

프로폴리스 생산성 우수 꿀벌 계통 선발을 위한 꿀벌 계통별 프로폴리스 생산성 평가

오현림¹ · 김혜경^{1,2} · 이명렬¹ · 이만영¹ · 김동원¹ · 우순옥¹ · 강아랑¹ · 최용수^{1,*}

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부, ²국립한국농수산대학 산업곤충학과

Evaluation of Propolis Productivity among Honey Bee Lines to Select Superior Lines

Hyun-Rim Oh¹, Hye-Kyung Kim^{1,2}, Myeong-Lyeol Lee¹, Man-young Lee¹,
Dong Won Kim¹, Soon-Ok Woo¹, Ah Rang Kang¹ and Yong-Soo Choi^{1,*}

¹Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science and Technology,
RDA, Wanju, Republic of Korea

²Department of Industrial Entomology, Korea National College of Agriculture and Fisheries,
Jeonju, Republic of Korea

(Received 19 November 2018; Revised 4 March 2019; Accepted 12 April 2019)

Abstract

Honey bees use propolis to defend against invaders and pathogens. Propolis, a resinous mixture, has been widely used for its antibacterial, antifungal and anti-inflammatory properties. This research was carried out to evaluate the propolis productivity in *Apis mellifera* lines to select superior honeybee lines. For the study, which were collected from three regions in Korea were evaluated for the productivity of propolis. The results showed that, the average propolis per colony was highest in the line P2 (10.1 g/hive), which was inbred line derived from isolated region, compared to other lines. We also measured brood development on the basis of population size of eggs, brood, and adult bees to further probe for relation between population size and propolis yield, in that larger population generally have more foragers. Also, adult population expended more greatly in the line P2 compared to that in the control.

Key words: Honey bee, *Apis mellifera*, Propolis, Production

서 론

프로폴리스는 꿀벌이 식물로부터 수집해 오는 천연 수지성분으로 습기나 바람, 세균, 바이러스 등 외부환경으로부터 봉군을 보호하기 위해 벌집 내부의 갈라진 틈을 메꾸거나 내벽, 입구를 도포하는데 주로

이용되는 물질이다(Ghisalberti, 1979; Harborne and williams, 2000; Simone-Finstrom *et al.*, 2017). 수집된 수지성분은 일벌의 저작활동 및 타액에 포함되어 있는 효소를 이용해 분해시킨 뒤 일벌 몸에서 분비되는 밀납을 섞어 이용되는 것이 일반적이다(Simone *et al.*, 2009; Simone-Finstrom and Spivak, 2010; Zhang *et al.*, 2011). 프로폴리스는 수지(50%), 밀납(30%),

*Corresponding author. E-mail: beechoi@korea.kr

정유(10%), 화분(5%), 플라보노이드 등 기타 방향족 물질(5%)들을 함유하고 있다(Papotti *et al.*, 2012). 그 중 플라보노이드는 프로폴리스 성분의 약 5%로, 비교적 소량 함유되어 있지만, 항균, 항산화, 항암, 항염증 등 다양한 기능을 보유하고 있는 것으로 잘 알려져 있다(Lindenfelser, 1967; Ghisalberti, 1979; Harborne and Williams, 2000). 현재까지 연구된 바에 의하면 프로폴리스에 함유되어 있는 플라보노이드 성분은 240가지 이상 알려져 있지만 이는 주변 식생에 따라 큰 차이를 보여 이에 따른 프로폴리스 품질 및 기능성은 크게 달라지기도 한다(Bankova, 2005).

봉군의 특성, 즉 봉군의 생산성과 관련된 주요 형질 특성은 주로 여왕벌과 일벌의 상호작용에 따라 큰 차이를 보인다(Bienefeld *et al.*, 2007). 즉, 봉군의 수밀력 및 방어력 등의 특성은 일벌에 의해 영향을 받지만, 벌꿀 생산성과 봉군행동 등은 여왕벌에 따라 그 특성이 달라질 수 있다. 하지만, 이러한 특성은 모계에서 자손세대로 전달되는데 있어 유전율은 그리 높지 않다. Bienefeld와 Pirchner(1990)에 의하면 *Apis mellifera carnica* 계통의 밀랍생산성은 모계와 자손세대에 대한 형질의 유전율은 각각 0.45, 0.39로, 부의 상관관계(-0.96)를 보임으로써, 원하는 형질이 자손세대로 전달되기 힘들다고 밝히기도 하였다.

