

# 방울토마토 시설재배에서 비벡터링(bee-vectoring) 기술을 이용한 *Bacillus Subtilis* 포장내 전파

박흥현\* · 김정준<sup>1</sup> · 김광호 · 이상계

국립농업과학원 농산물안전성부 작물보호과, <sup>1</sup>국립농업과학원 농업생물부 농업미생물과

## Dissemination of *Bacillus Subtilis* by using Bee-vectoring Technology in Cherry Tomato Greenhouses

Hong-Hyun Park\*, Jeong Jun Kim<sup>1</sup>, Kwang-Ho Kim and Sang-Guei Lee

Crop Protection Division, Department of Crop Life Safety, National Academy of Agricultural Science, Suwon, 441-707, Republic of Korea

<sup>1</sup>Agricultural Microbiology Division, Department of Agricultural Biology, National Academy of Agricultural Science, Suwon, 441-853, Republic of Korea

**ABSTRACT:** Bee-vectoring is a new crop protection technology used for suppressing insect pests and diseases in crops by disseminating microbial agents into plants during bee pollination activities. In this study, we conducted bee-vectoring trials in cherry tomato greenhouses by using the bumble bee (*Bombus terrestris*), a microbial agent (*Bacillus subtilis*) and a new dispenser, and we measured the delivered quantity of microbial agent. Bacterial colony forming units (CFUs) in bees exiting a dispenser ranged from  $9.0 \times 10^5$  to  $1.9 \times 10^6$  per bee. At greenhouse trials in the National Academy of Agricultural Science (NAAS) trials, 3,300 - 8,500 CFUs per flower were counted and 80 - 100% of the flower samples contained detectable concentrations. There was no significant difference in CFU density between microbial replacement intervals (once a week vs twice a week) in the NAAS trials. In a commercial greenhouse trial, 1,800 - 2,400 CFUs per flower were found, and 83 - 93% of the flower samples contained detectable concentrations. CFUs detected in bee-vectored flowers increased by approximately 75 times before bee-vectoring. The mortality of bumble bees in the NAAS trials was, on average, 22% and little negative effects were observed on the bumble bee colonies. The yield difference for cherry tomatoes in the NAAS trials was not significant between treatments. When we select additional microbial agents that can be disseminated using this technology and create a detailed plan based on insect pests and disease incidence, we can apply this technology in greenhouses for growing tomatoes and strawberries in the near future.

**Key words:** Bee vectoring, *Bombus terrestris*, *Bacillus subtilis*, Cherry tomato

**초록:** 비벡터링은 벌이 수정활동을 하는 동안에 이들로 하여금 병해충 방제용 미생물 제제를 식물체에 전달하게 하여 생력적으로 병해충 발생을 억제시킬 수 있게 하는 새로운 작물보호 기술이다. 국립농업과학원 시험포장과 농가포장의 방울토마토 시설하우스에서 화분매개충인 뒤영벌(*Bombus terrestris*), 미생물제제인 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 그리고 자체 제작한 분배장치를 이용하여 비벡터링 시험을 수행하였고, 식물체에 전파된 미생물제제의 양과 비율을 측정하였다. 분배장치를 통과한 벌 총체에는  $9.0 \times 10^5 \sim 1.9 \times 10^6$ 의 세균이 검출되었다. 농과원 시험포장 방울토마토 꽃에서 측정된 세균수는 꽃당 2,600-8,600개였으며, 80-100%의 꽃에서 검출되었다. 미생물제제를 주 1회와 주 2회 교체한 경우 처리간에는 유의한 차이가 발견되지 않았다. 농가포장에서는 꽃당 1,800-2,400개를 83-93%의 꽃에서 검출할 수 있었고, 비벡터링시험전에 비해 세균수가 75배 증가되었다. 비벡터링 시험에 따른 벌 사망률은 22% 정도로 무처리구와 차이는 없었고, 따라서 미생물제제가 뒤영벌에 대한 부작용은 거의 없는 것으로 판단되었다. 비벡터링 기술 적용에 따른 방울토마토의 수확량은 무처리구와 비교해서 차이가 없었다. 앞으로 뒤영벌에 안전하면서 병해충에 대한 방제효과가 좋은 미생물 제제들을 선발하고, 병해충 발생에 따라 이 기술의 운용 전략 등을 세심하게 가다듬으면 화분매개곤충을 이용하는 토마토, 딸기 재배에서 이 기술의 실용화는 매우 가까이에 왔다고 볼 수 있다.

**검색어:** 비벡터링, 뒤영벌, 바실러스 서브틸리스, 방울토마토

\*Corresponding author: honghyunpark@korea.kr

Received August 13 2013; Revised October 16 2013

Accepted October 28 2013

비벡터링(Bee vectoring) 기술은 꿀벌이나 뒤영벌들이 모여 있는 벌통의 내부 또는 외부에 미생물제제를 담은 분배장치를 설치하여 벌들이 수분활동을 위해 벌통에서 외부로 빠져나갈 때 분배장치를 통과하여 기어 나가게 함으로써 몸에 미생물제제가 묻게 하고, 이를 수분활동을 하는 동안에 식물체의 꽃이나 잎 부위에 퍼트리 병해충 방제에 이용할 수 있도록 고안된 작물 보호 기술이다(Kevan et al., 2008; Mommaerts and Smagghe, 2011). 이 기술의 장점은 화분매개곤충들의 빈번한 방화활동을 이용하여 병해충 방제가 필요한 꽃이나 잎에 정확히 미생물제제를 운반함으로써, 수분활동에 의한 농작물 수량증대 및 품질향상의 이점과 더불어 병해충의 효과적인 방제를 위해 요구되는 미생물제제의 잦은 살포라는 단점을 보완할 수 있다(Sutton and Peng, 1993; Shipp et al., 1994; Kevan et al., 2008; Mommaerts and Smagghe, 2011). 북미, 유럽 등 외국에서는 약 20여년의 연구역사를 가지고 있으나, 국내에서는 본 논문에서 최초로 보고한다.

