

< Original Article >

전북지역 꿀벌에서의 주요 병원체 검출

이수지* · 유 청 · 이희선
전라북도축산위생연구소 남부지소

Detection of infectious pathogens in honeybee in Jeonbuk province, Korea

Su-Ji Lee*, Cheong Yu, Hee-Seon Lee

South-Branch, Jeonbuk Institute of Livestock & Veterinary Research, Namwon 55725, Korea

(Received 21 April 2016; revised 13 July 2016; accepted 21 September 2016)

Abstract

The correct and quick diagnosis can be minimized damage from honeybee diseases. This study was carried out to detect infectious pathogens in honeybee in Jeonbuk province. 183 samples were collected from 8 area of Jeonbuk beekeeping farms in 2015 and 10 of infectious pathogens were examined through PCR and RT-PCR. Among 183 samples, positive rates of each disease were as follows; BQCV 43.7%, SBV 24.6%, DWV 16.4%, SB 15.8%, CB 10.4%, Nosemosis 7.1%, AFB 6.6%, EFB 1.1%, CBPV 1.1%, ABPV 0.0%. Among 28 beekeeping farms, 19 farms (67.9%) were infected with a complex of two or more diseases. The highest frequency of complex infections was BQCV.

Key words : Honeybee, PCR, RT-PCR, Pathogens, Complex infections

서 론

양봉산업은 벌꿀, 꽃가루(화분) 등의 꿀벌 산물뿐 아니라 생태계 보전 등의 다양한 공익적 가치를 가지고 있다(이 등, 2011). 꿀벌이 지구상에서 살아남을 수 없다면 인간이 생존을 유지하기 위한 식량 공급도 타격을 입게 될 것이며, 생물의 다양성조차 감소할 것이다. 이처럼 꿀벌과 우리들의 식량이 실로 밀접한 관련을 맺고 있으므로 양봉산업은 보호되어야 하며 그 중요성은 더없이 크다(로완 제이콥슨, 2009).

꿀벌에서 문제가 되는 질병들은 바이러스성, 세균성, 진균성 및 원충성 질병 등이 있다. 바이러스 질병의 원인체로는 급성꿀벌마비증(acute bee paralysis virus, ABPV), 만성꿀벌마비증(chronic bee paralysis virus, CBPV), 날개불구병(deformed wing virus, DWV), 여왕벌흑색병(black queen cell virus, BQCV), 캐스미

르꿀벌병(kashmir bee virus, KBV), 이스라엘 급성 마비병(israel acute paralysis virus, IAPV) 등이 있으며 2종 가축전염병인 낭충봉아부패병(sacbrood virus, SBV) 이 있다. 세균성으로는 3종 가축전염병으로 분류되어 있는 미국부저병(american foulbrood, AFB), 유럽부저병(european foulbrood, EFB) 등이 있으며, 진균성으로는 석고병(stone-brood, SB), 백묵병(chalk-brood, CB), 원충성은 노제마증(Nosemosis) 등이 있다(Jeon 등, 2013).

꿀벌은 수만의 개체가 좁은 장소에서 집단을 이루어 생활하기에 미생물이 서식하기에 적합한 환경을 제공함으로써 각종 질병 발생 가능성이 높으며(Morse, 1978), 바이러스 질병은 꿀벌에서 뚜렷한 징후가 없이 광범위하게 발생하면서 여러 바이러스에 복합 감염되는 특징들을 가진다(Chen 등, 2004). 따라서 정확하고 신속한 진단만이 꿀벌질병으로부터 농가피해를 최소화 할 수 있다.

특히 2010년 토종벌에서 낭충봉아부패병 발생을 시작으로 2009년 17천 농가 383천군의 사육규모가

*Corresponding author: Su-Ji Lee, Tel. +82-63-290-6599, Fax. +82-63-290-6598, E-mail. 1234sj@korea.kr

2014년말 농가수 82%, 사육군수 75%가 감소하였고, 전북 도내 토종벌 농가 또한 2010년에 사육군수의 98%가 피해를 본 바 있다.

