

< Original Article >

광주광역시 꿀벌질병 동향조사

이인행 · 김지연 · 최종욱 · 고바라다 · 정보람 · 박재성 · 나호명* · 김용환
광주광역시 보건환경연구원

Prevalence of honeybee (*Apis mellifera*) diseases in Gwangju

In-Haeng Lee, Ji-Yeon Kim, Jong-Uk Choi, Ba-Ra-Da Koh,
Bo-Ram Jung, Jae-Sung Park, Ho-Myoung Na*, Yong-Hwan Kim
Health & Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju 61027, Korea

(Received 30 March 2018; revised 1 May 2018; accepted 18 June 2018)

Abstract

This study was carried out to investigate the prevalence of honeybee (*Apis mellifera*) diseases in Gwangju area. From November 2016 to August 2017, 89 samples were collected from 33 apiculture farms and reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR), polymerase chain reaction (PCR), and real time PCR were conducted. 14 infectious pathogens, including seven viruses, two bacteria, three fungi, and two parasites, were investigated from random apiculture farms in Gwangju. The percentage of infectious pathogens were as follows: Stonebrood (76.4%), Deformed wing virus (51.7%), Nosema (27.0%) in PCR and RT-PCR. This result indicated that Stonebrood was most prevalent disease in Gwangju area. And we could get similar results from real time PCR. 84.8% of farms have more than two of infectious pathogens. Stonebrood and Deformed wing virus were major diseases in almost all seasons and Black queen cell virus disease was especially prevalent in May.

Key words : Honeybee, *Apis mellifera*, Contagious disease, Real time PCR, Stonebrood

서 론

꿀벌은 화분을 매개하여 식물의 번식을 도우면서 생태계 유지에 중요한 역할을 한다. 최근 도시농업의 한 형태로 벌꿀, 프로폴리스 등을 생산하기 위한 경제적 목적으로 벌을 사육하는 농가가 증가하면서 건강한 봉군을 유지하기 위해 꿀벌의 질병에 대해서도 많은 관심을 가지게 되었다. 최근 국내 꿀벌 질병 동향을 살펴보면 2009년도 11월 강원도 홍천에서 국내 최초로 한국형 낭충봉아부패병이 진단된 이후 2010년에 동양종 꿀벌(*Apis cerana*) 전체의 75% 이상이 한국형 낭충봉아부패병에 의해 폐사된 것으로 보고되었다(Kim 등, 2016). 또한, 최근 해외에서는 작은벌집 딱정벌레에 의한 피해가 보고된 바 있으며 국내에서

도 2016년 9월에 경남 밀양에서 처음 확인되었다. 작은벌집딱정벌레는 아직까지 한국형 낭충봉아부패병과 같이 전국적으로 큰 피해를 유발하진 않았으나 꿀벌의 개체수 감소와 더불어 생산된 벌꿀을 산패시켜 양봉농가의 생산성을 감소시킨다는 측면에서 관리하여야 할 질병이다(Hyun 등, 2017).

꿀벌에서 주로 문제시 되는 바이러스성 질병의 원 인체로는 서양형 낭충봉아부패병바이러스(SBV, Sacbrood virus), 중국형 낭충봉아부패병바이러스(CSBV, Chinese sacbrood virus), 한국형 낭충봉아부패병바이러스(KSBV, Korean sacbrood virus), 날개불구병바이러스(DWV, Deformed wing virus), 급성꿀벌마비증바이러스(ABPV, Acute bee paralysis virus), 만성꿀벌마비증바이러스(CBPV, Chronic bee paralysis virus), 여왕벌흑색병바이러스(BQCV, Black queen cell virus), 케시미어병바

*Corresponding author: Ho-Myung Na, Tel. +82-62-613-7650,
Fax. +82-62-613-7649, E-mail. kelix@korea.kr

이러스(KBV, Kashmir bee virus), 이스라엘급성꿀벌마비증바이러스(IAPV, Israeli acute bee paralysis virus)가 있으며, 세균성 질병으로는 미국형 부저병(afb, American foulbrood)과 유럽형 부저병(efb, European foulbrood)이 있다. 또한, 진균성 질병으로 석고병(sB, Stonebrood), 백묵병(cB, Chalkbrood), 노제마병(Nosema)이 보고되어 있다(Allen과 Ball, 1996). 기생충성 질병으로는 꿀벌기생파리(Phoridae) 및 기문응애(Acariosis)가 존재한다.

양봉산업의 특성상 개화기에 따라 이동하는 경우가 많아, 채밀기에 여러 지역을 이동한 농가들로부터 꿀벌 질병의 관내 유입이 우려된다. 현재 광주에 양봉농가를 대상으로 꿀벌질병에 대한 연구가 부족하여, 관내 양봉농가의 꿀벌질병 원인체 보유현황을 조사하여 꿀벌 질병을 효과적으로 방제하기 위한 기초 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

시료채취

2016년 11월부터 2017년 8월까지 광주광역시 양봉농가 33호를 대상으로 계절별로 적어도 1회 이상 시료를 채취하였다. 총 84회 방문하여 89건의 꿀벌 성충 20여마리 및 소비 일부를 채취하였으며 채취시기 및 채취건수는 Table 1과 같다. 채취한 시료는 50 ml conical tube에 수집 후 4°C 상태로 운반하였다.

