

온도별 구리금파리(*Lucilia sericata*)의 발육

김현철¹ · 김수정 · 윤지은 · 조태호² · 최병렬³ · 박정규*

경상대학교 농업생명과학대학/농업생명과학연구원, ¹경상대학교 병원, ²진주교육대학교, ³농업과학기술원 농업해충과

Development of the Greenbottle Blowfly, *Lucilia sericata*, under Different Temperatures

Hyeon Cheol Kim¹, Soo Jung Kim, Ji Eun Yun, Tae-Ho Jo², Byeong Reol Choi³ and Chung Gyoo Park*

College of Agriculture/Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Republic of Korea

¹Gyeongsang National University Hospital, Jinju 660-702, Republic of Korea

²Department of Elementary Science Education, Chinju National University of Education, Jinju 660-756, Republic of Korea

³National Institute of Agricultural Science & Technology, Suwon 441-707, Republic of Korea

ABSTRACT : Maggot therapy (MT) has been re-introduced for non-healing wounds such as pressure sore, diabetic and necrotic ulcers, as well as infected surgical wounds, burn, and trauma injuries since early 1990s. For the production of sterile maggot of proper developmental stage, *Lucilia sericata* were studied on developmental periods of immature stages on liver agar medium under six different temperatures such as 15.4, 20.6, 22.5, 26.2, 29.1, and 33.0°C, and adult longevity and egg production under 29°C. The periods of eggs and larvae of the 1st and the 2nd instars were shortest at 33°C by 9.0, 14.0 and 18.6 hours, respectively. The periods of the 3rd instar larvae and pupae were shortest at 29.1°C by 285.0 and 171.0 hours, respectively. Developmental zero point and total effective temperature for the development of each stage were calculated based on the developmental periods. Adults of both female and male lived more than one month. Females laid an average of 338.5 eggs through 2.7 times of egg laying throughout her lifetime.

KEY WORDS : *Lucilia sericata*, Maggot therapy, Ulcer, Temperature, Development

초 록 : Maggot therapy는 1900년대 초부터 압박성 욕창, 당뇨병 괴사에 의한 궤양, 수술 후 감염된 상처, 화상 등의 상처치료에 다시 사용되기 시작하였다. 환부에 처리할 적절한 발육단계의 무균유충을 생산하고, 증식·보존용 계통을 유지하는 데 필요한 자료를 얻기 위하여 온도별(15.4, 20.6, 22.5, 26.2, 29.1, 33.0°C) 발육실험을 수행하였다. 간배지(liver agar medium)에서 알기간과 1령 및 2령 기간은 33.0°C에서 각각 9.0시간, 14.0시간, 18.6시간으로 가장 짧았다. 3령 기간과 번데기 기간은 29.1°C에서 각각 285.0시간과 171.0시간으로 가장 짧았다. 온도별 발육기간을 기초로 각 발육단계의 발육영점온도와 유효적산온도를 산출하였다. 암수 성충은 대개 1개월 이상 생존하였고, 암컷은 일평생 2.7회 산란하였으며, 총 338.5개의 알을 낳았다.

검색어 : 구리금파리, *Lucilia sericata*, 구더기 치료, 궤양, 온도, 발육

*Corresponding Author: parkcg@gnu.ac.kr

Maggot therapy (MT)란 살아있는 무균의 파리유충을 환부에 처리하여 감염성 상처를 치료하는 방법을 말하는데, 현재 미국, 영국, 캐나다, 스위스, 스웨덴, 헝가리, 호주, 독일, 태국 등에서 이 방법을 사용하고 있다(Mumcuoglu, 2001). MT는 다른 용어로는 larval therapy (Weil *et al.*, 1933), maggot debridement therapy (MDT) (Sherman *et al.*, 1991) 또는 bio-surgery (Church, 1995)로 표현하기도 하지만, 본 논문에서는 Sherman *et al.* (2000)에 따라 'maggot therapy'를 사용하기로 한다.

오늘날 MT는 피부나 부드러운 조직의 여러 가지 상처, 예를 들면 아급성유양돌기염(subacute mastoiditis) (Horn *et al.*, 1976), 창상제거(wound debridement) (Reames *et al.*, 1988; Zeesham and Lawrence, 2003), 척수마비 환자에서 발생한 압박성 욱창(pressure sores) (Sherman *et al.*, 1991), 정맥 울혈성 궤양(venous stasis ulcer) (Sherman *et al.*, 1996), 괴사중의 근막염(necrotizing fasciitis) (Preuss *et al.*, 2004), methicillin 저항성 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*; MRSA)에 의한 상처의 치료 (Bexfield *et al.*, 2004) 등에 이용되고 있다.

