

꿀벌의 Nosema 病에 관한 研究

1. 原因體分離 및 感染實態調查

徐 明 得 金 昌 燮 姜 英 培 金 東 成

農村振興廳 家畜衛生研究所

緒 論

꿀벌의 疾病에는 여러가지가 있으나 近來에 이르러 우리나라 養蜂業界에는 이른바 “거는 병”이라 불려우는 泄瀉와 腸炎을 主症으로하며 斃死率이 높고 採蜜能力과 造巢能力의 低下와 女王蜂 斃死時에 supercedure 現象을 나타내는 Nosema 病 症狀에 發生하여 養蜂業界에 莫大한 損失을 超來하고 있다.

이에 著者등은 養蜂業을 保護育成하기 위한 學問的 뒷받침을 마련코자 本病에 對한 分布調查 및 防除試驗의 第一段階로 病因體인 Microsporida 에 속하는 *Nosema apis* 原虫胞子를 分離同定하고 感染實態를 調查하였기 이에 報告한다.

材料 및 方法

病因體의 分離 및 同定: 最初의 供試材料로는 油菜 期인 4월에 濟州道로 轉飼群集된 蜂場으로부터 無作爲 選定된 蜂群에서 採取된 일벌들이었다. 供試蜂의 消化器를 擠출하여 腫脹 및 變色된 程度를 觀察하였으며, slide glass 에 塗抹하여 coverslip 을 덮고 400× 顯微

鏡下에서 micrometer 를 使用하여 形態 및 크기를 觀察하였으며, 個體當 感染度測定은 L'arrivee¹⁵⁾ 方法에 따라 胞子數를 算出하였다.

人工感染 및 胞子回數試驗: 人工孵化시킨 약 1 주령된 일벌을 飼育蜂箱에 30마리씩 넣어 人工飼育하면서, 供試蜂으로부터 分離된 *N. apis* 胞子를 16×10^4 /ml 의 濃度로 糖蜜混合液(60% 糖液 1: 꿀 1)에 완전히 부유시켜 人工的으로 經口感染시킨 후 25°C 부란기에서 사육하면서 臨床症狀 및 斃死蜂數를 每日 調查하였으며, 感染 10일째와 15일째에는 蜂體內에서의 胞子增殖所見을 觀察하였다.

感染實態 調查: 1974년 4월부터 10월까지 各 蜜源을 찾아 轉飼集結된 56개 蜂場의 4,766개 蜂群을 對象으로, 各 蜂場別로 약 10%에 해당하는 455개 蜂群을 任意選定, 各 蜂群別로 10~20마리의 일벌을 採取하여 蜂群感染率과 蜂體感染率을 調查하고 蜂源에 따른 流蜜期別 感染實態를 調查하였다.

結 果

臨床症狀 및 病變: 野外에서의 *Nosema* 病에 感染된

Table 1. Average Life Span of Honey Bee Infected with *N. apis* Artificially

Treat.	Rep.	No. of Bee Tested	No. of Spore Infected	L ₅₀ Day	L ₁₀₀ Day
Colony Infected	1	30	16×10^4 Spores/ml	10	16
	2	30	16×10^4 Spores/ml	9	12
	3	30	16×10^3 Spores/ml	9	18
	4	30	16×10^4 Spores/ml	9	19
Control	1	30	—	21	32
	2	30	—	19	34
	3	30	—	24	31
	4	30	—	23	33

Table 2. Number of Spore Harvested in Bee Colony Infected with *N. apis* Artificially

Treat.	Rep.	No. of Bee tested	No. of Spore	Average No. of Spore Harvested/10 Bees (Spores/ml)	
				10th day after infection	15th day after infection
Colony Infected	1	30	16×10 ⁴ Spores/ml	236×10 ⁴	429×10 ⁴
	2	30	16×10 ⁴ Spores/ml	121×10 ⁴	403×10 ⁴
	3	30	16×10 ⁴ Spores/ml	215×10 ⁴	392×10 ⁴
	4	30	16×10 ⁴ Spores/ml	187×10 ⁴	365×10 ⁴
Control	1	30	—	—	—
	2	30	—	—	—

