



화분매개벌용 비벡터링 디스펜서를 이용한 사과 화상병 방제 효과

이우형, 박성열¹, 최진혁², 이명렬², 이용환, 오현석³, 김순일^{1,*}

국립농업과학원 작물보호과, ¹(주)케이엘에스바이오 중앙연구소, ²인천대학교 생명과학과,
³국립농업과학원 농업유전자원센터

Control Effect against Apple Fire Blight Using Bee Vectoring Dispenser for Pollinating Bees

Woohyung Lee, Seong Ryul Park¹, Jin Hyeok Choi², Myeong-lyeol Lee², Yong Hwan Lee, Hyeonseok Oh³ and Soon-Il Kim^{1,*}

Crop Protection Division of Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea

¹Center for Research and Development of KLSBio, Suwon 16677, Republic of Korea

²Division of Life Science, Incheon National University, Incheon 22012, Republic of Korea

³National Agrobiodiversity, Center of Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea

Abstract

Bee-vectoring technology is a new concept for crop protection by disseminating microbial control agents onto economical crops using bee pollinators. This study was carried out to determine control effect in screened cages against apple fire blight using developed dispensers. The temperature in honey bee hives equipped with dispensers and in dispensers was 30.8 and 29.3°C, and relative humidity was 66.1 and 72.9%, respectively. The number of individuals entering the hives per 10 minutes through the dispenser installed at the entrance, including *Bombus terrestris*, *Apis mellifera* and *Apis cerana*, was 7, 91, and 207, respectively, and the time period with the highest entrance frequency of entry was between 2:00 and 4:00 p.m. *A. mellifera* delivered transport substances to the farthest distance (70 m) within the tested apple green house. The error rate (%) of these pollinating bees adapted to finding the entrance and exit of the dispenser and carrying out normal pollinating activities was 1.7, 21.1, and 44.1% in *B. terrestris*, *A. mellifera* and *A. cerana*, respectively. The amount of microbial agent per *A. mellifera* and *A. cerana* was 3.6(±0.59) and 1.2(±0.32) mg, showing a significant difference (t-test, $P = 0.0008$). *A. mellifera* delivered about 3 times more than *A. cerana*. The mortality of *B. terrestris* exposed to the microbial products (*B. subtilis* QST713 and *B. amyloliquefaciens* MBI600) applied in cages in the apple house was 7 and 8% and the number of bee entrances in 30 minutes and the number of active bees in the cages were statistically insignificant. In addition, the incidence of fire blight in Hongro flowers was 35.8% in the *B. subtilis* QST713 and 84.2% in the *B. amyloliquefaciens* MBI600 treatments, and the corresponding control effect was 61% and 6.9%, respectively. Therefore, it was found that *B. subtilis* QST713 is useful as a bee-vectoring microbial agent for controlling fire blight. Based on these results, we will further study to apply the developed dispensers for control various crop diseases in green houses and fields.

Keywords

Bee hive, Bee-vectoring, Dispenser, Fire blight, Microbial products

서론

비벡터링(Bee vectoring) 기술은 인간이 자연을 모방한 매우 바람직한 사례들 중 하나로 벌을 비롯한 다양한 곤충들은 꽃에서 꽃으로 화분을 운반하고 세균과 곰팡이 포자 등을 전달할 수 있는 능력을 갖추고 있다(Wael *et al.*, 1990). 우리는 이러한 원리를 받아들여 이것을 상업적인 화분매개 목적과, 보다 최근에는 생물적 방제제인 미생물 제들의 운반자로서 이용하기 시작했다. 기술적 용어로서 곤충벡터 기술(entomovector technology)로서 도입되었는데(Hokkanen and Menzler-Hokkanen, 2007), 넓은 의미에서 보면 이 기술에 속하는 비벡터링 기술은 작물 또는 식물을 보호할 목적으로 미생물제를 곤충과 같은 매개체들을 이용해서 이들에게 전달하는 것을 의미한다(Fig. 1).

1992년 초 양봉꿀벌(*Apis mellifera*)이 상업적으로 이용할 수 있는 미생물제로 식물병원균으로서 잘 알려진 딸기 잿빛곰팡이균(*Botrytis cinera*) 방제용으로 곰팡이인 *Glilocladium roseum*을 운반하는 데 활용되었다(Peng *et al.*, 1992). 곤충벡터링 시스템에서 활용 가능한 가장 중요한 2종 화분매개자들은 바로 양봉꿀벌과 뒤영벌류(*Bombus* spp.)로서 전자는 북미, 유럽, 남아메리카 그리고 아시아에서 이미 화분매개자로 이용되고 있고 후자 역시 북미에서는 유럽뒤영벌(*B. impatiens*) 그리고 유럽과 국내에서는 서양뒤영벌(*B. terrestris*)이 상업화된 상태이다. 이들 벌들을 비벡터링에 이용한 사례는 노지 딸기에서 잿빛곰팡이병을 방제할 목적으로 *Trichoderma harzianum*을 사용하여 평균 22% 높은 수확량을 달성했다(Kovach *et al.*, 2000). 이와 유사하게 핀란드에서도 노지 딸기에서 *Glilocladium catenulatum*을 비벡터링에 이용하여 58%의 수확량 증가를 가져왔다(Smagghe, *et al.*, 2012). 특히, 유럽뒤영벌(*B. impatiens*)을 이용하여 *Clonostachys rosea*

운반한 토마토와 단고추(*Capsicum annuum* L. cv. Edison)에서 잿빛곰팡이병의 발생을 각 51.5%와 53% 억제하였다(Kapongo *et al.*, 2008). 병 발생 억제와 더불어 해충 방제에도 비벡터링 기술을 이용하기 위한 연구들이 이뤄졌다. 이러한 생물적 방제원으로서 비벡터링을 활용하는 데 있어 해충 방제에도 적용하기 위해 온실가루이, 꽃노랑총채벌레, 진딧물류 등의 방제를 위해 적합한 제형 개발 및 최적 농도 구명 등에 관한 연구가 이뤄졌다(Almazra'awi *et al.*, 2006). 국내에서도 서양뒤영벌 별통에 비벡터링 기술을 적용 가능한 디스펜서의 개발이 이뤄졌고, 서양뒤영벌에 영향을 주지 않는 약제를 선발하여 활용하기 위한 연구가 이뤄졌다(Park *et al.*, 2013, 2020; Kim, 2020). 일본에서도 화분매개벌로 잘 알려진 머리뿔가위벌(*Osmia cornifrons*)에 *Bacillus subtilis* 기반의 생물적 방제제(Serenade®)의 운반자로 사과 화상병 방제용으로써 잠재적인 활용성이 밝혀졌다(Joshi *et al.*, 2020).