MT 용 파리류로는 검정파리과(Calliphoridae) 8종, 쉬파리과(Sacrophagidae) 1종, 집파리(*Musca domestica* (Linne)) 등 총 10종이 사용되어 왔으나, 현재에는 검정파리과의 구리금파리[greenbottle blowfly, *Lucilia* (=Phaenicia) *sericata* (Meigen)]가 가장 널리 사용되고 있다(Sherman *et al.*, 2000; Nigam *et al.*, 2006).

구리금파리는 갓 부화한 유충이나 부화 후 2-36시간 이내의 어린 유충을 무균으로 사육하여 환부에 처리하는데(Mumcuoglu, 2001), 환부에 처리하는 날짜에 정확하게 유충을 공급하거나 계통의 유지를 위해서는 각 온도별 발육에 관한 정보가 필요하다. 따라서 본 연구에서는 15.4°C 부터 33°C까지 6종류의 온도에서 알부터 번데기까지의 각 발육단계별 발육기간을 조사하였고, 29°C 항온조건에서 성충의 수명, 산란전 기간, 산란수 등을 조사하였다.

재료 및 방법

성충 및 유충의 사육과 채란

구리금파리는 우리나라에 널리 분포하는데(Park and Son, 1998; Jo and Jung, 2001), 실험에 사용한 구리금파리는 2004년 4월에 생닭을 야외에 두어 유인, 채집한 후 실내에서 누대 사육하고 있는 것이었다. 생닭에 유인된

Lucilia 속 파리 중에서 분류가 어려운 구리금파리(*L. sericata*)와 꼬마구리금파리(*L. cuprina*)의 구분은 Hayashi and Shino (1979)의 분류기준을 따랐다. 성충은 20×40×30 cm의 직사각형 스텐레스 강철 틀에 흰 천을 씌운 사육 상자에서 사육하였다. 먹이로서 각설탕 6개(20 g), 20 g 정도의 분유와 물을 제공하고 사육 상자당 250~400마리를 넣어 25±2°C, 16L : 8D의 실내조건에서 누대사육하였다. 우화 후 10일 정도 된 성충이 있는 사육상자에 소의 생간 조각 약 10 g을 2~3시간 정도 넣어 채란하였고, 유충은 플라스틱 통(15×7 cm)에 닭고기 약 240 g을 먹이로 하여 사육하였다.

간배지의 제조

약 2,000 g의 소간으로부터 지방과 힘줄을 제거하고 증류수로 깨끗이 씻은 다음 믹서기로 부드럽게 갈았다. 삼각플라스크(5,000 ml)에 2,526 ml의 증류수를 붓고 88.4 g의 agar를 더한 후 잘 희석하고 끓여서 agar용액을 만들었다. 5,000 ml의 비이커에 부드럽게 분쇄한 간을 붓고, 끓인 agar 용액을 더하고 잘 섞어서 간배지를 만들었다. 1 ℓ의 삼각플라스크에 400 ml의 간배지를 붓고 마개를 한 다음 autoclave로 멸균하였다. 멸균 후 간배지 100 ml당 polymyxin B sulfate 용액과 kanamycin sulfate 용액을 1 ml씩 넣은 후 잘 섞어주었다. 간배지가 식은 다음 Petri dish (직경 9 cm)당 20 ml를 붓고 간배지가 완전히 굳은 다음 실험에 사용할 때까지 4°C 냉장고에 보관하였다. Kanamycin sulfate 용액은 50 ml의 증류수에 kanamycin mono sulfate 2 mg (Sigma-Aldrich)을, polymyxin B sulfate 용액은 동량의 증류수에 polymyxin B sulfate 500 mg (Sigma-Aldrich)을 녹인 다음 0.4 μm의 milipore filter로 여과하여 만들었다.