따라서 본 조사에서는 꿀벌에서의 바이러스성, 세균성, 진균성 및 원충성 질병 감염률을 파악하여 전북지역 꿀벌농가에 대한 기초방역자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

공시재료

2015년 축산위생연구소에 의뢰된 남원시, 임실군, 완주군, 장수군, 전주시, 진안군, 순창군, 익산시 등 8개 시·군의 개량종(서양봉) 및 토종벌 농가를 대상으로 서양봉 7농가, 토종벌 21농가 총 28농가의 다자란벌(성봉) 81건과 애벌레(유충) 102건을 채취하여 실험을 실시하였다.

PCR 및 RT-PCR 검사

시료는 다자란벌(성봉) 및 애벌레(유충)를 구분하여 멸균 PBS를 사용하여 균질화한 후, 상층액 150 μ L

을 RNeasy mini kit (Qiagen, Germany)를 사용하여 제작사의 지침에 따라 DNA 및 RNA를 추출하였으며, Table 1에 따라 꿀벌질병 특이 primer를 제작하여 AFB, EFB, SB, CB, Nosemosis는 PCR을 SBV, ABPV, CBPV, DWV, BQCV는 RT-PCR을 실시하였다.

결 과

전북지역 28농가에서 채취한 다자란벌(성봉) 및 애벌레(유충)에 대해 검출된 꿀벌 병원체는 BQCV 43.7%, SBV 24.6%, DWV 16.4%, SB 15.8%, CB 10.4%, Nosemosis 7.1%, AFB 6.6%, EFB 1.1%, CBPV 1.1%, ABPV 0.0% 순으로 나타났다. 발육단계별 시료수는 애벌레 102건, 다자란벌 81건 이었다. 발육단계별 병원체는 애벌레에서 BQCV 27.5%, CB 15.7%, DWV 12.7%, SBV 10.8%, SB 5.9%, AFB 3.9%, CBPV 2.0%, Nosemosis 1.0%, EFB 0.0%, ABPV 0.0% 순으로 병원체가 검출되었다. 다자란벌에서는 BQCV 64.2%, SBV 42.0%, SB 28.4%, DWV 21.0%, Nosemosis 14.8%, AFB 9.9%, CB 3.7%, EFB 2.5%, ABPV 0.0%, CBPV 0.0% 순으로 병원체가 검출되었다(Table 2). 품종별 병원체 검출률은 서양봉에서 BQCV 75.8%, DWV 39.4%, SB 30.3%, SBV 24.2%, 토종벌은 BQCV

Table 1. Primer set for PCR and RT-PCR

Pathogens	Primer sequence (5'→3')	Annealing temperature (°C)	Size (bp)	Reference
AFB	F: GTGTTTCCTTCGGGAGACG R: CTCTAGGTCGGCTACGCATC	55	233	Lee et al, 2004
EFB	F: AAGAGTAACTGTTTTCTCG R: ACGCCTTAGAGATAAGGTTT	45	564	Ha et al, 2005
SB	F: ATCGGGCGGTGTTTCTATG R: ACCGGGCTATTTAAGGGCCG	55	312	Lee et al, 2004
CB	F: GGCTGTAGGGGGAACCAGGA R: CGGGTGGTTCGTTTCCAGCCTC	55	994	Lee et al, 2005
Nosemosis	F: CTGCCTGACGTAGACGCTAT R: CTTGATCCTCTAGCTTACG	50	592	Yoo et al, 2007
SBV	F: ACCAACCGATTCTCAGTAG R: CCTTGAACTCTGCTGTGTA	55	487	Grabensteiner et al, 2001
ABPV	F: TTATGTGTCCAGAGACTGTATCCA R: GCTCCTATTGCTCGGTTTTTCGGT	55	901	Benjeddou et al, 2001
CBPV	F: AGTTGTCATGGTTAACAGGATACGAG R: TCTAATCTTAGCACGAAAGCCGAG	55	455	Ribiere et al, 2002
DWV	F: TCATCTTCAACTCGGCTTTCTACG R: CGAATCATTTTCACGGGACG	55	479	Yoo et al, 2009
BQCV	F: TGGTCAGCTCCCACTACCTTAAAC R: GCAACAAGAAGAAACGTAAACCAC	55	701	Benjeddou et al, 2001