최근 국내에서는 꿀벌 특성별 우수 꿀벌 계통 육성을 위한 연구가 활발히 이루어지고 있다. Kim 등(2015)은 국내 육성 6개 꿀벌 계통에 대한 유전적 다양성을 보고한 바 있으며, 이 등(2014)은 수밀력이 우수한 꿀벌 계통을 육성하였다. 뿐만 아니라 Lee 등(2017)과 김 등(2017)은 로얄제리 생산성 우수 계통 선발시험을 지속적으로 수행하고 있다. 이러한 꿀벌 육종 연구의 일환으로 본 연구에서는 프로폴리스 다수확 계통을 선발하고, 이를 지속적으로 유지·보존하고자 하였다. 이를 위해 타 지역과 격리된 지역으로부터 서양종꿀벌 계통을 수집하여 이들 계통에 대한 프로폴리스 생산성 평가를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 서양종꿀벌 계통

프로폴리스 생산성 우수 꿀벌 계통 선발을 위해 본

연구에서는 비교적 순계가 잘 유지되어 오고 있는 격리된 지역으로부터 꿀벌 P1, P2, P3 계통을 수집하여 2016년부터 농촌진흥청 국립농업과학원에서 인공수정을 통해 유지·보존하였다. 각각의 시험계통은 2017년 새롭게 여왕벌을 양성한 후 봉군을 형성하여 시험에 사용하였으며, 대조군으로는 보급종인 장원벌을 사용하였다. 시험봉군 양성을 위해 각각의 시험계통으로부터 수벌양성을 위한 봉군(4-5봉군)과 처녀 여왕벌 양성을 위한 봉군(2-3봉군)을 각각 선발하고 수벌(40일전) 및 여왕벌(10일전)을 양성한 후 격리육종장에서 자연 교미시켜 정상적으로 교미가 이루어진 여왕벌에 한해 각 계통당 5봉군씩 8매 벌로 양성하여 시험에 사용하였다(Fig. 1).

2. 서양종꿀벌 계통별 프로폴리스 생산성 평가 및 봉군발육조사

수집 계통에 대한 프로폴리스 생산성 평가는 2017년 국립농업과학원 실험 양봉장에서 이루어졌으며, 1차시기(6~7월)와 2차시기(8~9월)로 나누어 각각 수행되었다. 프로폴리스 생산성 평가는 양성된 시험봉군별로 생산되는 프로폴리스 양을 측정하는 방법으로 수행되었으며, 이를 위해 폴리에틸렌 재질의 프로폴리스 생산망을 각각의 벌집상단에 덮고 시기별 생산된 프로폴리스를 채취하는 방법을 통해 측정이 이루어졌다. 각각의 수집 계통별 생산되는 프로폴리스 양은 봉군 당 생산되는 프로폴리스 생산량(g/hive)으로 나타내었다. 봉군발육조사는 2017년 6월에서 9월에 걸쳐 시험계통별 일벌 수 및 번데기 난 수를 계수하는 방법으로 조사가 이루어졌으며, 각각의 조사는 매월 1회 시행되었다.

3. 통계처리

각 실험결과에 대한 통계분석은 SPSS program (Ver. 22.0, IBM, USA) 일원배치분산분석(one-way ANOVA)법을 이용하여 비교하였으며, 각 실험 구간의 유의적 차이는 multiple, Tukey의 다범위검정($p < 0.05$)을 이용하여 검증하였다.