알 소독

소의 생간 덩어리 위에 낳은 난괴를 떼어내어 50 ml 크기의 시험관에 넣은 후 0.05%의 sodium hypochlorite 용액을 난괴가 충분히 잠기도록 채웠다. 난괴로부터 하나 하나의 난을 분리하기 위하여 15분 동안 시험관을 손으로 부드럽게 흔들어 준 다음, 용액을 따라 버렸다. 알 표면을 소독하기 위하여 5% formaldehyde 용액을 알이 충분히 잠기도록 넣은 다음 5분 동안 부드럽게 흔들어주었다. Fume food 안에서 무균 buchner 깔때기로 걸러낸 알을 증류수로 3~4번 씻어주었다.

미성숙 단계의 온도별 발육

살균 피펫으로 간배지에 여러 개의 흠집을 낸 후 Petri-dish 당 10-15개의 소독된 알을 접종하고 각 온도에 처리하여 부화율, 난기간, 각 령기간과 번데기 기간을 조사하였다. 1령충은 hook의 모양과 크기로써, 2, 3령충은 후기문의 수로써 령기를 구분하였다(Hayashi and Shino, 1979). 16L : 8D의 조명과 15.4, 20.6, 22.5, 26.2, 29.1, 33.0°C ($\pm 1^\circ\text{C}$)의 항온기 (BOD incubator SW-90B, Sang Woo Scientific Co., Korea)에서 알~2령까지는 3시간 간격, 3령은 12시간 간격, 번데기는 24시간 간격으로 발육상태를 조사하였다. 각 단계의 발육기간을 산출하였고, 이를 기초로 각 발육단계별 발육영점온도와 유효적산온도를 산출하였다. 발육영점온도는 각 온도별 발육기간의 역수와 온도와의 관계 직선식을 구하고, 그 직선이 X-축과 만나는 점을 계산하여 산출하였다. 유효적산온도는 $DD = T_d (T_e - T_1)$ 의 공식에 따라 각 실험온도별 유효적산온도를 구하고, 그 값들을 평균하여 각 발육단계의 유효적산온도를 산출하였다. 위 식에서 T_d 는 실험온도에서의 발육기간, T_e 는 실험온도, T_1 는 발육영점온도이다.

성충의 수명과 산란수

하나의 플라스틱 통(15×7 cm) 또는 Petri-dish (9×4 cm)에 우화직후의 성충 암수 한 쌍씩을 넣고 먹이로는 분유, 각설탕 1개, 증류수를 각각 공급하였다. 산란수를 조사하기 위하여 실험시작 5일 후부터 소의 생간 약 0.9 g을 물에 적신 거즈 위에 올려놓았다. 플라스틱 통과 Petri-dish에 각각 20쌍을 처리하였고, 수컷이 죽으면 다른 수컷으로 대체해주었다. 사육통은 3일에 한번씩, 생간은 2일마다 교체해주었다. 플라스틱 통과 Petri-dish에서 사육한

성충의 산란전 기간, 수명, 산란수가 차이가 없었기 때문에 data를 통합하여 정리하였다. 상기의 유충 발육실험에서 15°C와 33°C에서는 치사율이 높았고, 또한 번데기의 치사 상한온도가 약 35°C이기 때문에(Wall et al., 2001), 성충 수명과 산란수 실험은 29±1°C, 16L : 8D의 항온기에 서만 실험하였다. 산란횟수당 산란수 (Table 3의 No. eggs/oviposition/female)는 각 산란 암컷의 총 산란수(No. eggs/female)를 산란횟수(No. oviposition/female)로 나누고, 그 값들을 평균하여 산출하였다.

결과 및 고찰

유충 및 번데기의 온도별 발육

발육실험을 시작했을 때 처리한 알은 각 온도마다 100개이었으나 부화율과 각 령 기간 동안의 치사율이 달라 발육기간을 산정하는데 이용된 실험충수는 일정하지 않았다(Table 1.). 각 온도별로 발육기간을 보면, 산란 직후부터 성충 우화까지 걸린 시간은 15.4°C에서 1,576.3시간으로 가장 길었고, 29.1°C에서 510.0시간으로 가장 짧았다. 33.0°C에서도 그 기간이 514.0시간으로 짧았으나 각 발육 단계별 치사율이 높아 발육에 적절한 온도로는 생각되지 않는다.

구리곰파리의 온도별 발육에 대하여 Greenberg (1991)와 Grassberger and Reiter (2001)은 22°C에서 알에서부터 성충우화까지 최저발육기간이 각각 343시간과 339시간이라고 하여, 본 실험의 결과보다 발육기간이 짧았다. 이러한 원인은 지역 계통간의 차이 또는 사용배지의 차이 때문으로 생각된다. 어떤 곤충의 발육은 먹이의 종(種)이나 질(質)에 따라 발육이 달라질 수 있는데, Clark et al.