Table 3. Infection Rate in Bee Colony according to Honey Flow Period

Honey Flow	Honey Source	District	No. of Apicultural Station	No. of Bee Colony	No. of Colony Surveyed	No. of Colony Infected (%)
Apr.	Brassica napus	Cheju	19	1,331	130	25 (18.4%)
May	Robinia pseudoacacia	Gyeonggi & Cheonbug	8	576	55	8 (14.5%)
Jun.	Trifolium repens	Gyeonggi Cheonbug	9	1,096	99	15 (13.6%)
Jul.	Castanea crenata	Gyeonggi, Gangweon, Choongbug	7	570	46	3 (6.5%)
Aug.	Lespedeza bicolor	Gangweon	5	603	60	—
Sept. & Oct.	Fagopyrum resculentum & Perilla frutescens	Gyeonggi Gangweon	8	590	65	—
Total			56	4,766	455	51 (11.2%)

蜂群은 斃死率이 增加되어 점차 弱群(fair colony)으로 되며, 主된 臨床症狀으로는 포복 및 泄瀉가 일어나며 中腸(ventricles, midgut)은 유미백색을 띄우며 이완중장되었고, 糞의 停滯로 腹部는 팽만되며 特異한 惡臭를 나타내었다(사진 1). 또한 分離된 胞子를 未感染蜂에 人工感染시켰을 때에도 野外에서의 自然感染된 것과 같은 症狀을 나타냈으며, 人工飼育箱內에서의 人工感染된 일벌의 平均壽命을 比較해 본 結果, 半數致死日數(이하 L₅₀Day 라 略함)는 9.25일이었으며 全數致死日數(이하 L₁₀₀Day 라 略함)는 16.25일이었는데, 未感染對照群에 있어서는 L₅₀Day 21.75일, L₁₀₀Day 32.5일이었었다(表 1).

分離原虫胞子の 形態 및 크기 : 中腸으로부터 分離된 胞子の 形態는 사진 2와 같다. 平均 크기는 길이 4.7~6.1 μm, 폭 2.4~3.2 μm 의 계란형내지 둥근 누에 고치 모양이었는데, 未成熟된 胞子(sporoblast)는 完全成熟된 胞子(spore) 보다 더 둥글고 큰 형태이었으며 分裂中인 것을 볼 수도 있었었다.

人工感染蜂群에서의 胞子増殖所見 : 人工飼育箱에 30마리씩 넣고 分離된 胞子를 16×10⁴ spores/ml 의 濃度

로 人工感染시킨 結果, 胞子の 増殖所見은 表 2와 같다. 即, 感染 5일째 및 7일째에는 感染如否를 確認할 수는 있었으나 未熟胞子로서 形態가 一定치 않았다. 感染 10일째에는 人工感染時의 胞子濃度에 比하여 10배이상, 感染 20일째에는 20배이상의 數的增加를 보였다. 한편 人工感染시키는 胞子濃度を 높여 2~3代까지 繼代했을 때에는 1,000×10⁴ spores/ml 이상의 多量の 胞子를 回收할 수 있었다.(사진 3 참조)

流蜜期別 感染實態 : 流蜜期에 따른 *N. apis* 感染實態 調査成績은 表 3에서와 같이 총 455蜂群中 51蜂群이 感染되어 11.2%의 蜂群感染率을 나타냈는데, 유채꽃기(4월)가 18.4% (130群中 25群)로 가장 높은 感染率을 나타냈으며, 아카시아꽃기(5월)에는 14.5%(576群中 99群), 토끼꽃기(6월)에는 13.6%(1,096群中 99群), 밤꽃기(7월)에는 6.5%(570群中 46群)이었으며, 싸리꽃기(8월)와 메밀 들깨꽃기(9~10월)에는 感染蜂群이 檢出되지 않았다.