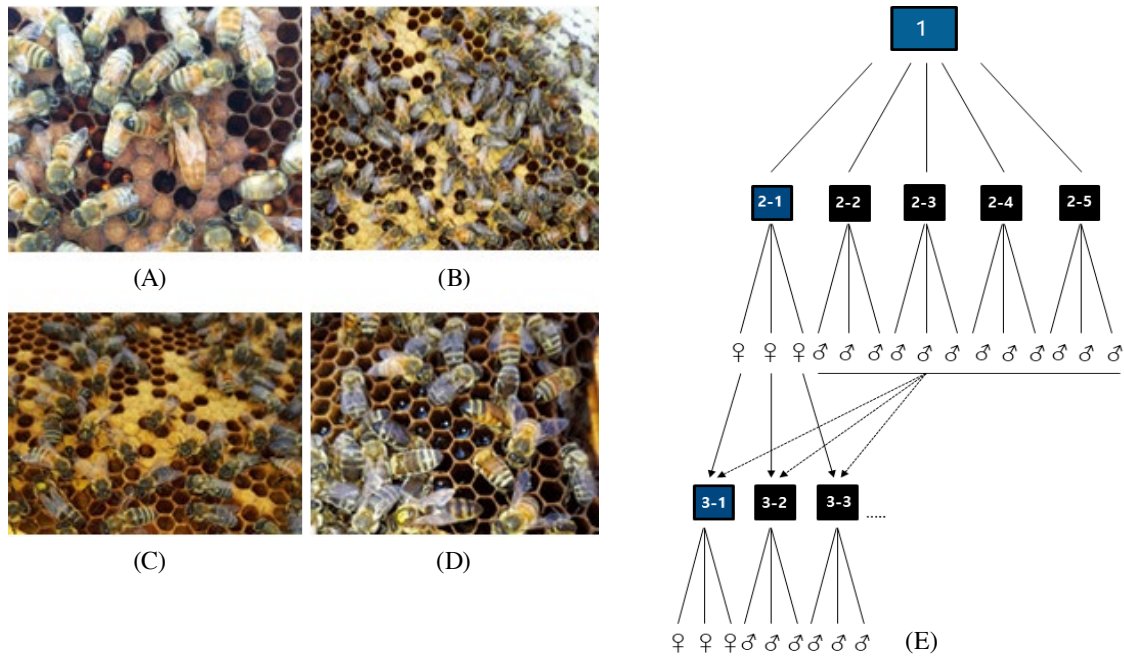


Fig. 1. The inbreed lines of *Apis mellifera* that was inbred for several generations. (A) control; (B) P1; (C) P2; (D) P3; (E) Breeding scheme used to produce the experimental colonies. 1; First generation collection of isolated region. 2; Second generation queens were reared same mother. Each sisters using produce queen or drones. Blue square indicated hive for produce queen, black square indicated hive for produce drone. 3; Third generation. The queens are mated by drone produced sisters queens in isolated mating station (in island).

결과 및 고찰

1. 꿀벌 계통별 프로폴리스 생산성 평가

6~7월(1차)에 조사된 프로폴리스 생산량은 대조군으로 사용한 장원벌의 경우 7.79 g/hive, 수집 계통 P1, P2, P3은 각각 2.69 g/hive, 10.10 g/hive, 2.88 g/hive로 P2 계통의 프로폴리스 생산량이 대조군에 비해 높은 것으로 확인되었다(Fig. 2). 반면 2차 시기(8~9월) 조사결과에 의한 프로폴리스 생산량은 대조군의 경우 4.75 g/hive, 수집 계통 P1, P2, P3은 각각 4.25 g/hive, 4.82 g/hive, 2.45 g/hive로 1차 결과와 마찬가지로 P2 계통의 프로폴리스 생산량이 가장 높은 것으로 드러났으나, 대조군 및 수집계통 P1과 비교했을 때 큰 차이를 보이는 수준은 아니었으며 통계적인 유의성 또한 없었다($p > 0.05$).