이 기술은 1990년대 초 캐나다 온타리오에서 꿀벌을 이용하여 미생물제제(*Clonostachys rosea*)를 매개하여 딸기의 잭팟곰팡이병(*Botrytis cinerea*)을 기존 살포방식과 유사한 수준으로 방제함으로써 이용가능성이 주목을 받기 시작했고, 나무딸기(raspberry)에서도 꿀벌과 뒤영벌(*Bombus impatiens*)을 이용하여 성공을 거두었다(Peng et al., 1992; Yu and Shutton, 1997). 2000년대 이후에는 시설재배에서 적용 가능성이 연구되었는데, 파프리카와 토마토의 해충인 온실가루이, 꽃노랑총채벌레, 복숭아혹진딧물 등의 방제를 위해 적합한 제형 개발 및 최적농도 구명, 기술적용에 따른 방제효과 등의 결과가 잇달아 보고되었고(Al-mazra'awi et al., 2006a, 2006b; Kapongo et al., 2008a), 해충 방제제(*Beauveria bassiana*)와 병 방제제(*Clonostachys rosea*)를 혼용하여 분배장치에 투입함으로써 해충과 식물병원균을 동시에 방제하는 기술까지 발전하였다(Kapongo et al., 2008b). 보다 최근에는 미생물제제의 운반효율을 제고할 수 있는 분배장치개발(Mommaerts et al., 2010a), 적용 가능한 제제 선발(Mommaerts et al., 2010b), 비벡터링 기술 적용시 전적들에 대한 영향(Shipp et al., 2012) 등이 연구되어 기술의 실용화에 성큼 다가서고 있다.

우리나라의 경우 시설재배에서 화분매개곤충으로 뒤영벌 사용이 많이 되고 있으며(Yoon et al., 2007; Yoon et al., 2008), 비벡터링에 적합한 수화제계통의 생물농약도 다수 등록이 되어있어(KCPA, 2011) 비벡터링 기술을 적용하여 병해충 방제를 하기에 매우 좋은 여건이 조성되어 있다. 기술 적용 시 여러 가지 요소들이 고려되어야 하지만(Kevan et al., 2008), 실용적으로 볼 때, 1) 활동력이 우수한 매개곤충, 2) 병해충 방제효과

가 좋고 매개곤충에 안전한 미생물제제, 그리고 3) 사용하기 편리한 분배장치가 성공적인 기술적용을 위해서는 갖추어져야할 핵심 3가지 요소라고 볼 수 있다(Park et al., 2011).

본 연구에서는 농업현장에서 기술적용이 성공적으로 수행되었을 때 친환경 안전농산물 생산에 많은 잠재성을 갖는 비벡터링 기술 적용을 위해 국내에서 제작한 분배장치, 시판중인 미생물 제제 및 뒤영벌 조합을 이용하여 이 기술의 적용 가능성을 평가하였다. 본 논문에서는 비벡터링에 따른 방울토마토에서 미생물제제의 운반량, 벌에 대한 영향, 수량조사결과에 대해 보고한다.

## 재료 및 방법

### 농과원 시험포장

2012년 5월 7일에 경기도 수원시 서둔동 소재 국립농업과학원 작물보호과 시험포장인 비닐하우스(N37°15.356 E126°59.106) 3개동(각 15.6 × 5.8 × 5 m, 90 m<sup>2</sup>)에 대추 방울토마토(미니찰, 농우바이오)의 30일 된 유묘를 재식거리 100 × 50 cm로 하여 하우스 당 4고랑씩 정식하였다. 5월 30일에 시판중인 뒤영벌(*Bombus terrestris*)을 (우리벌, 동부팜세레스)를 하우스당 1통씩 입식하였고, 비벡터링 처리구에는 Fig. 1과 같이 분배장치를 장착하였다. 시험에 사용된 분배장치는 Al-mazra'awi (2006a, 2006b)와 Kapongo et al. (2008a)가 사용한 장치를 모태로 했



Fig. 1. A commercial bumble bee hive with an inoculum dispenser attached to the front of the hive that was used in the cherry tomato greenhouse trials in 2012.

지만 출입구 부분을 크게 변경한 것으로 장치관련 핵심부분은 특히 출원중에 있다(출원번호 10-2011-0117155). 시험기간 동안에 강한 햇빛으로부터 벌통을 보호하기 위해 벌통 위에는 10 cm 두께의 스티로폼(50 × 50 cm)을 덮어 직사광선을 차단하였다. 시험포장에는 3개 처리를 두었는데, 분배장치를 설치하지 않고 벌통만 놓인 1개동의 무처리 하우스, 분배장치가 장착되어 있으면서 미생물제제를 주 1회 교체하는 하우스와 제제를 3~4일 간격으로 주 2회 교체하는 하우스로 구분하였다. 벌통 입식 다음날 무처리 하우스의 벌통 출입문을 열었고, 분배장치를 설치한 하우스에는 *Bacillus subtilis* QST713 수화제( $5.0 \times 10^9$  cfu/g, 에코스마트, 신영아그로) 6 g을 분배장치내 용기에 고르게 퍼지게 하여 채운 다음, 벌통 문을 열어서 뒤영벌이 밖으로 빠져나올 수 있도록 하였다. 식물체 관리는 3-4일 간격으로 높이를 조절하거나, 결가지 등을 제거하였고, 실험기간동안 일체의 약제 살포는 없었다.

