



꿀벌 외부 기생성 응애류 방제용 살비제의 양봉꿀벌에 대한 실내 독성평가

김경문, 박보선, 김주경, 강은진, 최용수, 김동원*

농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부 양봉생태과

Toxicological Assessment of Major Acaricides for Controlling Ectoparasitic Mites of the Honey Bee, *Apis mellifera*, on the Honey Bee Workers

Kyungmun Kim, Bo-sun Park, Ju-gyeong Kim, Eun-Jin Kang, Yong-Soo Choi and Dongwon Kim*

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea

Abstract

Two species of the mite, *Varroa destructor* and *Tropilaelaps mercedesae*, are the main ectoparasites of the honey bee, *Apis mellifera*, in South Korea. Mite infection deteriorates individual honey bee health and further reduces population size of the bee colonies, thereby destructing the colonies. The chemical acaricides including fluvalinate, coumaphos, amitraz and cymiazole hydrochloride are used along with the natural chemical substances to control mite species. Recently, several beekeepers have complained of honey bee damage from the cymiazole hydrochloride treatment. To evaluate the toxicity of cymiazole hydrochloride we treated it to the honey bee workers according to the recommended method and dosage. Amitraz and coumaphos, which are the main acaricides for mite control, were used as comparison groups. 48 hours after treatment, cymizaole hydrochloride, amitraz and coumaphos showed mortalities of $22.2 \pm 1.9\%$, $3.3 \pm 5.8\%$ and $1.1 \pm 3.3\%$, respectively.

Keywords

Apis mellifera, Acaricide, Cymiazole hydrochloride, Amitraz, Coumaphos

서 론

국내 양봉꿀벌(*Apis mellifera*)에 기생하는 응애류에는 대표적으로 꿀벌응애(*Varroa destructor*)와 중국가시응애(*Tropilaelaps mercedesae*)가 있다(Lee *et al.*, 2005). 꿀벌응애류는 꿀벌 외부에 기생하는데 꿀벌응애는 꿀벌 번데기 및 성충의 지방체(fat body)를, 중국가시응애는 유충의 혈액(hemolymph)을 섭식(Phokasem *et al.*, 2019; Ramsey *et al.*, 2019)하여 직간접적인 피해를 준다. 꿀벌응애류에 의한 감염은 날개 변형 바이러스(deformed wing virus, DWV)를 포함한 약 다섯 가지의 바이러스를 매개

할 뿐만 아니라(Ramsey *et al.*, 2019; Posada-Florez *et al.*, 2020) 영양분을 빼앗아 일벌의 무게, 면역력, 살충제 저항성을 감소시키고 수명을 단축시킨다(Bowen-Walker and Gunn, 2001; Yang and Cox-Foster, 2005, 2007; Rosenkranz *et al.*, 2010; Annoscia *et al.*, 2012). 결과적으로 일벌 개체 수를 감소시켜 봉군 내부의 다양한 질병 발생을 야기하고, 감염 정도가 심할 경우 봉군 망실의 큰 피해를 유발한다. 국내에서도 지속적인 꿀벌응애와 중국가시응애 피해가 보고되고 있으며 특히 꿀벌응애는 봉군 붕괴 현상과도 관련이 있는 것으로 확인되었다(Choi *et al.*, 2014; Barroso-Arévalo *et al.*, 2019; Flores *et al.*, 2021). 꿀벌응

애류의 방제 효율을 높이기 위해서 생물학적 방제, 물리적 방제, 화학적 방제를 병행하는 종합해충관리(Integrated pest management, IPM)가 필수적이다(Noël *et al.*, 2020). 이 중 화학적 방제에는 개미산(formic acid), 옥살산(oxalic acid), 식물성오일 등 친환경 물질(Gregorc and Planinc, 2002; Underwood and Currie, 2003; Choi *et al.*, 2012)과 pyrethroid, organophosphate, amitraz 등 합성 화학물질이 이용된다(EPA). 가장 대중적으로 사용되는 살비제로는 스트립제로 벌집들 사이에 끼워주는 fluvalinate, 분무 처리하는 coumaphos와 amitraz가 있다. 하지만 최근 몇몇 농가에서 침투성 살비제인 cymizaole hydrochloride을 주원료로 하는 살비제 처리 후 양봉꿀벌의 약제 피해가 보고 되었다(이, 2022).