본 연구결과에서는 꿀벌 계통에 따라 프로폴리스 수집량에 큰 차이를 보여주었다. 본 연구에 사용된 꿀벌 계통은 비교적 격리된 지역에서 수집·육성된 계통들로 프로폴리스 생산성면에서 각기 다른 차이를 보

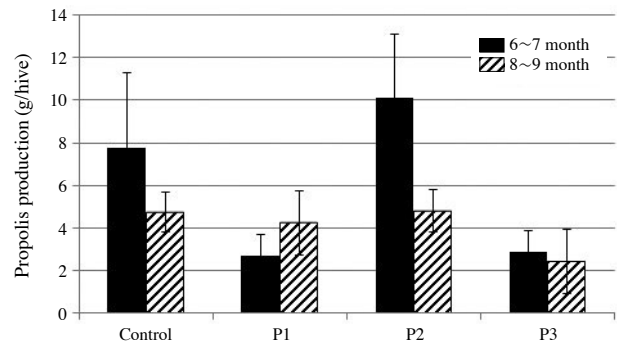


Fig. 2. Average propolis production (g) per hive during 4 months in different honeybee lines and the unselected commercial lines that was used as control. Bars indicate the standard deviation in replications. The data not showed significant difference ($p > 0.05$).

이고 있다. 특히 이들 계통에 대한 생산성 시험은 같은 장소의 유사한 위치에서 이루어진 점을 고려할 때 환경적인 영향 보다는 계통 특성에 의한 영향이라고 보는 것이 보다 일반적일 것으로 여겨진다. 하지만 본 연구에서 사용된 시험구는 대조군에 비해 월등히 뛰어난 결과를 얻지는 못했다. 비교적 높은 프로폴리스

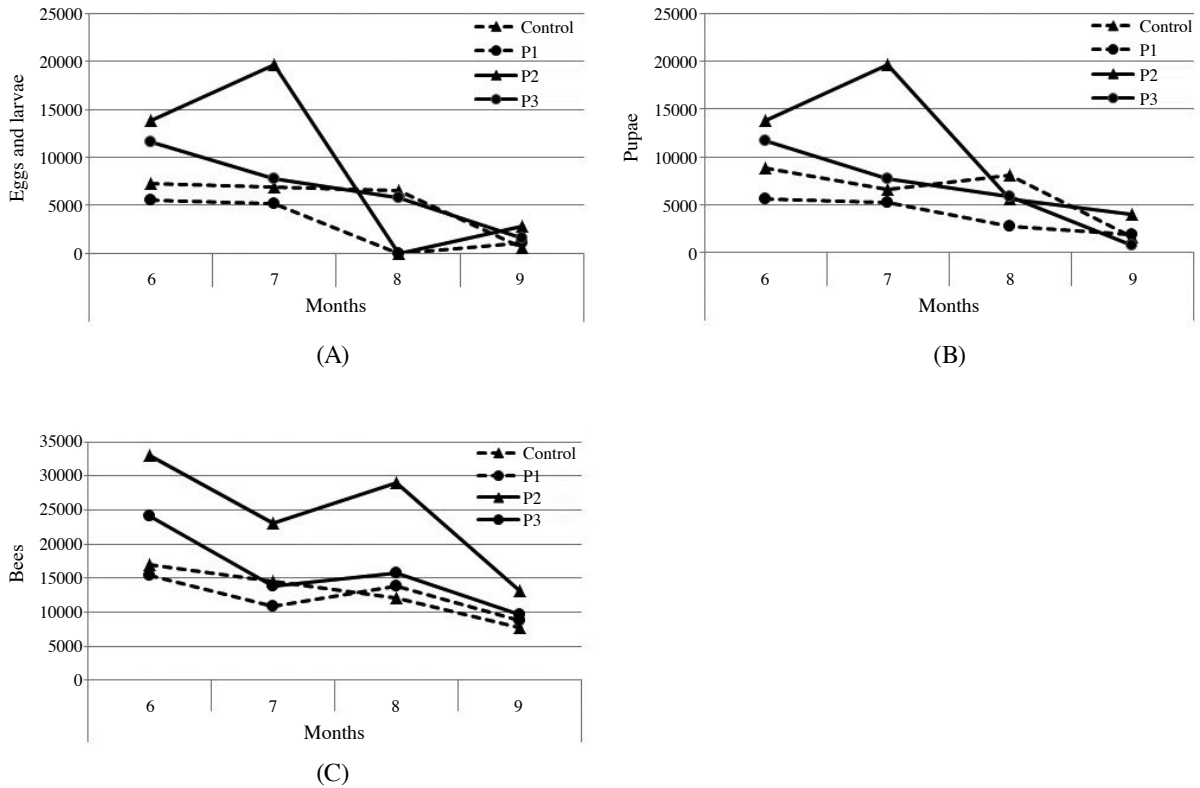


Fig. 3. The number of eggs, larvae, pupae, and worker produced during 4 months in different honeybee lines and the unselected commercial lines that was used as control. (A) eggs, larvae; (B) pupae; (C) worker. The data not showed significant difference ($p > 0.05$).

