

< Short Communication >

## 천안·아산지역 양봉농가 꿀벌질병 감염률 조사

전동민\* · 김선희 · 육심용 · 염남희 · 도진영 · 송서영 · 허은진 · 신창호

충청남도가축위생연구소 아산지소

### Prevalence of honeybee (*Apis mellifera*) disease in Cheonan-Asan areas, Korea

Dong-Min Jeon\*, Sun-Hee Kim, Sim-Yong Yook, Nam-Hee Yeom,  
Jin-Young Do, Seo-Young Song, Eun-Jin Heo, Chang-Ho Sin

Asan Branch of the Chungnam Veterinary Research Institute, Asan 336-855, Korea

(Received 11 March 2013; revised 13 May 2013; accepted 21 May 2013)

#### Abstract

This study was carried out to investigate the prevalence of honeybee (*Apis mellifera*) disease in cheonan and asan area. From September to November in 2012, 33 samples were collected from 33 apiculture farms in the regions and reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and polymerase chain reaction (PCR) was conducted. Among 33 samples, prevalence rate was 42% in Sac Brood Virus (SBV), 52% in Nosema, 21% in American foulbrood (AFB), 70% in European foulbrood (EFB), 97% in Stonebrood, 3% in Chalkbrood. The result indicate that stonebrood was most prevalent disease in apiculture farms in cheonan and asan area.

**Key words :** Honeybee, *Apis mellifera*, SBV (sacbrood virus), AFB (american foulbrood), EFB (european foulbrood)

## 서 론

꿀벌은 다양한 식물자원의 수분에 중요한 역할을 하며 벌꿀과 로얄제리, 프로폴리스 등의 생산으로 농가소득을 증대시킬 수 있는 산업가축으로도 유용한 곤충이다. 최근 국내에서도 꿀벌에 대한 활발한 연구와 더불어 양봉산업에 대한 가능성의 영역을 넓혀가고 있는 가운데 2010년 국내 발생하여 토봉 및 양봉농가에 많은 피해를 발생시켰던 낭충봉아부패병(SBV)을 비롯하여 여러 종의 바이러스, 세균, 원충 및 진균성 질병의 발생이 증가하고 있는 추세이다. 양봉농가에서 문제시 되는 바이러스성 질병의 원인체로는 낭충봉아부패병바이러스(SBV, sacbrood virus), 날개불구병바이러스(DWV, deformed wing virus),

여왕벌흑색병바이러스(BQCV, black queen cell virus), 급성꿀벌마비증바이러스(ABPV, acute bee paralysis virus), 만성꿀벌마비증바이러스(CBPV, chronic bee paralysis virus), 케시미어병바이러스(KBV, kashmir bee virus) 등이 있으며, 세균성 질병으로는 미국형부저병(AFB, american foulbrood) 및 유럽형부저병(EFB, european foulbrood), 원충성 질병인 노제마병(Nosema), 진균성 질병인 백묵병(Chalkbrood), 석고병(Stonebrood) 등도 성충 및 유충의 다량 폐사를 초래하고 양봉농가의 생산성 저하를 유발할 수 있는 전염성 질병들이다. 이번 조사에서는 충남 천안 및 아산지역의 양봉농가를 대상으로 꿀벌의 전염성 질병 중 낭충봉아부패병(SBV), 미국형부저병(AFB), 유럽형부저병(EFB), 노제마병(Nosema), 백묵병(Chalkbrood), 석고병(Stonebrood)에 대한 감염률을 조사하였다. 낭충봉아부패병(SBV)은 꿀벌에서 가장 많이 퍼져있는 바이러스성

\*Corresponding author: Dong-Min Jeon, Tel. +82-41-635-7133,  
Fax. +82-41-548-2954, E-mail. [dvmjeon@korea.kr](mailto:dvmjeon@korea.kr)