이러한 곤충벡터링 시스템은 화분매개와 식물병 예방을 동시에 달성할 수 있도록 하는 장점이 있다. 결과적으로 사용 농가는 식물병에 대한 예방으로 생산량 증가에 따른 수익을 얻을 수 있다. 또한 부차적으로는 환경 및 인축에 영향을 미칠 수 있는 화학합성제 사용의 감소 그리고 온실과 연관된 물과 전기적 사용량을 감소시켜 더 낮은 탄소발자국의 혜택을 가져올 수 있다(Smagghe *et al.*, 2012; Fenner *et al.*, 2013). 콜롬비아에서 꿀벌과 딸기 잿빛곰팡이병 방제용 *T. harzianum*의 이용으로 얻어진 경제적 효과는 화분매개로 연간 ha당 약 2,987 USD, 농약 사용 처리비 감소로 약 1,405 USD, 잿빛곰팡이병 1.88% 감소에 따른 872 USD 이득 등을 합산하면 연간 ha당 약 3,710 USD의 절감 효과를 가져다 주는데, 이는 이 기술을 실행하는 데 소요되는 비용 대비 3배나 더 초과한 이익을 실현해 준다는 것을 의미한다(Espinosa *et al.*, 2020).



Fig. 1. The concept of bee-vectoring technology composed of pollinators such as bees, biological control agent and dispenser. When pollinators exited to forage outdoors and took pollinating activities, they delivered a biological control agent with their body and legs to target crops.

그래서 본 연구에서는 이와 같이 유용한 비벡터링 기술에 필수적인 화분매개벌의 이용에 적합한 디스펜서를 고안하였고, 이것을 벌통 입구에 결합시켰을 때 벌통 내부의 온도 및 상대습도의 변화 그리고 화분매개벌의 행동에 미치는 영향 등을 조사하였다. 또한 디스펜서에 처리된 미생물제의 노출에 의한 서양뒤영벌의 살충률 및 사과 화상병 방제에 대한 효과를 조사함으로써 본 연구에서 개발된 디스펜서가 비벡터링용 작물보호 수단으로서의 활용 가능성을 알아보았다.

재료 및 방법

1. 비벡터링 디스펜서 고안

비벡터링 디스펜서는 서양뒤영벌용과 양봉꿀벌 및 재래꿀벌용 등 2종으로 폴리에틸렌 재질의 플라스틱으로 설계하였다. 설계에서 처음 고려한 사항은 출입하는 화분매개벌들이 미생물제를 벌통 내부로 들어오지 않도록 하는 것이었다. 서양뒤영벌용의 경우, 국내에서 유통되고 있는 서양뒤영벌 벌통들의 출입구 모양과 위치가 각 제조사 별로 상이하여 이들 모두에 적용 가능하도록 설계하였다. 서양뒤영벌 디스펜서는 본체의 후면에 벌통의 출구와 본체가 결합되도록 2개의 구멍을 내고 이것을 벌통과 연결시키는 어댑터를 갖고 있다. 서양뒤영벌 벌통 출구가 왼쪽에 위치해 있으면 어댑터를 왼쪽 구멍에 결합시켜 벌통과 본체를 연결시키고 나머지 한쪽의 구멍은 폐쇄시킨다.

그리고 벌들이 디스펜서 본체 내로 들어오면 몸에 미생물제를 충분히 묻힐 수 있도록 들어온 입구의 대각선 쪽에 투명 또는 빛살무늬 형태의 미닫이 문을 설계하여 빛이 유입될 수 있도록 함으로써 유입된 벌들이 빛을 보고 출구를 찾을 수 있도록 설계하였다. 본체의 출구 역시 입구와 동일하게 2개로 구성하여 한쪽은 폐쇄하는 형태로 디자인하였다. 빛은 안쪽에서만 열릴 수 있도록 한 출구 쪽 미닫이 문을 통해서만 디스펜서 본체 내로 유입된다. 디스펜서 내로 벌들의 유입을 차단하거나 모든 화분매개활동이 완료되면 벌들의 출구에 차단판을 설치할 수 있도록 하였다(Fig. 2A and 2B).

양봉꿀벌과 동양종꿀벌에 적용할 디스펜서는 벌통 소문에 직접 설치하여 기존 벌통의 별다른 변형 없이 디스펜서만을 설치하여 활용할 수 있도록 설계하였다. 디스펜서의 본체 입구를 벌통 소문에 맞게 연결하고 본체 내로 유입된 벌들은 미생물제를 묻혀 앞쪽 원뿔형 모양의 출구로 나가게 된다. 반면 화분매개활동을 마치고 벌통으로 들어오는 벌들은 본체 뚜껑을 착륙판 삼아 벌통 내로 그대로 유입되도록 설계함으로써 약을 묻힌 벌들이 벌통 내로 유입되지 않도록 하였다(Fig. 2C and 2D).