생산량을 보였던 P2 계통 조차도 대조군에 비해서는 큰 차이를 보이지 않았는데, 이는 대조군으로 사용된 장원별 특성에 기인한 것으로 여겨진다. 장원별은 벌꿀 생산성이 우수한 것으로 인정된 국내 유일의 보급 품종이다(이 등, 2014). 그러나 이 계통은 벌꿀 생산성뿐만 아니라 프로폴리스 생산성 측면에서도 비교적 우수한 능력을 보이는 것으로 판단되어, 이를 뛰어넘는 시험구들의 우수한 성적을 기대하기 어려웠다. 하지만 P2 계통의 경우 낮은 수준이기는 하나 대조군에 비해 높은 생산성을 보여 지속적인 육종을 통해 우수한 형질을 육성해 나갈으로써 생산량의 증대를 꾀할 필요가 있을 것으로 여겨진다.

2. 봉군발육조사

일반적으로 봉군의 생산량은 봉군의 발육과 큰 상관관계를 갖는다. 본 연구에서는 프로폴리스 생산성과 관련하여 각 시험 계통별 일벌에 대한 봉군발육

조사를 수행함으로써 봉군발육과 프로폴리스 생산성과의 상관관계를 밝히고자 하였다(Fig. 3). 결과에 따르면, P1 계통의 6월, 7월, 8월, 9월 일벌 수는 각각 15,400, 10,780, 13,860, 8,800이며, P2 계통의 6월, 7월, 8월, 9월 일벌 수는 각각 33,000, 23,100, 29,040, 13,200이다. 또한 P3 계통의 6월, 7월, 8월, 9월 일벌 수는 각각 24,200, 13,860, 15,840, 9,680으로 각각의 계통 중 P2 계통의 일벌 수가 타 계통에 비해 높은 것으로 드러났다. P2 계통은 시기별 난·유충 수 변화에서도 뚜렷한 특징을 보였다. 7월 P2 계통의 난·유충 수는 19,696으로 6월 비슷한 수량을 기록한 P3 계통과 비교했을 때 2배 이상 높은 수량을 나타내었고, 이러한 경향은 8월 9월 번데기 및 일벌 수에 영향을 미쳐 8~9월 P2 계통의 일벌 수가 큰 폭으로 늘어났다. Farrar(1937)는 봉군의 일벌 개체수는 15,000에서 60,000 사이일 때 일벌 개체 수에 비례하여 봉군 생산성이 높아진다고 밝힌 바 있다. 이러한 점으로 미루어 보아 P2 계통의 프로폴리스 생산성은 봉군 개체 수에

따른 생산량의 증가로 볼 수 있으며, 이는 P2 계통의 산란력에 의한 차이라고 평가할 수 있다.

일반적으로 봉군의 생산성과 관련된 형질은 꿀벌 계통에 따라 큰 차이를 보인다. 하지만 일벌의 생산성과 관련된 형질, 특히 프로폴리스 생산성과 관련된 형질에 관한 연구는 거의 이루어진 바가 없다. Manrique and Soares (2002) 등은 프로폴리스 생산성이 높은 꿀벌 계통은 벌꿀 생산성과 높은 상관관계를 가진다 ($r=0.42$)고 밝혀 프로폴리스 생산성은 다른 채집활동과 밀접한 영향이 있을 것으로 여겨지지만, 이후 이에 대한 연구결과를 뒷받침할 연구는 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 연구결과에 따른 프로폴리스 생산성 우수계통이 프로폴리스 생산성뿐만 아니라 다른 채집행동과의 상관관계를 밝히는 노력이 필요할 것으로 여겨지며, 더 나아가 이러한 행동을 조절하는 인자 및 메카니즘에 대한 연구도 이루어져야 할 것으로 보인다.

