

꿀벌의 신규 침입 해충, 작은벌집딱정벌레(*Aethina tumida* Murray, 1867)에 대한 방제 약제 개발과 현장 적용 평가

김동원* · 이명렬 · 이만영 · 최용수 · 김혜경 · 변규호 · 김성희

농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부 꿀벌육종연구실

Screening of Chemical Control agent and its Field Test against a Newly Invaded Pest of European Honeybee (*Apis mellifera*), *Aethina tumida* Murray, 1867 (Coleoptera: Nitidulidae)

Dongwon Kim*, Myeong-lyeol Lee, Man-Young Lee, Yong-Soo Choi, Hye-Kyung Kim, Kyu-ho Byeon and Seong-Hee Kim

Honeybee Breeding Lab., Department of Agricultural Biology,
National Institute of Agricultural Science, Rural Development Agriculture, Republic of Korea

(Received 8 September 2018; Revised 28 September 2018; Accepted 28 September 2018)

Abstract

Small hive beetle (SHB, *Aethina tumida* Murray (Coleoptera: Nitidulidae) is a honeybee pest infesting combs and stores inside the hive. Contamination of the SHB on *Apis mellifera* colonies were firstly noticed on September 23, 2016, in Miryang City, Gyeongnam Province in Korea. We tested the preference rate of bait against small hive beetle larvae and adult. When treated each bait of preference showed highest pollen or pollen added sugar water. We was selected the coumaphos through insecticide screening. LC/LD₅₀ values of coumaphos on small hive beetle larvae was estimated as 612ppm, and 1.591ug/beetle and fluvalinate 4,641ppm and 12.067ug/beetle. LC₅₀ values of coumaphos on small hive beetle adult was estimated as 6,571ppm. we suggested pollen patty mixed with coumaphos 10,000ppm as a control agent against small hive beetle. The control agent was tested with CD type trap and showed 82% control efficiency after 15 days in field. This study should be used a fundamental information for developing IPM (Integrated Pest Management) and controlling the expansion of population of small hive beetle in Korea.

Key words: Small hive beetle, Chemical control agent, Coumaphos, LC/LD₅₀

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

서 론

최근 농업에서 중요한 문제는 기후변화로 인한 생물의 분포지역 변화와 생물침입을 통한 생태계 교란을 야기하고 있다(Park and Jung, 2016). 우리나라의 기후변화는 지난 100년 동안 평균기온이 1.8°C 상승, 강수량은 210mm 증가하였다(NIMR, 2011). 이상 기후현상으로 인해 생태계의 저항력 감소와 국제교역의 증가로 인해 외래 생물의 침입 기회가 증가하고 있다(Williamson, 1996; Hill *et al.*, 2010). 국내 양봉산업은 외래 침입종에 의해 꿀벌 건강에 직접적인 피해를 받고 있다. 주요 종으로는 1950년대에 꿀벌응애(*Varroa destructor*), 1992년 불벌봉군 수입으로 인한 중국가시응애(*Tropilaelaps mercedesae*), 2000년대는 등검은말벌(*Vespa velutina nigrothorax*)이 있다(Choi *et al.*, 1986; Woo and Lee, 1993; Kim *et al.*; Jung *et al.*, 2009). 2016년 작은벌집딱정벌레(Small Hive Beetle(SHB): *Aethina tumida* Murray, 1867)의 발생 피해가 확인되었다. 또한 국내 침입이 우려되는 종으로는 기문응애(*Acarapis woodi*)이며, 꿀벌 내부에 기생하는 종으로 육안으로 판별되지 않는다. 따라서 발생시 신속한 발견과 이에 대응하기 위해 지속적인 검역활동과 전국 발생 모니터링이 필요한 상황이다.

작은벌집딱정벌레는 아프리카 대륙 사하라 사막 이남 지역이 원산지이며, 원산지에서는 기생자(SHB: +)가 기주(*Apis mellifera scutella*: 0)에 큰 피해를 주지 않는 편리공생 관계를 형성하여 왔다(Lundie, 1940; Schmolke, 1974; Hepburn and Radloff, 1988; Hong and Jung, 2017). 그러나 미국, 호주 등으로 분산, 정착 후에는 봉군에 직접적인 피해를 주고 있다. 미국에서는 1996년 사우스캐롤라이나 찰스턴에서 처음 채집되었으며, 1998년 플로리다 지역에서 당해 3만 달러의 피해를 입혔다(Hood, 2000; Ellis *et al.*, 2002). 2002년 호주 뉴사우스웨일스에서 작은벌집딱정벌레가 전파되었으며(Minister for Agriculture, 2002), 이에 2003년 호주정부는 긴급 방역을 진행하였다(Gillespie *et al.*, 2003). 2014년에는 이탈리아, 필리핀에서 발생 및 피해 보고가 있었으며(Mutinelli *et al.*, 2014; Brion, 2015; Palmeri *et al.*, 2015), 이에 우리나라도 호주발 패키지벌

수입금지 조치를 통해 작은벌집딱정벌레 침입에 대한 경계를 늦추지 않고 있었다. 우리나라에서는 2016년 9월 경남 밀양지역에서 작은벌집딱정벌레 발생 및 피해가 첫 보고되어다(APQA, 2016). 발생 지역은 경남 밀양, 기장, 창녕 지역 내 18개 농가에서 확인되었다(APQA, 2016). 정부에서는 피해 및 확산 방지를 위해 ‘농가에찰벌 및 봉군관리법’, ‘작은벌집딱정벌레 예방 및 관리 지침서’를 시군농업기술센터와 농가에 배부하였으며, 긴급방역비를 4.26억원 투입하였다(MAFRA, 2017).

작은벌집딱정벌레에 대한 방제 연구는 미국, 호주에서 주도적으로 이루어졌다. 방제법으로는 화학, 재배, 물리/기계적 방제가 있다. 화학적 방제는 벌통 내부에서 Checkmite+™(Bayer, coumaphos 10%, strip)를 이용한 성충방제용으로 사용되며, 스트립과 꿀판지를 붙여 벌통 바닥에 넣어 이용한다(Sanford, 1999; Ellis and Delaplane, 2007; Neumann and Hoffmann, 2008). Apithor™(ENSYSTEX AUSTRALASIA PTY, fipronil, 0.48g/kg)은 호주에서 사용되고 있는 성충방제용 약제이며, fipronil 희석액에 꿀판지를 침지하여 사용한다(Levot, 2008; Levot and Somerville, 2012). 토양살충제로 사용되는 Gardstar™(Y-Tex, permethrin 40%, EC)는 축사 내 살충제로 파리류, 응애 및 진드기류 방제용이며, 토양 속 작은벌집딱정벌레 번데기를 사충 시키기 위해 토양 표면에 분무하여 사용되고 있으나, 꿀벌에 대한 독성이 강하다고 알려져 있다(Sanford, ENY-133). 국외의 방제관리 지침에서는 화학적 방제의 효과는 미비하다고 소개하고 있다(Zawislak, FSA-7075). 재배적 방제로는 강군 유지를 통해 꿀벌응애류 등 다른 요인에 의한 스트레스 감소를 통한 봉군 건강도 증진과 양봉 도구와 대체먹이의 청결을 통한 외부로부터의 감염 예방이 있다(Waite and Brown, 2003). 물리적 방제는 봉군 내검시 성충을 직접 포살하는 것이며, 기계적 방제는 유인트랩을 이용한 유인포살이 있다. 미국 등 해외 양봉농가에서는 기계적 방제를 가장 많이 사용하고 있으며, 트랩종류는 Hood, West, Freeman beetle, AJs beetle eater, Sonny-mel, USDA beetle trap이 있다(Neumann *et al.*, 2013). 위 트랩의 유인제는 식초, 썩은 과일, 화분과 오일을 이용한 성충 유인 후 침지 포

살하는 방법이다. 작은벌집딱정벌레 방제는 단일 방제법을 이용하는 것 보다 다양한 방제법을 이용한 종합적 방제가 진행되고 있다(Ellis, 2005; Hood, 2011; Zacchetti, 2015).

