

서양종 꿀벌(*Apis mellifera* L.)의 노제마 감염률과 수명에 미치는 CH4의 영향

강은진 · 최용수 · 변규호 · 이만영 · 김혜경 · 이명렬*
농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부 잠사양봉소재과 꿀벌육종연구실

The Effect of CH4 on Life Span and *Nosema* Infection Rate in Honeybees, *Apis mellifera* L.

Eun Jin Kang, Yong Soo Choi, Gyu-Ho Byoun, Man-Young Lee, Hye Kyung Kim and Myeong Lyeol Lee*

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, R.D.A., Wan-ju 55365, Rep. Korea

(Received 17 October 2016; Revised 9 November 2016; Accepted 14 November 2016)

Abstract

Greenhouse gas (GHG), as a cause of climate change, is considered as one of the biggest problems society is currently facing. We carried out the effect of CH4 on the life span of adult honeybee, *Apis mellifera*, and *Nosema ceranae* infection. Adult worker bees exposed at CH4 2ppm, 20ppm, 200ppm. Survival rates was significantly decreased after 10days and worker bees survived for 31 days. *Nosema* infection rate of bees and mortality are independent of each other. No significant differences found in infection rate between CH4 concentrations. Interaction between a variety of climate change factor and diseases should be needed a wide range of research.

Key words: Honeybee, *Apis mellifera*, CH4, Life Span, *Nosema* infection

서론

일반적으로 지구온난화는 평균적인 전 세계적 기온상승을 나타내며(Sable, 2016), 2005년을 기준으로 지난 100년간 지구 표면 부근의 평균 대기온도는 0.74°C가 증가하였다(IPCC, 2007). 우리나라의 경우 최근 30년간(1981~2010) 대부분의 지역에서 연평균 기온이 1.2°C가 상승하였다(기상청, 2012). 이러한 기후변화는 지구로 유인되는 태양복사에너지와 지구로부터 방출되는 지구복사에너지가 평형상태를 이

루지 못하고 인간의 활동에 의해 발생하는 이산화탄소, 메탄, 아산화질소를 비롯한 다양한 온실가스의 배출 증가로 인해 균형이 깨진 것이 주요 원인으로 여겨지고 있다(기상청, 2014; IPCC, 2007; Steinfeld *et al.*, 2006).

이산화탄소(Prassanakumar *et al.*, 2012)나 온도 상승이 해충의 발육이나 발생에 미치는 영향(Yamamura and Kiritani, 1998), 온실가스에 의한 곤충 페로몬의 변화(Edward *et al.*, 2004) 등 지구상 가장 다양한 종인 곤충에(May, 1990) 미칠 수 있는 기후변화의 영향에 대

*Corresponding author. E-mail: mlee6@korea.kr

한 연구가 다방면에서 진행되고 있다. 이와 관련하여 농업에 있어 가장 경제적으로 가치 있는 화분매개곤충일 뿐만 아니라(Johnson, 2007) 다양한 식물의 생물 다양성을 유지시키며(Allen *et al.*, 1998; Michener, 2000), 꿀과 화분, 프로폴리스, 로열젤리 등 다양한 양봉산물을 생산하는 서양종 꿀벌(*Apis mellifera* L.)에 대한 기후변화 관련 연구도 보고되고 있다.

서양종 꿀벌의 경우, 고온 기후에 적응할 수 있는 잠재력을 지니고 있어 사하라 사막의 오아시스나 미국의 아리조나 사막에서도 발견되기도 하고(Ruttner F, 1998), 충분한 물이 제공되었을 때, 고온조건에서 유충의 발육온도를 34~35°C로 조절할 수 있는 것으로 알려져 있다(Conte and Navajas, 2008). 하지만, Corbet *et al.*(1993)은 지구온난화가 진행되고 극한 기온을 피하지 못한다면 서양종 꿀벌의 화분매개능력이 감소될 가능성을 제시한 바 있으며, 기후변화에 의해 야기된 변화된 환경과 스트레스는 벌들이 높은 사망률을 나타내게 하는 결정적 요인으로 작용한다는 발표도 있다. 이러한 높은 사망률은 병원체, 살충제, 환경, 기후사이의 강한 상호작용에 인한 것으로 기후변화는 각각 이들 요인에 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있다(Oldroyd, 2007; Pettis *et al.*, 2007). 기후변화 요인과 병원체가 꿀벌에 미치는 영향에 관한 연구는 이 등(2015)에 의해 온도상승, 황사, 산성비와 같은 기후변화요인이 꿀벌 성충의 수명과 노제마 감염률에 미치는 영향에 대해 수행된 바 있다.