Table 2. Positive rate of honeybee disease in Jeonbuk province

Area	Farms	Samples	No. of positive (%)										
			AFB	EFB	SB	CB	Nosemosis	SBV	ABPV	CBPV	DWV	BQCV	
Namwon	7	Larvae	62	3		3	3	1	2			7	16
		Adult bees	8	3		3						2	4
Imsil	5	Larvae	9			1	3		1			3	1
		Adult bees	14	1		7	2	1	4			5	11
Wanju	5	Larvae	20			1	10		2		1	3	4
		Adult bees	6				1	2				2	1
Jangsu	5	Adult bees	37	1	2	7		5	23			4	24
Jeonju	3	Larvae	10						6		1		7
		Adult bees	10			1		2	6			1	9
Jinan	1	Adult bees	1			1			1				
Sunchang	1	Adult bees	2			1		1				2	
Iksan	1	Larvae	1	1		1							
		Adult bees	3	3		3		1				1	3
Total	28		183	12 (6.6)	2 (1.1)	29 (15.8)	19 (10.4)	13 (7.1)	45 (24.6)	0 (0.0)	2 (1.1)	30 (16.4)	80 (43.7)

Table 3. Positive rate of honeybee disease in Jeonbuk province according to breeds

Area	Farms	Samples	No. of positive (%)										
			AFB	EFB	SB	CB	Nosemosis	SBV	ABPV	CBPV	DWV	BQCV	
Honeybee	7	Larvae	9	1		1			2		1	2	6
		Adult bees	24	5		9		4	6			11	19
Native honeybee	21	Larvae	93	3		5	16	1	9		1	11	22
		Adult bees	57	3	2	14	3	8	28			6	33
Total	28		183	12 (6.6)	2 (1.1)	29 (15.8)	19 (10.4)	13 (7.1)	45 (24.6)	0 (0.0)	2 (1.1)	30 (16.4)	80 (43.7)

Table 4. Number of complex infections of honeybee disease in Jeonbuk province

Complexity of infection in farms (%)					
None	Single	Double	Triple	Quadruple	Quintuple
4 (14.3)	5 (17.9)	7 (25.0)	7 (25.0)	4 (14.3)	1 (3.6)

36.7%, SBV 24.7% 순으로 나타났다(Table 3). 복합감염률은 28농가 중 4농가(14.3%)는 질병에 감염되지 않은 것으로 나타났으나 1종 질병 감염 5농가(17.9%), 2종 7농가(25.0%), 3종 7농가(25.0%), 4종 4농가(14.3%), 5종 질병 감염 1농가(3.6%)순위로 나타났다. 10가지 질병 중 Black queen cell virus (BQCV)의 복합감염의 빈도가 가장 높은 것으로 나타났다(Table 4).

고찰

최근 꿀벌농가에서 가장 많은 피해를 주는 질병으

로는 토종벌에서 낭충봉아부패병, 서양봉은 부저병이라 말하지만 본 조사에서는 10가지 꿀벌 질병 중 BQCV 감염률이 43.7%로 가장 높게 나타났으나 실제로 BQCV 감염 후 면역력이 약해져 2차적으로 세균이나 진균 등으로 인한 많은 피해를 주는지에 대한 더 많은 조사가 이루어져야 한다. Ouh 등(2013)이 경북 동부지역에서 SBV가 66.7%, ABPV 0.0%, CBPV 0.0%의 감염률을 보고한 것과 유사하게 전북지역에서도 ABPV 0.0%, CBPV 1.1%의 낮은 감염률을 보였다. 또한 2014년 전북지역 토종벌에서 SBV 감염률은 다자란벌 75.0%, 애벌레(유충)는 46.2%로 보고(Shon 등, 2015) 되었으나, 이번 전북지역에서는 다자란벌

42.0%, 애벌레(유충)10.8%로 작년의 결과보다 낮은 수치를 나타내었다.

2006년 10월 미국에서 처음으로 꿀벌 벌집군집붕괴현상(colony collapse disorder, CCD)이 나타나기 시작하여 2007년까지 주로 이동 양봉장 중심으로 지역에 따라 25~40%의 꿀벌이 감소하였다고 한다. 이는 질병 및 해충, 주변 환경 등에 의한 복합적 작용에 의해 CCD가 나타난 것으로 보고 있지만, 결과적으로 CCD가 나타난 벌의 체내에서 여러 질병 병원균의 감염 수준이 높아진 것을 발견할 수 있어 면역력이 극도로 약화되어 있음을 시사하고 있다(이, 2008). 복합 감염 또한, Ouh 등(2013)이 2종 이상 감염을 62.5%이라고 보고하였지만 이번 조사에서도 67.9%로 유사한 결과를 보였다.