핵산추출

채취한 시료는 약 0.2 g으로 멸균 PBS를 사용하여 균질화 유제를 만들고, 그 상층액 150 µL에서 Viral Gene-spin™ viral DNA/RNA Extraction kit (iNtRON, Korea)를 이용하여 제조사의 지시에 따라 RNA 및 DNA를 분리하였다. 분리한 RNA 및 DNA는 실험전까지 -20°C에서 냉동보관하였다.

Table 1. Number of samples in each season

No.	Date	Farms	Samples
1st	Nov. 2016	17	20
2nd	Feb. 2017	26	26
3rd	May 2017	20	22
4th	Aug. 2017	21	21
Total		84	89

병원체 프라이머

꿀벌 질병 원인체 14종 질병에 대하여 각각의 병원체 특이 primer 16개(낭충봉아부패병에 대한 primer 3종류 및 나머지 13종 질병에 대한 primer 각 1종류)를 다음과 같이 제작하였다(Table 2).

PCR, RT-PCR 검사

꿀벌질병 병원체 특이 프라이머를 이용한 유전자 증폭은 Maxime Premix PCR과 Maxime Premix RT-PCR 2X Taq PCR Smart mix 1 (Solgent, Korea)로 2X Taq PCR Smart mix 25 µL, 프라이머(10 pmol/µL) 각 2 µL씩, Template DNA 혹은 RNA를 5 µL를 혼합하고 DW를 16 µL 첨가하여 총량이 50 µL가 되도록 하였다. 유전자 증폭은 Veriti 96-well Thermal Cycler (Applied biosystem, USA)를 사용하였다.

바이러스 질병에 대한 RT-PCR 조건은 cDNA 합성 50°C, 30 min, predenaturation 95°C, 15 min으로 1 cycle 진행 후 denaturation 94°C, 30 s, annealing 52~57°C, 30 s, extension 72°C, 60 s, 40 cycle, final extension 72°C, 10 min, 1 cycle 조건으로 실험하였으며, 다른 7가지 질병에 대한 PCR 조건은 predenaturation 94°C, 5 min, 1 cycle, denaturation 94°C, 30 s, annealing 45~55°C, 30 s, extension 72°C, 60 s, 40 cycle, final extension 72°C, 10 min, 1 cycle의 조건으로 실험하였다.

증폭산물 분석

증폭된 산물을 확인하기 위하여 PCR 증폭액 8 µL를 SYBR® Green nucleic acid gel stain 10,000x (sigma aldrich, USA)를 첨가한 1.5% agarose gel에서 100V, 30분간 전기영동을 한 후 Image Quant LAS 4000 (Fugifilm, Japan)을 사용하여 특이 유전자 증폭 산물을 확인하였다. 증폭된 DNA 산물의 크기 비교는 100 bp DNA ladder (iNtRON, Korea)를 사용하였다.

Real time PCR 검사

채취한 시료를 대상으로 real time PCR 검사를 진행하였다. 사용한 Kit는 농림축산검역본부에서 배정된 14종 꿀벌질병 검출 Kit 4종류이며 명칭은 다음과 같다. 첫 번째 키트는 ABPV/KBV/IAPV/CBPV Real-

Table 2. Primer sets for PCR and RT-PCR

Target disease		Primer Sequence (5'-3')	Size (bp)	Annealing Temp (°C)	Reference
Virus	SBV	F ACCAACCGATTCTCAGTAG	487	55	Yoo et al., 2007
		R CCTTGAACTCTGCTGTGTA			
	CSBV	F GGATCAAAGGAAATTACCAG	426	55	
		R CCACTAGGTGATCCACACT			
	KSBV	F GAC CAA GAA GGG AAT CAG	123	54	
		R CATCTTCTTTAGCACCAGTATCCA			
	DWV	F TCATCTTCAACTCGGCTTTCTACG	479	55	
		R CGAATCATTTACGGGACG			
	ABPV	F TTATGTGTCCAGAGACTGTATCCA	901	55	
		R GCTCCTATTGCTCGGTTTTTCGGT			
	CBPV	F AGTTGTCATGGTTACAGGATACGAG	455	55	
		R TCTAATCTAGCACGAAAGCCGAG			
	BQCV	F TGGTCAGCTCCCACTACCTTAAAC	700	55	
R GCAACAAGAAGAAACGTAAACCAC					
KBV	F GATGAACGTCGACCATTGA	415	50		
	R TGTGGGTGGCTATGAGTCA				
IAPV	F GATTTGAGAGATGTATTTCTCTGCGG	725	52		
	R ACACTTGCCTTGGTCTGAATGTTAATGG				
Bacteria	AFB	F GTG TTTCTTCGGGAGACG	233	55	
		R CTCTAGGTCGGCTACGCATC			
	EFB	F AAGAGTAACTGTTTTCTCG	564	45	Ha et al., 2005
		R AAACCTTATCTCTAAGGCGT			
	Fungi	SB	F ATCGGGCGGTGTTTCTATG	312	55
R ACCGGGCTATTTAAGGGCCG					
CB		F GGCTGTAGGGGGAACCAGGA	994	55	
	R CGGGTGGTCGTTTCCAGCCTC				
Nosema	F CTGCCTGACGTAGACGCTAT	592	50	Yoo et al., 2007	
	R CTTCGATCCTCTACTTACG				
Parasite	Phoridae	F GTACACCTATACATTTGGGTTTCGTACATTAC	486	57	
		R GAGRGCCATAAAAGTAGCTACACC			
	Acariosis	F CAGTAGGGCTAGATATCGATACCCGAGCTT	247	55	Kojima et al., 2011
	R TGAGCTACAACATAATATCTGTCTATGAAGA				