국내에서 작은벌집딱정벌레 발생 후 대응 연구는 형태적 분류(Lee *et al.*, 2017), 유전자 마커를 활용한 검출법(Kim *et al.*, 2017), 휘발성 화합물에 대한 유인력 평가(Dekebo *et al.*, 2017), 양봉장 내 공간분포 특성(Hong and Jung, 2017)에 대해 이루어졌으나, 국내 적용도, 감염 경로, 월동 서식처 등 생태적 정보와 방제 연구는 진행되지 않고 있다. 따라서 본 연구는 국외에서 사용되고 있는 작은벌집딱정벌레에 대한 방제 약제를 선별하여 실내 및 실외 봉군에 적용하였다. 선별된 방제 약제 및 방법에 대한 방제 효율, 치사농도 및 치사약량과 봉군 적용시 꿀벌의 안전성에 대한 검증을 통해 농가 피해 저감, 확산방지 및 종합적 방제 체계 확립에 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 곤충

본 실험에 사용된 실험 곤충은 작은벌집딱정벌레 (*Aetina tumida*)를 이용하였다. 2017년 경남 밀양 지역 양봉농가에서 발생한 성충과 유충을 채집하였으며, 국립농업과학원 내 실내 사육실에서 계대 사육하였다. 유충은 알에서 우화 후 3일령을 이용하였으며, 성충은 우화 후 10일 전 개체를 이용하였다. 유충과 성충 사용시 암수 구분 없이 사용하였다.

유인제 선호성 평가

작은벌집딱정벌레 유충 또는 성충을 유인하기 위해 물질별 선호성을 평가하였다. 유충 유인제는 대용화분(2.5g), 벌꿀(2.5g), 벌집(2.5g)이며, 페트리디쉬(diameter: 150mm×height: 20mm) 내 유인제 3종을 가장자리에 정삼각형을 이루게 위치시킨 후 정중앙에 일정 수(n=30)의 유충을 방사하였다. 유충 방사 후 1시간 뒤 각 유인제에 유인된 개체수를 계수하였다. 성

충 유인제는 분쇄화분(유채, 5g), 식초(사과, 5ml), 분쇄화분과 설탕물(설탕:물=1:1)(분쇄화분:설탕물=1:1, 5ml), 분쇄화분과 식초(분쇄화분:식초=1:1, 5ml)이며, 아크릴상자(length: 50cm×breadth: 50cm×height: 30cm) 내 유인제 4종을 가장자리에 위치시킨 후 정중앙에 일정수의 성충(n=10)을 방사하였다. 성충 방사 후 1, 3시간 뒤 각 유인제에 유인된 개체수를 계수하였다.

약제 방제 효율 평가

약제는 꿀벌응애 방제 화합물로 현재 국내에서 사용되는 화합물을 선별하였다. 선발약제는 coumaphos, fluvalinate, cymiazole hydrochlorid이며, coumaphos은 코마-에이치™(640ppm)이며, fluvalinate(strip)은 왕스, 아시노바, 만푸골드 등 다양한 상표명과 약량으로 이용되고 있다. cymiazole hydrochloride는 바로킬-P™이며, 대용화분에 혼합하여 처리되었다. 각 화합물의 원제를 이용하였다.

섭식용 대용화분은 상용으로 사용되는 Megabec™과 설탕물(설탕:물=2:1)을 1:1 비율로 혼합한다. 혼합된 대용화분 전체 무게의 4%의 콩기름을 추가하여 혼합하였다. 처리 농도별 약제는 Megabec™와 설탕물 혼합시 추가하여 혼합하였다.

곤충사육용 페트리디쉬(diameter: 90mm×height: 15mm) 내 약제와 혼합된 대용화분(20±5g)을 넣은 뒤 유충 또는 성충을 10마리씩 넣었으며, 반복은 3반복 처리하였다. 처리 후 4, 8, 12, 24, 48 시간 후의 사충수를 계수하였다. 사충 확인은 실험용 붓을 이용하여 움직임 유무에 의해 판단하였다. 움직임 유무는 연속적 움직임이 없을 경우 사충된 것으로 평가하였다. 대용화분의 섭식량 조사를 위해 유충 처리 후 시간대별로 무게를 측정하였다.

선발 약제에 대한 꿀벌 안전성 평가

실내·봉군 꿀벌 안전성 평가를 위해 국립농업과학원 실험양봉장에서 사양중인 서양종꿀벌(*Apis mellifera* L.) 봉군을 이용하였다. 실내평가는 서양종 꿀벌 봉군 중 야외 노출이 없는 내역벌(일벌)을 이용

Table 1. Lethal concentration and lethal dose of the coumaphos and fluvalinate on small hive beetle larvae

| Chemical | Slope | LC (ppm) | | | | | LD ₅₀ (ug/beetle) |
|-------------|-------|----------|-------|-------|-------|--------|---------------------------------|
| | | 10 | 30 | 50 | 70 | 90 | |
| Coumaphos | 5.161 | 345 | 484 | 612 | 773 | 1,084 | 1.591 |
| Fluvalinate | 3.629 | 2,058 | 3,327 | 4,641 | 6,473 | 10,465 | 12.067 |

Table 2. Lethal dose of coumaphos on small hive beetle adults

| Chemical | Slope | LC (ppm) | | | | |
|-----------|-------|----------|-------|-------|-------|--------|
| | | 10 | 30 | 50 | 70 | 90 |
| Coumaphos | 5.059 | 3,666 | 5,175 | 6,571 | 8,342 | 11,775 |

Table 3. Amount of feeding (g/50 workers, mean \pm SD) of the pollen patty mixed with coumaphos by *Apis mellifera* workers in the cage of the laboratory test

| Treatment | Feeding amount (g/50 workers, mean \pm SD) |
|-----------|--|
| Coumaphos | 1.597 \pm 0.2001 a |
| Control | 1.155 \pm 0.0284 b |

*Comparison of the feeding amount between treatment by T-test, (P<0.05).

