

애기물달팽이의 먹이인 藻類의 실험실 培養

李政吉 · 金相基 · 李採珞

全南大學校 獸醫科大學

(1992. 3. 10 접수)

Laboratory cultivation of blue-green algae for use as a food for *Lymnaeids* the intermediate host of *Fasciola hepatica*

Chung-gil Lee, Sang-ki Kim, Chai-yong Lee

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

(Received Mar 10, 1992)

Abstract : In the present experiment, the blue-green algae, the principal food of the vector snail of *Fasciola hepatica* were cultured. Mud from good natural habitats was sterilized, made slopes, inoculated with algae from the habitats and maintained in a saturated atmosphere. Under the fluorescent-mercury lamp(100W) at about 20°C the algal growth was optimal, taking 8 days to fully grow and to be ready for feeding the snails.

The algae collected from the habitats and cultured in the laboratory were mainly green.

Key words : blue-green algae, snails, *Fasciola hepatica*, fluorescent-mercury lamp.

緒 論

肝絛 *Fasciola hepatica*은 *Lymnaea*속의 달팽이를 중간숙주로 하여 사람을 포함한 거의 모든 포유동물에 감염을 일으키는 기생충이다.¹ 가축중에서는 주로 반추동물인 소와 양에 기생하여 막대한 경제적 손실을 초래 한다.²⁻⁴ 이러한 이유때문에 국내외에서 肝絛에 관한 많은 연구가 활발히 수행되고 있는데 연구방향은 크게 중간숙주인 달팽이에 관한 연구와 종숙주에 나타나는 肝絛症에 관한 연구로 나누어 진다.

중간숙주인 달팽이에 관한 연구는 순수한 학문적인 흥미 때문에 수행되기도 하지만 근본적으로는 肝絛을 예방하고 구제대책을 수립하기 위하여 실시되는 것이다. 그래서 이 달팽이의 야외 생태조사와⁵⁻⁷ 함께 실험실 생태가^{8,9} 오래전부터 연구의 대상이 되어 왔다. 우리나라에서 肝絛의 중간숙주로 알려진 애기물달팽이 *Lymnaea viridis*에 관한 연구는 지금까지 거의 야외

생태조사에 그치고 있다.¹⁰⁻¹²

달팽이는 자연상태하에서 주로 민물藻類(藍藻類, 矽藻類 및 綠藻類)와 함께 다양한 종류의 유기질 및 무기질을 섭취한다.⁵ 그래서 달팽이를 실험실에서 사육하기 위해서는 藻類의 인공배양이 선행되어야 한다. 그러나 藻類의 실험실 배양은 쉽지 않아서 그동안 많은 학자들이 藻類 이외의 먹이를 공급하여 달팽이를 실험실에서 사육하려고 시도했다. 藻類 대신 soil-bentonite agar를 만들어 이를 먹이로 사용하기도 했고^{13,14}, 그밖에 상추잎^{8,15}, oatmeal⁹ 심지어는 離乳食을 먹이로 사용한 예도 있다.¹⁶ 그러나 이러한 대용사료로 달팽이를 사육할 경우 그에 수반되는 복잡성은 물론이려니와 달팽이를 실험실에서 오래 유지할 수 없는 단점이 있다.

Taylor와 Mozley¹⁷가 야외의 달팽이 서식지와 유사한 환경을 만들어 달팽이를 사육하는 방법을 보고한 이래 실험실에서 흙위에서 자라는 조류의 생장을 촉진시

키려는 목적으로 학자들은 형광등¹⁸이나 수은등¹⁹을 이용했다. 藻類의 生長에는 紫外線의 照射가 필요하여 햇빛에서 부족한 양을 보충하기 위해서 형광등이나 수은등을 사용했으나 그러한 보고에서는 구체적인 방법이 제시되지 않았다. 본 실험에서는 형광수은등을 사용하여 藻類의 사육에 좋은 결과를 얻었기에 보고한다.