방울토마토 수량조사는 2012년 7월 5일에 수행하였다. 각 처리구에서 제1화방, 2화방, 3화방으로 구분하여 수확하였다. 각 처리구에서는 25주씩 조사하였다.

## 농가포장

2012년 4월 10일에 경기도 안산시 양상동 소재(N37°20.755, E126°50.988) 비닐하우스(26 × 8.5 m, 221 m<sup>2</sup>)에 대추 방울토마토(지코레드)를 정식하였고, 5월 10일에 비닐하우스 안쪽 끝에 농과원 시험포장과 같은 분배장치를 Fig. 1과 같이 설치하여 운영하였다. 분배장치 내 용기에는 농과원 시험포장과 동일하게 *B. subtilis* QST713 수화제 6 g을 공급하면서 주 1회 교체하였다. 농가포장에서 해충 방제는 온실가루이좀벌, 굴파리좀벌 같은 천적을 이용하였고, 살균제 살포는 없었다.

## 미생물제제

실험에 사용한 *B. subtilis* QST713 수화제(에코스마트, 신영아그로)는 생물농약계통으로 고추, 오이, 딸기, 토마토에서 흰가루병, 잿빛곰팡이병, 잎곰팡이병 방제약제이다(KCPA, 2011). 제품농도측정을 위해 실험실에서 제품을 개봉하여 0.1 g을 3회 취하여 각 3반복씩을 플레이트를 하고, 24시간 후에 농도를 측정하였는데, 측정된 제제 평균농도는  $2.18 \times 10^{10} \pm 2.0 \times 10^9$ 로 나타났다.

## 세균 균총수 조사

토마토 꽃과 뒤영벌을 대상으로 세균 균총수(cfu) 조사를 하였다. 꽃의 경우에는 수거한 꽃을 멸균된 10 ml의 tween solution

(0.01%)이 들어있는 유리 바이엘에 한 개씩 넣고 125 rpm에서 2시간 교반한 후, 바이엘로부터 용액 100 μl 씩을 취하여 스프레더를 이용하여 NA배지 페트리디쉬(90 mm 직경)에 3반복씩 플레이팅하였다. 플레이팅이 끝난 후에는 페트리디쉬를 비닐백에 밀봉한 다음, 25°C 암조건에서 24시간 배양 후 배지위에 자란 세균 균총수를 육안으로 계수하였다. 뒤영벌의 경우에는 벌통에서 탈출하는 벌을 핀셋으로 채집하여 바이엘에 담아 실험실로 가져온 다음, 멸균된 100 ml의 tween solution (0.01%)이 들어있는 250 ml 삼각플라스크에 한 마리씩 넣고 125 rpm에서 2시간 교반한 후, 10배까지 희석하여, 원용액과 10배로 희석된 용액 각각에서 100 μl 씩을 취하여 NA배지 페트리디쉬(90 mm 직경)에 3반복씩 플레이팅하였다. 배양과 계수방법은 꽃에서와 같이 동일하게 하였다.

본 시험 전에 경기도 용인, 안산과 충남 부여 등지의 토마토 농가에서 토마토 꽃을 수차례 채집하여 꽃에서 세균수를 위와 같은 방법으로 조사하였다. 꽃을 채집할 시에는 신선한 꽃중에서 뒤영벌에 의해 수분활동이 이루어져 끝 부분이 갈변된 것만을 선택하였다. 본 시험에서 농과원 시험포장의 경우에는 각 처리구에서 꽃 20개씩, 총 5회에 걸쳐 채집하였다. 농가포장의 경우에는 분배장치 설치 전에 2회, 설치 후에는 30개씩 총 3회에 걸쳐 꽃을 채취하여 세균수를 조사하였다. 또한 농가 포장에서는 1회에 걸쳐 1번 열매, 3~4번 열매, 방화흔을 가진 갈변된 꽃을 각 15개씩 채취하여 세균수를 측정하였다.

벌 총체에서 세균수는 농과원 시험포장에서 6월 7일, 15일에 2회에 걸쳐 벌들을 채집하여 실내에서 계수하였다.

## 벌 사충율 조사

농과원 시험포장에서 벌 사충율은 벌통 문을 닫고 분배장치를 철거한 다음, 벌통을 실험실로 운반하여 살아있거나 죽은 여왕벌, 일벌수를 조사하였다. 벌통 조사에는 벌 뚜껑을 사방에 네 개의 원형 구멍을 가진 투명아크릴판으로 벌통의 플라스틱 뚜껑을 교체하였고, 핀셋을 이용하여 내부의 벌들을 채집하였다. 또한 실내를 어둡게 유지하고 적색 헤드랜턴을 켜고 조사함으로써 벌들이 활동하는 것을 최대한 억제시켰다. 농과원 시험포장에서는 2012년 7월 10일, 8월 14일, 9월 17일 3회에 걸쳐 수거하여 조사하여 각 처리별로 사충율을 구하였다. 농가포장은 6월 6일, 7월 16일에 2회에 걸쳐 수거하여 조사하였다.

## 자료 분석

벌, 꽃, 잎에서 검출한 *Bacillus* 균총수 자료는 통계 처리전에

자연로그 변환을 하였고, 벌의 사망률 자료는 역사인(arsine) 변환을 하였다. 처리간 자료의 분산 분석은 one-way Anova 이 용하였고, 자료의 평균간 비교는 Tukey 검정을 이용하였다 (Sigmaplot ver. 11.0).