다른 연구자들에 의해서는 채집활동을 하는 외역봉에서 특이적으로 발현하는 유전자 및 호르몬에 관한 연구가 이루어지기도 하였는데, 이렇게 외역봉 특이적으로 발현하는 유전자 등이 꿀벌의 채집활동과 관련성이 있을 것으로 보여진다. 즉, 채집활동을 하는 외역봉은 성충으로 우화한지 21일부터 채집활동을 하는데, 이때 일벌 머리에서는 *foraging gene* (Amfor) 발현량이 증가하고 (Ben-Shahar *et al.*, 2003), 유약호르몬 (Juvenile hormone, JH) 분비가 촉진될 뿐만 아니라 (Elekovich *et al.*, 2001) 후각관련 기관 내 octopamine 분비 또한 촉진 (Schulz *et al.*, 2002) 된다. 하지만 이들 유전자들의 프로폴리스 생산성과의 관련성에 대한 연구는 현재까지 이루어지지 않았으나, 본 연구에서 육성된 계통을 통해 이들 유전자의 기능에 관한 연구도 이루어져야 할 것으로 여겨진다.

이와 함께 프로폴리스 생산성과 관련되어 상관관계가 있을 것으로 여겨지는 인자는 꿀벌 후각과 관련되는 기능이다. Leonhardt (2010) 등에 의하면, 꿀벌에 있어 후각은 수지성분을 탐색하는데 중요한 역할을 한다고 밝힌 바 있는데, 이들에 의하면 stingless bee의 경우 후각을 이용해 Terpene을 감지하여 수지성분을 수집하는 것으로 보고하였다. 이러한 점에 착안하여 본 연구에서 육성된 프로폴리스 생산성 우수계통

이 어떠한 물질에 반응성을 보이고, 그것이 곧 프로폴리스 생산성과 상관관계를 보이는지 여부에 관한 연구 또한 추후 확대할 필요가 있을 것이다.

본 연구에서는 프로폴리스 다수확 계통 육성을 위한 연구의 일환으로 지역별 계통을 선발하고, 이를 지속적으로 유지·보존하기 위한 프로폴리스 생산성 평가를 수행하였다. 이러한 연구는 향후 프로폴리스 생산성 우수계통 육성을 위한 기초 자료로 활용하고자 하며, 이후 프로폴리스 생산성과 관련된 메카니즘 분석연구에 기여할 수 있을 것이라 기대한다.

적 요

프로폴리스는 꿀벌이 식물로부터 수집해 오는 수지성분으로 질병이나 기타 환경적인 요인으로부터 봉군을 보호하는 기능을 가지고 있다. 꿀벌 계통의 프로폴리스 생산성은 봉군의 유전적인 특성에 의해 결정된다. 본 연구에서는 프로폴리스 생산성 우수 계통 선발을 위한 연구의 일환으로 국내 수집 꿀벌 계통에 의한 프로폴리스 생산성을 평가하고 특성이 우수한 계통을 유지·보존하고자 하였다. 지역별 수집 계통 P1, P2, P3의 프로폴리스 생산성 평가는 2017년 6~7월, 8~9월 2차례에 걸쳐 이루어졌으며, 그 결과 P2 계통의 프로폴리스 생산성이 각각 10.1 g/hive, 4.25 g/hive로 가장 우수한 것으로 확인되었다. 이들 계통에 대한 봉군발육조사 결과 P2 계통의 일벌 개체수가 타 계통에 비해 월등히 높아 이 계통의 프로폴리스 생산성에 크게 기여했을 것으로 보고 있다. 이러한 결과를 통해 본 연구에서는 국내 수집 서양종꿀벌 원종 계통 중 프로폴리스 생산성이 가장 우수한 계통은 P2 계통인 것으로 평가되었으며, 향후 프로폴리스 생산성 우수 계통 선발을 위한 기초 자료로 제공될 수 있을 것이라 기대하고 있다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 시험연구사업 (PJ01203602)

의 연구비로 수행된 결과이며 이에 깊은 감사를 드립니다.