꿀벌노제마병은 꿀벌이 먹이에 섞여 있는 노제마 포자를 섭취함으로써 꿀벌의 중장에서 포자가 체내에 번식함으로써 일어나고(Bailey and Ball, 1991; Chen *et al.*, 2008; Webster *et al.*, 2004), 노제마의 감염로 인해 일벌의 꿀 생산 감소 및 화분매개능력의 감소, 수명의 단축, 급격한 봉군 내 감염 및 봉군의 감소로 이어져 그 피해가 매우 심각한 꿀벌의 대표적인 질병으로 알려져 있어(김 등, 2015) 이러한 연구가 시도된 바 있지만 또 다른 기후변화요인인 온실가스와 질병발생의 상호작용에 대한 연구는 전무하다.

이 중 CH₄는 천연가스의 주성분으로 가축의 배설물이나 음식물 쓰레기가 부패할 때 발생하는 온난화

효율이 CO₂보다 23배 높은 온실가스로 평가되고 있다(기상청, 2014).

따라서 본 연구에서는 기후변화 영향평가의 일환으로 기후변화 요인인 CH₄의 농도에 변화를 주어 꿀벌의 수명에 미치는 영향과 꿀벌의 대표적인 질병인 노제마 발생 관계를 조사하였다.

재료 및 방법

시험꿀벌

시험에 사용된 서양종 꿀벌(*A. mellifera*)은 농촌진흥청 국립농업과학원 실험양봉장에서 연중 계대 사육 중인 서양종 꿀벌의 일벌을 채집하여 광학현미경(×400)을 통해 노제마 감염 여부를 확인하였다. 노제마에 감염되지 않은 봉군을 선발하고 그 중 봉개된 봉판을 선발하여, 온도 34°C, 습도 75%, 광조건 0:24(L:D) 조건의 인큐베이터에서 우화를 유도하였다. 출방 후 24시간 이내의 어린 일벌을 채집하여 시험꿀벌로 사용하였다. 시험을 위해 제작한 나무 사육케이지(W10cm×L12cm×H15cm)에 넣고, 먹이로 50% 설탕 당액과 증류수를 실험기간 동안 공급하며 유지시켰다.

노제마 포자 감염

시험꿀벌에 접종하기 위한 노제마 포자를 분리하기 위해 국립농업과학원 실험양봉장에서 노제마에 감염된 일벌을 채집하였다. 채집한 꿀벌의 중장을 마쇄하여 노제마 포자(*Nosema ceranae*)를 수집한 후 24시간 이내에 접종하여 실험하였다. 시험꿀벌에 각 마리당 10⁴(spores/ml) 노제마 포자를 먹이(50% sucrose 200μl)와 혼합하여 접종하였고, 노제마에 감염된 먹이를 모두 소비한 일벌들을 시험에 사용하였다.

CH₄ 농도별 처리

CH₄는 기상청에서 발표한 2013년 기준 우리나라 연평균농도인 1,957ppb를 기준으로 10배, 100배, 1000배인 1,957pm, 19,57ppm, 195,7ppm을 대신하여, 실험

의 편의를 위해 2ppm, 20ppm, 2000ppm의 농도로 처리하고, 대조군으로 자연적으로 사망하는 개체의 정도를 확인하기 위해 노제마를 감염시키지 않은 실험군(control 1)과 노제마의 감염으로 인해 사망하는 개체의 정도를 확인하기 위해 노제마를 감염시킨 실험군(control 2)을 설정하였다. 각 처리군의 생존일수와 노제마 감염수준을 조사하였으며, 노제마의 감염된 수준은 처리군별 노제마 감염빈도(감염률)와 일별 개체별 감염된 포자수로 나타내었다. 각 실험군은 60마리 3반복으로 하였으며, 20일 동안 5일 간격으로 일별 5마리씩 채집하였다. 채집한 꿀벌의 감염여부는 광학현미경(DM2500, Leica)를 이용하여 400배에서 노제마 포자의 유무를 통해 확인하였고, 감염 정도는 노제마 포자수로 Cantwell의 분석법을 참고하여 계산하였다. 또한 실험시작 후 일별의 사충수를 기록하여 생충율로 변환하였다.