나무상자에서 실시하였다. 봉군에서 내역벌을 채집 뒤 암실에서 약 3시간동안 순환시켰으며, 순환 중에는 설탕물을 제공하지 않았다. 시험 봉군은 꿀벌응에 방제 관리를 위해 개미산을 사용하였으며, 이외 화학적 약제는 사용하지 않았다. 봉군 관리는 일반 관리기준에 따라 관리하였다. 나무상자(length: 15cm \times breadth: 11cm \times height: 17cm)에 coumaphos 혼합 대용화분(1,000ppm) 50g을 넣어주었으며, 꿀벌 30마리씩 3반복으로 처리하였다. 나무상자에 꿀벌과 대용화분을 동시에 넣어주었으며, 대용화분은 5시간 뒤 나무상자에서 제거하였다. 이후 설탕액을 나무상자에 넣어 꿀벌 먹이로 급이 하였다. 사충 확인은 처리 후 1, 2, 3, 5일 뒤 정상적인 활동을 하지 못하고 다리만 움직이거나, 등쪽으로 누워있으면, 사망한 것으로 판단하였다.

봉군 안전성 평가는 서양종꿀벌 봉군 내 coumaphos 혼합 대용화분을 제공한 후 봉군 변화를 측정하였다. 시험은 2017년 9월에서 10월 중이며, 처리와 반복에 사용된 봉군은 개체군 크기, 저장먹이, 소비수를 일정하게 표준화하였다. 처리구에 coumaphos 혼합 대용화분(1,000ppm)을 500g씩 넣어주었으며, 무처리구에는

대용화분 500g을 넣어주었다. 봉군 변화는 유효산란수, 일벌 개체수, 외역벌 사망수, 대용화분 섭취량을 일주일 간격으로 조사하였다. 외역벌 사망수는 화분 채분기를 설치하여 조사하였다.

약제와 유인제의 현장적용 평가

경남 밀양시 상남면 작은벌집딱정벌레 발생 농가에서 성충 약제 방제 효율과 유인제에 대한 선호성을 평가하였다. 약제는 coumaphos 혼합 대용화분(10,000ppm)을 CD형 트랩에 20g을 넣었으며, 약제 효율을 비교하기 위해 호주에서 시판중인 Apithor™ (ENSYSTEX AUSTRALASIA PTY, fipronil, 0.48g/kg)을 소비 위에 설치하였다.

유인제에 대한 성충 선호성을 알아보기 위해 Beetle blaster™(Beetle blaster™: long: 23cm \times deep: 3.5cm, volume=25ml)을 이용하여 소비와 소비 사이에 끼워 넣었다. 유인제는 사과식초, 분쇄화분과 설탕물(설탕:물=1:1)(분쇄화분:설탕물=1:1), 미네랄오일을 각 20ml씩 넣었다. 각 유인제를 한 봉군에 넣어 유인효율을 비교 평가하였다.

Table 4. Mortality of *Apis mellifera* colonies in field test of chemical control agent, pollen patty mixed with coumaphos

| Treatment | 9/8 | 9/9 | 9/11 | 9/12 | 9/13 | Total |
|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|------------|
| Coumaphos | 0.7±0.47 | 1.0±0.81 | 1.3±1.88 | 1.0±0.81 | 2.0±2.16 | 28.7±10.48 |
| Control | 0.7±0.94 | 0.3±0.47 | 0.3±0.47 | 0.3±0.47 | 1.7±0.47 | 13.7±0.47 |

*Comparison of the no. dead between treatment by T-test, (P<0.05).

Table 5. Amount of feeding (g colonies, mean±SD) of the pollen patty mixed with coumaphos

| Treatment | 9/13 | 9/20 | 9/27 | 10/10 | Total |
|-----------|----------|----------|---------|---------|----------|
| Coumaphos | 100±22.4 | 70±18.8 | 42±10.1 | 96±33.7 | 309±80.1 |
| Control | 107±22.5 | 129±32.8 | 65±27.9 | 29±39.8 | 360±36.4 |

*Comparison of the feeding amount between treatment by T-test, (P<0.05).

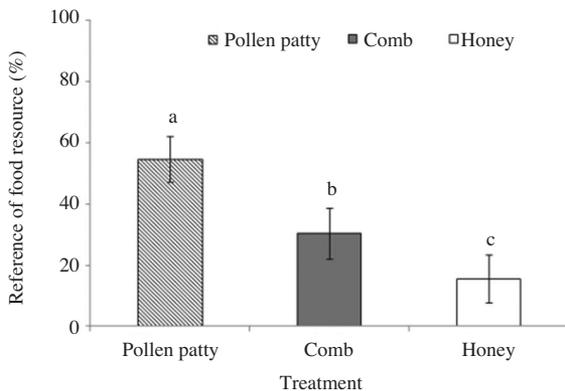


Fig. 1. Comparison of the preference rate among pollen patty, comb, honey treatments against small hive beetle larvae by ANOVA, Duncan's test (P<0.05).

처리에 사용된 벌통은 봉군 크기와 저장먹이, 소비 수를 표준화하지 않았다. 작은벌집막정벌레 개체 조사는 처리 1일 전과 처리 후 5일, 15일 뒤에 전수 조사를 통해 약제 방제 효율과 유인 효율을 평가하였다. 실험구의 처리는 3반복으로 하였으며, 무처리구는 어떠한 처리도 하지 않았다.

자료분석

Polo Plus(LeOra Software, 2007)를 이용하여 Probit 분석을 통해 대상 곤충의 치사농도와 치사약량을 산출하였다. Oneway ANOVA test를 이용하여 처리간 평균의 차이를 분석하였으며, 사후검정은 DMRT (Duncan's Multiple Range Test)를 이용하였다(SAS 9.4 Inc., 2008).

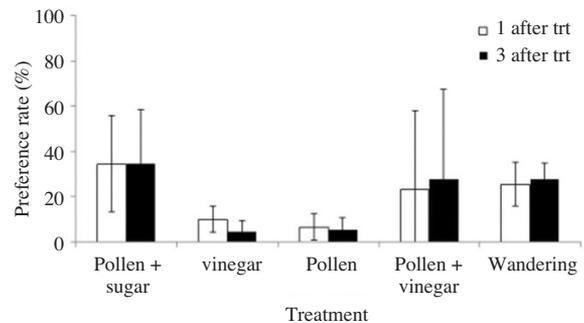


Fig. 2. Comparison of the preference rate among pollen+sugar, vinegar, pollen, pollen+viegar treatments against small hive beetle adult by ANOVA, Duncan's test (P<0.05).