*SBV: Sacbrood virus, CSBV: Chinese sacbrood virus, KSBV: Korean sacbrood virus, DWV: Deformed wing virus, ABPV: Acute bee paralysis virus, CBPV: Chronic bee paralysis virus, BQCV: Black queen cell virus, KBV: Kashmir bee virus, IAPV: Israeli acute bee paralysis virus, AFB: American foulbrood, EFB: European foulbrood, SB: Stonebrood, CB: Chalkbrood.

time (LiliF, Korea)이며, 두 번째는 SBV/KSBV/DWV/BQCV Real-time RT-PCR Detection Kit (LiliF, Korea)이다. 세 번째는 POBGENTM Bee Pathogen Detection Kit (BD-A)_TaqMan (Basic science, Korea), 네 번째는 POBGENTM Bee Pathogen Detection Kit (BD-B)_TaqMan (Basic science, Korea)이다.

첫 번째 키트로 급성꿀벌마비증바이러스, 만성꿀벌마비증바이러스, 케시미어병바이러스, 이스라엘급성꿀벌마비증바이러스를 검사하였다. 두 번째 키트로 서양형 낭충봉아부패병바이러스, 한국형 낭충봉아부패병바이러스, 날개불구병바이러스, 여왕벌흑색병바이러스를 검사하였고, 세 번째 키트는 유럽형 부저병, 노제마병, 백목병, 석고병을 검사하였다. 네 번째 키

트로 미국형 부저병, 꿀벌기생파리 및 기문응애를 검사하였다. 검사방법 및 결과판정은 제조사의 지침에 따랐다.

결 과

PCR 및 RT-PCR

89건의 시료를 PCR 및 RT-PCR로 검사한 결과 석고병 원인체가 68건(76.4%) 확인되었으며, 날개불구병 46건(51.7%), 노제마병 24건(27.0%), 케시미어병 및 이스라엘 급성 꿀벌마비증 각각 16건(18.0%), 여

왕벌흑색병 15건(16.9%), 미국형 부저병 14건(15.7%), 기문응애 7건(7.9%), 백목병 6건(6.7%), 서양형 낭충봉아부패병 4건(4.5%), 중국형 낭충봉아부패병 2건(2.2%), 꿀벌기생파리 및 유럽형부저병 각 1건(1.1%) 이고 급성꿀벌마비증, 만성꿀벌마비증 및 한국형 낭충봉아부패병 원인체는 검출되지 않았다(Table 3).

조사된 33농가를 대상으로 꿀벌 질병 원인체의 복합검출 정도를 살펴보면 질병이 전혀 검출되지 않은 농가는 1호(3.0%)였으며, 1종류 검출농가 4호(12.1%), 2종류 검출농가 3호(9.1%), 3종류 검출농가 5호(15.2%), 4종류 검출농가 4호(12.1%), 5종류 검출농가 5호(15.2%), 6종류 검출농가 5호(15.2%), 7종류 검출농가 6호(18.2%)로 대부분의 농가에서 사육하는 꿀벌은 2종류 이상의 질병이 복합적으로 검출되었다(Fig. 1).

계절별 추이는 2016년 11월에 채취한 20건을 기준으로 기문응애 20.0%, 노제마병 15.0%, 석고병 60.0%, 날개불구병 75.0%, 여왕벌흑색병 10.0%, 케시미어병 30.0%, 이스라엘급성꿀벌마비증 40.0%, 꿀벌기생파리 5.0%이 검출되었고 나머지 질병에 대한 원인체 검출되지 않았다.

2017년 2월에 채취한 26건을 기준으로, 미국부저병 11.5%, 기문응애 3.8%, 노제마병 23.1%, 석고병 73.1%, 중국형 낭충봉아부패병 3.8%, 날개불구병 42.3%, 케시미어병 11.5%, 이스라엘급성꿀벌마비증 15.4%로 조사되었고 나머지 질병에 대한 원인체는 검출되지 않았다.