국내 양봉인의 질병상담은 양봉동호회(양봉인 동료)가 47.6%, 자가 치료는 89.2%로 조사되었는데(Chung 등, 2011), 무분별한 항생제의 남용으로 인한 문제가 대두되는 만큼 정확한 진단 후 치료가 이루어져야 할 것이다. 특히 꿀벌 특성상 한번 발생한 질병은 차단방역이 어려운 만큼 사전 감시점검이 지속적으로 이루어져야 할 것이며, 질병 발생 시 적극적인 대처와 방역대책이 강구되어야 할 것이다.

결 론

2015년 전북지역 8개 시·군의 서양봉 및 토종벌에서 10가지 꿀벌 병원체 검사 결과 BQCV 43.7%, SBV 24.6%, DWV 16.4%, SB 15.8%, CB 10.4%, Nosemosis 7.1%, AFB 6.6%, EFB 1.1%, CBPV 1.1%, ABPV 0.0% 순의 감염률을 나타내었다. 또한, 28농가 중 19농가(67.9%)에서 2종 이상의 질병에 복합 감염되어있었으며, Black queen cell virus (BQCV)의 복합 감염 빈도가 가장 높은 것으로 조사 되었다.

REFERENCES

로완 제이콥스. 에코리브르. 꿀벌없는 세상, 결실 없는 가을. 2009. 에코리브르.
이명렬. 꿀벌봉군 붕괴증상(CCD)의 특징 및 국내상황. 2008. 양봉협회보: 16-17.
이명렬, 우순옥, 홍인표, 한상미, 최용수. 2011. 꿀벌家の 가훈

과 꿀벌산업의 가치. 농촌진흥청.

- Benjeddou M, Leat N, Allsopp M, Davison S. 2001. Detection of acute bee paralysis virus and black queen cell virus from honey bees by reverse transcriptase PCR. *Appl Environ Microbiol* 67: 2384-2387.
- Chen Y, Zhao Y, Hammond J, Hsu H, Evans JD, Feldlaufer M. 2004. Multiple virus infections in the honey bee and genome divergence of honey bee viruses. *J Invertebr Pathol* 87: 84-93.
- Chung NK, Hwang IS, Park SG, Jeong GU. 2011. Survey of bee-keeper's consciousness for diagnosis and treatment on disease of honey-bees. *Korean J Vet Serv* 34: 81-86.
- Grabensteiner E, 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 honey bee (*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: 9-28.
- Jeon DM, Kim SH, Yook SY, Yeom NH, Do JY, Song SY, Heo EJ, Sin CH. 2013. Prevalence of honeybee (*Apis mellifera*) disease in Cheonam-Asan areas, Korea. *Korean J Vet Serv* 36: 147-150.
- Lee HM, Lee DB, Han SH, Nam SH, Lim YK, Yoon BS. 2005. Rapid identification of *Ascosphera apis* causing chalk-brood disease in honeybee by real-time PCR. *Korean J Apiculture* 20: 109-116.
- Lee HM, Ha JS, Jo YH, Nam SH, Yoon BS. 2004. PCR Detection method of *Ascosphera apis*, *Aspergillus flavus* for rapid identification of fungal disease in honeybee. *Korean J Apiculture* 19: 139-148.
- Morse RA. 1978. In Honey bee pests, predators, and diseases, ed. by Morse RA. pp. 430. Cornell Univ, Ithaca.
- Ouh IO, Do JC, Seo MG, 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.
- Shon KR, Kim JH, Chu KS, Lee JW. 2015. Monitoring os Sacbrood virus from Korean native honeybees in Jeonbuk province, Korea. *Korean J Vet Serv* 38: 57-59.
- Yoo MS, Lee DW, 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, Yoom BS. 2009. Incidence of honeybee disease in Korea. *Korean J Apiculture* 24: 273-278.