## 결 과

Table 1은 벌통이나 분배장치를 빠져나오는 벌을 채집하여 이들의 총체에서 측정된 세균수로 분배장치가 없이 벌통만 있는 무처리구와 분배장치를 장착한 처리구간에 벌 총체의 세균 수는 큰 차이가 있었다( $F=87.081$ ,  $df=2,15$ ,  $P<0.001$ ). 그러나 미생물제제를 장착한 곳에서 채집된 벌 총체에서 주 1회 교체 시에 측정된 총체당 세균수는  $9.0 \times 10^5$ 였으며, 주 2회 교체 시에는  $1.9 \times 10^6$ 으로 측정되어, 제제 교체주기에 따른 차이는 유의 하지 않았다(Table 1). 이같은 검출 세균수는 제품의 1 g당 세균 수를 고려할 때 분배장치를 빠져나올시 제제를 총체당 평균 0.18~0.38 mg 정도를 몸에 묻혀서 나오는 것으로 계산되었다.

Table 2는 분배장치가 설치되지 않은 토마토 농가들에서 채 취한 꽃을 NA배지에 도말하여 검출한 세균수이다. 2012년 2월 부터 4월까지 방울토마토 및 완숙토마토 포장들에서 채집된 꽃 의 50% 이하에서 세균들이 검출되었고, 평균 세균수는 50개 미 만이었으며, 농가 포장들간에 세균수에서 유의한 차이는 없었 다 ( $F=0.135$ ,  $df=2, 29$ ,  $P=0.874$ ). 이 같은 값은 토마토 꽃에서 선택배지가 아닌 일반배지인 NA 배지를 사용할 경우 검출될 수 있는 평균 세균수로 볼 수 있다.

Table 3은 농과원 시험포장에서 비벡터링 시험을 하면서 시 기별로 채집한 방울토마토 꽃에서 검출된 세균수이다. 총 5회에 걸쳐 꽃을 채집하여 꽃에서 측정된 세균수와 세균을 가진 꽃의 비율(%)은, 미생물제제를 주 1회 교체시에는 3,300~8,500개가

**Table 1.** Mean ( $\pm$ SE) number of bacterial colony forming units (CFUs) detected in bumblebees exiting a bee hive or dispensers containing *Bacillus subtilis* at the NAAS tomato greenhouses in 2012

Treatment	N	CFU/bee
Control greenhouse	6	388.9 $\pm$ 388.9a*
Bee-vectoring greenhouse 1	6	$9.0 \times 10^5 \pm 2. \times 10^5$ b
Bee-vectoring greenhouse 2	6	$1.9 \times 10^6 \pm 4.8 \times 10^5$ b

Control greenhouse : bee hive only, Bee-vectoring greenhouse 1 : Bee hive + Dispenser with microbial replacement once a week, Bee-vectoring greenhouse 2: Bee hive + Dispenser with microbial replacement twice a week

N : number of samples.

\*Within a column, means followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

**Table 2.** Mean ( $\pm$ SE) number of bacterial colony forming units (CFUs) detected in flowers at commercial tomato greenhouses in 2012

Dates	Location	varieties	N	CFU/flower	% of samples with CFU
22 Feb. 13 Apr.	Namsa-myeon, Youngin-si, Gyeonggi-do	Tomato	10	46.7 $\pm$ 21.8a*	50.0
8 Mar. 27 Mar.	Palgok-dong, Ansan-si, Gyeonggi-do	Cherry tomato	10	46.7 $\pm$ 35.9a	40.0
28 Feb. 6 Apr.	Jangam-myeon, Buyeo-gun, Chungcheongn am-do	Tomato	15	31.1 $\pm$ 13.6a	46.7

N : number of samples.

\*Within a column, means followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

**Table 3.** Mean ( $\pm$ SE) number of bacterial colony forming units (CFUs) detected in flowers and the percentage of samples showing detectable CFUs at the NAAS cherry tomato greenhouses in 2012

Treatment	Date		June 6		June 13		June 20		June 27		July 4	
	CFU/flower	%	CFU/flower	%	CFU/flower	%	CFU/flower	%	CFU/flower	%	CFU/flower	%
Control greenhouse	20.0 $\pm$ 8.9a*	40.0	131.7 $\pm$ 178.3a	20.0	10.0 $\pm$ 8.5a	25.0	68.3 $\pm$ 38.0a	55.0	30.0 $\pm$ 13.8a	55.0		
Bee-vectoring greenhouse 1	8,530.0 $\pm$ 2,606.4b	80.0	3,361.7 $\pm$ 1,548.7b	95.0	3,308.3 $\pm$ 1,646.5b	100.0	6131.7 $\pm$ 2278.2b	100.0	6131.7 $\pm$ 2278.2b	100.0		
Bee-vectoring greenhouse 2	8656.7 $\pm$ 1,427.7b	100.0	2,770.0 $\pm$ 924.0b	100.0	2,576.7 $\pm$ 919.7b	95.0	3823.3 $\pm$ 1268.1b	100.0	4895.0 $\pm$ 1429.4b	95.0		

Control greenhouse : bee hive only, Bee-vectoring greenhouse 1 : Bee hive + Dispenser with microbial replacement once a week, Bee-vectoring greenhouse 2 : Bee hive + Dispenser with microbial replacement twice a week

\*Within a column, means followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

80~100% 꽃에서 검출되었고, 주 2회 교체시에는 2,600~8,600가 95~100%의 꽃에서 검출되었다. 무처리구의 꽃에서도 세균들이 검출은 되었으나, 밀도와 검출비율은 크게 낮았고 처리구들과는 현저하게 차이가 있었다(6월 6일  $F=46.247$ ,  $df=2,57$ ,  $P<0.001$ ; 6월 13일  $F=41.319$ ,  $df=2,57$ ,  $P<0.001$ ; 6월

20일  $F=52.202$ ,  $df=2,57$ ,  $P<0.001$ ; 6월 27일  $F=25.642$ ,  $df=2,57$ ,  $P<0.001$ ; 7월 4일  $F=58.008$ ,  $df=2,57$ ,  $P<0.001$ ). 반면 처리구들에서는 뚜렷하게 높은 농도가 검출되었는데, 채집시기에 따라 약간의 변이는 있었다. 그러나 제제를 주 1회 또는 주 2회 교체한 처리구간의 꽃에서 검출된 세균수 차이는 유의하지 않았다(Table 3).