2. 디스펜서 설치 후 봉군 내부 온습도 조사

양봉꿀벌 벌통에 디스펜서를 설치하였을 때, 벌통의 내부 온도 및 습도에 미치는 영향을 조사하였다. 이러한 온도 및 습도 변화를 알아보기 위해 데이터로거 (S500EX, HUATO Electronic, China)를 벌통 외부, 디스펜서 내부

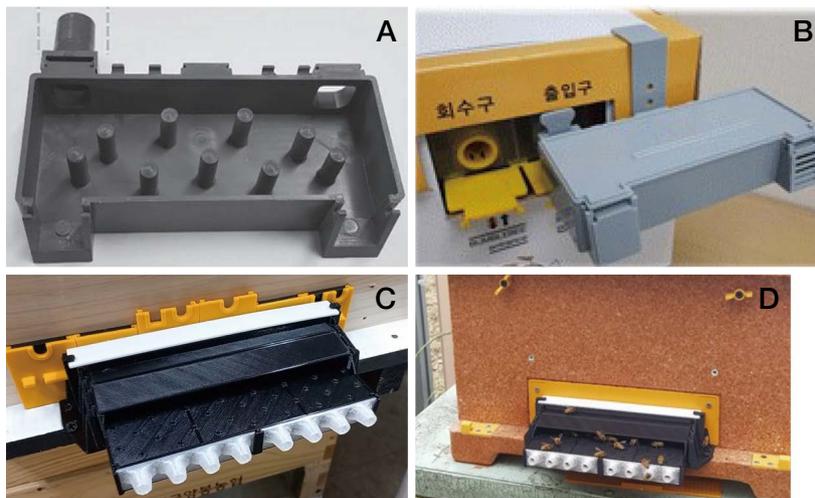


Fig. 2. The overall and operating views of the dispenser developed for deploying *Bombus terrestris* (A & B), *Apis mellifera* and *Apis cerana* (C & D) for vectoring biological control products.

및 벌통 내부에 2023년 5월 13일과 6월 01일에 설치하여 15분 간격으로 24시간 동안 조사하였다.

3. 디스펜서 이용이 벌들의 행동에 미치는 영향

시험에 사용한 서양뒤영벌은 시중에서 판매되는 것(살림벌, 살림농업회사법인, 경남 밀양시 봉황리)을 구입하여 사용하였는데, 각 벌통의 개체수는 여왕벌 1, 일벌 약 80마리 정도였고, 벌통을 격리시설(충청북도 충주시 산척면 양지답길 41; 37.10569, 127.9613; 9×52×4.5 m 하우스) 입구와 중간지점에 각각 설치하였다. 양봉꿀벌은 소비 8장으로 구성된 벌통 3군을 인천대학교 양봉장(인천대학교 송도캠퍼스 양봉장, 37.37253, 126.6300)에 두고 사용하였고, 재래꿀벌은 국립농업과학원 내 재래봉장(전북특별자치도 완주군 이서면 농생명로 166)에서 유지 관리하고 있는 벌통들을 그대로 활용하였다.

이 실험에서 벌통에 연결된 디스펜서들을 출입한 벌들의 숫자, 디스펜서에 탑재된 미생물제(Serifel®, *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600)를 운반하는 각 개체별 운반량 그리고 디스펜서들이 설치된 후 출구로 나온 벌들이 다시 출구로 들어가는지에 대한 오류율을 조사하였다. 디

스펜서를 서양뒤영벌 벌통 또는 서양종 및 동양종 벌통에 설치 후 06:00부터 19:00시까지 시간당 10분씩 이들 3종 화분매개벌들의 디스펜서 출입 개체수를 카메라(Action Cam AT-Q60CR, Tripper, China)를 설치하여 조사하였다.

4. 화분매개벌의 미생물제 운반량 조사

화분매개벌 개체당 미생물제 운반량을 조사하기 위해 벌통에서 나오는 양봉꿀벌과 재래꿀벌 20개체를 포획하여 조사하였다. 각 개체를 뚜껑이 있는 플라스틱 튜브(15 mL)에 넣고, 이 튜브를 미생물제가 든 플라스틱 용기 부분(2×5 cm)을 통과하여 지나가게 한 후, 동일한 플라스틱 튜브(15 mL) 입구 안으로 들어가도록 고안하였다(Fig. 3A). 이 튜브의 아래쪽에 직경 2 mm의 구멍을 뚫어 두었고, 이것을 다시 15 mL 튜브에 연결하여 벌이 사망할 때까지 유지하여 벌 몸에 묻었던 약제가 자연스럽게 아래쪽 튜브로 떨어지게 하였다(Fig. 3B). 각 튜브에 수집된 분말의 양을 측정하여 꿀벌 개체별 미생물제의 운반량을 측정하였다(Fig. 3C and 3D). 그리고 3종 화분매개벌들의 디스펜서 입구 및 출구를 찾아 정상적인 화분매개활동을 하는데 소요되는 시간(일)과 오류율을 디스펜서를 벌통에 설