통계처리

*A. mellifera*의 CH4 처리구별 생존율, 노제마 감염률, 노제마 포자수의 분석을 위해 일원배치분산분석 후 일원배치분산분석(one-way ANOVA) 후 Duncan's multiple range test를 실시하였다. CH4 처리구별 사망률과 노제마 감염율과의 비교를 위해 T-검정을 실시하였다. 통계분석은 PASW statistics 18.0 통계프로그램을 이용하여 수행하였다.

결과 및 고찰

CH4 농도에 따른 *A. mellifera* 생존율

CH4가 일벌의 수명에 미치는 영향을 알아보기 위하여 2ppm, 20ppm, 200ppm에서 갓 출방한 어린 일벌을 키우며 생존일수를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. CH4를 처리한 모든 실험군에서 10일 이후부터 급격히 생존율이 감소하였으며, 대기 중 CH4 농도의 약 1,000배인 200ppm에서는 30일째 모두 사망하였으며, 100배인 20ppm과 10배인 2ppm에서는 각각 31일째와 32일째에 모두 사망하는 것으로 나타났다(Fig. 1). 기후변화

요인 중 하나인 온도조건의 경우, 꿀벌의 생육 적온인 35°C 보다 고온인 40°C에서는 8일 이내에, 25°C에서는 23일째 모든 개체가 사망하는 경향을 나타내는 것에 비해(이 등, 2015), CH4 처리구에서는 비교적 긴 생존일수가 나타남을 알 수 있었다. CH4 구간 생존율에 유의한 차이(P=0.03)를 보이기 시작하는 농도별 사육 15일 후 사망률과 노제마 감염율의 차이를 비교한 결과, 사망률과 노제마 감염률은 control 1에서는 각각 7.7%, 7.4%(p=0.36), control 2에서는 16.2%와 30%(p=0.39)로 나타났다. 메탄가스 농도별로 처리했을 때 2ppm, 20ppm, 200ppm을 처리했을 때의 사망률과 노제마 감염률은 각각 76.4%와 76%(p=0.36), 85.6%와 75%(p=0.13), 89.1%와 83%(p=0.12)로 나타나 처리구별 유의차가 확인되지 않아 사망률과 감염률 간의 연관성은 확인할 수 없었다(Fig. 2). 이는 또다른 기후요인인 황사나 산성비를 처리한 결과에서도 동일한 결과를 확인할 수 있었다(이 등., 2015). CH4 저감이 기후변화를 막을 새로운 화두로 떠오를 만큼 지구 온난화와 CH4는 매우 밀접한 관련이 있다. 고농도의 CH4가 유지된다면 기온상승은 물론 불량한 환경조건으로 인한 질병 감수성 변화로 인해 꿀벌을 비롯한 많은 생물들의 생존이 불가능할 것이라 생각한다.

CH4 농도에 따른 *A. mellifera* 노제마 감염양상

CH4가 농도변화에 따른 노제마 감염여부를 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 노제마에 대한 감염률의 경우 노제마를 처리하지 않은 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였으며, 처리 20일 후 감염률은 control 1, control 2, CH4 2ppm, 20ppm, 200ppm에서 각각 23.3%, 86.7%, 90.0%, 83.3%, 100.0%로 나타났으며 통계적으로 유의한 차이가 확인되었으나(p=0.002), CH4 농도순으로 증가하지는 않았다. CH4 농도별 노제마 감염 정도에서 포자수는 감염 15일 후 통계적으로 유의한 차이를 보였으나, 노제마를 감염시킨 대조군(control 2)과 CH4에 노출시킨 실험군 사이의 차이를 확인할 수 없었다. 또한 포자의 감염 20일 후, 2ppm에서 2038×10^4 (spores/ml)로 가장 많은 포자수가 관찰되었으며 20ppm을 제외한 대부분의 농도에서 시간이 경과함