蜂體感染率과 感染胞子濃度 : 表 4에서 보는 바와 같이 蜂體別 感染率은 총 6,826마리의 可檢蜂中 274마리로 4.0%의 成績을 나타냈는데, 앞에서 서술한 蜂群感

Table 4. Infection Rate and Degree of Spores Infected in Honey Bee according to Honey Flow Period

Honey Flow	Honey Source	No. of Bee Surveyed	No. of Bee Infected(%)	*Degree a Spore Infected/Honey Bee		
				+	++	###
Apr.	Brassica napus	1,305	81 (6.2%)	24 (29.6%)	32 (39.6%)	25 (38.0%)
May	Robinia pseudoacacia	1,039	73 (7.0%)	29 (39.7%)	33 (45.2%)	11 (15.1%)
Jun.	Trifolium repens	1,286	108 (8.4%)	63 (58.2%)	37 (34.2%)	8 (7.6%)
Jul.	Castanea crenata	920	12 (1.3%)	12 (100.0%)	—	—
Aug.	Lespedeza bicolor	1,153	—	—	—	—
Sept. & Oct.	Fagopyrum esculentum & Perilla frutescens	1,124	—	—	—	—
Total		6,826	274 (4.0%)	128 (46.7%)	102 (37.2%)	44 (16.1%)

*+(Mild): $\sim 100 \times 10^4$, ++(Moderate): $101 \sim 996 \times 10^4$, ###(Severe): $1,000 \times 10^4 \sim$

染率과의 사이에는 어떠한 相關關係도 나타내지 않았다.

한편, 感染蜂 274마리에 대하여 感染孢子濃度別로 分析해 보면, 輕症感染(+; $\sim 100 \times 10^4$ spores/ml)이 128마리(46.7%), 中症感染(++; $101 \times 10^4 \sim 999 \times 10^4$ spores/ml)이 102마리(37.2%), 重症感染(###; $1,000 \times 10^4$ spores/ml)이 44마리(16.1%)이었는데, 蜂體別 感染孢子濃度와 症勢는 氣溫이 上昇함에 따라 점차 輕感되는 傾向을 나타냈다. 즉 感染孢子濃度は 流蜜期別 蜂群感染分布와 順(+)相關關係를 나타냈다.

考 察

꿀벌의 Nosema 病은 microsporida 에 속하는 *Nosema apis* (Zander 1909) 原虫의 孢子가 成蜂의 消化器 및 그 부속기관에 感染寄生하므로써 發病되는 寄生性傳染病으로 이의 分類學的 位置는 다음과 같다.

Classification

Phylum	Protozoa
Subphylum	Cnidospora
Class	Cnidosporidea
Order	Microsporida
Family	Microsporidae
Genus	Nosema
Species	<i>Nosema apis</i>

Nosema 속에 속하는 寄生虫의 種類에는 여러가지가 있지만, 大部分의 種이 무척추인 곤충에 寄生하는데, 그중 重要な 種으로는 벌에 寄生하는 *N. apis* (Zander 1909)와 누에에 寄生하는 *N. bombysis* (Nägeli 1857)를 들 수 있으며 이들은 모두 公衆衛生學的인 面의 重

要性보다는 産業과 直結되는 경제적 重要性이 크게 認定되고 있다. 6, 19, 22)

한편 Nosema 속에 속한 種中 몇 種類는 寄生虫에 寄生하는 寄生虫(hyperparasite)으로 알려져 있으며, 6, 19) 公衆衛生學的 重要性을 가진 것으로는 *N. cuniculi*를 들 수 있는데, 이것은 토끼와 쥐에 주로 寄生하지만 사람에게도 感染이 可能하며 一般적으로 뇌신경조직에 寄生하여 뇌열형 症狀을 나타낸다고 報告된 바 있다. 21, 22) 그러나 이들은 아직까지 우리나라에 있어서는 調査報告된 바 없으며, Nosema 속 寄生虫에 관한 報告로는 이 試驗報告가 最初이다.