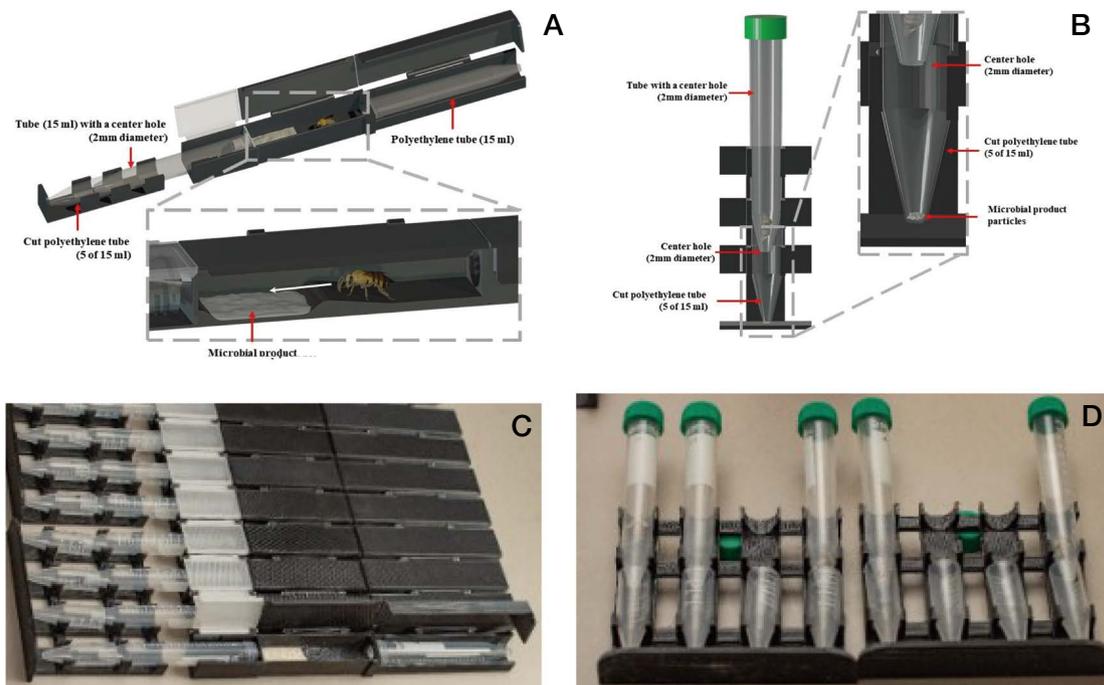


Fig. 3. The schematic (A & B) and original photos (C & D) of a device designed to measure the delivering amount per *Apis mellifera* and *Apis cerana*. Each bee captured in a polyethylene tube (15 mL) entered into another compartment containing microbial product connected with another tube (5 or 15 mL, A). The stained bee with microbial dusts was kept in the above tube (5 or 15 mL) with a center hole (2 mm diameter) and the delivered dusts were dropped the bottom of the other polyethylene tube (5 or 15 mL, B).

치한 후 오전 9시부터 12시까지 시간당 10분 동안 3일간 육안 관찰하여 조사하였다. 오류율은 디스펜서 출구를 나온 전체 벌들 중 다시 출구로 들어가는 벌들의 수에 대한 백분율로 제시하였다. 또한 각 벌통에 설치된 디스펜서의 출구를 통해 나온 벌들이 미생물제와 형광색소(쿠팡상품번호: 6260130203-12741942287)를 혼합(1:1, w/w)하여 시험 시설 사과원의 가장 먼 거리(약 70 m)에 위치한 꽃을 채집하여 UV 조명(Convoy S2 365 nm UV LED torch 10W)으로 관찰하였다.

5. 서양뒤영벌에 대한 미생물제의 살충율 및 화상병 방제 효과

국내에서 시판되는 2종 미생물제들(*Bacillus subtilis* QST713와 *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600)의 서양뒤영벌에 대한 사망률, 30분간 벌통 출입 횟수 및 스크린 망실 내 활동 중인 벌의 수 그리고 개화한 사과 홍로(*Malus pumila* var. *dulcissima*)에서 화상병에 대한 방제 효과를 조사하였다. 미생물제 노출에 따른 서양뒤영벌의 사망률과 30분간 벌통 출입 횟수 및 망실 내 활동 중인 벌의 수를 격리하우스 내에 설치한 철제 프레임에 철망(40메쉬)을 씌운 6개 케이지(2×2×2 m)들에서 조사하였다. 각 케이지 내 벌통 앞에 서양뒤영벌의 먹이인 소량의 생화분을 페트리디쉬(직경 90 mm)에 담아 제공하였다. 서양뒤영벌 벌통 출구에 연결된 디스펜서 내 미생물제는 약 20 g으로 채웠고, 케이지 내 죽은 벌들은 발견 즉시 제거하였다.

또 다른 실험으로 비벡터링을 통한 화상병 방제 효과를 알아보기 위해 시험포장 격리시설에 설치한 철망을 씌운 6개 케이지들에 사과(후지 3년생) 묘목 3주를 배치하였다. 서양뒤영벌 벌통은 여왕벌 1, 일벌 20마리로 구성하였고, 실내에서 5일 동안 순화한 뒤 케이지에 넣었다. 케이지 내 사과 묘목의 꽃들이 대부분 개화하기 시작한 시점(80% 이상)에 미생물제를 서양뒤영벌용 디스펜서에 첨가하여 비벡터링을 실시하였다. 화상병 병원균(*Erwinia amylovora* TS3128)의 인공접종은 2021년 4월 12일 야간에 OD_{600nm}=0.7 농도로 희석하여 화충 전체에 분무하여 접종했다. 꽃 발병도는 다음 식을 이용하여 조사하였다 (Peil et al., 2019; Lee et al., 2023).

$$\begin{aligned} \text{꽃 발병도}(\%) &= [(1\text{등급 화충 수} \times 1) + (2\text{등급 화충 수} \times 2) \\ &+ (3\text{등급 화충 수} \times 3) + (4\text{등급 화충 수} \times 4) \end{aligned}$$

$$+ (5\text{등급 화충 수} \times 5)] / (\text{전체 화충 수} \times 5) \times 100 \quad (\text{식})$$

1등급 화충 수: 꽃 감염, 2등급 화충 수: 꽃 및 화경 감염, 3등급 화충 수: 꽃 및 과대아 감염, 4등급 화충 수: 꽃, 과대지 및 주변 신초의 수침상 증상, 5등급 화충 수: 단과지 및 연결가지 수침상 증상.

6. 통계분석

시험 벌통에 장착된 디스펜서를 유출입한 벌들의 출입 수, 디스펜서 출입구 분간에 소요된 시간, 서양뒤영벌 사충률 등의 처리 간 자료의 분산 분석은 one-way ANOVA를 이용하였고, 자료의 평균간 비교는 Sheffe 검정을 실시했다(SAS, 2014). 그리고 양봉꿀벌과 재래꿀벌 간 개체별 미생물제 평균 운반량 및 화상병 방제 효과에 대한 비교는 t-test ($P=0.05$)를 이용하였다.