**Table 4.** Mean ( $\pm$ SE) number of bacterial colony forming units (CFUs) detected in flowers and the percentage of samples showing detectable CFUs at a commercial cherry tomato greenhouse in 2012

Sampling date	N	CFU/flower	% of samples with CFU
May 3 & 10	18	83.3 $\pm$ 26.0a*	50.0
June 14	30	2,381.1 $\pm$ 774.2b	86.7
June 19	30	1,798.9 $\pm$ 1,425.3b	83.3
July 3	30	2,080.0 $\pm$ 894.6b	93.3

May 3 & 10 : unexposed to *Bacillus subtilis*, June 14~July 3 : exposed to *Bacillus subtilis* by bee-vectoring application.

N : number of samples.

\*Within a column, means followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

**Table 5.** Mortality (mean  $\pm$  SE) of *Bombus terrestris* exposed to different treatment of *Bacillus subtilis* at NAAS and a commercial cherry tomato greenhouse in 2012

Location	N	Mortality(%)
Control greenhouse	6	22.9 $\pm$ 7.9a*
Bee-vectoring greenhouse 1	6	22.7 $\pm$ 4.7a
Bee-vectoring greenhouse 2	6	21.6 $\pm$ 3.9a
Commerical greenhouse 1st trial	1	42.9
Commerical greenhouse 2nd trial	1	9.3

N : number of samples.

\*Within a column, means followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

Table 4는 2012년 비벡터링 시험 농가포장에서 채취한 방울 토마토 꽃에서 측정된 세균수이다. 비벡터링 시험이 실시전인 5월초에 2회 채집한 결과, 꽃에서 83개 정도 발견되어 비벡터링을 실시하지 않았던 Table 2의 농가 포장들과 유사한 값을 보였다. 분배장치를 설치한 결과, 꽃에서 1,800~2,400개, 83~93%의 꽃에서 세균을 검출할 수 있었다. 비벡터링 전과 후의 꽃에서 발견된 세균수는 유의하게 차이가 있었고 시기별로 유사한 값들을 가졌다( $F=6.637$ ,  $df=3,104$ ,  $P<0.001$ ). 분배장치 설치로 세균수는 설치이전에 비해 75배 증가하는 효과가 있었다(Table 4).

Table 5는 농과원 시험포장에서 조사된 비벡터링을 실시하고 조사한 뒤영벌 사충율이다. 농과원 시험포장에서 연속 3회에 걸쳐 조사된 벌 사충율은 22%로 무처리구와 비벡터링 처리구간에는 유의한 차이는 없었다( $F=0.0162$ ,  $df=2,6$ ,  $P=0.984$ ). 이는 비벡터링 시험에 이용한 미생물제제에 의한 뒤영벌에 대한 부작용은 거의 없다는 것을 보여준다. 한편, 농가포장에서 2회에 걸쳐서 조사된 벌 사충율은 1차시기에는 42.9%, 2차시기에는 9.3%으로 1차시기에 사망률이 높게 나타났는데, 1차 시기에 다소 높은 사망률에도 불구하고 벌통내부에서는 유충이 발육하고 있어서 비벡터링에 따른 부정적인 영향은 크게 있었다고는 볼 수 없었고, 2차 조사에서는 사충율이 아주 낮게 나왔다(Table 5).

농과원 시험포장에서 조사한 방울토마토 수량조사는 Table 6와 같다. 과실 개수에서는 1화방( $F=1.612$ ,  $df=2,72$ ,  $P=0.207$ ), 2화방( $F=1.545$ ,  $df=2,72$ ,  $P=0.220$ )에는 처리가 차이가 없었으

**Table 6.** Fruit number and yield (mean  $\pm$  SE) of cherry tomatoes in the bee-vectoring experiment at NAAS cherry tomato greenhouses in 2012

Treatment	Number of fruits			Fruit yield (g)		
	Flower cluster			Flower cluster		
	1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd
Control greenhouse	16.6 $\pm$ 0.4a*	15.2 $\pm$ 0.5a	14.4 $\pm$ 0.6ab	280.8 $\pm$ 6.6a	205.2 $\pm$ 8.1a	147.2 $\pm$ 7.1ab
Bee-vectoring greenhouse 1	15.6 $\pm$ 0.5a	15.4 $\pm$ 0.3a	14.3 $\pm$ 0.6a	248.4 $\pm$ 7.7b	184.8 $\pm$ 6.8a	128.0 $\pm$ 6.1a
Bee-vectoring greenhouse 2	17.0 $\pm$ 0.7a	16.3 $\pm$ 0.6a	16.2 $\pm$ 0.5b	271.2 $\pm$ 9.6ab	207.2 $\pm$ 10.0a	157.2 $\pm$ 7.4b

Control greenhouse : bee hive only, Bee-vectoring greenhouse 1 : Bee hive + Dispenser with microbial replacement once a week, Bee-vectoring greenhouse 2 : Bee hive + Dispenser with microbial replacement twice a week

\*Within a column, means followed by different letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

나, 3화방에서는 처리간( $F=3.725$ ,  $df=2,72$ ,  $P=0.029$ )에는 비벡터링 하우스간에 차이가 있었다. 과실 무게에서는 1화방에서 무처리하우스와 비벡터링 하우스 간에 차이가 있었고( $F=4.071$ ,  $df=2,72$ ,  $P=0.021$ ), 2화방에서는 처리가 차이가 없었으며( $F=2.175$ ,  $df=2,72$ ,  $P=0.121$ ), 3화방에서는 비벡터링 하우스간에 차이가 있었다( $F=4.685$ ,  $df=2,72$ ,  $P=0.012$ ). 요약하면, 비벡터링 수행에 따라 과실 개수와 수량에서 무처리구와 비벡터링구간에 차이는 없었다.