결 과

유인제 선호성 평가

작은벌집막정벌레에 대한 유인제 선호성은 유충과 성충으로 구분하여 나타내었다. 유충 유인제는 대용화분, 벌집, 벌꿀이며, 선호성은 대용화분 55%, 벌집 30%, 벌꿀 13% 순이었다. 각 유인제에 대한 유충의 선호성은 통계적으로 유의한 차이가 나타났다 (ANOVA, F=3.40, df=2, 24, p<0.001, Fig. 1). 성충 유인제는 분쇄화분, 식초, 분쇄화분과 설탕물, 분쇄화분과 식초이며, 처리후 1시간 뒤 성충 선호성은 분쇄화분과 설탕물 34%, 방랑 25%, 분쇄화분과 식초 23%, 분쇄화분 7%, 식초 10% 순이었다. 처리후 1시간뒤 유인제에 대한 성충 선호성은 통계적으로 유의한 차이가 없었다(ANOVA, F=1.08, df=4, 10, p>0.05, Fig. 2). 처리

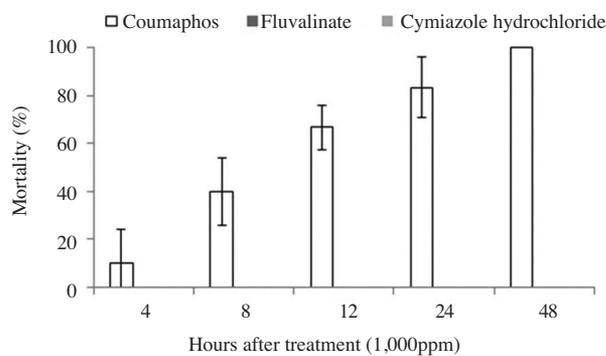
Table 6. Comparison of control efficiency among coumaphos 10,000ppm (CD type trap), apithor and oil trap against for small hive beetle

| Treatment | Control efficiency rate (%) | |
|-----------|-----------------------------|------------------------|
| | 5 day after treatment | 15 day after treatment |
| Coumaphos | 50.6 ± 23.38 | 82.3 ± 8.94 |
| Apithor | 93.8 ± 8.72 | 97.7 ± 3.14 |
| Oil trap | 18.7 ± 3.22 | 23.4 ± 10.42 |

*Comparison of the feeding amount between treatment by T-test, (P<0.05).

Table 7. Comparison of efficiency of oil traps against small hive beetle adults in field test

| Treatment | Replication (%) | | |
|--------------|-----------------|----|----|
| | 1 | 2 | 3 |
| Vinegar | | | 12 |
| Pollen+sugar | 48 | 46 | 18 |
| Mineral | | | |

**Fig. 3.** Toxicities of coumaphos, fluvalinate, cymiazole hydrochloride on small hive beetle larvae in the laboratory test. Treatment chemical were applied at 1,000ppm for each chemical were exposed.

후 3시간 뒤 성충 선호성은 분쇄화분과 설탕물 34%, 방랑 28%, 분쇄화분과 식초 28%, 분쇄화분 5%, 식초 4% 순이었다. 처리후 3시간 뒤 유인제에 대한 성충의 선호성은 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (ANOVA, F=1.30, df=2, 10, p>0.05, Fig. 2).

약제 방제 효율 평가

각 약제별 독성 평가에서 무처리구는 모든 개체가 생존하였으며, 노출 시간에서도 작은벌집딱정벌레 유충과 성충은 모두 생존하였다. 따라서 무처리 사망률에 따른 보정사망률을 이용하지 않았으며, 각 약제

에 대한 사망률만을 이용한 결과를 활용하였다. 약제 선발에 사용된 coumaphos, fluvalinate, cymiazole hydrochlorid 1,000ppm을 이용한 작은벌집딱정벌레 유충의 사망률은 다음과 같다(Fig. 3). coumaphos를 이용한 사망률은 처리후 4시간 10%, 8시간 40%, 12시간 67%, 24시간 83%, 48시간 100%로 나타났다. fluvalinate와 cymiazole hydrochlorid에서는 전혀 사망하지 않았다.

Coumaphos 농도별 처리에서 작은벌집딱정벌레 유충은 각 농도와 처리 후 시간에서 뚜렷한 사망률의 차이를 보였다(Fig. 4). 500ppm에서는 처리 후 24시간은 30%의 사망률, 750ppm에서는 처리 후 12시간 10%, 처리 후 24시간 73%의 사망률, 1,000ppm에서는 처리 후 4시간 10%, 8시간 40%, 12시간 66%, 24시간은 83%의 사망률을 보였다. 작은벌집딱정벌레 성충은 각 농도와 처리 후 시간에서 뚜렷한 사망률의 차이를 보였다(Fig. 5). 5,000ppm 24시간 33%, 48시간 80% 7,500ppm 8시간 6.6%, 12시간 13.3%, 24시간 46%, 48시간 90%, 10,000ppm 4시간 40%, 8시간 43%, 12시간 56%, 24시간 90%, 48시간 100%의 사망률을 보였다.

약제별 치사농도 및 치사약량

작은벌집딱정벌레 유충 3일령의 무게는 1.71 ± 0.231 (n=90, mean ± SD)mg로 조사되었다. 유충 3일령

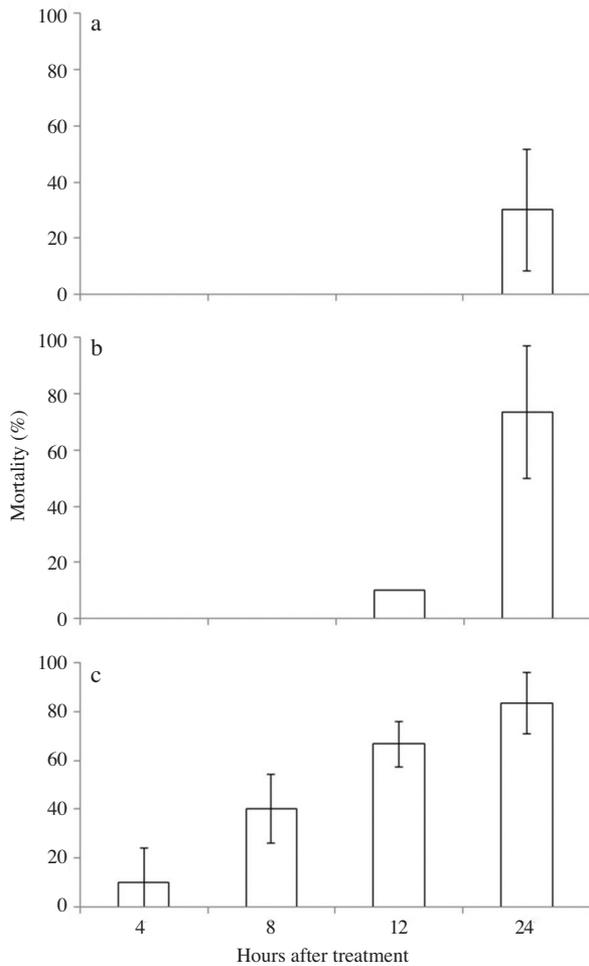


Fig. 4. Mortality of small hive beetle larvae by coumaphos (a: 500ppm, b: 750ppm, c: 1,000ppm) treatment at different exposure period (4, 8, 12, 24hr).

은 24시간 동안 2.61 ± 0.034 ($n=30$, $\text{mean} \pm \text{SD}$)mg의 대용화분을 섭취하는 것으로 조사되었다.