질병으로(Chen과 Siede, 2007) 유충과 성충에 모두 감염 가능하며(Berney 등, 2006) 한번 감염 되면 전 봉군으로 쉽게 전파되고 다량의 유충을 폐사시키는 질병으로 농가에 큰 경제적 피해를 유발한다. 부저병은 원인균에 따라 미국형과 유럽형으로 구분할 수 있으며 미국형부저병(AFB)의 원인체는 *Paenibacillus larvae*로, 그람양성의 spore를 형성하는 세균이며 주로 꿀벌의 유충에 감염된다(Heyndrickx 등, 1996). 유럽형 부저병(EFB)의 원인체는 *Melissococcus pluton*로 AFB와 유사한 형태의 질병양상을 나타낸다. 노제마병(Nosema)은 원충인 *Nosema apis*의 아포를 꿀벌 성충이 섭취하여 감염되며, 소화관내 상피세포에서 증식하여(Bailey, 1955) 일벌의 수명을 단축시키고(Wang과 Mofller, 1970) 화분 수집능력을 떨어뜨리는(Anderon과 Giaccon, 1992) 등 양봉농가의 생산성 저하로 인한 경제적 피해를 야기하는 질병이다. 진균성 질병으로는 *Aspergillus flavus*가 원인체인 석고병(Stonebrood)과 *Ascosphaera apis*가 원인체인 백목병(Chalkbrood)이 있으며, 쉽게 감염되고 완치가 힘든 질병으로 알려져 있다. 이 조사에서는 양봉농가에서 흔히 발생하고 피해가 큰 바이러스성, 세균성, 원충성, 진균성 질병들 중 6가지의 질병에 대한 감염률을 reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) 및 polymerase chain reaction (PCR)방법을 통해 조사하여 양봉농가의 기초방역 자료로 활용하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시료

실험에 사용한 재료는 2012년 9월부터 11월까지 충청남도 천안, 아산지역 양봉농가 중 김사를 희망하는 33농가를 대상으로 농가별 30마리의 성충 또는 유충을 채취하여 실험에 사용하였다. 지역별로는 천안 21농가, 아산 12농가를 대상농가로 하였다.

### 핵산추출

채취된 시료는 농가별로 구분하여 멸균 PBS를 사용하여 균질화 유제를 만들고, 그 상층액 300 µl에서 RNA 및 DNA를 추출하였다. 핵산추출은 자동핵산추출장비 Maxwell 16 MDx (Promega, USA) 및 Maxwell 16 Viral Total Nucleic Acid Purification Kit (Promega, USA)를 사용하여 수행하였다. RT-PCR 및 PCR 검사는 AccuPower RT-PCR/PCR PreMix (BiONEER, Korea)를 사용하여 해당 질병 특이 primer sets (Table 1)와 RNase-free water를 첨가하여 총 20 µl 용량으로 실시하였다.

### RT-PCR 및 PCR

낭충봉아부패병(SBV)의 경우 Structural protein 부

Table 1. Primer sets for RT-PCR and PCR

Target disease*	Primer sequencing (5' → 3')	Size (bp)	Annealing temperature (°C)	Reference
SBV	Forward 5'-ACCAACCGATTCTCAGTAG-3' Reverse 5'-CCTTGGAAGTCTGCT GTGTA-3'	487	55	Yoo et al., 2007
SBV-R2	Forward 5'-ACCAACCGATTCTCAGTAG-3' Reverse 5'-TCTTCGTCCTCTCATCAC-3'	258	52	Grabensteiner et al., 2001
CSBV	Forward 5'-GGATGAAAGGAAATTACCAG-3' Reverse 5'-CCACTAGGTGATCCCACT-3'	426	55	Liu et al., 2010
AFB	Forward 5'-GTGTTTCTTCGGGAGACG-3' Reverse 5'-CTCTAGGTCCGCTACGCATC-3'	233	55	Lee et al., 2004
EFB	Forward 5'-AAGAGTAACTGTTTCTCAG-3' Reverse 5'-AAACCTTATCTCTAAGGCGT-3'	564	45	Ha et al., 2005
Nosema	Forward 5'-CTGCCTGACGTAGACGCTAT-3' Reverse 5'-CTTCGATCCTCTAGCTTACG-3'	592	50	Yoo et al., 2007
Stonebrood	Forward 5'-ATCGGGCGGTGTTTCTATG-3' Reverse 5'-ACCGGGCTATTAAGGGCCG-3'	312	55	Lee et al., 2004
Chalkbrood	Forward 5'-GGCTGTAGGGGGAACCAGGA-3' Reverse 5'-CGGGTGGTTCGTTCCAGCCTC-3'	994	55	Lee et al., 2005

\*SBV: sac brood virus, CSBV: chinese sac brood virus, AFB: american foulbrood, EFB: european foulbrood.