材料 및 方法

배지: 藻類(藍藻類, 珪藻類 및 綠藻類)를 배양하기 위한 배지는 Taylor와 Mozley¹⁷가 기술한 방법으로 준비하였다. 그 방법을 간단히 기술하자면 물달팽이의 서식지(논)에서 채취한 흙을 잘 말린 다음 autoclave에 넣어 140℃에서 3시간 멸균시켰다. 멸균시킨 흙을 적당량의 증류수로 반죽하고 20×15×5cm 크기의 투명 플라스틱 용기에 가장 두꺼운 곳의 두께가 약 1.0cm 되게 깔고 사면을 만들어 표면을 편평하게 다져 놓았다.

藻類의 이식: 물달팽이의 서식지에서 가장 균일하고 왕성하게 자라고 있는 부위의 藻類를 spatula를 이용하여 얇게 채취하였다. 이것을 실험실로 옮겨 증류수로 잘 씻은 다음 1×1cm의 크기로 잘라 준비된 배지에 약 9cm의 간격으로 2개씩 이식하였다.

배 양: 藻類가 이식된 배지에 표면을 덮을 만큼 증류수를 부어 넣은 다음 아래와 같은 조건에서 4주간 배양하였다.

실험 I. 모두 15개의 배지를 1군당 5개씩 3군으로 나누어 다음과 같이 배양조건에 차이를 주었다. 배양 기간은 1991년 10월 1일부터 10월 28일까지 이었다.

A군은 100W 형광수은등(태양전자, 서울)이 부착된 106×76×76cm의 배양기내에만 넣어 두었다. 기간중 배양기내의 온도는 27.6~29.9℃였다. B군은 하루중 햇볕이 없는 14시간은 A군과 같은 배양기내에서, 햇볕이 있는 나머지 10시간은 햇볕이 잘드는 실내에서 배양하였다. 배양기간중 실내온도는 18.0~22.0℃였다. C군은 햇볕의 차단이 전혀없는 자연상태하의 옥상에서 배양하였다. 배양기간중 온도는 9.4~21.2℃였다.

실험 II. 모든 방법은 실험 I에서와 같았는데 온도가 조류의 성장에 미치는 효과를 알아보기 위하여 배양 시기를 달리했다. 배양시기가 11월 9일부터 12월 6일까지 이었기 때문에 실험 I에서와는 달리 A군의 온도는 18.2~21.5℃였으며 B군은 실내 사육시 9.9~17.4℃였고, C군은 2.2~13.0℃로 실험 I에서보다 모두 낮았다.

성장률의 측정: 본 실험을 실시하기 전 예비실험에서 관찰한 결과 藻類의 성장은 대략 다음과 같은 5단계를 거쳐 완료되었다. 藻類를 이식한 후 배지의 물이 녹색으로 변화하고(stage 1), 그 다음에는 이식된 藻類가 배지의 바닥에 정착하여 퍼져나가기 시작 하였으며(stage 2), 이어서 물을 타고 퍼진 藻類가 배지의 전면에 정착하여 배지의 표면이 연한 녹색을 띄었다(stage 3). 그 이후 藻類가 약간의 길이자람을 하면서 물달팽이의 먹이로 제공할 수 있을 만큼 배지의 全面에 확산되었으나 아직 배지의 표면을 가득 메우지는 않았고(stage 4), 최종적으로 배지의 全面이 완전히 藻類로 덮여서 청록색을 나타내었다(stage 5). 실험 I과 II에서는 이러한 단계가 나타나는 시간을 측정하였다.

結 果

달팽이의 서식지에서 藻類를 채취하여 실험실에서 배양한 후 이를 동정한 바(鄭 濬, 경북대학교 1991) 총 10종의 藻類가 포함되어 있었다(Table 1). 그중 7종은 綠藻類였고 3종은 藍藻類였다. 이들중 검출비율이 가장 높았던 것은 綠藻類인 *Gloeoecystis ampla*였고 검출비율이 가장 낮았던 것은 藍藻類인 *Chroococcus minutus* var. *thermalis*였다.

실험 I의 결과는 Fig 1에 요약했다. A군과 B군의 藻類 성장률은 거의 비슷하였으나 A군의 성장률이 B군에 비해 조금 빠른 경향을 보였다. A군은 배양 16일만에 그리고 B군은 배양 17일만에 stage 5까지 성장하였다. 한편 C군은 배지의 물이 녹색으로 변화하는 stage 1을 거치지 않고 배양 5일째에 stage 2까지 자랐으며, 12일째에 stage 3까지만 도달한 후 배양 27일까지 그 이상의 변화는 보이지 않았다.