이 調査研究에서 分離된 孢子는 形態가 뚜렷하여 꿀벌의 腸內容物 또는 組織等 異物과 쉽게 區別되며 顯微鏡下에서 反射光을 나타내기 때문에 孢子의 分離 또는 本寄生虫의 實驗室的 診斷에 있어서 染色하지 않고서도 鏡檢이 可能하였으며, 길이 $4.7 \sim 6.1 \mu\text{m}$ (평균 $5.3 \mu\text{m}$), 폭 $2.4 \sim 3.2 \mu\text{m}$ (평균 $2.9 \mu\text{m}$)의 계란형체지 둥근 누에 고치형이었는데, 이것은 Cheng⁶⁾의 報告($4 \sim 6 \times 2 \sim 4 \mu\text{m}$) 및 Wenyon²²⁾의 報告($4.6 \sim 6.4 \times 2.5 \sim 3.4 \mu\text{m}$)와 一致하며, 宿主에 따른 特異性, 宿主인 벌에서의 臨床症狀 및 病變, 分離된 孢子의 形態 및 크기 등으로 보아 *Nosema apis* (Zander 1909)로 同定되었다.

지금까지 알려진 Nosema 病 診斷을 위한 *N. apis* 孢子分離方法은 對象이 되는 蜂群으로부터 可檢蜂을 標本抽出하여 죽여서 解剖를 하는 課程을 겪게 되므로 꿀벌의 數的인 損失은 물론 感染率 調査에 있어서도 標本值로부터 母數를 推定하게 되므로 正確性이 높지 못하였으며, 1群當 1마리 밖에 없는 女王蜂을 檢査하기는 곤란한 일이었다. 그리하여 Wilson 과 Ellis²³⁾는 벌을 죽이지 않고 檢査하는 方法을 考案하였는데, 그것은 벌통주변에 유리판을 깔아놓고 거기에 落下되는 蜂糞

을 수거하여 孢子를 檢査하는 方法으로 벌의 數的인 損失없이 Nosema 病의 診斷을 쉽게 내릴 수 있는 方法이라고 했다.

한편, Moeller¹⁷⁾는 野外에서의 Nosema 症 診斷에는 蜂體感染 調査의 意義는 蜂群에 對한 全體的인 感染 調査의 意義보다 덜 重要한 것이라고 했는데 그것은 벌에 대한 飼養管理方法 및 벌의 先天的 習性上的 問題로 Nosema 病과 蜂群의 勢力形成과의 사이에는 密接한 關係가 있다고 主張했다. 本 試驗에 있어서는 L'arrivee¹⁵⁾方法에 따라 可檢蜂群別로 일벌 약 10~20마리씩을 任意로 標本抽出하여 slide glass 上에 中腸塗抹標本을 만들어 400× 顯微鏡下에서 觀察하여 孢子가 發見되는 것을 感染蜂으로 斷定하고 蜂體感染率을 調査하였으며, 可檢蜂中 感染群이 한마리라도 檢出되는 蜂群은 感染蜂群으로 認定하여 蜂群感染率을 調査하였다. 그리고 蜂體別 孢子感染程度를 파악하기 위해서는 感染蜂으로부터 採출된 中腸을 完全히 마쇄하여 各 마리당 生理的 食糧水 1ml 에 均等히 부유시켜 hemocytometer 로써 感染孢子數를 算出하였다. 위의 方法외에 Cantwell²⁾, Doull 과 Eckert⁸⁾ 등은 感染孢子數를 測定하는데 현미경 計數법, 희석법 등 몇가지 方法을 報告한 바 있다.