Table 1. Developmental period (hrs, Mean±SD) of *Lucilia sericata* reared on liver agar medium at six different temperatures

Developmental stage	Temperature (°C)											
	15.4		20.6		22.5		26.3		29.1		33.0	
Egg	39.0±0.0	(24) ¹	22.0±0.0	(29)	15.0±0.0	(50)	12.0±0.0	(64)	11.0±0.0	(50)	9.0±0.0	(59)
1st instar	78.0±0.0	(17)	38.0±0.0	(26)	30.0±0.0	(45)	24.0±0.4	(55)	23.0±9.0	(49)	14.0±1.0	(53)
2nd instar	79.3±14.0	(12)	40.3±6.0	(18)	30.4±1.0	(41)	22.0±4.0	(53)	20.3±3.0	(47)	18.6±3.0	(47)
3rd instar	780.0±15.3	(2)	449.0±84.3	(14)	377.0±58.0	(32)	316.0±82.0	(30)	285.0±107.0	(32)	296.0±82.0	(28)
Pupa	600.0	(1)	320.0	(1)	236.0±43.0	(9)	189.0±15.0	(16)	171.0±37.4	(17)	176.0±21.2	(7)
Egg~adult emergence	1,576.3		869.3		688.4		563.0		510.0		514.0	

¹ Numbers in parenthesis are the number of insects used in the calculation of developmental periods.

Table 2. Development zero points (°C) and total effective temperatures (hour-degree) for the immature stages of *Lucilia sericata*

Stage	Regression equation	R ²	Developmental zero point (°C)	Total effective temp. (mean±SD)
Egg	Y = 0.0049X - 0.052	0.992** ¹	10.5	201.5±11.5
1st instar	Y = 0.0030X - 0.036	0.924**	12.1	325.9±46.9
2nd instar	Y = 0.0025X - 0.024	0.967**	9.6	420.7±31.6
3rd instar	Y = 0.0001X - 0.001	0.912*	5.0	7,348.7±663.3
Pupa	Y = 0.0003X - 0.002	0.921**	6.3	4,423.2±616.3
Egg~adult emergence	Y = 0.0001X - 0.0005	0.935	6.3	12,571.3±1,190.2

¹ *: p<0.05, **: p<0.01

Table 3. Fecundity and longevity of *Lucilia sericata* at 29 °C

Statistics	Longevity (days)		Pre-oviposition period (days)	No. eggs /female	No. oviposition/ female	No. eggs/ oviposition/female
	Female	Male				
No. tested flies	40	66	31	31	31	31
Mean±SD	34.9±10.2	33.0±10.8	16.5±8.0	338.5±203.8	2.7±1.4	124.4±45.3
Maximum value	57	55	44	790	6	220.0
Minimum value	9	7	6	40	1	36.8

(2006)은 구리금파리의 유충이 소보다는 돼지의 조직에서, 간보다는 폐나 심장의 조직에서 사육하였을 때 발육이 더 빠르다고 하였다. 본 실험에서는 멸균한 간배지를 사용하였고, Greenberg (1991)와 Grassberger and Reiter (2001)는 소의 생간을 사용하였다. 간배지는 3.5%의 agar 희석액에 소간을 첨가한 것이기 때문에 생간보다 영양가치가 낮을 것으로 생각되며, 그 때문에 본 실험에서 발육시간이 길어졌다고 생각된다. 그러나 무균구더기를 생산하기 위해서는 생간보다는 간배지가 사육 중의 부패 냄새가 없고, 멸균할 수 있다는 장점이 있다고 생각된다.

Table 1의 발육기간으로 산출된 구리금파리의 각 발육단계별 발육영점온도는 5.0~12.1°C로서 알과 1, 2령충이 높았고 3령충과 번데기가 낮았다(Table 2). 알에서부터 성충이 우화하기까지 전체기간에 대한 발육영점온도는 6.3°C이었다. 유효적산온도는 알에서부터 3령기까지의 발육단계가 늦을수록 높아졌으나 3령충보다는 번데기의 유효적산온도가 낮았다. 알에서 성충우화까지의 총유효적산온도는 12,571시간이었다.