결과 및 고찰

1. 디스펜서 설치 후 벌통 내부 온습도에 미치는 영향

양봉꿀벌 벌통에 디스펜서를 설치하였을 때, 벌통의 내부 온도 및 습도에 미치는 영향을 조사하였다. 상대습도는 벌통 내부 및 외부 그리고 디스펜서 내부 간 통계적으로 유의한 차이를 보였는데($F_{2,51}=6.11$, $P=0.004$), 상대적으로 디스펜서 내 습도(72.9%)가 벌통 내부(66.1%)에 비해 더 높았고, 꿀벌들의 활동에 가장 중요한 물리적 요소인 온도에 있어서는 벌통 내부 온도(30.8°C)가 디스펜서 내부 온도(29.3°C)에 비해 약 1.5°C 높았고 외부 온도가 16.8°C로 상대적으로 낮은 점을 감안하면 양봉꿀벌들이 봉군 내 온도 조절에 있어 디스펜서 설치와 외부 온도에 의한 영향을 크게 받지 않는 것으로 보인다(Table 1).

디스펜서가 장착된 꿀벌 벌통 내 온도 및 상대습도는

Table 1. The difference of temperature and relative humidity (RH) in the *Apis mellifera* hives and bee-vectoring dispensers

Measuring position	Temp. (mean ± SE, °C)	RH (mean ± SE, %)
Outside	16.8 ± 0.03c	75.3 ± 0.29a
Dispenser	29.3 ± 0.06b	72.9 ± 0.15b
Bee hive	30.8 ± 0.06a	66.1 ± 0.23c

The different letters indicate significant difference tested by Scheffe's test at $P=0.05$.

30.8°C와 66.1%였고, 디스펜서 내 온습도는 각 29.3°C와 72.9%였다.

2. 디스펜서 이용이 벌들의 행동에 미치는 영향

화분매개벌 비벡터링용으로 제작한 디스펜서를 서양뒤영벌 벌통과 꿀벌통의 출입구에 설치한 후, 각 시험종 화분매개벌들의 행동 변화를 관찰하였다. 디스펜서를 출입하는 벌들의 숫자를 오전 6시부터 오후 7시까지 시간당 10분 단위로 조사한 결과, 서양뒤영벌의 평균(mean \pm SE) 출입수는 7(\pm 1.1)개체였고, 양봉꿀벌의 출입수는 평균 91(\pm 19.6)개체였으며 동양종꿀벌의 출입수는 207(\pm 46.6)개체였다(Table 2). 양봉꿀벌은 사과 하우스 내 가장 먼 거리(70 m)의 사과나무 꽃에도 형광물질을 운반함을 확인하였다(Suppl. 1). 또한 이들 3종 화분매개벌들의 출입 빈도가 가장 높은 시간대는 오후 2시에서 4시 사이였고, 3종 화분매개벌들의 디스펜서 입구 및 출구를 찾아 정상적인 화분매개활동을 하는 데 소요되는 시간(일)은 서양뒤영벌이 0.5일로 가장 빠른 적응력을 보였고, 양봉꿀벌이 1일인 반면 동양종꿀벌은 3일 이상의 시간이 소요되었다. 각 화분매개벌들의 출입구 오류율은 1.7, 21.1 그리고 44.1%였다(Table 2).

일반적으로 먹이를 구하는 벌들의 행동은 이들의 명확한 행동들 중 하나로 이러한 행동은 꿀벌 봉군 및 주변 환경과 연관되어 있다. 그래서 봉군 내외의 다양한 요인들이 이러한 행동에 영향을 미치는데, 특히 봉군 내외의 다양한 요인들 중 습도나 온도가 중요한 영향을 미치는데, 건조한 환경에서는 일벌들이 오전 10시보다는 오전 8시에 더 많이 활동하면서 먹이 구하는 행동을 더 활발히 하였다(Alqarni, 2006). 또한 아일랜드 사과 과수원에서 꿀벌의 활동은 약 20°C에서 가장 높은 반면, 뒤영벌은 더 낮은 온도인 약 14°C에서 활발하게 활동하였다(Karbassioon *et al.*, 2023). 그리고 야외 양파 꽃에 일벌들이 가장 많이 방문하는 시간은 오전 11시부터 12시 사이

였으며(Yucel and Duman, 2005), 중국 사천성 남부 지역 도심지에서 겨울에 화분매개활동을 하는 지역 재래꿀벌 (*Apis cerana cerana*)의 최대 먹이활동 시간은 오후 2시부터 3시 사이였다(Chen *et al.*, 2016). 이와 비슷하게 본 연구에서 개발된 디스펜서를 이용하여 양봉꿀벌, 동양꿀벌 및 서양뒤영벌 등 3종 일벌들의 출입 빈도를 조사하면 오후 2시부터 4시 사이에 가장 활발한 활동을 보였다(Kim *et al.*, 2024). 한편, 아일랜드 유채(*Brassica napus* L.) 밭에서 양봉꿀벌과 서양뒤영벌의 활동을 비교해 보면, 양봉꿀벌은 오전 6시부터 10시 사이에 활동을 시작해서 오전 10시부터 오후 2시 사이에 최대의 활동을 보였고, 서양뒤영벌은 이른 아침에 활동을 시작해서 오전 6시부터 10시 사이에 최대의 활동을 보이다가 오전 10시부터 오후 6시까지 감소된 후 다시 저녁 시간인 오후 6시부터 오후 10시까지 증가하는 특징을 보였다(Karbassioon and Stanley, 2023). 그리고 양봉꿀벌 수컷들의 봄과 여름 시기에 가장 활발한 비행 활동을 보이는 시간은 오후 2시부터 6시 사이였다(Reyes *et al.*, 2019). 동양종꿀벌의 먹이활동은 주변 온도가 약 10°C일 때 오전 10시 무렵에 최대를 보인 반면, 양봉꿀벌은 주변 온도가 약 20°C일 때 오전 11:30분에 최대를 보였다. 이는 동양종꿀벌이 양봉꿀벌에 비해 더 이른 시간 및 더 낮은 온도에서 먹이활동을 한다는 것을 의미한다(Tan *et al.*, 2012). 결과적으로 화분매개벌을 이용하여 비벡터링 기술을 활용하기 위해서는 적용 대상 작물 중, 지역 환경 및 시기, 화분매개벌 종 등을 고려할 필요가 있다.