本 試驗에서 얻어진 結果에 의하면, 蜂體感染率은 총 6,826마리중 274마리가 感染되어 4.0%를 나타냈으며 蜂群感染率은 총 455蜂群中 51蜂群이 感染되어 11.2%를 나타냈는데 蜂群感染率의 消長은 越冬期가 지난 4월에 제주地域의 油菜薹 流蜜期에 130蜂群中 25蜂群이 感染되어 18.4%로 가장 높은 感染率을 보였으며, 氣溫이 上昇함에 따라 점차 減少하는 傾向을 나타내어 7월의 밤꽃 流蜜期에는 京畿, 江原, 忠北地域에서 調査된 46蜂群中 3蜂群만이 感染되어 6.5%의 낮은 感染率을 나타냈고, 8월~10월 사이의 싸리, 메밀, 들깨꽃 流蜜期에는 125蜂群 모두 未感染成績을 나타냈는바 이것은 本來 *N. apis* 孢子的 發育에 適當한 溫度가 25±2°C이며, 이보다 높은 溫度에서는 發育이 억제된다는 事實^{9-5, 10, 14)}과 越冬期蜂群에 感染率이 높다는 成績^{12, 14, 15, 17, 18)} 그리고 營養狀態와 關聯되어 꿀벌의 生理的 條件(Physiological condition)과 密接한 關係를 갖는다는 報告^{8, 20)}와 一致하는 것이었다.

한편 아직까지 *N. apis* 孢자를 繼代할 수 있는 培地는 開發되어 있지 못하므로 부득이 蜂群에 直接 또는 間接으로 人工感染시켜 繼代하여야 하는데 Furgala와 Maunder¹³⁾는 Mass feeding method, Cup feeding method, 그리고 Pipetting feeding method 등을 考案

하여 比較試驗 하였는데, 本 試驗에서는 Cup feeding method로 30마리씩 4번복군에서 16×10⁴spores/ml 濃度로 人工感染 시켰을 때, 感染 10일후에 121×10⁴~236×10⁴spores/ml, 感染 15일후에 365×10⁴~429×10⁴spores/ml 濃度の 1代 繼代孢자를 再分離할 수 있었다.

Cantwell과 Shimanuki⁴⁾는 꿀벌에서의 Nosema 病 感染으로 因한 被害를 壽命短縮, 造巢能力 低下, 女王蜂 交替(Supersedure¹¹⁾), 蜜 生産能力 減少, 越冬期損失 增大 등으로 報告한 바 있으며, Moeller¹⁷⁾는 流蜜期에 있어서 感染初期의 벌들은 전형적인 포복증상(Crawling)이 발현된다고 報告했는데, 本 試驗에서도 自然 感染 및 人工感染蜂群에 對한 臨床病變 觀察 結果 포복증상을 確認할 수 있었다. 이것은 이른바 “기는 병”으로 알려진 疾病이 Nosema 病이라는 것을 *N. apis* 分離와 더불어 確認할 수 있었다.

한편, Foote¹⁰⁾는 꿀벌 Nosema 病의 病變은 mid gut 뿐만 아니라 Malpighian tubule에서도 發生될 수 있다고 報告하였는데 本 試驗에서도 Malpighian tubule에 *N. apis*가 寄生된 例를 發見할 수 있었다.(사진 4 참조)

Burnside와 Revell¹⁾은 感染蜂의 生存期間은 正常蜂에 比하여 10~40% 短縮 된다고 報告했으며, Moeller¹⁷⁾는 50%가 短縮된다고 報告했다. 한편, Revell²⁰⁾은 일벌의 平均壽命은 流蜜期의 使役條件에서와 越冬期の 休止狀態에서 서로 差異가 많이 나지만 平均적으로 壽命을 1~3개월이라고 推定했을 때, 感染蜂은 약 11~27일간 短산다고 報告했다. 이와 같은 報告들은 本 試驗에서 感染群의 L₅₀Day가 9~10일, L₁₀₀Day가 12~19일 對照群의 L₅₀Day가 19~24일, L₁₀₀Day가 31~34일이라는 成績과 거의 一致되는 것을 볼 수 있다. 한편, L'arrivee¹⁵⁾는 感染女王蜂은 健康女王蜂에 比하여 30~75%의 生存期間밖에 살 수 없다고 報告하기도 했다.