인용문헌

- 김혜경, 이명렬, 이만영, 최용수, 한상미, 강아람, 이경용. 2017. 꿀벌 계통별 로얄제리 생산성 평가 및 특성 분석. J. Apic. 32(3): 155-162.
- 이명렬, 이만영, 심하식, 최용수, 김혜경, 변규호, 김인석, 권천락. 2014. 우수 삼원교배종 꿀벌 (*Apis mellifera* L.)의 형질 특성. J. Apic. 29(4): 257-262.
- Bankova, V. 2005. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. Journal of Ethnopharmacology 100(1-2): 114-117.
- Ben-Shahar, Y., H. T. Leung, W. L. Pak, M. B. Sokolowski and G. E. Robinson. 2003. cGMP-dependent changes in phototaxis: a possible role for the foraging gene in honey bee division of labor. Journal of Experimental Biology 206(14): 2507-2515.
- Bienefeld, K. and F. Pirchner. 1990. Heritabilities for several colony traits in the honeybee (*Apis mellifera carnica*). Apidologie 21(3): 175-183.
- Bienefeld, K., K. Ehrhardt and F. Reinhardt. 2007. Genetic evaluation in the honey bee considering queen and worker effects-A BLUP-Animal Model approach. Apidologie 38(1): 77-85.
- Elekonich, M. M., D. J. Schulz, G. Bloch and G. E. Robinson. 2001. Juvenile hormone levels in honey bee (*Apis mellifera* L.) foragers: foraging experience and diurnal variation. Journal of Insect Physiology 47(10): 1119-1125.
- Farrar, C. L. (1937). The influence of colony populations on honey production. J. Agric. Res. 54(12): 945-954.
- Ghisalberti, E. L. 1979. Propolis: A review. Bee World 60: 59-84.
- Harbo, J. R. 1986. Effect of population size on brood production, worker survival and honey gain in colonies of honeybees. Journal of Apicultural Research 25(1): 22-29.
- Harborne, J. B. and C. A., Williams. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry 55(6): 481-504.
- Kim, H. K., I. S. Kim, M. L. Lee, Y. S. Choi and B. R. Jin. 2015. Microsatellite markers developed by next-generation sequencing differentiate inbred lines of *Apis mellifera*. Journal of Asia-Pacific Entomology 18: 801-805.
- Lee, M. Y., H. K. Kim, M. L. Lee, Y. S. Choi, S. M. Han, D. W. Kim, E. J. Kang and G. H. Byoun. 2017. Comparison of Royal Jelly Production among Cross Breed of Honey Bee in Period of Nectar Flow and Non-Nectar Flow. J. Apic. 32(4): 385-389.
- Leonhardt, S. D., S. Zeilhofer, N. Bluthgen and T. Schmitt. 2010. Stingless bees use terpenes as olfactory cues to find resin sources. Chemical Senses 35(7): 603-611.
- Lerner, I. W. 1950. Population genetics and animal improvement. Cambridge University Press Cambridge.
- Lindenfelser, L. A. 1967. Antimicrobial activity of propolis. Am. Bee J. 107: 90-92.
- Manrique, A. J. and A. E. E. Soares. 2002. Start of africanized honey bee selection program for increased propolis production and its effect on honey production. Inter-ciencia 27(6): 312-316.
- Papotti, G., D. Bertelli, L. Bortolotti and M. Plessi. 2012. Chemical and functional characterization of Italian propolis obtained by different harvesting methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60(11): 2852-2862.
- Schulz, D. J., A. B. Barron and G. E. Robinson. 2002. A role for octopamine in honey bee division of labor. Brain, Behavior and Evolution 60(6): 350-359.
- Simone, M., J. D. Evans and M. Spivak. 2009. Resin collection and social immunity in honey bees. Evolution 63: 3016-3022.
- Simone-Finstrom, M. and M. Spivak. 2010. Propolis and bee health: The natural history and significance of resin use by honey bees. Apidologie 41: 295-311.
- Simone-Finstrom, M., R. S. Borba, M. Wilson and M. Spivak. 2017. Propolis counteracts some threats to honey bee health. Insects 8(2): 46.
- Zhang, C. P. 1., H. Q. Zheng and F. L. Hu. 2011. Extraction particle characterization and storage stability of glucosidase from propolis. J. Food Sci. 76(1): 75-79.