Probit 분석을 통한 약제별 작은벌집딱정벌레 유충과 성충의 치사농도와 치사약량은 다음과 같다. Coumaphos에 대한 유충 치사농도는 $LC_{10}=345\text{ppm}$, $LC_{50}=612\text{ppm}$, $LC_{90}=1,084\text{ppm}$ 로 나타났다(Table 1). Fluvalinate에 대한 유충 치사농도는 $LC_{10}=2,058\text{ppm}$, $LC_{50}=4,641\text{ppm}$, $LC_{90}=10,465\text{ppm}$ 로 나타났다(Table 1). 유충의 24시간 동안 먹이 섭취량과 치사농도를 이용한 coumaphos는 $LD_{50}=1.591$ (ug/beetle)이며, fluvalinate는 $LD_{50}=12.067$ (ug/beetle)로 나타났다(Table 1). 성충 치사농도는 $LC_{10}=3,666\text{ppm}$, $LC_{50}=6,571\text{ppm}$, $LC_{90}=11,775\text{ppm}$

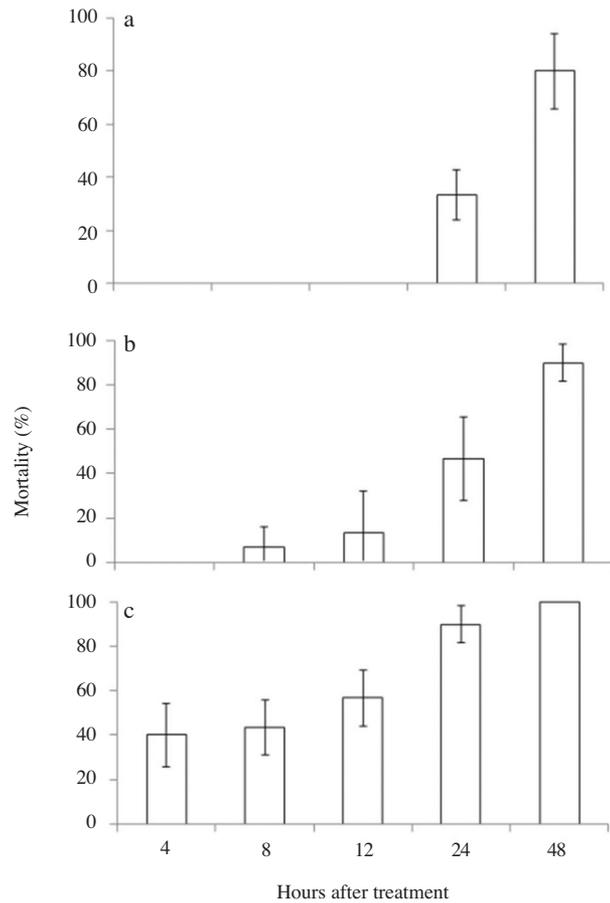


Fig. 5. Mortality of small hive beetle adult by coumaphos (a: 5,000ppm, b: 7,500ppm, c: 10,000ppm) treatment at different exposure period (4, 8, 12, 24hr).

으로 나타났다(Table 2).

선발 약제에 대한 꿀벌 안전성 평가

유충 방제용 약제로 coumaphos 1,000ppm이 선발되었다. 꿀벌 실내 안전성 평가는 처리 후 5일 사망률은 11%였으며, 무처리군은 5%였다. Coumaphos와 무처리군은 통계적으로 유의한 차이가 없었다(T-test, $df=1, 4$, $p>0.05$, Fig. 6). 약제혼합대용화분에 대한 꿀벌의 섭취량은 coumaphos 1.597g, 무처리 1.115g으로 나타났다. 약제혼합대용화분과 무처리에 대한 꿀벌 섭취량은 통계적으로 유의하였다(T-test, $df=1, 4$, $F=7.7$, $P<0.05$, Table 3).

꿀벌 봉군 안전성 평가에서 coumaphos 처리구에서

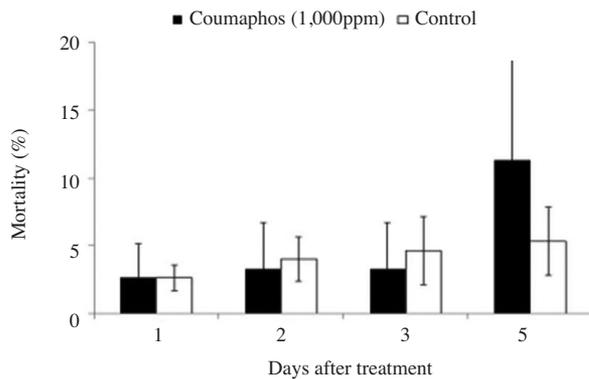


Fig. 6. Mortality of *Apis mellifera* workers by pollen patty mixed with coumaphos 10,000ppm in the laboratory test.

외역별 사망수는 일일 약 1~2마리 사망하였으며, 누적 사망수는 28.7마리였다. 무처리구에서 외역별 사망수는 일일 약 1~2마리 사망하였으며, 누적 사망수는 13.7마리였다(Table 4). 처리구별 봉군 발육 평가에서는 성충과 유충의 발육 상태가 통계적으로 유의하지 않았다(a; T-test, $df=1, 22, F=0.03, P>0.05$, b; T-test, $df=1, 28, F=0.02, P>0.05$, Fig. 7).

약제혼합대용화분에 대한 꿀벌의 누적 섭식량은 coumaphos 309g, 무처리 360g으로 나타났다. 약제혼합대용화분과 무처리에 대한 꿀벌 섭식량은 통계적으로 유의하지 않았다(T-test, $df=1, 4, F=0.15, P>0.05$, Table 5).

약제와 유인제의 현장적용 평가

약제 방제 효율과 유인 선호성에서 무처리구의 작은벌집딱정벌레 성충 개체수는 처리 전과 후의 변동은 없었다. 성충에 대한 약제 방제 효율은 coumaphos가 처리 후 5일에서 50%, 15일 82%, Apithor은 처리 후 5일 93%, 처리 후 15일 97% 방제 효율을 보였다(Table 6).

작은벌집딱정벌레 성충 유인제에 대한 선호성은 반복마다 큰 차이를 보였다. 분쇄화분과 설탕물 처리에서는 최소 18%, 최대 48% 선호성을 보였다. 식초에서는 1반복에서만 12% 선호성을 보였다. 미네랄오일은 성충이 전혀 유인되지 않았다(Table 7).

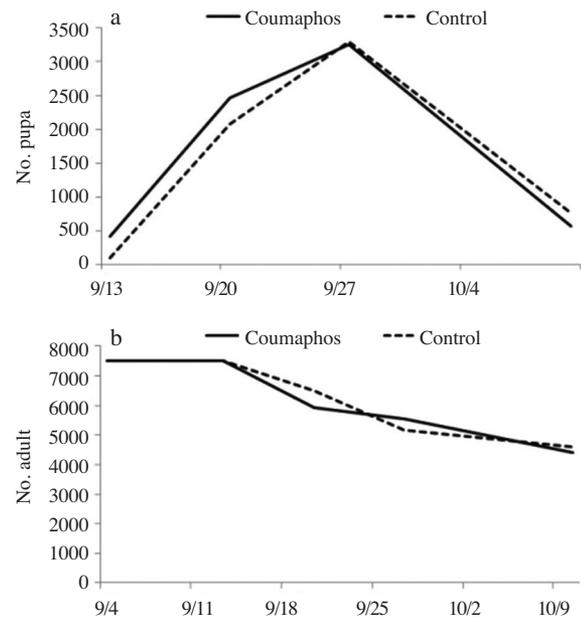


Fig. 7. Comparison of colonies development stage (a: larvae, b: adult) against each treatments on *Apis mellifera* workers by pollen patty mixed with coumaphos 10,000ppm in the field test.