2017년 5월에 채취한 22건을 검사한 결과 미국부저병 13.6%, 유럽 부저병 4.5%, 기문응애 4.5%, 노제마병 36.4%, 백목병 18.2%, 석고병 100.0%, 서양형 낭충봉아부패병 18.2%, 중국형 낭충봉아부패병 4.5%,

날개불구병 13.6%, 여왕벌흑색병 59.1%, 케시미어병 22.7%, 이스라엘급성꿀벌마비증 13.6%이며 나머지 질병에 대한 원인체는 검출되지 않았다.

2017년 8월에 채취한 21건을 검사한 결과 미국부저병 33.3%, 기문응애 4.8%, 노제마병 33.3%, 석고병 71.4%, 날개불구병 81.0%, 케시미어병 9.5%, 이스라엘급성꿀벌마비증이 4.8%로 조사되었으며 나머지 질병에 대한 원인체는 검출되지 않았다(Table 3).

Real time PCR 검사결과

89건의 시료를 real time PCR 방법으로 검사한 결과 석고병 37건(41.6%), 날개불구병 26건(29.2%), 노제마병 23건(25.8%), 여왕벌흑색병 18건(20.2%), 백목병 8건(9.0%), 미국부저병 및 서양형 낭충봉아부패병 각 5건(5.6%), 이스라엘급성꿀벌마비증 3건(3.4%), 만성꿀벌마비증 1건(1.1%)이고나머지 질병은 검출되지 않았다(Table 4).

원인체가 복합적으로 검출된 농가는 질병이 전혀 검출되지 않은 농가는 5호(15.2%)였으며, 1종류 검출

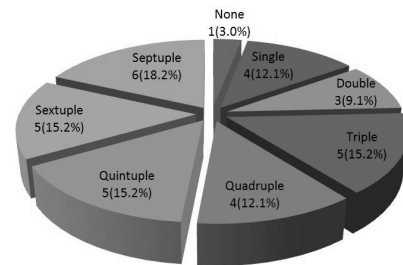


Fig. 1. Number of complexity of honeybee infections (%).

Table 3. Infectious pathogens molecularly detected (PCR and RT-PCR) from honeybee colonies reared in Gwangju area

Season	No. of tested	No. of positive (%)															
		SBV	CSBV	KSBV	DWV	ABPV	CBPV	BQCV	KBV	IAPV	Nosema	AFB	EFB	SB	CB	Phoridae	Acariosis
Nov. 2016	20	0	0	0	15 (75.0)	0	0	2 (10.0)	6 (30.0)	8 (40.0)	3 (15.0)	1 (5.0)	0	12 (60.0)	2 (10.0)	1 (5.0)	4 (20.0)
Feb. 2017	26	0	1 (3.8)	0	11 (42.3)	0	0	0	3 (11.5)	4 (15.4)	6 (23.1)	3 (11.5)	0	19 (73.1)	0	0	1 (3.8)
May 2017	22	4 (18.2)	1 (4.5)	0	3 (13.6)	0	0	13 (59.1)	5 (22.7)	3 (13.6)	8 (36.4)	3 (13.6)	1 (4.5)	22 (100.0)	4 (18.2)	0	1 (4.5)
Aug. 2017	21	0	0	0	17 (81.0)	0	0	0	2 (9.5)	1 (4.8)	7 (33.3)	7 (33.3)	0	15 (71.4)	0	0	1 (4.8)
Total	89	4 (4.5)	2 (2.2)	0	46 (51.7)	0	0	15 (16.9)	16 (18.0)	16 (18.0)	24 (27.0)	14 (15.7)	1 (1.1)	68 (76.4)	6 (6.7)	1 (1.1)	7 (7.9)

Table 4. Infectious pathogens molecularly detected (Real time PCR) from honeybee colonies reared in Gwangju area

Season	No. of tested	No. of positive (%)															
		SBV	CSBV	KSBV	DWV	ABPV	CBPV	BQCV	KBV	IAPV	Nosema	AFB	EFB	SB	CB	Phor-idiae	Acar-iosis
Nov. 2016	20	0	-	0	9 (45.0)	0	0	1 (5.0)	0	0	2 (10.0)	0	0	4 (20.0)	4 (20.0)	0	0
Feb. 2017	26	1 (3.8)	-	0	4 (15.4)	0	0	0	0	0	6 (23.1)	1 (3.8)	0	5 (19.2)	0	0	0
May 2017	22	4 (18.2)	-	0	4 (18.2)	0	1 (4.5)	15 (68.2)	0	1 (4.5)	9 (40.9)	1 (4.5)	0	13 (59.1)	4 (18.2)	0	0
Aug. 2017	21	0	-	0	9 (42.9)	0	0	2 (9.5)	0	2 (9.5)	6 (28.6)	3 (14.3)	0	15 (71.4)	0	0	0
Total	89	5 (5.6)	-	0	26 (29.2)	0	1 (1.1)	18 (20.2)	0	3 (3.4)	23 (25.8)	5 (5.6)	0	37 (41.6)	8 (9.0)	0	0

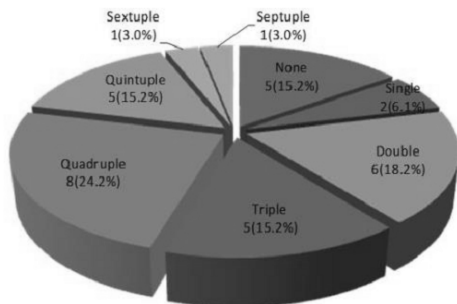


Fig. 2. Number of complexity of honeybee infections (%).