또한 양봉꿀벌과 재래꿀벌 20개체를 포획하여 개체당 미생물체의 운반량을 조사한 결과, 양봉꿀벌과 재래꿀벌 각각 3.6(\pm 0.59)과 1.2(\pm 0.32) mg으로 전자가 후자에 비해 약 3배 더 많은 운반량을 보여 통계적으로 유의한 차이(t-test, $P=0.0008$)를 나타냈다(Table 2). 이는 아마도 재래꿀벌이 양봉꿀벌에 비해 몸집이 더 작고 더 적은 봉군을 구성하여 둥지 속에서 생활하는 반면, 양봉꿀벌은 재

Table 2. Comparison of behavioral properties of three pollinators in beehives equipped with bee vectoring dispensers

Pollinator	Bee density in the beehives	No. of bee entry & exit (mean \pm SE)	Error rate for entrance (mean \pm SE, %)	Delivered amount per bee (mean \pm SE, mg)
<i>Bombus terrestris</i>	80	7 \pm 1.1b	1.7 \pm 1.2c	—
<i>Apis mellifera</i>	13,000	91 \pm 19.6b	21.1 \pm 6.5b	3.6 \pm 0.59**
<i>Apis cerana</i>	5,000	207 \pm 46.6a	44.1 \pm 3.0a	1.2 \pm 0.32

The different letters indicate significant difference tested by Scheffe's test at $P=0.05$.

**The delivery amount of microbial product per *A. mellifera* and *A. cerana* was significantly different at t-test ($P=0.01$).

래꿀벌에 비해 몸집도 더 크고 가슴과 배에 더 많은 수의 털을 갖고 있어 미생물체를 이러한 털들에 더 많이 운반했기 때문으로 보인다(Koetz, 2013; BeeAware, 2022). 양봉꿀벌의 털 길이와 몸 부속자들의 숫자 사이에 양의 상관관계가 있음이 알려졌고(Khan and Liu, 2022), 또한 벌이 날개와 안테나 기부에 묻은 먼지나 화분을 제거하고 몸의 털들을 재정렬하는 자가 청소행동(auto grooming behavior)의 차이도 미생물체 운반량에 영향을 미칠 수 있는 요인들이므로 향후 이에 대한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

3. 서양뒤영벌에 대한 미생물체의 영향 및 화상병 방제 효과

시험에 사용한 미생물체 (*B. subtilis* QST713와 *B. amyloliquefaciens* MBI600)들의 서양뒤영벌에 미치는 영향을 케이지 시험으로 조사하였다(Table 3). 서양뒤영벌에 대한 *B. subtilis* QST713와 *B. amyloliquefaciens* MBI600 제제의 사망률은 각 6%와 8%로 무처리구의 7%와 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($F_{2,9}=1.87$, $P>0.05$). 30분간 벌통 출입 횟수와 망실 내 활동 중인 벌의 수를 계수하여 조사한 활동량에서도 무처리구와 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($F_{2,9}=0.39$, $P>0.05$). 본 시험에서 나타난 미생물체의 서양뒤영벌에 대한 낮은 살충률은 기존에 보고된 6종(*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *B. subtilis* QST713, *B. subtilis* Y1336, *B. subtilis* KBC1010, *Simplicillium lamellicola* BCP, *Ampelomyces quisqualis* AQ94103)의 서양뒤영벌에 대한 살충 결과와 유사하였다(Park *et al.*,

2020).

사과 꽃에서 화상병의 발병도는 미생물체 *B. subtilis* QST713와 *B. amyloliquefaciens* MBI600의 처리구에서 각 35.8%와 84.2%로 후자의 경우는 무처리구 발병도인 88.7%와 차이를 보이지 않았다(Table 3). 이에 따른 과수 화상병에 대한 방제 효과는 각 61%와 6.9%로 일반적인 화학합성 살균제들의 방제력에 미치지 못함을 알 수 있었다. 따라서 비벡터링을 이용하여 과수 화상병을 화학합성제와 유사한 수준으로 방제하기 위해서는 비벡터링에 특화된 방제력이 우수한 적용 가능한 적합한 미생물의 선발과 이를 활용한 화분매개벌들이 운반할 수 있는 제제의 개발이 필요하다. 과수 화상병 방제 목적으로 상용화된 생물농약들에 주로 사용되고 있는 미생물들은 *Pseudomonas fluorescens* A506 (Blight Ban™ A506), *Pantoea vagans* (Blight Ban™ C9-1), *B. subtilis* QST713 (Serenade Optimum™), *B. amyloliquefaciens* D747 (Double Nickel™), *P. agglomerans* E325 (Bloomtime Biological™), *Aureobasidium pullulans* strains DSM 14940, DSM 14941 (Blossom Protect™) 등을 들 수 있다(Llontop *et al.*, 2020). 최근에 국내에서도 사과 화상병에 대한 생물적 방제원으로서 효모인 *Candida vartiovaarae* TAU-3이 신규한 균주로 알려졌다(Kim *et al.*, 2022).

이상의 결과를 통해 본 연구에서 개발하여 활용한 디스펜서들은 향후 화분매개벌을 이용하여 작물 수정을 실시하고 있는 시설 하우스나 노지 등의 곤충 화분매개 작물들에 적용하기 위한 진전된 연구가 필요하다. 특히 화분매개벌에는 영향을 주지 않고 식품 잔류의 문제가 발생하지 않는 비벡터링 전용 생물적 방제 제형의 개발은 앞으

Table 3. Incidence in flowers, control effect by bee vectoring management, number of bumble bees observed in dispenser entrance for 30 minutes, number of the bees found in screen cage and mortality of the bees exposed to *Bacillus subtilis* QST713 and *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600 products

Material	No. of entrance per 30 min		No. of bees found actively in screened cage	Bee mortality (mean ± SE, %)	Incidence in flowers (mean ± SE, %)	Control effect (mean ± SE, %) ^a
	In	Out				
<i>Bacillus subtilis</i> QST713	21 ± 2.4a	19 ± 3.8a	19 ± 3.2a	6 ± 2.4a	35.8 ± 11.4b	61 ± 11.3**
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MBI600	22 ± 0.9a	20 ± 1.8a	10.3 ± 1.5a	8 ± 1.4a	84.2 ± 7.9a	6.9 ± 6.2
Untreatment	20 ± 1.1a	21 ± 1.7a	12 ± 3.8a	7 ± 1.8a	88.7 ± 3.8a	—

The different letters indicate significant difference tested by Scheffe's test at $P=0.05$.