## 고찰

벌에 의한 화분매개는 이미 오래전부터 시설재배에서 채택되고 있는 표준화된 수정방법(Kevan et al., 1991; Morandin et al., 2001)으로, 과실무게, 크기, 종자 무게, 상품과 수량, 수확시기를 앞당기는 이점이 있다(Shipp et al., 1994; Serrano and Guerra-Sanz, 2006; Dimou et al., 2008). 비벡터링 기술은 벌의 수정활동 기능에 상충되지 않는 범위에서 병해충 방제를 위해 수정 활동중인 벌에 안전한 미생물제제를 매개하게 하여 식물체에 전달되도록 하는 것으로 기존의 병해충 방제 시스템보다 약제 살포횟수를 줄일 수 있는 장점과 친환경적인 방제제를 사용함으로써 천적을 활용한 시스템과 호환도 가능하다(Kevan et al., 2008; Mommaerts and Smagghe, 2011; Shipp et al., 2012). 이 기술에 의해 뒤영벌에 의해 꽃이나 잎에 운반된 미생물제제에 의해 토마토, 파프리카, 딸기의 시설 병해충 방제효과는 상당한 수준에 달했다고 보고되고 있다(Kapongo et al., 2008a; Mommaerts et al., 2011). 우리나라도 시설재배에서 화분매개곤충으로 뒤영벌 생산기술 및 활용이 크게 증가하고 있어(Yoon et al., 2007), 비벡터링 기술을 적용하기에 기술적으로 산업적으로 매우 좋은 상황에 놓여있다.

우수한 화분매개충 생산, 공급과 더불어 중요한 것은 효과적인 분배장치이다. 비벡터링 기술적용을 위해 벌통에 인위적인 분배장치를 장착하는 것은 벌들이 정상적으로 벌통을 출입하는데 영향을 줄 수 있다. 따라서 벌들의 행동에 영향이 덜 미치면서 충분한 양의 제제를 운반하기에 적합하도록 분배장치가 개발되어왔는데, Yu and Sutton (1997) 분배장치를 필두로 하여 지금까지 몇 개의 창의적인 분배장치들이 개발되었다(Mommaerts and Smagghe, 2011). 이들 뒤영벌용 분배장치들은 벌이 장치를 통과하여 나오는 출구와 다시 벌통으로 돌아가는 입구가 동일한지 또는 분리되었는지 따라 크게 one-way형과 two-way형 그리고 벌통에서 장치의 장착위치에 따라 외부형과 내부형으로 구분해 볼 수 있다. 본 연구에서 사용한 분배장치는 출구와 입구가 분리된 two-way형이고, 외부 장착형이며, 상용 벌통에

직접 장착될 수 있도록 고안되었다(Fig. 1). Fig. 1의 분배장치를 설치 한 후 벌들의 행동을 관찰한 결과, 벌들이 출구에서 나온 다음, 다시 벌통으로 되돌아갈 때 일부 벌들이 출구 부분으로 들어갈려는 시도는 있었지만, 일정 시간이 경과된 후에는 대부분의 벌들이 노란색 표식의 입구를 통해서 벌통으로 되돌아갔다. 농과원 시험포장에서 행동을 녹화한 결과, 30분간 분배장치를 빠져나간 수는 5.8마리, 들어간 수는 4.8마리였다(Park, H.-H., personal observation).

또한 분배장치를 설치, 운영한 결과 농과원 시험포장에서 무처리구와 비벡터링 처리구에는 차이가 없었고(Table 6), 농가포장에서도 방울토마토 착과율 및 상품과율은 Yoon et al. (2007)의 보고와도 유사하여 본 연구에서 분배장치 설치로 인한 과실 생산에서 부작용은 전혀 없었다고 판단된다. 그렇지만, 분배장치 개발시 또는 포장에서 운영시 분배장치 설치로 인한 벌의 행동, 활동량에 대한 정밀한 평가를 위해서는 Kevan et al. (2009)이 이용한 무인 계수기 장치를 도입하여 설치 전후의 벌의 행동을 비교 분석하는 것도 필요하다고 생각된다.

본 연구에서 미생물제제인 *B. subtilis*를 검출하기 위해 반선택배지를 사용하지 않고(Turner and Backman, 1991), 일반배지인 NA 배지를 사용함으로써 일반 세균까지 검출되었지만, 비벡터링 기술이 적용될 시 그 차이는 분명하게 드러났다. *B. subtilis* 제제가 담긴 분배장치를 빠져나온 뒤영벌 총체에서 검출된 세균수는 총체당  $10^5 \sim 10^6$  수준으로 이같은 값은 Kapongo et al. (2008a, 2008b)의 연구에서 보고된 *Beauveria* 농도와 유사한 범위의 값들이었다. 벌 총체에 묻는 제제의 양에 관여될 수 있는 요소들로는 분배장치 구조(Mommaerts et al., 2010a), 장착되는 제제농도(Kapongo et al., 2008a), 벌의 종류 및 제제 입자의 크기(Al-mazra'awi et al., 2007) 등이 보고되고 있다.