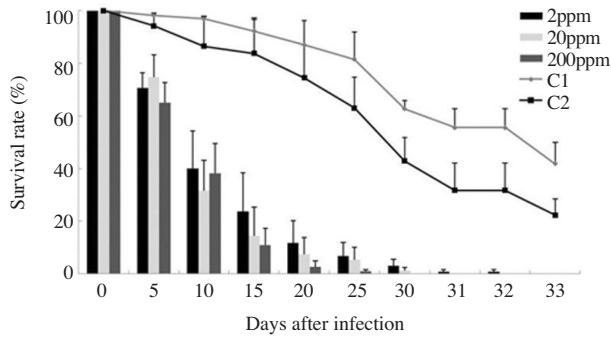


Fig. 1. Survival rates of worker honeybees after treating different CH4 concentration.

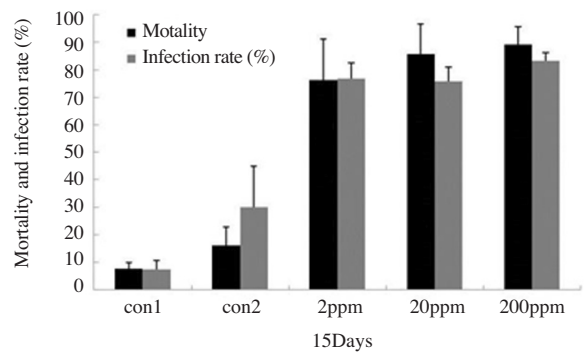


Fig. 2. Mortality of worker honeybees and infection rates with *Nosema ceranae* after 15days of incubation.

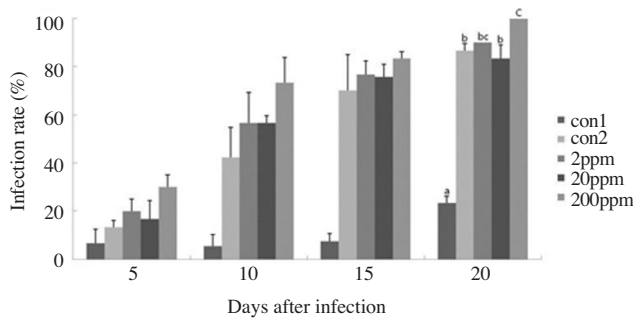


Fig. 3. Infection rates of *N. ceranae* after treating different CH4 concentration. The small letters between the five conditions are significantly different by one way ANOVA, $P < 0.05$.

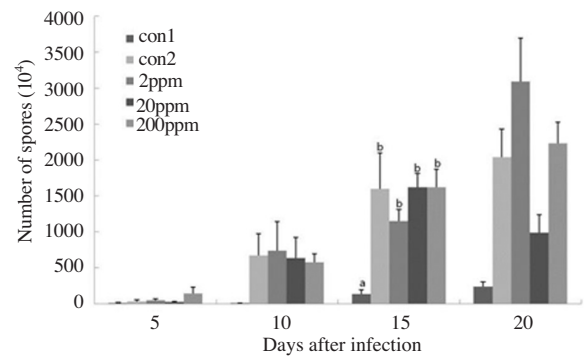


Fig. 4. Average of *Nosema* spores per worker bee after treating different CH4 concentration. The small letters between the five conditions are significantly different by one way ANOVA, $P < 0.05$.

에 따라 포자수가 증가하는 경향을 보였다(Fig. 4). 황사나 산성비를 처리했을 경우 포자수는 농도에 따라 증가하는 경향을 보였지만 유의한 차이는 확인되지 않았다. 그러나 온도의 경우 최적 온도인 35°C에서 포자수가 아주 낮게 나타남을 알 수 있어(이 등., 2015) 이러한 노제마 감염 양상의 차이는 각 개체의 면역기능, 영양상태 등의 요인에 의해 영향을 받는 것으로 생각된다.

적 요

기후변화 요인 중 하나인 온실가스로 인해 변화된 환경이 양봉산업에 영향을 미칠 것으로 예상된다. 온실가스 중 CH4이 서양종 꿀벌 성충의 수명과 노제마 감염률에 미치는 영향을 조사하였다. 2ppm, 20ppm,

200ppm의 농도에 어린 일벌을 노출시켰을 때 10일 이후부터 생존율이 급격히 감소하였으며, 32일 이내에 모두 사망하였다. 일벌의 사망률과 노제마의 감염률은 연관성이 없었으며, CH4 농도에 따른 노제마 감염률은 CH4 200ppm 처리 20일 후 100% 노제마에 감염되었으나, 농도에 따라 감염률이 증가하지는 않았다. 기후변화에 대비하여 온실가스를 비롯한 다양한 기후변화요인과 질병 간의 상호작용에 관한 광범위한 연구가 필요할 것이다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 농업공동연구사업(과제번호: PJ01048706)의 연구비 지원에 의하여 이루어졌습니다.