**The control effect of tested microbial products was significantly different at t-test ($P=0.01$).

^aDisease severity = [(No. of flower cluster class 1 × 1) + (No. of class 2 × 2) + (No. of class 3 × 3) + (No. of class 4 × 4) + (No. of class 5 × 5)] / (No. of total flower cluster × 5) × 100.

1, floral infection; 2, flowers and peduncle infected; 3, flowers and bourse infected; 4, floral cluster, bourse, spur and spur leaves infected; twig connected spur infected.

로 이 기술이 작물 보호 분야에서 보다 폭넓게 활용되기 위해 반드시 선제적으로 해결되어야 할 주제이다.

적 요

비벡터링 기술은 화분매개벌들을 이용해서 경제적인 작물들에 미생물제를 전달하는 작물보호의 새로운 개념이다. 이 연구는 개발된 디스펜서들을 이용하여 사과 화상병에 대해 스크린 케이지에서 방제 효과를 조사하기 위해 수행되었다. 디스펜서가 장착된 꿀벌 벌통 내 온도 및 습도는 30.8°C와 66.1%였고, 디스펜서 내 온습도는 각 29.3°C와 72.9%였다. 디스펜서를 통해 10분당 벌통으로 들어오는 서양뒤영벌, 양봉꿀벌, 재래꿀벌의 개체수는 각 7, 91, 207개체로 오후 2~4시 사이에 가장 높은 출입 빈도를 보였다. 양봉꿀벌은 시험 사과원에서 가장 먼 거리인 70 m까지 운반물질을 전달하였다. 디스펜서 출입구를 찾아 정상적인 화분매개활동을 하는 서양뒤영벌, 양봉꿀벌, 재래꿀벌의 오류율은 각 1.7, 21.1, 44.1%였다. 양봉꿀벌과 재래꿀벌 개체가 운반하는 미생물제 양은 3.6(±0.59)과 1.2(±0.32) mg으로 양봉꿀벌이 약 3배 더 많이 운반하였다. 사과원 내 케이지에 적용한 미생물제 (*B. subtilis* QST713, *B. amyloliquefaciens* MBI600)에 대한 서양뒤영벌의 살충률은 각 7%와 8%였고, 30분간 출입하는 벌 수 및 케이지 안에서 활동하는 벌들의 숫자는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 사과 꽃에서 화상병 발병률은 *B. subtilis* QST713 처리구에서 35.8%였고 *B. amyloliquefaciens* MBI600 처리구에서 84.2%로 이는 방제 효과가 61% 및 6.9%에 상응하는 결과를 보였다. 따라서 *B. subtilis* QST713는 화상병 방제용 비벡터링에 적합한 미생물제임을 알 수 있었다. 이러한 결과들을 바탕으로 개발된 디스펜서들을 하우스 및 노지에서 다양한 작물병 방제 목적으로 적용하는 시험을 향후 실시하려고 한다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 과수 화상병 등 현안문제병해충 피해경감기술개발 사업 “화분매개벌을 이용한 과수 화상병 방제기술 개발(RS-2021-RD009549)”에 의하여 수행되었다.

인용문헌

- Al-mazra'awi, M., L. Shipp, B. Broadbent and P. Kevan. 2006. Biological control of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) and *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) by *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) vectored *Beauveria bassiana* in greenhouse sweet pepper. *Biol. Cont.* 37(1): 89-97.
- Alqarni, A. S. 2006. Tolerance of summer temperature in imported and indigenous honeybee *Apis mellifera* L. Races in central Saudi Arabia. *Saudi J. Biol. Sci.* 13: 123-127.
- BeeAware. 2022. Asian honey bee *Apis cerana*. <https://beeaware.org.au/archive-pest/asian-honey-bee/>
- Chen, F. J., Q. Q. Yang, L. Long, H. M. Hu, B. Duan and W. N. Chen. 2016. Activity patterns and foraging behavior of *Apis cerana cerana* in the urban gardens in winter. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao.* 27(1): 275-281.
- Espinosa, S., J. Figueroa, P. G. Kevan, C. Baéz, V. Solarte, G. Smagghe and A. Sánchez. 2020. Advances in the implementation of apivectoring technology in Colombia: strawberry case (*Fragaria × ananassa*). In *entomovectoring for precision biocontrol and enhanced pollination of crops* (Smagghe, G., Boecking, O., Maccagnani, B., Mänd, M. and Kevan, P.G., eds). Springer Nature, Cham, Switzerland, pp. 201-237. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18917-4_12
- Fenner, K., S. Canonica, L. P. Wackett and M. Elsner. 2013. Evaluating pesticide degradation in the environment: blind spots and emerging opportunities. *Science* 341(6147): 752-758. <https://doi.org/10.1126/science.1236281>
- Hokkanen, H. M. T. and I. Menzler-Hokkanen. 2007. Use of honeybees in the biological control of plant diseases. *Entomol. Res.* 37(Suppl. 1): A62-A63. <https://online.library.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1748-5967.2007.00082.x> (accessed on 5 April 2022).
- Joshi, N. K., H. K. Ngugi and D. J. Biddinger. 2020. Bee Vectoring: Development of the Japanese orchard bee as a targeted delivery system of biological control agents for fire blight management. *Pathogens* 9(1): 41. <https://doi.org/10.3390/pathogens9010041>
- Kapongo, J. P., L. Shipp, P. Kevan and J. C. Sutton. 2008. Co-vectoring of *Beauveria bassiana* and *Clonostachys rosea* by bumble bees (*Bombus impatiens*) for control of insect pests and suppression of grey mould in greenhouse tomato and sweet pepper. *Biol. Control* 46(3): 508-514. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.05.008>
- Karbassioon, A. and D. A. Stanley. 2023. Exploring relationships between time of day and pollinator activity in the context of pesticide use. *Basic Appl. Ecol.* 72: 74-81.
- Karbassioon, A., J. M. Yearsley, T. Dirilgen, S. Hodge, J. C. Stout and D. A. Stanley. 2023. Responses in honeybee