성충의 수명과 산란수

암컷과 수컷 성충의 수명은 각각 34.9일과 33.0일이었다. 암컷 한 마리는

평생동안 평균 2.7회 산란을 하였고, 1회당 산란수는 124.4개, 평생동안 총 338.5개를 산란하였다. Wall (1993)은 구리금파리는 매회 당 225개의 알을 낳는다고 하여 본 실험과 많은 차이가 있었는데, 이는 지역계통 간의 차이 또는 성충에게 제공한 먹이의 종류에 의한 차이 때문으로 생각된다.

Literature Cited

- Bexfield, A., Y. Nigam, S. Thomas and N.A. Ratcliffe. 2004. Detection and partial characterisation of two antibacterial factors from the excretions/secretions of the medicinal maggot *Lucilia sericata* and their activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbes and Infection* 6: 1297-1304.
- Church, J.C.T. 1995. Larvathery-bio-surgery. *Eur. Tissue Repair Soc. Bull.* 2: 109-110.
- Clark, K., L. Evans and R. Wall. 2006. Growth rates of the blowfly, *Lucilia sericata*, on different body tissues. *Forensic Sci. Intl* 156: 145-149.
- Grassberger, M. and C. Reiter. 2001. Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen- and isomorphen-diagram. *Forensic Sci. Intl* 120: 32-36.
- Greenberg, B. 1991. Flies as forensic indicators. *J. Med. Entomol.* 28: 565-577.
- Hayashi, A. and S. Shinonaga. 1979. Ecology and control of flies. *Bunido Publ. Co.* 210 pp.

- Horn, K.L., A.H. Cobb, G.A. Ksander. 1976. Maggot therapy for subacute mastoiditis. *Arch Otolaryngol.* 102: 377-379.
- Jo, T.H. and Y.Y. Jung. 2001. On the flies collected from Mt. Geonheung and Landfill, Geochang-gun, Gyeongnam, Korea and their seasonal prevalence. *Korean J. Entomol.* 31: 207-220.
- Mumcuoglu, K.Y. 2001. Clinical applications for maggots in wound care. *Am. J. Clin. Dermatol.* 2: 219-227.
- Nigam, Y., A. Bexfield, S. Thomas and N.A. Ratcliffe. 2006. Maggot therapy: The science and implication for CAM. Part II-Maggot combat infection. *Evidence-based Compl. Alt. Medicine.* 3: 303-308.
- Park, S.H. and H.S. Son. 1998. On the flies collected in a seaside, Songna-myon, Pohang, Korea and their seasonal prevalence. *K. J. Entomol.* 28: 155-161.
- Preuss, S.F., M.J. Stenzel and A. Esritl. 2004. The successful use of maggots in necrotizing fasciitis of the neck: A case report. *Head & Neck.* 26: 747-750.
- Reames, M.K., C. Christensen and E.A. Luce. 1988. The use of maggots in wound debridement. *Ann. Plast. Surg.* 21: 388-391.
- Sherman, R.A., F.A. Wyle, M. Vulpe, R. Wishnow, J. Iturrino. 1991. Maggot therapy for treating pressure sores in spinal cord patients. *J. Am. Paraplegia Soc.* 14: 200 (Abstr.).
- Sherman, R.A., J.M.T. Tran and R. Sullivan. 1996. Maggot therapy for venous stasis ulcers. *Arch. Dermatol.* 132: 254-256.
- Sherman, R.A., M.J.R. Hall and S. Thomas. 2000. Medicinal maggots: an ancient remedy for some contemporary afflictions. *Annu. Rev. Entomol.* 45: 55-81.
- Wall, R. 1993. The reproductive output of the blowfly *Lucilia sericata*. *J. Insect Physiol.* 39: 743-750 (Abstr.).
- Wall, R., K.M. Pitts and K.E. Smith. 2001. Pre-adult mortality in the blowfly *Lucilia sericata*. *Med. Veter. Entomol.* 15: 328-334.
- Weil, G.C., R.J. Simon and W.R. Sweadner. 1933. A biological, bacteriological and clinical study of larval or maggot therapy in the treatment of acute and chronic pyogenic infection. *Am. J. Surg.* 19: 36-48.
- Zeesham, S.H. and M.F. Lawrence. 2003. Maggot therapy for wound debridement in a traumatic foot-degloving injury: A Case Report. *J. Foot & Surgery* 42: 371-376.

(Received for publication January 8 2007;
accepted March 26 2007)