고찰

작은벌집딱정벌레 방제를 위한 관리는 크게 물리적 방제, 화학적 방제, 생태적 방제를 이용하고 있다. 본 연구는 2016년 작은벌집딱정벌레 발생 및 피해가 확인됨에 따라 즉각적인 방제 효율을 위해 화학적 방제와 유인트랩을 이용한 방제 효율을 평가하였다. 작은벌집딱정벌레 방제용 약제 선별은 국외에서 사용되는 coumaphos와 fluvalinate, 꿀벌응에 방제 약제인 cymiazole hydrochloride 중 coumaphos를 하였다. coumaphos를 이용한 유충 적용 농도는 1,000ppm, 성충은 10,000ppm으로 하였다. 대용화분 혼합 coumaphos 1,000ppm의 경우 실내 안전성 평가에서 꿀벌에 피해가 없었으며, 봉군 평가에서도 꿀벌의 피해가 없었다. 대용화분 혼합 coumaphos 10,000ppm은 CD형 트랩에 넣어 작은벌집딱정벌레 성충만 이출입할 수 있는 구조로 되어 있어 꿀벌의 섭식을 제한할 수 있다. 따라서 대용화분 혼합 coumaphos 10,000ppm에 대한 꿀벌 안전성 평가는 생략하였다. 소비와 소비사에 끼워 넣는 유인 포살 트랩인 Beetle blaster™에 사

용되는 유인제는 분쇄화분설탕물의 효율이 가장 높았다.

국외에서는 유인트랩을 벌통내 설치하여 성충을 유인 포살하는 형태를 많이 사용한다. 대부분의 트랩은 샌드위치통, 소비 사이에 끼워 넣을 수 있는 형태 또는 벌통 상단 및 하단에 설치한다. 유인제는 성충이 선호하는 화합물을 넣어 사용되고 있으며, 종류는 미네랄, 식물성 기름, 썩은 과일, 분쇄화분, 벌꿀 등을 넣어 사용한다. Elzen *et al.*(1999)은 성충에 대한 유인시 꿀벌 생산물 또는 꿀벌 성충을 단독으로 사용시 유인되지 않으며, 두 가지를 함께 사용시 외부에서 유입되는 성충을 유인할 수 있다고 보고하였다. de Guzman *et al.*(2013)은 대용화분에 *Kodamaea ohmeri*를 이용해 발효 시켜, 유충페르몬, 에탄올을 각각 혼합하면 유인효과를 증가시킬 수 있다고 하였다. Dekebo *et al.*(2017)은 발효대용화분, 발효벌꿀과 일벌성충이 작은벌집딱정벌레 성충 유인에 효과적이라고 보고하였다. 본 연구에서의 실내 시험에서는 유충과 성충 모두 대용화분, 또는 분쇄화분과 설탕물에 대한 유인 선호성이 가장 높았으며, 봉군에서도 분쇄화분과 설탕물에서 유인 선호성이 높았다. 국외 연구와 본 연구를 종합하면, 화분, 효소, 꿀벌성충을 적절히 혼합하여 사용하면 보다 효율적인 벌통 내·외부 유인제를 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

국외에서 사용되는 작은벌집딱정벌레 약제 방제는 coumaphos, fipronil이 있다. 이들의 살충 작용 기작은 다음과 같다. coumaphos는 organophosphates 계통으로 아세틸콜린 에스터라아제 저해를 통한 살충 작용이 일어나며, Fipronil은 phenylpyrazole 계통으로 이온 채널형 GABA 수용체를 작용점으로 억제성 신경계 작용을 저해하여 살충 효과가 일어난다. Checkmite+™를 이용하여 골판지 한 쪽면을 제거하고 스트립형태 약제를 부착하여 벌통 바닥에 설치하였다. 방제 효율은 성충은 24시간 76%, 48시간 90%이며, 유충은 24시간 60%, 48시간 94% 효율을 보고하였다(Elzen *et al.*, 1999). 또한 Neumann and Hoffmann(2008)은 방제 효율이 94% 이상 나타났다. Levot (2007, 2012)는 Aphor™은 골판지를 fipronil에 침지 시킨 후 플라스틱에 넣어

벌통에 처리하며, 방제 효율은 96%로 나타났다. Kanga and Somorin(2012)는 살충제와 곤충생장조절제를 이용한 성충의 반수치사농도는 fenitrothion, chlorpyrifos, methomyl 각각 0.53, 0.53, 0.54 μ g/vial로 보고하였다. 대부분의 약제는 유충 보다 성충의 반수치사농도가 높게 나타났다. 붕산(boric acid)을 이용한 방제 효율은 90%로 나타났다(Reyes-Escobar *et al.*, 2015). Ellis *et al.*(2010)은 곤충병원성성충을 이용한 번데기 방제에서는 88~100%를 보고하였다. Buchholz *et al.*(2006)은 방랑유충에 *Bacillus thuringiensis* Berliner(BT) 처리시 성충 우화율은 무처리와 같은 수준이 나타났다고 보고하였다. 본 연구에서는 대용화분에 coumaphos를 혼합 처리시 실내 평가 결과는 다음과 같다. 1,000ppm에서 유충 사망률은 24시간 83%, 10,000ppm에서 성충 사망률은 24시간 90%로 나타났다. 실내 독성평가를 통한 coumaphos 반수치사농도는 유충은 LC₅₀=612ppm, LD₅₀=1.591(ug/beetle)이다. 성충 반수치사농도는 LC₅₀=6,571ppm(ug/beetle)으로 유충의 반수치사농도의 약 10배 높게 나타났다. 이는 유충과 성충의 독성반응에 대한 생리작용 차이에 의한 것으로 판단된다. 현장 적용 평가에서는 coumaphos 10,000ppm을 이용한 성충방제 효율은 처리후 5일 50%, 15일 82%로 나타났으며, 대조구인 Apithor™(fipronil)은 처리 후 5일 93%, 15일 97%의 방제 효율이 조사되었다. Apithor™보다 coumaphos의 방제 효율은 낮은 것은 약제혼합대용화분을 기피하는 것으로 섭식량이 충분히 이루어지지 않기 때문인 것으로 판단된다.

유충 방제 적용 coumaphos 1,000ppm을 대상으로 꿀벌 안전성 실내 평가에서는 섭식 독성이 나타나지 않았다. 봉군에서의 시험은 약 한 달간 진행 결과이며 일일 성충 사망률은 극히 낮게 나타났다. 약제혼합대용화분의 섭식량에서는 통계적으로 유의하지는 않았지만 무처리의 섭식량이 많았다. 따라서 봉군 적용 평가시 긴 기간을 처리한 뒤 봉군 발육, 개체군 변화 등에 대한 결과를 바탕으로 봉군내 유충 방제용 약제 혼합대용화분으로의 적용 여부를 결정할 수 있을 것으로 판단된다.