꿀벌 Nosema 病의 感染實態에 關하여는 美國에서의 地域別 검색에서 Furgala와 Hyser¹²⁾, L'arrivee¹⁵⁾ 등의 全群完全感染報告 Dietz⁷⁾, Foote⁹⁾, Moeller¹⁷⁾ 등의 高度의 感染率報告등에 比하면 尙금 우리나라의 感染實態調査成績 11.2%는 다행히 낮은 편이다. 그러나 꿀벌은 習性上 群居生活를 하며 좁은 地域에서 同一蜜源을 利用하게되므로 本病의 急速한 전파로 인한 폭발적인 發生이 우려되며 아직까지 우리나라의 경제실정에 알맞는 治療대책이 구명되어 있지 못하므로 本病이 더 확산되기 전에 防疫對策이 이루어져야 하겠으며 아울러 外國에서 들여오는 種蜂에 對한 철저한 檢疫對策

이 강구되어야 할 것이다.

結 論

꿀벌의 *Nosema* 病을 일으키는 *Nosema apis* 를分離 同定하였으며 人工感染試驗 및 流蜜期別 自然感染實態를 調査한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 우리나라의 꿀벌에서 속칭 “기는 병”이라 불리는 것은 포복, 하리, 장염을 主症으로 하는 疾病으로부터 原因體를 分離한 바 Microsporida 에 속하는 *Nosema apis* (Zander 1909)로 同定되었다.

2. 1974년 4월부터 10월까지 56개 蜂場의 4,766 蜂群을 對象으로 455 蜂群을 任意選擇하여 검색해 본 結果 51 蜂群(11.2%)이 感染蜂群으로 나타났다.

3. 調査期間中 感染實態를 流蜜期別로 分析해 본 結果 油菜꽃期(4월)가 18.4%(25/130)로 가장 높았으며, 아카시아꽃期(5월) 14.5% (8/55), 토끼풀꽃期(6월) 113.6% (15/99), 밤꽃期(7월) 6.5% (3/46)로 一般적으로 氣溫이 上昇함에 따라 感染率은 낮아지는 傾向을 보였으며, 싸리꽃期(8월), 메밀, 들깨꽃期(9월, 10월)에는 125군 모두 未感染으로 나타났다.

4. 分離된 孢子를 人工飼養 蜂群에 16×10^4 spores/ml의 濃度로 經口感染시켰을 때 約 10일후에 *Nosema* 病의 전형적인 臨床所見들을 보였으며, 完全히 成熟된 孢子를 $121 \times 10^4 \sim 236 \times 10^4$ spores/ml(10일후), $365 \times 10^4 \sim 429 \times 10^4$ spores/ml(15일후)의 濃度로서 再分離할 수 있었다.

Legends for Figures

Fig. 1. Autoptical views of normal and infected honey bees.

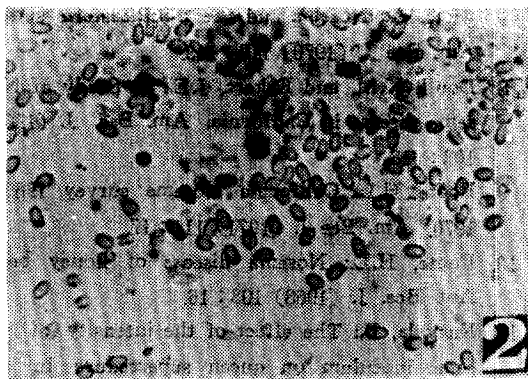
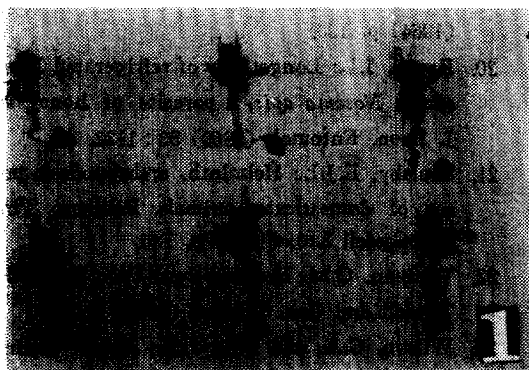
Upper: Normal honey bees and their ventricles.