본 연구에서는 꿀벌응애류 방제에 사용되는 cymiazole hydrochloride, amitraz, coumaphos를 주원료로 하는 살비제의 양봉꿀벌 일벌에 대한 독성을 확인하고자 추천 용법과 용량에 따른 실내 독성평가를 수행하여 정확한 독성 정보를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시험 곤충

국립농업과학원 양봉장(전라북도 완주군 이서면; GPS: 35.829912, 127.039290)에서 사육하는 양봉꿀벌(*Apis mellifera* L.) 봉군 중 세력이 강한 봉군에서 우화 후 18일 이내의 일벌을 채집하여 실험에 사용하였다.

2. 시험 살비제

본 실험에서는 국내 양봉 농가에서 꿀벌응애류 방제를 위하여 주로 사용되는 세 가지 살비제 cymiazole hydrochloride, amitraz, coumaphos를 사용하였다. 본 실험에 사용된 살비제의 유효성분량, 추천농도, 제형은 Table 1과 같다.

3. 일벌 성충에 대한 독성평가

각 살비제 추천 사용 농도에 대한 꿀벌 일벌의 사충률을 비교하기 위하여 각 살비제를 30마리의 일벌에 추천 사용법대로 처리한 뒤 48시간 경과 후 사충수를 조사하였다. 모든 실험은 세 번씩 반복 수행되었다.

이 중 가장 높은 사충률을 보인 cymiazole hydrochloride에 대해서는 반수치사량(LD₅₀)을 산출하기 위하여 다양한 농도별 평가를 수행하였다. 추천 사용량의 0.1, 1, 3, 5, 7, 10배가 되도록 50%의 설탕물에 희석하고, 5 mL 주사기로 플라스틱 컵에 거꾸로 끼워서 컵 안의 일벌 30마리가 자음 급이하도록 하였다.

Amitraz와 coumaphos는 추천 농도대로 증류수에 희석한 약제를 이산화탄소 가스에 1분 동안 마취된 일벌 30마리에 15 cm 떨어진 거리에서 분무기로 한 번 분사한 뒤 50%의 설탕물이 주사기로 제공되는 플라스틱 컵 안에 넣어주었다. 벌이 담긴 플라스틱 컵을 25°C, 상대습도 65%, 24시간 중 명조건 16시간, 암조건 8시간을 유지하는 항온항습기에서 48시간 동안 사육하여 사충 수를 관찰하였다. 분무기로 일 회 분사 시 꿀벌의 표피에 분사되는 용액의 양은 0.5±0.03 µL/bee로 확인되었다.

대조군으로 1분 동안 마취된 30마리의 일벌에 증류수를 한 번 분사한 뒤 50%의 설탕물이 주사기로 제공되는 플라스틱 컵 안에 넣어 48시간 동안 관찰하였다.

4. 자료분석

살비제에 대한 꿀벌 일벌의 반수치사량 LD₅₀ (µg/bee)은 Probit 계산법(Finney, 1971)을 기반으로 하는 Polo-plus 프로그램(Russell *et al.*, 1977)으로 산출하였다.

결 과

1. 세 가지 살비제에 대한 양봉꿀벌 일벌의 실내 독성평가

Cymiazole hydrochloride를 주성분으로 하는 살비제를

Table 1. Information of the acaricides tested in this experiment

Acaricide	Active ingredient (%)	Recommended concentration (ppm)	Formulation
Cymiazole hydrochloride	17.5	700	Granule
Amitraz	12.5	125	Emusifiable concentrate
Coumaphos	3.2	640	Suspension concentrate

추천 사용방법에 따라 꿀벌 일벌에 48시간 동안 자육급식을 한 결과 $22.2 \pm 1.9\%$ 의 사충률을 보였다. Amitraz와 coumaphos를 주성분으로 하는 각 살비제를 추천 사용방법에 따라 꿀벌 일벌에 분무한 뒤 48시간 동안 관찰한 결과 각각 $3.3 \pm 5.8\%$, $1.1 \pm 3.3\%$ 의 사충률이 확인되었다(Table 2). 종합하였을 때, 추천 사용방법에 따른 꿀벌 일벌의 사충률이 cymiazole hydrochloride에서 amitraz와 coumaphos에 비하여 각각 약 6.7배, 20.2배 높게 나타났다.