최근 국내에서는 농약 허용물질목록 관리제도 (PLS: Positive List System)가 2019년 1월부터 전면 시행된다. PLS란 잔류허용기준이 설정되지 않은 농약에 대해 일류기준인 0.01mg/kg으로 관리하는 제도이다 (식품의약품안전처, 2017). 본 제도는 PLS가 설정되어 있지 않는 작물의 농약 잔류 기준을 0.01mg/kg으로 설정하여 농약 사용의 오남용을 방지하고 안전성이 충분히 확보되지 않은 농약에 대해 관리를 강화하는데 그 목적이 있다. 꿀벌 해충 방제에 사용되는 약제는 동물의약품으로 분류되고 있으며, 작은벌집딱정벌레 약제는 등록되어 있지 않은 실정이다. 작은벌집딱정벌레 방제를 위해 방제 화합물에 대한 등록이 우선시 되어야 할 것이다. 또한 꿀벌 동물의약품 등록 절차는 농림축산검역본부에서 주관하고 있으며, 정부 기관에서 긴급방역을 요하는 침입 해충 또는 신규해충 방제시 약제 사용이 제한적이며, 약제에 대한 연구 개발 후 등록의 어려움이 잔존하고 있다.

2016년 9월 첫 발생 보고 후 현재 1년 이상 경과하고 있으나 작은벌집딱정벌레 발생은 경남 밀양과 주변 일부 지역에서 국한되어 있다. 본 연구자는 2017년 발생 지역에 대한 지속적인 모니터링 결과 농가에서 개체수는 10~30마리 개체 내외이다. 이를 방제하기 위해 양봉농가는 직적 포살이 가장 효율적이라고 알려오는 이도 있었으며, 대용화분에 산란된 알과 유충을 가스토키를 이용해 살충하고 있으며, 산란된 대용화분을 냉동고(-20°C)에 약 1주일 보관 후 재사용하고 있다. 또한 대용화분은 대략 1kg의 용량이 보편적으로 이용되고 있었으나 작은벌집딱정벌레 산란을 억제하고자 1kg 용량을 3등분 정도 줄여 사용하고 있다. 밀양지역의 시설재배 작물은 풋고추와 딸기가 주생산물이다. 이것에 화분매개 수정을 위해 꿀벌을 사용하고 있다. 시설 작물 재배 농가는 시설 주변에서 화분매개용 꿀벌을 사양한다. 이때 관리는 거의 이루어지지 않으며, 벌통 내 일벌과 여왕벌이 생존만 하고 있어도 재사용하고 있다. 늦가를 꿀벌을 시설 내에 투입하여 다음해 3~4월에 시설에서 철수 시킨다. 이때 작은벌집딱정벌레가 야생 또는 감염 봉군으로부터 감염되는 것으로 파악되며, 이후 시설 내로 봉군이 이동

시 작은벌집딱정벌레는 성충으로 월동을 하는 것으로 파악되었다. 본 연구는 화학적 방제와 생태적 방제에 대한 결과이며, 이를 바탕으로 작은벌집딱정벌레 방제와 확산방지에 도움이 될 것으로 판단된다.

적 요

작은벌집딱정벌레(Small hive beetle(SHB), *Aethina tumida*(Coleoptera: Nitidulidae)는 아프리카 대륙 사하라 사막 이남 지역이 원산지이다. 벌통내 양봉산물과 꿀벌에 직·간접적인 피해를 준다. 국내에서는 밀양지역에서 2016년 9월 첫 피해 보고되었다. 현재 발생 지역은 밀양과 그 주변지역인 창녕, 양산, 기장에서 발생하고 있다. 이에 국내 작은벌집딱정벌레 확산 방지 및 방제를 위해 본 연구를 실시하였다. 본 연구는 유인제 선호성, 방제 약제 선발, 꿀벌안전성 평가, 선발 약제를 이용한 현장 적용 평가로 나눌 수 있다. 유인제 선호성은 유충과 성충을 대상으로 이루어졌으며, 유충은 대용화분을 가장 선호하였으며, 성충은 분쇄 화분+설탕물을 가장 선호하였다. 이에 유충과 성충은 기본적으로 화분성분을 선호하여, 방제 약제 개발시 약제와 화분을 혼합하여 사용할 수 있게 개발하였다. 방제 약제 선발은 국외 문헌 조사를 통해 일차적으로 coumaphos, fluvalinate, cymiazole hydrochlorid을 후보 목록으로 선정하였다. 이에 대해 실내 독성 평가를 통해 적합 약제를 선발하였다. 선발된 약제는 coumaphos이며, 방제 효율이 높으며, 꿀벌에 안전한 것으로 나타났다. coumaphos를 이용하여 대용화분과 혼합하여 섭식을 통해 방제하였으며, 유충에 대한 방제 농도는 1,000ppm, 성충은 10,000ppm으로 설정되었으며, 꿀벌 안전성 평가를 위해 실내·외 평가에서도 coumaphos 10,000ppm 혼합 대용화분은 안전한 것으로 나타났다. 이를 이용하여 CD형 케이스에 coumaphos 10,000ppm 혼합 대용화분과 Apitor, 오일 트랩을 이용하여 작은벌집딱정벌레 발생 현장에서 실험한 결과 높은 방제 효율이 나타났다. 이에 coumaphos 1,000ppm(유충), 10,000ppm(성충)을 대용화

분과 혼합하여 CD형 케이스에 넣어 사용한다면 발생 현장에서 작은벌집딱정벌레 방제에 적합한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구과제 PJ01354701의 연구비로 지원된 결과이며 이에 깊은 감사를 드립니다.