- and bumblebee activity to changes in weather conditions. *Oecologia* 201: 689-701.
- Khan, K. A. and T. Liu. 2022. Morphological structure and distribution of hairiness on different body parts of *Apis mellifera* with an implication on pollination biology and a novel method to measure the hair length. *Insects* 13: 189-193. <https://doi.org/10.3390/insects13020189>
- Kim, N. H., J. H. Choi, M. L. Lee, H. W. Kwon and K. W. Kim. 2024. Characteristics of pollination activities by the western honeybee (*Apis mellifera*), the eastern honeybee (*Apis cerana*), and the buff-tailed bumblebee (*Bombus terrestris*) in an apple Blossoms (*Malus pumila* Mill.). 2014 (February). Poster session presented at 40th annual meeting of apicultural society of Korea with the international conference of COLOSS Asa 2024, Inchon, Republic of Korea.
- Kim, S., S. Oh, H. Jeong, J. S. Jeon, D. Kim, J. S. Kim, I.Y. Choi and J. Song. 2022. Screening and characterization of yeasts for biocontrol of fire blight on apple. *Kor. J. Pestic. Sci.* 26(4): 343-352. <https://doi.org/10.7585/kjps.2022.26.4.343>
- Kim, S. I. 2020. Dispenser apparatus for medium. Koran Patent no. 10-2264038. pp. 1-14. <http://kpat.kipris.or.kr/>
- Koetz, A. H. 2013. The Asian honey bee (*Apis cerana*) and its strains - with special focus on *Apis cerana* Java genotype. Literature review. Queensland government-Department of Agriculture, Fisheries and Forestry. <https://www.planthealthaustralia.com.au/wpcontent/uploads/2018/10/Asian-Honey-Bee-Literature-Review.pdf>
- Kovach, J., R. Petzoldt and G. E. Harman. 2000. Use of honey bees and bumble bees to disseminate *Trichoderma harzianum* 1295-22 to strawberries for *Botrytis* control. *Biol. Control* 18(3): 235-242. <https://doi.org/10.1006/bcon.2000.0839>
- Lee, K. Y., J. H. Lim, H. J. Yoon and H. J. Ko. 2018. Effect of climatic conditions on pollination behavior of honey bees (*Apis mellifera* L.) in the greenhouse cultivation of watermelon (*Citrullus lanatus* L.). *J. Apic.* 33(4): 239-250.
- Lee, Y. H., M. H. Lee, E. Roh and W. Lee. 2023. Effect of the registered control agents for fire blight on fire blight disease at flowering stage of apple in Korea. *Korean J. Pestic. Sci.* 27(4): 344-351.
- Llontop, M. E. M., K. Hurley, L. Tian, G. V. A. Bernal, H. K. Wildschutte, S. C. Marine, K. S. Yoder and B. A. Vinatzer. 2020. Exploring rain as source of biological control agents for fire blight on apple. *Front. Microbiol.* 11: 199. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00199>
- Park, H. H., J. J. Kim, K. H. Kim and S. G. Lee. 2013. Dissemination of *Bacillus subtilis* by using bee-vectoring technology in cherry tomato greenhouses. *Korean J. Appl. Entomol.* 52(4): 357-364.
- Park, H. H., K. H. Kim, J. J. Kim, S. G. Lee and K. M. Chon. 2020. Selection of microbial agents safe to bumble bee for bee-vectoring technology application. *Korean J. Pestic. Sci.* 24(2): 180-185. <https://doi.org/10.7585/kjps.2020.24.2.180>
- Peil, A., C. Hübert, A. Wensing, M. Horner, O. F. Emeriewen, K. Richter, T. Wöhner, D. Chagné, C. Orellana-Torres, M. Saeed, M. Troggo, E. Stefani, S. E. Gardiner, M.-V. Hanke, H. Flachowsky and V. G. M. Bus. 2019. Mapping of fire blight resistance in *Malus × robusta* 5 flowers following artificial inoculation. *BMC Plant Biol.* 19(532): 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2154-7>
- Peng, G., J. C. Sutton and P. G. Kevan. 1992. Effectiveness of honey bees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry growers to suppress *Botrytis cinerea*. *Can. J. Plant Pathol.* 14(2): 117-129. <https://doi.org/10.1080/07060669209500888>
- Reyes, M., D. Crauser, A. Prado and Y. L. Conte. 2019. Flight activity of honey bee (*Apis mellifera*) drones. *Apidologie* 50: 669-680. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00677-w>
- SAS Institute. 2014. SAS 9.13 program, 2nd ed. Cary: SAS Institute.
- Smagghe, G., V. Mommaerts, H. Hokkanen and I. Menzler-Hokkanen. 2012. Multitrophic interactions: the entomovector technology. pp. 127-157. in *Arthropod-plant interactions: novel insights and approaches for IPM*, eds. by Smagghe, G., I. Diaz. Springer, Dordrecht, the Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3873-7_5
- Tan, K., S. Yang, Z. W. Wang, S. E. Radloff and B. P. Oldroyd. 2012. Differences in foraging and broodnest temperature in the honey bees *Apis cerana* and *A. mellifera*. *Apidologie* 43(6): 618-623.
- Wael, L., M. Greef and O. Laere. 1990. The honeybee as a possible vector of *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et al. *Acta Hort.* 273: 107-114. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1990.273.14>
- Yucel, B. and I. Duman. 2005. Effects of foraging activity of honeybees (*Apis mellifera* L.) on onion (*Allium cepa*) seed production and quality. *Pak. J. Biol. Sci.* 8: 123-126.



Supplementary 1. The experimental phosphorescent powder (green particles on petals and stigma) delivered by *Apis mellifera* to apple flowers at 70 m in the greenhouse apple orchard was detected at 365 nm UV led light (Convoy S2, Dongguan Kangwoyi Electronic Co., Ltd, China).