인용문헌

- 기상청. 한반도 기후변화 전망 보고서. 2014. 기후변화 과학적 근거. 28p. 37p.
- 김혜경, 홍인표, 트란 반 또한, 이명렬, 최용수, 심하식, 변규호, 강아랑. 2015. 동충하초 배지 추출물을 이용한 꿀벌 노제마병 방제. 한국양봉학회지 30(2): 119-126.
- 이명렬, 변규호, 이만용, 최용수, 김혜경. 2015. 서양종 꿀벌 (*Apis mellifera* L.)의 노제마 감염률과 수명에 미치는 온도, 황사, 산성비의 영향. 한국양봉학회지 30(4): 269-274.
- Allen, W. G., P. Bernhardt, R. Bitner, A. Burquez, S. Buchmann, J. Cane, P.A. Cox, V. Dalton, P. Feinsinger, M. Ingram, D. Inouye, C. E. Jones, K. Kennedy, P. Kevan, H. Koopowitz, R. Medellin, M. S. Medellin, G. P. Nabhan, B. Pavlik, V. Tepedino, P. Torchio and S. Walker. 1998. The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields. *Conserv. Biol.* 12(1): 8-17.
- Bailey, L. and B. V. Ball. 1991. *Honey Bee Pathology*, second ed., Academic Press, London, UK.
- Chen, Y., J. D. Evans, I. B. Smith and J. S. Pettis. 2008. *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States. *J. Invertebr. Pathol.* 97(2): 186-188.
- Conte, Y. L. and M. Navajas. 2008. Climate change: impact on honey bee populations and diseases. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 27: 499-510.
- Corbet, S.A., M. Fussell, R. Ake, A. Fraser, C. Gunson, A. Savage and K. Smith. 1993. Temperature and the pollinating activity of social bees. *Ecol. Entomol.* 18: 17-30.
- Edward, B. M., N. T. Michelle, S. A. Caroline and Richard, L. L. 2004. Divergent pheromone mediated insect behaviour under global atmospheric change. *Global Change Biology.* 10: 1820-1824.
- IPCC. 2007. Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis, Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, IPCC.
- Johnson, R. 2007. Recent honey bee colony declines. Congressional Research Service Report for Congress. Available at: www.fas.org/sgp/crs/misc/RL33938.pdf.
- May, R. M. 1990. How many species? *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 330: 293-304.
- Michener, C. 2000. *The bees of the world.* Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Oldroyd, B. P. 2007. What's killing American honey bees? *PLoS Biol.* 5(6): e168.
- Pettis, J., Vanengelsdorp D. & Cox-Foster D. 2007. Colony collapse disorder working group pathogen sub-group progress report. *Am. Bee J.* 147(7): 595-597.
- Prasannakumar, N. R., C. Subhash and P. Madan. 2012. Assessment of impact of climate change with reference to elevated CO₂ on rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal.) and crop yield. *Cur. Sci.* 103: 1201-1205.
- Ruttner F. 1988. *Biogeography and taxonomy of honeybees.* Springer, New York.
- Sable, M. G. and D. K. Rana. 2016. Impact of global warming on insect behavior-A review. *Agricultural Reviews.* 37: 81-84
- Steinfeld, H. P. Gerber, T. Wassenaar, V. Castel, M. Rosales, C. D. Haan. 2006. *Livestock's long shadow; environmental issues and options* Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 414 p.
- Webster, T. C., K. W. Pomper, G. Hunti, E. M. Thackerk and S. C. Jones. 2004. *Nosema apis* infection in worker and queen *Apis mellifera*. *Apidologie.* 35(1): 49-54.
- Yamamura, K. and K. Kiritani. 1998. A simple method to estimate the potential increase in the number of generations under global warming in temperate zones. *Appl. Entomology Zool.* 33: 289-298.