뒤영벌은 200 m 이상을 비행할 수 있다고 알려져 있으며(Loose et al., 2005), 이같은 비행능력을 고려하면 작물 재배 하우스내에서 상당한 범위까지 수분활동을 하면서 제제를 분산시킬 수 있을 것으로 여겨진다. 본 연구에서 거의 대부분의 꽃들에서 제제가 검출되어 비율이 매우 높았고(Table 3), 이같은 검출비율은 망사케이지( $5.2 \times 2.4 \times 2.2$  m,  $12.4$  m<sup>2</sup>)내 꽃의 개수가 얼마 되지 않는 완숙토마토 재배조건(Kapongo et al., 2008a, 2008b)과 비교해도 결코 뒤떨어지지 않았다. 본 연구의 농과원 시험포장이 이들보다 7배 더 넓고, 방울토마토가 훨씬 많은 꽃을 가졌음에도 불구하고 미생물제제의 전달은 매우 잘 되고 있다는 것을 보여준다. 한편, 꽃에서 계수된 제제 농도는 공간의 크기에 영향을 받았던 것으로 보인다. Kapongo et al. (2008a) 및 Shipp et al. (2012) 조건에서 평균적으로 꽃당  $10^4$  개가 관찰되었는데, 본 연구에서는 꽃당 수천 개에 달했고, 더

넓은 농가포장에서는 2천개 수준으로 포장면적이 넓을수록 꽃당 검출되는 제제의 세균수는 줄어드는 것으로 보였다. 본 연구에서는 또한 제제 교체주기와 관련해서 주 1회, 2회로 나누어서 검정하였는데, 모두 유사하게 나타나 큰 차이를 보이지는 않았다. 그러나, 비벡터링에서는 분배장치내에 공급하는 제제가 수화제 형태로 분말상태의 제제를 사용하기 때문에 제제가 공기중에 노출됨으로써 습해지거나 분배장치를 통과하는 뒤영벌의 배설 등에 의해서 굳어져서 벌 층체에 묻는 양이 적어질 수 있어 시설내 습도가 높은 계절에는 일주일 2회 정도는 분배장치내 제제상태를 확인하고 교체하는 것이 효과적일 수 있으리라 여겨진다. 본 연구는 그간 망사케이지 조건에서 시도된 비벡터링시의 뒤영벌 제제 운반능력이 시험포장 및 농가포장에서 성공적으로 검증이 되었다는데 의의를 찾을 수 있고, 꽃당 적정 제제수를 확보하는 문제는 분배장치에 운용방법에 대한 추가 연구가 필요하다고 사료된다.

비벡터링에 사용하는 미생물제제의 선결조건은 병해충 방제효과도 우수해야 되지만, 매개자인 벌에 대한 독성 및 부작용이 없거나 낮아야 사용이 가능하다(Kevan et al., 2008; Mommaerts et al., 2011). Kapongo et al. (2008a, 2008b)가 사용했던 *B. bassiana* 는 가루이, 총채벌레, 진딧물 같은 시설해충방제에 우수하지만, 제품농도상태에서 비벡터링에 이용할 시에는 70%가 넘는 벌들이 사망하여 높은 독성을 나타내 이들은 최적농도 구멍 연구를 통해 옥수수 분말과 섞어서 이용하여 안전한 제제를 확보하였다. 최근 Mommaerts et al. (2010b)는 7가지 미생물 제제에 대해 뒤영벌에 대한 접촉독성과 경구독성(설탕물과 꽃가루에 희석)을 시험을 통해 뒤영벌에 대한 영향을 평가하였는데, 본 연구에서 사용한 *B. subtilis*, 그리고 Kapongo et al. (2008a)의 *B. bassiana*가 다른 제제에 비해 접촉독성과 설탕물에 섞어서 투여한 경구독성시험에서 높은 사망률을 나타냈다고 보고하였다. 한편, 같은 시험에서 꽃가루 공급시에는 이들 제품들의 독성이 낮은 것으로 보고하여 이들 제제의 위험성과 측정방법에 따라 독성결과가 달라짐을 보여주었다. 본 연구에서 뒤영벌은 *B. subtilis* 수화제에 5주간 노출되었는데, 농과원 시험포장에서 기록된 22% 사망률은 IOBC (International Organisation for Biological Control of Noxious Animals and Plants) 기준으로 볼 때 1등급으로(25%미만 사충률) 독성이 없는 것으로 판단되는 수준이다. 한편 농가포장에서는 1회 시험에 한해 43% 사충율을 기록하여 IOBC 2등급으로 약한 독성을 보였고, 2회 시험에서는 독성이 없는 것으로 나타나(Table 5), 실내에서 Mommaerts et al. (2010b)의 접촉독성 평가법등으로는 실제 비벡터링에 따른 뒤영벌에 대한 영향을 평가하기에는 부족하다고 판단된다. 한편, 본 연구에서 농가포장 운용시 독성이 있게 나타났으므로

비벡터링 수행시 벌통 관리에 세심한 주의가 요구된다고 볼 수 있다.

본 연구에서 증명할 수 없었던 것은 비벡터링 기술적용에 따른 병해충 방제효과인데, 이는 후속연구들에서 지속적으로 보완되어야 할 것이다. 지금까지 연구결과로 볼 때 병해충에 대한 방제효과가 좋은 미생물제제들을 추가로 선발하고, 농가에서 이 기술의 운용 전략 등을 세심하게 가다듬으면 화분매개곤충을 이용하는 토마토, 딸기 재배에서 병해충 방제를 위한 이 기술의 실용화는 매우 가까이에 왔다고 볼 수 있다.

## 사 사

본 연구는 농촌진흥청 기관고유사업 “해충 방제를 위한 곤충병원균 산업화 연구”(과제번호: PJ006848호)의 지원에 의하여 연구가 수행되었으며, 시료 처리에 도움을 주신 김지현님, 서영호님, 포장시험에 협조해주신 이현남님께 감사를 드립니다.