**Table 2.** The positive rate of six honey bee disease in Cheonan area

Disease*	No. of tested sample	No. of positive sample	Positive rate (%)
SBV	21	8	38.0
AFB	21	6	28.5
EFB	21	14	66.6
Nosema	21	9	42.8
Stonebrood	21	21	100.0
Chalkbrood	21	1	4.7

\*SBV: sac brood virus, CSBV: chinese sac brood virus, AFB: american foulbrood, EFB: european foulbrood.

분의 SBV primer와 SBV-R2 primer, Non-structural protein 부분의 CSBV primer 세가지 primer를 사용하였으며, SBV-R2 primer의 경우 비특이 반응의 가능성이 존재하여 second PCR에서 양성인 확인된 경우만 최종양성으로 판정하였다. PCR machine은 C1000 Thermal Cycler (BioRad, USA)를 사용하였으며, 낭충봉아부패병(SBV)에 대한 RT-PCR condition은 incubation 50°C, 30 min, cDNA synthesis 95°C, 15 min으로 1 cycle 진행 후 denaturation 94°C, 30 s, annealing 52~55°C (Table 1) 30 s, extension 72°C, 60 s 40 cycles, final extension 72°C, 10 min 1 cycle이었고, 다른 4가지 질병에 대한 PCR condition은 pre denaturation 94°C, 5 min 1 cycle, denaturation 94°C, 30 s, annealing 45~55°C (Table 1) 30 s, extension 72°C, 60 s 40 cycle, final extension 72°C, 10 min 1 cycle의 조건으로 실험하였다. 결과판독은 마이크로칩 자동전기영동장치 MultiNa (SHIMADZU, Japan)를 사용하여 특이 유전자 증폭산물을 확인하였다.

## 결 과

충남 천안 21농가, 아산 12농가에서 채취한 성충 및 유충에 대한 6가지 질병에 대한 감염률은 다음과 같다. 지역별로 천안지역은 전체 21개의 농가 중 모든 농가에서 Stonebrood의 항원이 검출되어 100% 감염률을 보였고 각각 질병에 대한 감염률을 살펴보면 EFB 67%, Nosema 43%, SBV 38%, AFB 29%, Chalkbrood 5%의 순으로 높게 나타났다(Table 2). 아산지역의 경우에서도 Stonebrood가 92%로 가장 높은 감염율을 보였고, EFB는 75%, Nosema 67%, SBV 50%, AFB 8%, Chalkbrood 0%로 나타났다. 총 33농가에 대한 검사결과 두 지역에서 공통적으로 Stonebrood (97%)가

**Table 3.** The positive rate of six honey bee disease in Asan area

Disease*	No. of tested sample	No. of positive sample	Positive rate (%)
SBV	12	6	50.0
AFB	12	1	8.3
EFB	12	9	75
Nosema	12	8	66.6
Stonebrood	12	11	91.6
Chalkbrood	12	0	0.0

\*SBV: sac brood virus, CSBV: chinese sac brood virus, AFB: american foulbrood, EFB: european foulbrood.

가장 높은 감염률을 나타냈고 EFB (70%), Nosema (52%), SBV (42%), AFB (21%), Chalkbrood (3%) 순으로 양봉농가에 감염되어 있는 것으로 확인되었다 (Table 3).