2. Cymiazole hydrochloride에 대한 양봉꿀벌 일벌의 반수치사량(LD₅₀)

시험 살비제 중 가장 높은 양봉꿀벌 일벌의 사충률을 보인 cymiazole hydrochloride에 대한 유해성 평가 기준 마련을 위하여 케이지 내부에서 48시간 동안 일벌 한 마리의

Table 2. Comparative toxicities of the three acaricides against *Apis mellifera* workers at 48 h post treatment

Acaricide	Acaricide conc. (ppm)	Mortality (%) (Mean ± SD)
Cymiazole hydrochloride	70	0
	700	22.2 ± 1.9
	2,100	42.2 ± 11.7
	3,500	83.3 ± 3.3
	4,900	88.9 ± 16.4
Amitraz	7,000	100
	125	3.3 ± 5.8
	250	36.7 ± 12.0
Coumaphos	1,250	100
	640	1.1 ± 3.3
	1,280	63.3 ± 33.8
Control	6,400	100
	–	2.2 ± 1.9

The recommended concentrations and mortalities from the recommended concentration of each acaricide are written in bold style

Table 3. LD₅₀ of the worker bees for the cymiazole hydrochloride

n	Sope ± SE ¹⁾	LD ₅₀ (µg/bee) [95% CI ²⁾	Chi-square	DF ³⁾	Heterogeneity
450	2.42 ± 0.24	225.71 [95.58–378.50]	13.50	3	4.50

¹⁾SE: Standard error

²⁾CI: Confidence interval

³⁾DF: Degree of freedom

평균 당액 섭취량(131.5 ± 9.5 mg), 48시간 동안 주사기 내 당액의 평균 증발량(14.3 ± 2.1 mg)을 고려한 일벌의 반수치사량(LD₅₀)을 산출한 결과 225.71 µg/bee로 확인되었다 (Table 3).

고찰

국내 양봉꿀벌에 기생하는 응애류 중 꿀벌응애와 중국 가시응애는 양봉꿀벌 유충의 별방이 봉개하기 전 침입하고 봉개 후 산란 및 번식 활동을 이어나간다(Nazzi and Conte, 2016; de Guzman *et al.*, 2017). 꿀벌응애류의 봉개된 별방 내부에서 살충제의 피해로부터 벗어날 수 있는 생태적 특성과 약제 저항성의 발달은 방제를 어렵게 하고 양봉 농가의 피해를 증가시킨다(Premrov Bajuk *et al.*, 2017; Noël *et al.*, 2020). 꿀벌응애류의 발견과 함께 방제 효율이 높은 살비제 개발을 위한 노력이 지속되었다. 과거 dicofol, lactic acid, bromopropylate, phenothiazine, chlorobenzilate 등 다양한 화학물질이 꿀벌응애류 방제를 위하여 사용되었으나 사용상의 편리성 및 안전성 등의 문제가 야기되어 사용이 금지되었으며(Koeniger and Fuchs, 1989; Noël *et al.*, 2020), 현재 미국 환경보호청(EPA)에 등록 및 승인된 살비제로는 fluvalinate, formic acid, sucrose octanoate, thymol, oil of eucalyptus, menthol, hop beta acids resin, amitraz, oxalic acid, coumaphos가 있다(EPA).

Cymiazole hydrochloride는 coumaphos와 같은 침투성 살비제로, 꿀벌 간의 영양교환(trophallaxis)에 의하여 봉군 내 전체 꿀벌에게 퍼져나가게 된다(Nixon and Ribbands, 1952; Bevk *et al.*, 2012). 꿀벌의 중장에서 체내로 퍼져나간 살비제는 꿀벌에 기생하는 응애류가 꿀벌의 지방체 및 혈액을 섭취할 때 응애류의 체내로 이동하여 살비 효과를 나타낸다. 국내에서는 1990년대 이전부터 개발되어 상용화되었다.

각 살비제는 최적화된 사용량과 방법을 명시하는데, cymiazole hydrochloride는 설탕물에 희석하여 주사기로 소비에 뿌려주는 뿌려주기법과 사양급이하는 사양액 혼합 급이법, 화분, 설탕과 반죽하여 급이하는 화분 혼합급이법을 사용한다. 이 중 농가에서는 뿌려주기법과 사양액 혼합 급이법을 가장 많이 사용한다. 뿌려주기법은 주사기로 흘려준 살비제가 혼합된 설탕물을 꿀벌이 섭식하여 접촉 독성보다는 섭식 독성 효과를 나타낼 것으로 판단하였다. 이는 섭식 독성이 나타나는 사양액 혼합급이법과 동일한 효과를 나타낼 것으로 가정하여 섭식 테스트만을 진행하였다. 그 결과 cymiazole hydrochloride의 혼합급이법 추천 처리 농도(700 ppm)로 희석된 50% 설탕물을 자율 섭식한 꿀벌 일벌의 사충률이 $22.2 \pm 1.9\%$ 로 확인되었고 이는 추천 처리 농도인 125 ppm과 640 ppm으로 분무된 amitraz와 coumaphos에서 보여준 사충률($3.3 \pm 5.8\%$, $1.1 \pm 3.3\%$)보다 각각 6.7배, 20.2배 높은 수치였다(Table 2). 1993년 우 등이 실제 봉군에 cymiazole hydrochloride를 뿌려주기법과 사양액 혼합급이법으로 각각 처리한 결과 꿀벌에 대한 높은 안전성을 보이는 것으로 확인되었지만(Woo *et al.*, 1993), 죽은 벌을 봉군 외부로 버리는 일벌의 습성을 고려할 때 약제 처리에 의하여 사망한 일벌의 수를 정확하게 측정할 수 없었기 때문에 판단된다.