농가는 2호(6.1%), 2종류 검출농가 6호(18.2%), 3종류 검출농가 5호(15.2%), 4종류 검출농가 8호(24.2%), 5종류 검출농가 5호(15.2%), 6종류 검출농가 1호(3.0%), 7종류 검출농가 1호(3.0%)로 조사되었다(Fig. 2).

계절별 추이를 보면 2016년 11월에 채취한 20건을 기준으로 날개불구병 45.0%, 석고병 20.0%, 노제마병 10.0%, 백묵병 및 여왕벌흑색병 5.0%이고 나머지는 검출되지 않았다.

2017년 2월에 채취한 26건 검사결과 노제마병 23.1%, 석고병 19.2%, 날개불구병 15.4%, 미국형 부저병 및 서양형 낭충봉아부패병 각 3.8%로 나타났으며 나머지 질병에 대한 원인체는 검출되지 않았다.

2017년 5월에 채취한 22건 검사결과 여왕벌흑색병 68.2%, 석고병 59.1%, 노제마병 40.9%, 백묵병, 날개불구병 및 서양형 낭충봉아부패병이 각 18.2%, 미국형 부저병, 만성꿀벌마비증, 이스라엘급성꿀벌마비증이 각 4.5%이며 나머지 질병에 대한 원인체는 검출되지 않았다.

마지막으로 2017년 8월에 채취한 21건을 검사한 결과 석고병 71.4%, 날개불구병 42.9%, 노제마병

28.6%, 미국형 부저병 14.3%, 여왕벌흑색병 및 이스라엘급성꿀벌마비증이 각 9.5%로 조사되었으며 나머지 질병에 대한 원인체는 검출되지 않았다(Table 4).

PCR, RT-PCR과 real time PCR 검사결과

89건의 동일한 시료를 대상으로 PCR, RT-PCR 및 real time PCR 결과 비교 분석한 내용은 다음과 같다 (Table 5). 중국형 낭충봉아부패병의 경우 real time PCR 키트 내에 별도의 상용화된 primer가 제조되지 않아서 결과비교 대상에 포함되지 않았다. 총 15개의 primer에 석고병을 제외한 다른 13종의 질병에서는 82.0% 이상의 정확도를 보였으나 석고병의 경우 두 검사방법에 대한 정확도가 58.4%로 상대적으로 낮았다. Kappa index를 비교한 결과 서양형 낭충봉아부패병, 여왕벌흑색병, 노제마병에서 0.6 이상으로 해당 질병에 대해 서로 다른 실험방법 간 결과의 일치성이 높은 것으로 나타났다.

고 찰

꿀벌 질병에 대한 유병률을 파악하는 것은 중요하다. 이는 양봉농가의 생산성과 직결되고, 식물 생태계를 유지하는데 중요하기 때문인데, 양 봉에 대한 관심은 높은 반면, 봉군에 대한 전반적인 건강상태 모니터링이 부족한 실정인어서 본 연구를 실시하였다.

2017년 당시 광주광역시 꿀벌 사육 농가는 236농가로 추정되며, 본 연구는 지역별로 고르게 농가를 선정하여, 약 13.9%에 해당하는 33호에 대해 꿀벌 질

Table 5. Comparison of PCR, RT-PCR and real time PCR results

Disease	Kappa Index	Only real time	Only PCR and RT-PCR	Both positive	Both negative	Sensitivity	Specificity	Accuracy
SBV	0.6491	2	1	3	83	75.0%	97.6%	96.6%
CSBV	-	-	-	-	-	-	-	-
KSBV	-	-	-	-	-	-	100.0%	100.0%
DWV	0.4681	2	12	36	39	75.0%	95.1%	84.3%
ABPV	-	0	0	0	3	-	100.0%	100.0%
CBPV	0.0000	1	0	0	88	-	98.9%	98.9%
BQCV	0.7401	5	2	13	69	86.7%	93.2%	92.1%
KBV	0.0000	0	16	0	73	0.0%	100.0%	82.0%
IAPV	0.1630	1	14	2	72	12.5%	98.6%	83.1%
Nosema	0.6820	5	6	18	60	75.0%	92.3%	87.6%
AFB	0.1393	3	12	2	72	14.3%	96.0%	83.1%
EFB	0.0000	0	1	0	88	0.0%	100.0%	98.9%
SB	0.2365	3	34	34	18	50.0%	85.7%	58.4%
CB	0.5357	2	4	4	79	50.0%	97.5%	93.3%
Phoridae	0.0000	0	1	0	88	0.0%	100.0%	98.9%
Acariosis	0.0000	0	7	0	82	0.0%	100.0%	92.1%

병 검사를 수행하였다.

