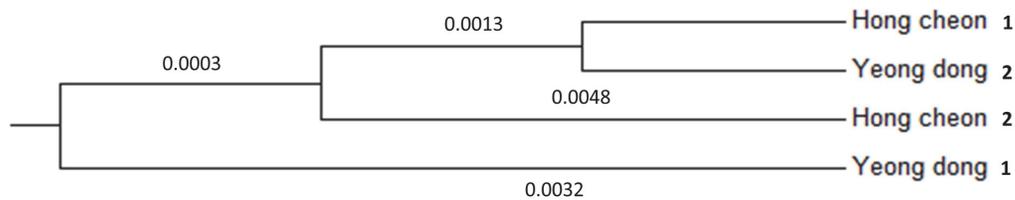


Fig. 4. Phylogenetic tree using CO I gene on the earthworms from Hongcheon and Youngdong

#### 4. 결론

강원도 홍천지역과 충청북도 영동군 지역 사육장에서 유기성 폐기물 처리에 이용되는 지렁이 집단에 대하여 생식력 차이 및 생식적 격리 정도를 파악하기 위하여 교배사육(홍천집단×영동집단, 홍천집단×홍천집단, 영동집단×영동집단)을 한 결과 홍천집단의 증식률이 높게 나타났으나 다른 교배 집단과 큰 차이는 없었다.

서로 다른 두 지역 집단(홍천집단×영동집단) 교배에서 증식된 지렁이 개체수는 같은 지역 집단끼리의 교배(영동집단×영동집단, 홍천집단×홍천집단 교배)에서 증가한 개체 수와 큰 차이가 없는 것으로 나타나 두 지역 집단 간에 생식적 격리가 일어나지 않았음을 알 수 있었다.

CO I 유전자의 염기서열을 이용하여 종을 동정한 결과 두 집단의 종명은 붉은줄지렁이(*Eisenia andrei*) 또는 쫄지렁이(*Eisenia fetida*)로 동정되었으며, 계통수 분석 결과 지렁이 집단 간 계통적 유연관계는 매우 근연한 것으로 나타나 두 지역의 집단을 서로 다른 종으로 보기 어려웠다.

위의 결과로부터 유기성 폐기물처리에 이용되는

지렁이 종의 집단이 수십년간 지리적 격리가 일어나 다른 환경에서 서식하였다 할지라도 그것이 지렁이 집단의 생식적, 유전적 변화를 유도하지는 않았던 것으로 판단된다.

#### 사 사

본 논문은 대전대학교에서 지원된 연구비에 의해 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

#### References

1. Choi, H. G., "A study on sludge feed and breeding condition in vermicomposting of organic sludge", Ph. D. thesis, p. 114, Dept. of Environmental Engineering, Univ. of Seoul City. (1992).
2. Edwards, C. A. and Bohlen, P. J., "Biology and Ecology of earthworm", Chapman and Hall, p. 426. (1996).
3. Garg, P., Gupta, A. and Satya, S., "Vermicomposting

- of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study”, *Bior. Technol.*, 97, pp. 391~395. (2006).
4. Park, K. I. and Bae, Y. H., “Feeding efficiency and growth rates of tiger worms (*Eisenia fetida* Savigny) when they were fed with differently pretreated sewage sludge”, *J. of the Korea organic waste recycling council*, 11(4), pp. 66~78. (2003).
  5. Kaushik, P. and Garg, V. K., “Vermicomposting of mixed solid textile mill sludge and cow dung with the epigeic earthworm *Eisenia foetida*.”, *Biores. Technol.*, 90, pp. 311~316. (2003).
  6. Gupta, R. and Garg, V. K., “Stabilization of primary sewage sludge during vermicomposting”, *J. of Hazardous Materials*, 153, pp. 1023~1030. (2008).
  7. Decaens T., Porco D., Rougerie R., Brown G. G. and James S. W., “Potential of DNA barcoding for earthworm research in taxonomy and ecology”, *Applied Soil Ecology*, 65, pp. 35~42. (2013).
  8. Brown, W. M., George, J. R. M. and Wilson, A. C., “Rapid evolution of animal mitochondrial DNA”, *Natl. Acad. Sci. USA.*, 76, pp. 95~130. (1979).
  9. Birky, C. W., Furest, P. Jr. and Maruyama, T., “Organelle gene diversity under migration, mutation and drift: equilibrium expectations, approach to equilibrium, effects of heteroplasmic cells, and comparison to nuclear genes. *Genetics*, 121, pp. 613~627. (1989).
  10. Moritz, C., Dowling, T. E. and Brown, W. A., “Evolution of animal mitochondria : relevance for population biology and systematics”, *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 187, pp. 269~292. (1987).
  11. 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).
  12. 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).
  13. Reineke, A. J. and Viljoen, S. A., “A comparoson of the biology of *Eisenia fetida* and *Eisenia andrei* (Oligochaeta). *Biol. Fertil. Soils*, 11, pp. 295~300. (1991).
  14. Roch, P., Valenbois, P. and Lassegues, M., “Biochemical particulars of the antibacterial factor of the two subspecies *Eisenia fetida* and *Eisenia fetida andrei*. *Am. Zool.*, 20, pp. 790~794. (1980).
  15. Sims, R. W. and Gerard, B. M., “Earthworms. In: Kermac, D. M., Barnes, 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).
  16. Dominguez J., Velando, A. and Ferreira, A., “Are *Eisenia fetida* (Savigny) and *Eisenia andrei* (1972) (Oligochaeta, Lumbricidae) different biological species?”, *Pedo biologia*, 49, pp. 81~87. (2005).
  17. Bradley, R. D. and Baker, R. J., “A test of genetic species concept: cytochrome b sequences and mammals”, *J. Mammalogy*, 82, pp. 960~973. (2001).