침투성 살비제는 꿀벌과 꿀벌 사이의 영양 교환으로 확산되는 동안 점점 그 농도가 희석되기 때문에 처음 처리 농도가 높을 수 있고 이로 인한 피해가 발생할 수 있다(Koeniger and Fuchs, 1989). 침투성 살비제를 처음 섭식하는 꿀벌이 영양 교환으로 희석된 살비제를 섭식하게 된 꿀벌에 비하여 더 많은 약해를 받을 수 있는 특성을 고려했을 때, 소규모의 꿀벌 집단에 충분한 양의 살비제가 제공된 본 실험에서 각 개체가 섭식한 살비제의 양이 실제 봉군에 처리한 것보다 높을 가능성이 있다. 하지만 또 다른 침투성 살비제인 coumaphos를 추천 사용법과 용량대로 처리하였을 때 $1.1 \pm 3.3\%$, 침투성 살비제는 아니지만 coumaphos와 처리 방법이 동일한 amitraz를 처리하였을 때 $3.3 \pm 5.8\%$ 의 낮은 사충률을 나타내는 것으로 보아 cymiazole hydrochloride에서 보이는 사충률($22.2 \pm 1.9\%$)은 상대적으로 높은 것으로 판단된다.

본 실험의 결과만으로 cymiazole hydrochloride 살비제가 보고된 농가 피해의 직접적인 원인이라고 할 수는 없다. 하지만 추천 사용량에서 보이는 사충률($22.2 \pm 1.9\%$)

은 안전한 살비제 이용을 위해서 재평가의 필요성이 있다. Amitraz와 coumaphos의 경우 cymiazole hydrochloride에 비하여 상대적으로 낮은 사충률을 보이지만, 화학 살충제 오남용에 의한 저항성 증가는 방제 효율의 감소로 이어지기 때문에 주기적인 독성평가를 통한 관찰이 필수적이다. 이를 위해서 여러 지역의 다양한 양봉꿀벌 봉군에 대한 semi-field, field 실험을 통하여 꿀벌에 보다 안전한 살비제의 독성 정보 제공이 요구된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구과제 PJ01497004의 연구비로 지원된 결과이다.

인용 문헌

- 이동광. 2022. “응애 구제약 탓 꿀벌 집단폐사”...피해 농업인 3억 손배소 제기. 한국농어민신문. 3374호(2022.03.04), 2면. <http://www.agrinet.co.kr/news/articleView.html?idx-no=307607>
- Annoscia, D., F. Del Piccolo and F. Nazzi. 2012. How does the mite *Varroa destructor* kill the honeybee *Apis mellifera*? Alteration of cuticular hydrocarbons and water loss in infested honeybees. *J. Insect Physiol.* 58(12): 1548-1555.
- Barroso-Arévalo, S., E. Fernández-Carrión, J. Goyache, F. Molero, F. Puerta and J. M. Sánchez-Vizcaíno. 2019. High load of deformed wing virus and *Varroa destructor* infestation are related to weakness of honey bee colonies in Southern Spain. *Front. Microbiol.* 10: 1331.
- Bevk, D., J. Kralj and A. Čokl. 2012. Coumaphos affects food transfer between workers of honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie* 43(4): 465-470.
- Bowen-Walker, P. L. and A. Gunn. 2001. The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. *Entomol. Exp. Appl.* 101(3): 207-217.
- Choi, Y. S., M. L. Lee, H. S. Sim, H. K. Kim, G. H. Byun, M. Y. Yoon, A. R. Kang, T. T. Van and S. O. Woo. 2014. Morphological analysis and determination of interference competition between two honey bee mites: *Varroa destructor* and *Tropilaelaps clareae* (Acari: Varroidea and Laelapidae). *J. Apic.* 29(4): 327-332.
- Choi, Y. S., S. O. Woo, I. P. Hong, S. M. Han, G. H. Byun, R. Thapa and M. L. Lee. 2012. Effects of limonene compo-