꿀벌의 바이러스성 질병 중에서 SBV는 2009년 전국적으로 17.6% 감염률을 보였고, 2013년 경북 동부지역은 66.7%, 충남 아산·천안지역은 38.0%였는데 (Yoo와 Yoon, 2009; Ouh 등, 2013; Jeon 등, 2013), 2014년 대전지역의 경우 감염률은 12.7%로 나타났다 (Kim 등, 2016). 광주광역시 RT-PCR결과 4.5%, real time PCR 결과 5.6%로 나타났다. 지역별 결과값이 크게 차이나는 이유는 경북 동부지역은 임상증상이 발생한 농가들을 대상으로 검사가 진행된 반면 광주는 모니터링 검사 차원에서 임의의 농가를 고르게 선정하여 임상증상 없는 대상도 포함되어서 양성률 차이가 발생한 것으로 보인다.

SBV에 감염된 성충의 경우 애벌레가 물주머니와 같은 형태로 변하는데 광주에서 SBV 원인체가 검출된 농가의 경우, 소비 내 애벌레의 병변에 따른 변화는 관찰되지 않았다.(Kim 등, 2008) 2가지 검사법에 대한 kappa계수를 비교한 결과 SBV 검출에 대한 결과 일치도가 0.6 이상으로 검사 상호간 신뢰할 수 있다는 결론을 얻을 수 있었다.

DWV의 경우 2009년 전국적으로 33.0%, 2013년에 경북 동부지역의 감염률은 4.2% (Yoo와 Yoon, 2009; Ouh 등, 2013), 2014년 대전(Kim 등, 2016)의 경우 원인체가 검출되지 않았다. 이에 반해 광주의 경우 이번 연구에서 RT-PCR 검사 결과 51.7%, real time PCR 검사결과 29.2%의 비율로 원인체가 검출되었다. 타지역

과 비교시 유병률이 높은 것을 알 수 있었는데 추가적인 역학조사를 통하여 광주 지역의 DWV에 대해 높은 유병률을 보이는 것에 대한 연구가 필요할 것이다.

ABPV는 2009년 전국적으로 0.9%, 2013년에 경북 동부지역의 감염률 ABPV 0% (Yoo와 Yoon, 2009; Ouh 등, 2013), 2014년 대전(Kim 등, 2016)에서 0%이었으며 광주에서도 원인체가 검출되지 않았다.

CBPV 감염률은 2009년 전국적으로 5.6%이고, 2013년 경북 동부지역은 0%이었는데(Yoo와 Yoon, 2009; Ouh 등, 2013), 대전(Kim 등, 2016)지역 감염률은 1.6%로 나타났다. 광주지역에서는 RT-PCR로는 0%, real time PCR로는 1.1%의 검출율을 보였다. CBPV는 꿀벌의 배설물 등을 통해 만성적으로 꿀벌에서 마비를 일으켜서, 점진적으로 감염 확산이 가능하므로 (Liu 등, 2010) 질병에 대한 모니터링이 지속적으로 필요하다.

BQCV의 경우 2009년 전국적으로 13.4%, 2013년에 경북 동부지역의 감염률은 BQCV 12.5% (Yoo와 Yoon, 2009; Ouh 등, 2013), 2014년 대전(Kim 등, 2016) 0%, 광주광역시 RT-PCR 결과 16.9%, real time PCR 20.2%, kappa index가 0.6 이상으로 상호 검사간 결과를 신뢰할 수 있다는 결론을 얻을 수 있었다.

KBV는 2013년에 경북 동부지역의 감염률은 KBV 29.2% (Yoo와 Yoon, 2009; Ouh 등, 2013), 대전 0% (Kim 등, 2016)이었다. 광주광역시 조사결과 실험방법에 따라 검사결과에 다소 차이가 발생하였다.

RT-PCR 검사결과 18.0%였으나, real time PCR 검사 결과 0%로 확인되는데, 기존의 conventional RT-PCR의 KBV primer가 KBV와 IAPV가 동시에 진단되었음을 고려하였을 때, real-time PCR로 검사시 KBV는 0%였던 반면 IAPV는 3.4%로 조사되었다. RT-PCR 결과 KBV로 확인된 건이 실제로는 IAPV이었을 가능성이 높다고 판단된다.

꿀벌의 세균성 질병 중에서 AFB와 EFB는 제 3종 가축전염병으로 분류되어 관리하고 있다. 2009년 AFB는 전국적으로 58.8%이고, 2013년 경북 동부지역은 41.7%, 충남 아산·천안지역은 28.5%였는데(Yoo와 Yoon, 2009; Ouh 등, 2013; Jeon 등, 2013), 2014년 대전지역 감염률은 19.0%이었으며(Kim 등, 2016), 광주는 PCR 15.7%, real time PCR 5.6%로 검사결과 간 10.1%포인트 차이가 있었다.