온도가 藻類의 성장률에 미치는 영향을 알아보기 위하여 시기를 달리하여 실험 I과 같은 방법으로 배

Table 1. List of the fresh water algae obtained from the snail habitat and cultured in the laboratory

Division	Taxa
Chlorophyta	<i>Gloeoecystis ampla</i>
	<i>Ulothrix subconstricta</i>
	<i>Westella botryoides</i>
	<i>Oocystis borgei</i>
	<i>Penium margaritaceum</i>
	<i>Trochicia granulata</i>
	<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>
Cyanophyta	<i>Oscillatoria chalybea</i>
	<i>Oscillatoria grunowiana</i> var. <i>major</i>
	<i>Chroococcus minutus</i> var. <i>thermalis</i>

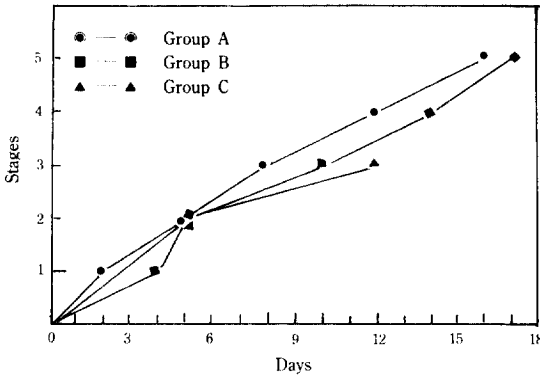


Fig 1. Growth curves of the blue-green algae cultured on mud slopes under different conditions in Experiment I during the period of October 1 to 28. Group A was cultured in an incubator with fluorescent-mercury lamp(100W) ; the temperature in the incubator ranged from 27.6 to 29.9°C. Group B was cultured in an incubator as was Group A during the night, and under the sun during the day time(18.0~22.0 °C). Group C was left on the rooftop only(9.4~21.2 °C).

Stages : (1) The color of water in culture vessels changed to green ; (2) The inoculated algae colonized and started to grow on the mud surface ; (3) The entire mud surfaces were pale green, indicating diffuse growth of the algae ; (4) The growth of the blue-green algae was patchy on the surface, and so on some places the mud was seen ; (5) The entire surface was covered with the blue-green algae, ready to feed the snails.

양한 결과 배양조건에 따른 성장률의 차이가 실험 II에서 더욱 뚜렷하게 나타났다(Fig 2). A군은 배양한후 8일만에 stage 5까지 성장하였으며 B군은 21일만에 stage 5에 도달하였다. 한편 C군은 9일만에 물의 색이 녹색으로 변화하는 stage 1까지만 성장한후 성장이 정지되었는데 이러한 변화이후 배양 27일까지 그 이상의 변화는 보이지 않아 이 시기까지 藻類가 배지에서 전혀 자라지 못하였다.

考 察

본 실험에서는 肝蛭研究에 있어서 가장 기본이 되는 중간숙주인 물달팽이를 실험실에서 사육하기 위하여

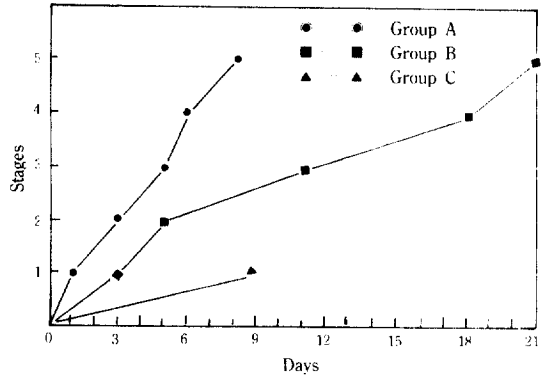


Fig 2. Growth curves of the blue-green algae cultured on mud slopes under different conditions in Experiment II during the period of November 9 to December 6. Group A was cultured in an incubator with fluorescent-mercury lamp (100W) ; the temperature in the incubator ranged from 18.2 to 21.5°C. Group B was cultured in an incubator as was Group A during the night, and under the sun during the day time (9.9~17.4°C). Group C was left on the rooftop only(2.2~13.3°C). The stages of algal growth as in Fig 1.