## Literature Cited

- Al-mazra'awi, M., Shipp, J.L., Broadbent, B., P. Kevan, P., 2006a. 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. Control* 37, 89-97.
- Al-mazra'awi, M.S., Shipp, L., Broadbent, B., Kevan, P., 2006b. Dissemination of *Beauveria bassiana* by honey bees (Hymenoptera: Apidae) for control of tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) on canola. *Environ. Entomol.* 35, 1569-1577.
- Al-mazra'awi, M.S., Kevan, P.G., Shipp, L., 2007. Development of *Beauveria bassiana* dry formulation for vectoring by honey bees *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to the flowers of crops pest control. *Biocontrol Sci. Techn.* 17, 733-741.
- Dimou, M., Taraza, S., Thrasyvoulou, A., Vasilakakis, M., 2008. Effect of bumble bee pollination on greenhouse strawberry production. *J. Apicult. Res.* 47, 99-101.
- Kapongo, J.P., Shipp, L., Kevan, P., Broadbent, B., 2008a. Optimal concentration of *Beauveria bassiana* vectored by bumble bees in relation to pest and bee mortality in greenhouse tomato and sweet pepper. *BioControl* 53, 797-812.
- Kapongo, J.P., Shipp, L., Kevan, P., Sutton, J.C., 2008b. 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, 508-514.
- Kevan, P.G., Straver, W.A., Offer, M., and Laverty, T.M., 1991. Pollination of greenhouse tomatoes by bumble bees in Ontario.

- Proc. Ent. Soc. Ontario 122, 15-19.
- Kevan, P.G., Kapongo, J.P., Al-mazra'awi, M., Shipp, L., 2008. Honey bees, bumble bees, and biocontrol. In: James, R.R., Pitts-Singer, T.L. (Eds.), *Bee pollination in agricultural ecosystems*. Oxford university press. pp. 65-79.
- Kevan, P.G., Cooper, E., Morse, A., Kapongo, J.P., Shipp, L., Kholsa, S., 2009. Measuring foraging activity in bumblebee nests: a simple nest-entrance trip recorder. *J. Appl. Entomol.* 133, 222-228.
- Korea Crop Protection Association (KCPA), 2011. *Agro-Pesticide user guide*. SamJung Press. 1311pp.
- Loose, J.L., Drummond, F.A., Stubbs, C., Woods, S., Hoffmann, S., 2005. Conservation and management of native bees in cranberry. *Maine agricultural and forest experimental station technical bulletin # 191*, University of Maine, Orono, ME.
- Mommaerts, V., Put, K., Vandeven, J., Jans, K., Sterk, G., Hoffman, L., Smagghe, G., 2010a. Development of a new dispenser for microbiological control agents and evaluation of dissemination by bumblebees in greenhouse strawberries. *Pest Manag. Sci.* 66, 1199-1207.
- Mommaerts, V., Sterk, G., Hoffmann, L., Smagghe, G., 2010b. A laboratory evaluation to determine the compatibility of microbiological control agents with the pollinator *Bombus terrestris*. *Pest Manag. Sci.* 65, 949-955.
- Mommaerts, V., Put, K., Smagghe, G., 2011. *Bombus terrestris* as pollinator and vector to suppress *Botrytis cinerea* in greenhouse strawberry. *Pest Manag. Sci.* 67, 1069-1075.
- Mommaerts, V., Smagghe, G., 2011. Entomovectoring in plant protection. *Arthropod-Plant Inte.* 5, 81-95.
- Morandin, L.A., Laverty, T.M., Kevan, P.G., Khosla, S., Shipp, L., 2001. Bumble bee (Hymenoptera: Apidae) activity and loss in commercial tomato greenhouses. *Can. Entomol.* 133, 883-893.
- Park, H.H., Kim, J.J., Mustafa, G., Shipp, L., 2011. Crop protection using entomopathogenic microbials and bee-vectoring technology in Korea. *Proceedings of Korean Applied Entomology for 2011 fall meeting*. p 3.
- Peng, G., Sutton, J.C., Kevan, P.G., 1992. Effectiveness of honeybees for applying the biocontrol agent *Gliocladium rosea* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. *Can. J. Plant Pathol.* 14, 117-129.
- Serrano, A.R., Guerra-Sanz, J.M., 2006. Quality fruit improvement in sweet pepper culture by bumblebee pollination. *Sci. Hortic.* 110, 160-166.
- Shipp, J.L., Whitfield, G.H., Papadopoulos, A.P., 1994. Effectiveness of the bumble bee, *Bombus impatiens* Cresson (Hymenoptera: Apidae), as a pollinator of greenhouse sweet pepper. *Sci. Hortic.* 57, 29-39.
- Shipp, L., Kapongo, J.P., Park, H.H., Kevan, P., 2012. Effect of bee-vectored *Beauveria bassiana* on greenhouse beneficials under greenhouse cage conditions. *Biol. Control* 63, 135-142.
- Sutton, J.C., Peng, G., 1993. Manipulation and vectoring of biocontrol organisms to manage foliage and fruit disease in cropping systems. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31, 473-493.
- Turner, J.T., Backman, P.A., 1991. Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. *Plant Dis.* 75, 347-353.
- Yoon, H.J., Kim, M.A., Lee, S.B., Han, S.M., Kim, W.T., 2007. Understanding bumblebees. National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Rep. of Korea. 76pp.
- Yoon, H.J., Kim, J.Y., Lee, K.Y., Lee, S.B., Park, I.G., Noh, S.K., 2008. Comparison of the colony development of the bumblebees, *Bombus terrestris* produced from domestic and foreign bumblebees companies. *Korean J. Appl. Entomol.* 47, 95-100.
- Yu, H., Sutton, J.C., 1997. Effectiveness of bumblebees and honeybees for delivering inoculum of *Gliocladium roseum* to raspberry flowers to control *Botrytis cinerea*. *Biol. Control* 10, 113-122.