인용 문헌

- 농림수산식품부. 2017. 꿀벌 질병 방역관리 방안 마련: 낭충 봉아부패병 및 SHB감염증에 대한 대책. p 52.
- 농림축산검역검사본부. 2016. 작은벌집딱정벌레 감염증 국내 발생 확인 보고. 농림축산식품부.
- 식품의약품안전처 고시 2017-57호.
- 진용덕. 2006. 일본의 Positive list system과 대응 방안. 한국농약학회 10-15.
- Brion, A.C.B. 2015. Small hive beetle poses threat to bee industry. The philippine Star, <http://www.philstar.com/agriculture/2015/02/22/1426217/small-hive-beetle-poses-threat-bee-industry> (Accessed on 12 December 2017).
- Buchholz, S., M. O. Sch?fer, S. Spiewok, J. S. Pettis, M. Duncan, W. Ritter, R. Spooner-Hart and P. Neumann. 2008. Alternative food sources of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae). J. Apicultural Research and Bee world. 47: 202-209.
- Choi, S. Y., K. S. Woo, Y. S. Kim. 1986. Questionary survey on the Varroa mites in Korea beekeeping. Kor. J. Apic. 1: 62-75.
- De Guzman, L., A. M. Frake, T. e. Rinderer and R. Arbogast. 2011. Effect of height and color on the efficiency of pole traps for *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae). J. Econ. Entomol. 104: 26-31.
- De Guzman, L., T. E. rinderer, A. M. Frake, M. Wakefield, G. Marris and G. Budge. 2013. Evaluation of the efficacy of small hive beetle (*Aethina tumida* Murray) baits and lures. Science of bee culture. 5: 3-6.
- Dekebo, A., S. Hong, and C. Jung. 2017. Attractiveness of the small hive beetle (*Aethina tumida* Murray) to volatiles from honey bee and beehive materials. Kor. J. Apic. 32: 315-326.
- Ellis, J. D. 2005. Reviewing the confinement of small hive beetles (*Aethina tumida*) by western honey bees (*Apis mellifera*). Bee World 86: 56-62.
- Ellis, J. D., Neumann, P., Hepburn, H. R., Elzen, P. J. 2002. Longevity and reproductive success of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) fed different natural diets. J. Econ, Entomol. 95: 902-907.
- Ellis, J. D. and K. S. Delaplane. 2007. The effects of three acaricides on the developmental biology of small hive beetles (*Aethina tumida*). J. Apic. Res. Bee. World. 46: 256-259.
- Elzen, P. J., J. R. Baxter, D. Westervelt, C. Randall, K. S. Delaplane, L. Cutts and W. T. Wilson. 1999. Field control and biology studies of a new pest species, *Aethina tumida* Murray (Coleoptera, Nitidulidae) attacking European honey bees in the Western hemisphere, Apidologie 30: 361-366.
- Gillespie, P., J. Staples, C. King, M.J. Fletcher and B.C. Dominiak. 2003. small hive beetle, *Aethina tumida* (Murray) (Coleoptera: Nitidulidae) in New south Wales. Gen. Appl. Entomol. 32: 5-8.
- Hepburn, H. R. and S. E. Radloff. 1998. Introgression and Hybridisation in Natural Populations. In: Honeybees of Africa. Springer Berlin Heidelberg, p. 103-131.
- Hill, J. K., H. M. Griffiths and C. D. thomas. 2010. Climate change and evolutionary adaptations at species' range margins. Annu. Rev. Entomol. 56: 143-159.
- Hong, S. and C. Jung. 2017. Spatial distribution patterns of newly invaded honeybee pest, *Aethina tumida* Murray, 1867 (Coleoptera: Nitidulidae) in an apiary where it was first detected. Kor. J. Apic. 32: 163-170.
- Hood, W. M. 2000. Overview of the small hive beetle *Aethina tumida* in North America. Bee World 81: 129-137.
- Hood, W. M. 2011. Handbook of Small Hive Beetle IPM. Clemson University, Cooperative Extension Service. Extension Bulletin 160, pp. 20. http://www.extension.org/sites/default/files/Handbook_of_Small_Hive_Beetle_IPM.pdf (Accessed 10 June 2015).
- Jung, C., D. Kim, H.S. Lee and H. Baek. 2009. Some biological characteristics of a new honeybee pest, *Vespa velutina nigrithorax* Buysson 1905 (Hymenoptera: Vespidae). Kor. J. Apic. 24: 61-65.
- Kim, J. M., S. J. Lim, Tai T. A, K. J. Hong and B. S. Yoon. 2017. Development of Rapid Detection System for Small Hive Beetle (*Aethina tumida*) by using Ultra-Rapid PCR. Korean Journal of Apiculture. 32(2): 119-131.
- Lee, S. H., K. J. Choi, Y. S. Choi, M. S. Yoo and S. H. Lee. 2017. Review of the subgenus *Aethina Erichson* s. str. (Coleoptera: Nitidulidae: Nitidulinae) in Korea, reporting recent invasion of small hive beetle, *Aethina tumida*. Journal of Asia-Pacific Entomology, 20: 553-558.
- Levot, G. W. 2008. An insecticidal refuge trap to control adult small hive beetle, *Aethina tumida* Murray (Coleoptera: Nitidulidae) in honey bee colonies. J. Apic. Res. Bee. World. 47: 222-228.
- Levot, G. W. and D. Somerville. 2012. Efficacy and safety of the insecticidal small hive beetle refuge trap APITHOR™ in bee hives. Aust. J. Entomol. 51: 198-204.
- Lundie, A. E. 1940. The Small Hive Beetle: *Aethina tumida*. The

- small hive beetle *Aethina tumida*, Science Bulletin 220. MAAREC, 2015. Website at: <https://agdev.anr.udel.edu/maarec/>. SMALL HIVE BEETLE.
- Minister for Agriculture. 2002. Small hive beetle confirmed in Sydney bee apiary: Amery, Agricult, media releases 31 October 2002. <http://minister.agric.nsw.gov.au/reader/16058> (Accessed on 10 May 2015).
- Mutinelli, F., F. Montarsi, G. Federico, A. Granato, A. M. Ponti, G. Grandinetti, M. P. Chauzat. 2014. Detection of *Aethina tumida* murray (Coleoptera: Nitidulidae) in Italy: outbreaks and early reaction measures. J. Apic. Res. 53: 569-575.
- Neumann, P., J. D. Evans, J. S. Pettis, C.W.W. Pirk, M. O. Schäfer, G. Tanner and J. D. Ellis. 2013. Standard methods for small hive beetle research. J. Apic. Res. 52: 1-32.
- Neumann, P. and D. Hoffmann. 2008. Small hive beetle diagnosis and control in naturally infested honeybee colonies using bottom board traps and CheckMite+ strips. J. Pest. Sci. 81: 43-48.
- NIMR (National Institute of Meteorological Research), 2011. Report on climate change scenarios for IPCC AR5, National Institute of Meteorological Research.
- Palmeri, V., G. Scrito, A. Malacrino, F. Laudani and O. Campolo. 2015. A scientific note on a new pest for European honey bees: first report of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) in Italy. Apidologie. 46: 527-529.
- Park Jung-Joon, Chuleui Jung, 2016. Risk prediction of the distribution of invasive hornet, *Vespa velutina nigrothorax* in Korea using climex model. Kod. J. Apic. 31: 293-303.
- Sanford, M.T. Small hive beetle. University of Florida IFAS Extension publication ENY-133. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/AA/AA25700.pdf>. (Accessed on 10 December 2017).
- Sanford, T., K. Flottum and B. Arthur. 1999. Focus on Bayer bee strip: The newest weapon in beekeeping's arsenal against Varroa also controls the small hive beetle. Bee Culture 3: 32-35.
- Waite, R. and M. Brown. 2003. The small hive beetle. Bee Craft, January: 4-5.
- Williamson, M. 1996. Biological invasions. Chapman & Hall. London. pp. 244.
- Woo, K. S. and J. H. Lee. 1993. The study on the mites inhabiting the bee-hives in Korea. Kor. J. Apic. 8: 140-156.
- Zacchetti, F. 2015. *Aethina tumida* dal vivo. L' Apis. 2: 5-8.
- Zawislak, J. Managing small hive beetles. University of Arkansas. United States Department of Agriculture and county governments cooperating. FSA-7075. <https://www.uaex.edu/publications/PDF/FSA-7075> (Accessed on 10 December 2017).