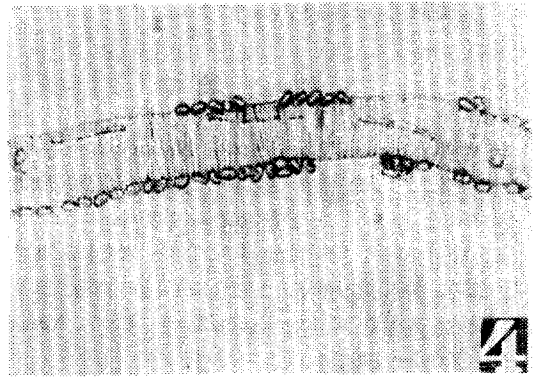
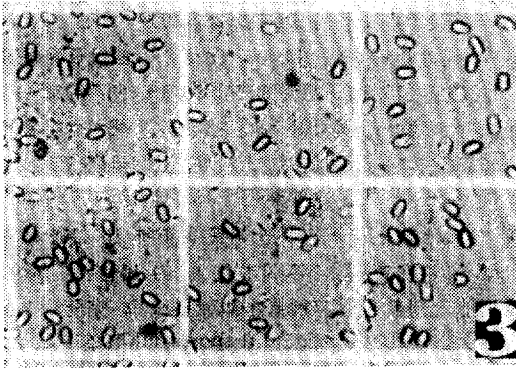
Lower: Abnormal honey bees and their ventricles infected with *Nosema apis*

Fig. 2. A microscopical view of honey infection with fresh spores of *N. apis*, an intestinal parasite of honey bee. Some cells still completely filled with *N. apis* spores are faintly visible. (400 \times , Not stained)

Fig. 3. A partial view of hemocytometer containing *N. apis* spores. (It was counted as $1,126 \times 10^4$ spores/ml)

Fig. 4. A pathological view of Malpighian tubule infected with *N. apis* spores. Note the arrangement that they located in border of the tubule.