## 고 찰

양봉농가에 가장 많이 감염되어 있는 병원체는 진균성 질병인 Stonebrood와 세균성 질병인 EFB임을 확인 할 수 있었고 SBV의 경우 국내에서는 토종벌에서 그 피해가 컸으나 이 조사결과 서양종 꿀벌에서도 감염률이 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 향후 양봉농가에 대한 질병방역 및 진단, 치료에 활용 할 수 있을 것으로 생각된다. 이 조사로 천안 아산지역의 양봉농가에 대한 항원 양성률을 확인해 볼 수 있었는데 항원 양성률이 반드시 발병률과 일치한다고 볼 수는 없으나 양봉농가에 어떤 질병이 어느 정도 감염되어 있다는 것을 파악해 보는데 의미를 둘 수 있다고 하며 가축방역기관에서 병성감정 및 농가방역지도 관련 업무에 대한 기초정보로도 활용 가능성이 있다고 생각된다. 추가적으로 꿀벌의 활동이 가장 활발한 봄~여름기간에 따른 항원 양성률의 차이를 확인해 볼 필요성이 있다고 생각되며, 이 조사에서 다루었던 6가지 질병 외에도 최근 문제시 되고 있는 날개불구병바이러스(DWV), 여왕벌흑색병바이러스(BQCV), 급성꿀벌마비증바이러스(ABPV), 만성꿀벌마비증바이러스(CBPV), 케시미어병바이러스(KBV) 등의 질병에 대한 추가적인 감염률 조사도 진행해 본다면 양봉농가에 양질의 질병정보를 제공하여 질병으로 인한 경제적 손실을 예방할 수 있는 유용한 자료가 될 수 있으리라 생각된다.

## 참 고 문 헌

- Anderson DL, Giacon H. 1992. Reduced pollen collection by honeybee (Hymenoptera, Apidae) colonies infected with *Nosema apis* and sacbrood virus. *J Econ Entomol* 85: 47-51.
- Bailey L. 1955. The infection of the ventriculus of the adult honeybee by *Nosema apis* (Zander). *Parasitology* 45: 86-94.
- Berenyi O, Bakonyi T, Derakhshifar I, Koglbberger H, Nowotny N. 2006. Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries. *Appl Environ Microbiol* 72: 2414-2420.
- Chen YP, Siede R. 2007. Honey bee viruses. *Adv Virus Res* 70: 33-80.
- Grabensteiner W, Ritter W, Carter MJ, Davison S, Pechhacker H, Kolodziejek J, Boecking O, Derakhshifar I, Moosbeckhofer R, Licek E, Nowotny N. 2001. Sacbrood virus of the honeybee (*Apis mellifera*): rapid identification and phylogenetic analysis using reverse transcription-PCR. *Clin Diagn Lab Immunol* 8: 93-014.
- Ha JS, Lee HM, Kim DS, Lim YK, Yoon BS. 2005. A PCR Detection Method of *Melissococcus pluton* for Rapid Identification of European Foulbrood. *Korean J Apiculture* 20: 9-18.
- Heyndrickx M, Vandemeulebroecke K, Scheldeman P, Kersters K, De Vos P, Logan NA, Aziz AM, Ali N, Berkelet RCW. 1996. A polyphasic reassessment of the genus *Paenibacillus* reclassification of *Bacillus lautus* (Nakamura 1984) as *Paenibacillus lautus* comb. nov. and of *Bacillus peoriae* (Montefusco et al., 1993) as *Paenibacillus peoriae* comb. nov., and emended descriptions of *P. lautus* and of *P. peoriae*. *Int J Syst Bacteriol* 46: 988-1003.
- Lee HM, Ha JS, Jo YH, Nam SH, Yoon BS. 2004. PCR Detection method of *Ascospheara apis*, *Aspergillus flavus* for rapid identification of fungal disease in honeybee. *Korean J Apiculture* 19: 139-148.
- Lee HM, Lee DB, Han SH, Nam SH, Lim YK, Yoon BS. 2005. Rapid identification of *Ascospheara apis* causing chalkbrood disease in honeybee by real-time PCR. *Korean J Apiculture* 20: 109-116.
- Liu X, Zhang Y, Yan X, Han R. 2010. Prevention of Chinese sacbrood virus infection in *Apis cerana* using RNA interference. *Curr Microbiol* 61: 422-428.
- Wang DI, Mofller FE. 1970. The division of labor and queen attendance behavior of *Nosema*-infected worker honey bees. *J Econ Entomol* 63: 1540-1541.
- Yoo MS, Lee DW, Kim IW, Kim DS, Kwon SH, Lim YG, Yoon BS. 2007. Identification of black queen cell virus from the honeybee in Korea. *Korean J Apiculture* 22: 43-52.