EFB 감염률은 2009년 감염이 없었으며, 2013년 경북 동부지역은 12.5%, 충남 아산·천안지역은 66.6%이었으며(Yoo와 Yoon, 2009; Ouh 등, 2013; Jeon 등, 2013), 2014년 대전 지역 감염률은 6.3%로 나타났다(Kim 등, 2016). 이번 광주는 PCR 검사결과 1.1%, real time PCR 검사결과 0%로 나타났다.

꿀벌의 진균성 질병 중에서 SB는 2009년 전국적으로 24.9%, 2013년 경북 동부지역은 45.8%, 충남 아산·천안지역은 100.0%였는데(Yoo와 Yoon, 2009; Ouh 등, 2013; Jeon 등, 2013), 2014년 대전지역 감염률은 11.1%로 나타났다(Kim 등, 2016). 이번 광주는 PCR 결과 76.4%, real time PCR 결과 41.6%이며 조사된 질병중 가장 유병률이 높은 것으로 조사되었다. SB는 지역별로 유병률 차이가 매우 컸는데, 이는 기존의 conventional PCR방법의 primer가 *Aspergillus spp.*를 모두 검출하는 것에서 real-time PCR 방법에서는 *Aspergillus flavus*만을 검출하는 것으로 바뀌면서 위와 같은 차이가 발생하였다. 하지만 이를 감안 하더라도 전체적으로 유병률이 가장 높은 질병이라는 사실에는 변화가 없었다. SB는 *Aspergillus flavus*에 감염되어 포자를 형성 후 백색으로 변하는 증상이 특징적이다. 이번에 무작위로 선정한 농가에서 매우 높은 비율로 석고병 원인체가 검출된 것에 반해 임상증상이 확인된 경우는 매우 드물었다. 질병의 진행이 많이 이루어진 후 증상이 나타난다고 가정했을 때, 사전에 모니터링 검사로 SB를 확인하여 선제적 조치를 취하는 것이 중요할 것이다.

CB는 2009년 전국적으로 12.9%, 2013년에 경북 동부지역의 감염률은 CB 4.2% (Yoo와 Yoon, 2009; Ouh

등, 2013), 2014년 대전 0% (Kim 등, 2016), 광주는 PCR 6.7%, real time PCR 9.0%로 조사되었다.

Nosema의 경우 2009년 전국적으로 42.9%, 2013년에 경북 동부지역의 감염률은 *Nosema* 33.3% (Yoo와 Yoon, 2009; Ouh 등, 2013) 대전은 0% (Kim 등, 2016), 광주는 PCR 결과 27.0%, real time PCR 결과 25.8%로 나타났다.

꿀벌의 기생충성 질병 중에서 광주광역시에서 꿀벌기생파리 원인체의 경우 PCR로 1.1%, real time PCR의 경우 확인되지 않았다.

원인체의 복합검출 정도를 비교해보면 대전의 경우 15.9%에서 2종류 이상의 원인체가 검출된 반면 광주는 PCR 및 RT-PCR 검사 결과 대상농가 중 84.8%에서 2종류 이상의 꿀벌질병 원인체가 검출되어 많은 차이를 보였다. real time PCR 결과는 78.8%로 확인되었다.

계절에 따른 질병 발생 정도를 2014년 대전의 경우 봄철에 미국형부저병이 25.7%로 가장 높게 나타나고, 가을철에는 서양형 낭충봉아부패병이 가장 높게 나타났다(Kim 등, 2016). 광주광역시의 경우는 2016년 11월에는 날개불구병(75.0%) 및 석고병(60.0%) 원인체가 다수 검출되었다. 2017년 2월에는 석고병(73.1%), 날개불구병(42.3%)이며 2017년 5월은 다른 계절과는 질병 검출 양상이 차이를 보였다. 5월에 검사한 모든 시료에서 석고병 원인체가 검출되었고, 또한 타 계절에서 적게 검출되었던 여왕벌흑색병 원인체가 석고병 다음으로 59.1% 검출되었다. 다른 계절에 많이 검출된 날개불구병 원인체는 5월에만 13.6%로 검출율이 낮았다. 2017년 8월에는 날개불구병 원인체가 81.0%, 석고병 71.4% 검출되었다. 전체적으로 석고병 및 날개불구병 원인체에 대한 대안강구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

개화기에 많은 양봉농가들이 이동을 하며 채밀을 진행한다. 다양한 장소를 이동하지만 이들 농가들을 대상으로 한 꿀벌 질병 연구는 현재까지 연구된 바가 없었다. 따라서 본 연구는 광주광역시 내 양봉농가에 대한 2016년 11월부터 2017년 8월까지 광주광역시 내 33농가를 대상으로 각 계절별로 적어도 1회 이상 성충 및 소비 시료를 총 89건 채취하여 PCR, RT-PCR 및 real time PCR 검사를 실시하였다. PCR, RT-PCR