参考文献

1. Burnside, C.E. and Revell, I.L.: Observations on Nosema disease of honeybees. J. Econ. Entomol. (1948) 41 : 603.
2. Cantwell, G.E.: Standard methods for counting Nosema spores. Am. Bee J. (1970) 110 : 222.
3. Cantwell, G.E. and Lehnert, T.: Mortality of *Nosema apis*. Am. Bee J. (1968) 108 : 56.
4. Cantwell, G.E. and Shimanuki, H.: Heat treatment as a means of eliminating Nosema and increasing production. Am. Bee J. (1969) 109 : 52.
5. Cantwell, G.E. and Shimanuki, H.: The use of heat to control Nosema and increase production for the commercial beekeeper. Am. Bee J. (1970) 110 : 263.
6. Cheng, T.C.: The biology of animal parasites. Saurders Co., Philadelphia and London (1964) p. 141.
7. Dietz, A.: Nosema and the Southeastern states. Am. Bee J. (1970) 110 : 143.
8. Doull, K.M. and Eckert, J.E.: A Study of Nosema disease in California. Am. Bee. J. (1963) 103 : 418.
9. Foote, H.L.: California Nosema survey 1969~1970. Am. Bee J. (1971) 111 : 17.
10. Foote, H.L.: Nosema disease of honey bees. Am. Bee. J. (1968) 108 : 16.
11. Furgala, B.: The effect of the intensity of Nosema inoculum on queen supercedure in the honey bee, *Apis mellifera* Linnaeus. J. Insect Pathol. (1962) 4 : 429.
12. Furgala, B. and Hyser, R.A.: Minnesota Nosema survey. Distribution and levels of infection on wintering apiaries. Am. Bee J. (1969) 109 : 460.
13. Furgala, B. and Maunder, M.J.: A simple method of feeding *Nosema apis* inoculum to individual honey bees. Bee World (1961) 42 : 249.
14. Hitchcock, J.D.: Nosema infections in honey bees at different humidities. Am. Bee J. (1970) 110 : 180.
15. L'arrivee, J.C.M.: Source of Nosema infections. Am. Bee J. (1965) 105 : 246.
16. L'arrivee, J.C.M.: Tolerance of honey bees to Nosema diseases. J. Invert. Path.(1965) 7 : 408.
17. Moeller, F.E.: Nosema disease control in package bees. Am. Bee J. (1962) 102 : 390.
18. Moeller, F.E.: The behavior of Nosema infected bees affecting their position in the winter cluster. Am. Bee J. (1964) 104 : 214.
19. Noble, E.R. and Noble, G.A.: Parasitology, The biology of animal parasites. 2ed. Lea & Febiger. (1964) p. 138.
20. Revell, I.L.: Longevity of refrigerated Nosema spores *Nosema apis*, a parasite of honey bees. J. Econ. Entomol. (1960) 53 : 1132.
21. Soulsby, E.J.L.: Helminth, arthropods & protozoa of domesticated animals. Bailliere, Tindall and Cassell Ltd. (1968) p. 746.
22. Wenyon, C.M.: Protozoology. Vol. I. Bailliere, Tindall and Cox. London (1926) p. 740.
23. Wilson, C.A. and Ellis, L.L.: A new technique for the detection of Nosema in Apiaries. Am. Bee J. (1966) 106 : 131.

Studies on Nosema Disease of Honey Bees

1. Isolation of *Nosema apis* and a Survey of Nosema Disease in Honey Bees

Myung Deuk Suh, D.V.M., M.S., Chang Sup Kim, D.V.M., M.P.H.,
Yung Bai Kang, D.V.M. and Dong Sung Kim, D.V.M., Ph. D.

Institute of Veterinary Research, Office of Rural Development

Abstract

The experiments were conducted to isolate the etiological agent and to survey the distribution of Nosema disease in honey bees. The results obtained were as follows:

1. The etiological agent of the so-called "crawling disease" in honey bees characterized by the symptoms of crawling, diarrhea, and enteritis etc. was first isolated and identified with *Nosema apis* (Zander 1909) in Korea.

2. 455 colonies were randomly sampled and surveyed in 4,766 bee colonies out of 56 apiaries and 51 colonies (11.2%) out of 455 bee colonies were infected with *N. apis*.

3. Infection rates according to the period of honeyflow as follows:

Brassica napus (Apr.):	25/130 colonies (18.4%)
Robinia pseudoacacia (May):	8/55 colonies (14.%)
Trifolium repens(Jun.):	15/99 colonies (13.6%)
Castanea crenata (Jul.):	3/46 colonies (6.5%)
Lespedeza bicolor(Aug.):	0/60 colonies (—)
Fagopyrum esculentum(Sept.) & Perilla frutescens(Oct.):	0/65 colonies (—)

4. The typical clinical signs of Nosema disease were appeared on 10th day after *N. apis* was orally administered with the level of 16×10^4 spores/ml to the healthy adult bees. Spores could be harvested with the level of $121 \sim 236 \times 10^4$ spores/ml on 10th day and $392 \sim 429 \times 10^4$ spores/ml on 15 days after infection.

5. In adult honey bees infected with *N. apis* artificially the 50% lethal day of life-span was 9 to 10 days and 100% lethal day was 16 to 19 days. However, in the control 50% lethal day was 19 to 23 days and 100% lethal day was 31 to 33 days.