그의 먹이인 藻類를 실험실에서 배양하였다. 조류배양의 목적은 藻類를 달팽이에 급여할 수 있는 단계까지 배양하는 것이지만 조건을 달리했을 때의 성장속도를 측정할 목적으로 藻類의 성장률을 임의로 5단계로 구분하였다. 배양성적은 형광수은등이 있는 배양기 안에서 18~22°C로 기르는 것이 가장 좋았다. 온도가 28~30°C로 높아지면 같은 정도로 성장하기까지 배의 시간이 소요되었다(Fig 1 및 2).

물달팽이의 야외생태 조사를 토대로 Taylor와 Mozley¹⁷는 자연환경과 유사한 물달팽이의 飼育箱을 만들었는데 그 사육상은 藻類를 배양하기 위한 것이었다. 그들은 藻類를 배양하기 위해 사육상을 햇빛에 노출시켰지만 성장률이 항상 만족한 수준에 도달하지는 않는 것으로 후에 밝혀졌다. 그래서 藻類의 성장을 촉진시킬 목적으로 Malek¹⁸은 형광등을 사용하였고, Kendall과 Parfitt¹⁹는 수은등을 사용하였다. 그러나 이러한 보고에서는 구체적인 내용이 제시되지 않아서 본 실험에 착수하였다. 그 결과 형광등(예비실험, 10W)은 거의 효과가 없었으나 형광수은등은 아주 좋은 결과를 나타냈다. 20°C내외의 온도로 형광수은등 아래서 藻類를 사육할 경우 약 1주일이면 물달팽이의 먹이

로 공급할 수 있음이 본 실험으로 밝혀졌다(Fig 2).

그동안 많은 연구자들이 藻類를 실험실에서 쉽게 배양하지 못하여 藻類 이외의 먹이를 물달팽이에 공급하였다.^{12,15~17} Whitlock et al^{13,14}은 soil-bentonite agar를, 그리고 Boray²⁰는 콩과식물의 일종인 lucerne에 wheatgerm과 calcium sulphate를 섞어서 만든 인공사료를 먹이로 사용하였다. 또한 다른 연구자들은 Cerophyll²¹을 비롯하여 야외에서 채취한 藻類를 건조시켜 만든 乾燥藍藻²² 및 상추잎,^{8,15} oatmeal⁹ 심지어는 이 유식¹⁶과 같은 대체사료를 먹이로 이용하기도 했다. 한편 Kendall과 Parfitt¹⁹는 온도와 일조량이 적절한 시기에 다량의 藻類를 배양하여 4℃에 보관한후 이를 겨울철에 이용하기도 하였다. 그러나 이러한 인공사료나 대체사료로 물달팽이를 사육할 경우 경제적인 면뿐만 아니라 유지하기가 복잡하고 물달팽이를 오랫동안 사육할 수 없는 등 많은 어려움이 있다. 본 실험의 결과는 이러한 단점과 日照가 긴 때 만들었다가 사용하는 번거로움을 제거하였다. 따라서 앞으로는 온도가 낮고 日照時間이 짧아 자연상태에서 藻類가 거의 자라지 않는 겨울철에도 이를 쉽게 배양하여 물달팽이를 실험실에서 사육할 수 있으며 본 연구실에서는 1991년 6월부터 예비실험을 거쳐 이 방법으로 물달팽이를 8개월간(6世代) 사육하고 있다.

結 論

달팽이의 서식지와 유사한 환경을 만든 다음 그 서식지에서 채취한 藻類를 이식하여 培養하였던 바 100W의 형광수은등 아래서 18~22℃로 培養하면 8日 만에 달팽이에 공급할 수 있게 成長하였다. 야외에서 채취하여 培養한 藻類에는 7種의 綠藻類와 3種의 藍藻類가 포함되어 있었다.