결과 추이를 분석한 결과 광주광역시에서 가장 유병률이 높은 질병은 석고병(76.4%)으로 조사되었으며, 그 뒤로 날개불구병(51.7%), 노제마병(27.0%) 순이었다. 또한 조사한 33농가 중 28농가(84.8%)에서 2종류 이상의 질병원인체가 복합적으로 검출되었다. 또한, 계절과 질병 원인체간 상관관계를 조사한 결과 계절에 관계없이 거의 모든 시기에서 날개불구병 및 석고병 원인체가 높은 비율로 검출되었으며, 2017년 5월에는 날개불구병이 상대적으로 낮게 검출되고, 여왕벌흑색병 원인체가 높은 비율로 검출되었다는 점이 특징적이다. 정확한 질병진단을 통해 무분별한 약물남용을 막고, 각 질병에 대한 유병률을 수시로 모니터링하여 효과적인 꿀벌 질병에 대한 방역대책을 수립하는 데 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2017년도 광주광역시보건환경연구원 연구 사업비 지원으로 수행하였습니다.

REFERENCES

- 유미선, 이도부, 하정순, 이해민, 윤병수. 2009. 꿀벌 질병 검출을 위한 real-time PCR 진단법의 개발. 한국양봉학회 학술대회 자료집. 33-3.
- 현방훈, 조윤상, 유미선, 한도현, 서현지, 이명렬, 최용수 김혜경. 2017. 작은벌집딱정벌레 감염증 발생. pp. 6-8. 2017 작은벌집딱정벌레 예방 및 관리. 농림축산검역본부, 농촌진흥청, 국립농업과학원 공동발행.
- Allen MF, Ball BV. 1996. The incidence and world distribution of the honey bee viruses. *Bee World*. 77: 141-162.
- Benjeddou M, Leat N, Allsopp M, Davison S. 2001. Detection of Acute Bee Paralysis Virus and Black Queen Cell Virus from honeybees by Reverse Transcriptase PCR. *Appl Env Microbiol* 67: 2384-2387
- Core A, Runckel C, Ivers J, Quock C, Siapno T, Denault S, Brown B, Derisi J, Smith CD, Hafernik J. 2012. A new threat to honey bees, the parasitic phorid fly *Apocephalus borealis*. *PLoS One* 7(1): e29639.
- Grabensteiner W, Ritter W, Carter MJ, Davison S, Pechacker 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: 93-104.
- 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.
- Jeon DM, Kim SH, Yook SY, Yeom NH, Do JY, Song SY, Heo EJ, Sin CH. 2013. Prevalence of honeybee (*Apis mellifera*) disease in Cheonan-Asan areas, Korea. *Korea. Korean J Vet Serv* 36: 147-150.
- Kim HK, Choi YS, Lee ML, Lee MY, Lee KG, Ahn NH. 2008. Detection of sacbrood virus (SBV) from the honeybee in Korea. *Korean J Apiculture* 23: 103-109.
- Kim YJ, Kim JH, Oh YH, Lee SJ, Son SK, Joung EY, Lee SJ, Lee SJ, Mon BC. 2016. Prevalence of honeybee (*Apis mellifera*) disease in Daejeon, Korea. *Korea. Korean J Vet Serv* 39(4): 253-258.
- Kojima Y, Toki T, Morimoto T, Yoshiyama M, Kimura K, Kadowaki T. 2011. Infestation of Japanese native honey bees by tracheal mite and virus from non-native European honey bees in Japan. *Microb Ecol*. 62(4): 895-906.
- Lee HM, Ha JS, Jo YH, Nam SH, Yoon BS. 2004. PCR detection method of *Ascosphaera 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 *Ascosphaera apis* causing chalkbrood disease in honeybee by real-time PCR. *Korean J Apiculture* 20: 109-116.
- Liu X, ZhangY, Yan X, Han R. 2010. Prevention of Chinese sacbrood virus infection in *Apis cerana* using RNA interference. *Curr Microbiol* 61: 422-428.
- Ouh IO, Do JC, Jeong TN, Cho MH, Kwak DM. 2013. Molecular detection of infectious pathogens in honeybee colonies reared in eastern Gyeongbuk province, Korea. *Korean J Vet Serv* 36: 37-44.
- Ribiere M, Triboulot C, Mathieu L, Aurieres C, Faucon JP, Pepin M. 2002. Molecular diagnostic of chronic bee paralysis virus infection. *Apidologie* 33: 339-351.
- Stoltz D, Shen XR, Boggis C, Sisson G. 1995. Molecular diagnosis of Kashmir bee virus infection. *J Api Res* 34: 153-160.
- Thu HT, Thi Kim Lien N, Thuy Linh M, Le TH, Hoa NT, Hong Thai P, Reddy KE, Yoo MS, Kim YH, Cho YS, Kang SW, Quyeu DV. 2016. Prevalence of bee viruses among *Apis cerana* populations in Vietnam. *J Apic Res* 55: 379-385.
- 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.
- Yoo MS, Yoon BS. 2009. Incidence of honeybee disease in Korea 2009. *Korea J Apiculture* 24: 273-278.