- sition for controlling of the *Varroa destructor* and *Tropilaelaps clareae* in *Apis mellifera* Hives. *J. Apic.* 27(2): 137-142.
- de Guzman, L. I., G. R. Williams, K. Khongphinitbunjong and P. Chantawannakul. 2017. Ecology, life history, and management of *Tropilaelaps* mites. *J. Econ. Entomol.* 110(2): 319-332.
- EPA (United State Environmental Protection Agency). EPA-registered Pesticide Products Approved for Use Against Varroa Mites in Bee Hives. <https://www.epa.gov/pollinator-protection/epa-registered-pesticide-products-approved-use-against-varroa-mites-bee-hives>
- Finney, D. J. 1971. Statistical logic in the monitoring of reactions to therapeutic drugs. *Methods Inf. Med.* 10(4): 237-245.
- Flores, J. M., V. Gámiz, Á. Jiménez-Marín, A. Flores-Cortés, S. Gil-Lebrero, J. J. Garrido and M. D. Hernando. 2021. Impact of *Varroa destructor* and associated pathologies on the colony collapse disorder affecting honey bees. *Res. Vet. Sci.* 135: 85-95.
- Gregorc, A. and I. Planinc. 2002. The control of *Varroa destructor* using oxalic acid. *Vet. J.* 163(3): 306-310.
- Koeniger, N. and S. Fuchs. 1989. Eleven years with Varroa - experiences, retrospects and prospects. *Bee World.* 70(4): 148-159.
- Lee, M. L., Y. M. Park, M. Y. Lee, Y. S. Kim and H. K. Kim. 2005. Density distribution of parasitic mites, *Varroa destructor* Anderson & Trueman and *Tropilaelaps clareae* Delfinadi & Baker, on honeybee pupae (*Apis mellifera* L.) in autumn season in Korea. *J. Apic.* 20(2): 103-108.
- Nazzi, F. and Y. Le Conte. 2016. Ecology of *Varroa destructor*, the major ectoparasite of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Annu. Rev. Entomol.* 61: 417-432.
- Nixon, H. L. and C. R. Ribbands. 1952. Food transmission within the honeybee community. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.* 140(898): 43-50.
- Noël, A., Y. Le Conte and F. Mondet. 2020. *Varroa destructor*: how does it harm *Apis mellifera* honey bees and what can be done about it?. *Emerging Top. Life Sci.* 4(1): 45-57.
- Phokasem, P., L. I. de Guzman, K. Khongphinitbunjong, A. M. Frake and P. Chantawannakul. 2019. Feeding by *Tropilaelaps mercedesae* on pre- and post-capped brood increases damage to *Apis mellifera* colonies. *Sci. Rep.* 9(1): 1-12.
- Posada-Florez, F., E. V. Ryabov, M. C. Heerman, Y. Chen, J. D. Evans, D. E. Sonenshine and S. C. Cook. 2020. *Varroa destructor* mites vector and transmit pathogenic honey bee viruses acquired from an artificial diet. *PLoS One.* 15(11): e0242688.
- Premrov Bajuk, B., K. Babnik, T. Snoj, L. Milčinski, M. Pislak Ocepek, M. Škof, V. Jenčič, A. Filazi, D. Štajnbaher, and S. Kobal. 2017. Coumaphos residues in honey, bee brood, and beeswax after Varroa treatment. *Apidologie* 48(5): 588-598.
- Ramsey, S. D., R. Ochoa, G. Bauchan, C. Gulbranson, J. D. Mowery, A. Cohen, D. Lim, J. Joklik, J. M. Cicero, J. D. Ellis, D. Hawthorne and D. vanEngelsdorp. 2019. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *PNAS* 116(5): 1792-1801.
- Rosenkranz, P., P. Aumeier and B. Ziegelmann. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *J. Invertebr. Pathol.* 103: S96-S119.
- Russell, R. M., J. L. Robertson and N. E. Savin. 1977. POLO: a new computer program for probit analysis. *Bull. Ecol. Soc. Am.* 23(3): 209-213.
- Underwood, R. M. and R. W. Currie. 2003. The effects of temperature and dose of formic acid on treatment efficacy against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), a parasite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Exp. Appl. Acarol.* 29(30): 303-313.
- Woo, K. S., K. S. Cho and Y. H. Cho. 1993. Control effects of apiotol against *Varroa jacobsoni* Oud. in Korea. *J. Apic.* 8(1): 48-55.
- Yang, X. and D. L. Cox-Foster. 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *PNAS* 102(21): 7470-7475.
- Yang, X. and D. L. Cox-Foster. 2007. Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology* 134(3): 405-412.