參 考 文 獻

1. Pace GL. The freshwater snails of Taiwan (Formosa). *Malacol Rev* 1973 ; 1(Suppl) : 67~72.
2. Boray JC. The economics of trematoda disease. *Proc 2nd Int Congr Parasit*, Washington, No. 722. 1970 ; 401~402.
3. Roseby FB. The effect of fasciolosis on the wool production of Merino sheep. *Aust Vet J* 1970 ; 46 : 361~365.
4. 김덕남, 한인규, 김기근. 간질감염 정도에 따른 지육률 조사연구. 제 7 회 대한수의학회 가축위생

분과회 학술발표자료 1984 ; 21~41.

5. Boray JC. Studies on the ecology of *Lymnaea tomentosa*, the intermediate host of *Fasciola hepatica*. I. History, geographical distribution, and environment. *Aust J Zool* 1964 ; 12 : 217~230.
6. Boray JC. Studies on the ecology of *Lymnaea tomentosa*, the intermediate host of *Fasciola hepatica*. II. The sexual behaviour of *Lymnaea tomentosa*. *Aust J Zool* 1964 ; 12 : 231~237.
7. Lynch JJ. The ecology of *Lymnaea tomentosa* (Pfeiffer 1855) in south Australia. *Aust J Zool* 1965 ; 13 : 461~473.
8. Alicata JE. Observations on the life history of *Fasciola gigantica*, the common liver fluke of cattle in Hawaii, and the intermediate host, *Fossaria ollula*. *Hawaii Agr Exp Sta Bull* No. 80, 1938 ; 1~22.
9. Kendall SB. The life-history of *Lymnaea truncatula* under laboratory conditions. *J Helminthol* 1953 ; 27 : 17~28.
10. 金鍾煥. 기생충매개 담수패류의 생태에 관한 연구. *延世論叢* 1971 ; 9(부록) : 1~12.
11. 張斗煥, 徐明得, 田桂植. 간질의 생태와 진단액에 관한 연구. *서울대학교 수의대 논문집* 1979 ; 4 : 142~157.
12. 魏聖河, 朴承柱, 李政吉. 간질의 중간숙주인 애기물달팽이의 생태. *대한수의학회지* 1991 ; 31 : 515~518.
13. Whitlock HV, Chow DCM, Kelly JD. The laboratory maintenance of field collected *Lymnaea tomentosa* for the reproduction of *Fasciola hepatica* metacercariae. *Vet Parasitol* 1976 ; 1 : 317~325.
14. Whitlock HV, Campbell NJ, Chow DCM, et al. A comparison of two laboratory methods of maintaining field-collected *Lymnaea tomentosa* for the production of *Fasciola hepatica* metacercariae. *Vet Parasitol* 1977 ; 3 : 75~83.
15. Bitakaramire PK. *Lymnaea natalensis* laboratory culture and production of *Fasciola gigantica* metacercariae. *Parasitology* 1968 ; 58 : 653~656.
16. Yoshikawa S. Studies on the breeding of the pulmonate pond-snail, *Lymnaea ollula*. *Venus* 1965 ; 24 : 72~84.
17. Taylor EL, Mozley A. A culture method for *Lymnaea truncatula*. *Nature* 1948 ; 161 : 894.
18. Malek EA. *Laboratory guide and notes for medical malacology*. Minneapolis : Burgess Publishing Co, 1962 ; 112~113.

19. Kendall SB, Parfitt JW. The life-history of some vectors of *Fasciola gigantica* under laboratory condition. *Ann Trop Med Parasit* 1965 ; 59 : 10~16.
 20. Boray JC. The potential impact of exotic *Lymnaea* spp. on fascioliasis in Australasia. *Vet Parasitol* 1978 ; 4 : 127~141.
 21. Isseroff H, Smith KR. Laboratory cultivation of *Fossaria cubensis*(Pheiffer) (Gastropoda : *Lymnaeidae*) for use as an intermediate host for *Fasciola hepatica*. *J Parasitol* 1978 ; 64 : 1134~1135.
 22. 江崎安一. ヒメモノアラカイ의 生態에 관한 研究. 第1報. ヒメモノアラカイ의 發育生命과 生活現象에 について. 日獸會誌 1957 ; 10 : 375~378.
-