

울금 추출물 처리에 의한 꿀벌 노제마 포자 증식 억제 효과

김혜경 · 변규호 · 강은진 · 이명렬 · 이경용 · 최용수*

농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부

Effect of Ulgeum (*Curcuma longa* L.) Extract on the Suppression of Nosema Spore Propagation of Infected Honeybee, *Apis mellifera*

Hye-Kyung Kim, Kyu Ho Byeon, En Jin Kang, Myeong-Lyeol Lee, Kyeong Yong Lee and Yong-Soo Choi*

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju, Republic of Korea

(Received 27 October 2016; Revised 23 November 2016; Accepted 25 November 2016)

Abstract

Nosema disease in honeybees is caused by the microsporidian parasites *Nosema apis* and *Nosema ceranae*. Between the two, *N. ceranae* has been reported as an important threat to honey bee health. Our objective was to evaluate the effectiveness of ulgeum (*Curcuma longa* L.) extract for the control of *N. ceranae* in honeybees. In our study, ulgeum was extracted with methanol. A worker bee infected with *N. ceranae* spore was dosed and fed with ulgeum extracts at different concentrations (0%, 0.1%, 0.25%, 0.5%, and 1%). The number of spores in 20 days significantly decreased when 0.5% ulgeum extract was administered. Moreover, the ulgeum extract was not toxic to bees at less than 1%. The data suggest that turmeric could be useful in alternative strategies for the control of *N. ceranae*.

Key words: Honey bee, *Apis mellifera*, Nosema disease, *Nosema ceranae*, Ulgeum, *Curcuma longa* L.

서 론

꿀벌 노제마병은 꿀벌에서 발생하는 미포자충류(microsporidia)에 의한 질병으로(Sina *et al.*, 2005), 꿀벌 먹이에 미포자충류인 노제마 포자가 섞여 들어가 이를 섭취함으로써 발생한다(Chen *et al.*, 2008; Webster *et al.*, 2004). 노제마병에 걸린 일벌의, 중장을 분리하여 현미경으로 관찰하면(×400) 쌀알모양의 노제마 포

자를 확인할 수 있는데, 이에 대한 증상으로는 소화 장애를 겪게 되는 일벌이 묽은 변을 보거나 잘 날지 못하고 소문 앞을 기어 다니기도 한다. 일벌이 노제마병에 감염되면 꿀 생산, 화분매개가 감소하고, 수명이 단축되며, 여왕벌이 산란하지 않아 봉군이 감소한다. 꿀벌 노제마병은 지금까지 꿀벌의 성충에만 기생하는 성충 질병으로 알려져 왔다. 그러나 최근 연구 결과에 의하면 꿀벌 유충기에도 노제마 포자에 의한 감

*Corresponding author. E-mail: beechoi@korea.kr

염이 일어나며, 이는 성충기에 발생하는 감염보다 일벌의 수명을 더욱 단축시키는 것으로 보고되고 있다(Eiri *et al.*, 2015). 흥미로운 것은 일벌이 꿀벌 노제마병에 감염되면, 꿀벌 연령에 맞게 분업화 되어 있는 역할이 연령에 맞지 않게 가속화되어 어린 꿀벌이 채집과 같은 행동을 하게 되는데, 이러한 행동은 꿀벌의 행동 면역 및 수명과 관련되어 있는 것으로 보고되었다(Lecocq *et al.*, 2016). 지금까지 분리·동정된 꿀벌의 미포자충류는 *Nosema apis*와 *N. ceranae* (Fries, 1988; Toan *et al.*, 2014)인데, 그 중 *N. ceranae*는 *N. apis*에 비해 감염력 및 치사율이 높아 꿀벌에 더 큰 피해를 일으키는 것으로 알려져 있다(Paxton *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2008).

*N. ceranae*는 서양종 및 동양종 꿀벌에서 발견된 이래 현재 전 세계적으로 꿀벌에 위협을 가하는 주요한 질병 중 하나로 인식되고 있다(Medici *et al.*, 2012; Martín-Hernández *et al.*, 2012). 꿀벌 노제마병 발생현황을 살펴보면, Mussen 등(1975)은 미대륙의 43개 양봉장 중 66%가 노제마병에 감염되어 있다고 보고하였으며, Li 등(2012)은 중국 19개 지방 중 남부지방에서 50.3%, 북부지방에서 40%의 꿀벌이 노제마에 감염되었다고 밝혔다. 꿀벌 노제마병 국내 발생현황에 대한 연구 또한 여러 연구자에 의해 이루어지고 있다. 그 중 이 등(2003)은 2002년 전국 18개 양봉농가 중 56%의 농가에서 꿀벌 노제마 포자가 검출된 것으로 조사되었으며, 2007년 최 등(2008)은 전국 27개 양봉농가 중 44%가 꿀벌 노제마병에 감염되었다고 보고하였다. 그러나 홍 등(2013)은 2013년 아까시나무 개화기 전국 16개 양봉 농가 중 15개의 농가가에서 노제마 포자가 검출되어 94%의 노제마 감염률을 보이는 것으로 확인되어, 꿀벌 노제마병이 전국적으로 만연될 수 있는 가능성을 시사하기도 하였다.

현재 우리나라를 비롯해 전 세계적으로 꿀벌 노제마병의 방제에 사용되는 약제는 푸마질린(fumagillin)을 함유한 제품이 유일하다(Williams *et al.*, 2008). 그러나 최근 푸마질린(fumagillin)은 벌꿀 내 잔류되어 인체에 독성을 일으킬 수 있는 가능성으로 인해 유럽 등의 나라에서는 이의 사용을 전면금지하고 있어, 이를 대체할 수 있는 천연물 약제 개발이 매우 시급한 상황이다. 이와 관련된 연구로는 꿀벌 원충에 작용하여 방

제 효과를 가져 올수 있는 항진균제(Liu and Myrick, 1988) 및 길항미생물제(Porrini *et al.*, 2010)가 있으며, 티몰(Maistrello *et al.*, 2008)을 비롯해 다양한 식물 추출물(Pohorecka, 2004)을 이용한 방제 등에 관한 연구가 이루어지고 있으나, 현재까지는 가시적인 효과를 거두지 못하고 있는 실정이다. 이에 본 연구에서는 항균 및 항암 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있는 울금 추출물을 꿀벌 노제마 원충 방제에 이용하여 그 효과를 검증하고자 하였다. 울금(*Ulgeum*, *Curcuma longa* L.)은 생강과(Zingiberaceae)에 속하는 다년생 초본 식물로 열대아시아 및 인도, 중국 남부를 원산지로 하고 있으며, 항균 및 항암 기능이 우수한 것으로 잘 알려져 있다(Apisariyakul *et al.*, 1995; Khattak *et al.*, 2005; Ryn *et al.*, 2005; 김 등, 2013; Oh *et al.*, 2010). 울금의 주요 성분은 탄수화물(69.4%)을 비롯해, turmerone 등의 정유 성분, curcuminoids와 단백질 등으로 구성되어 있으며(Andrew and Matthew, 2000; Choi, 2009), curcumin을 비롯한 다양한 curcuminoids를 다량 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(Geoffrey *et al.*, 1998; Yoon and Choi, 2011). 그러나 지금까지 울금은 꿀벌 노제마병을 비롯한 노제마 원충 방제에 활용된 사례는 없었다. 본 연구에서는 꿀벌 노제마병에 대한 울금 추출물의 방제 효과를 밝히고 이를 통한 꿀벌 노제마병 방제제 개발에 대한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

추출물 제조

울금(*Ulgeum*, *Curcuma longa* L.)은 한약재시장(www.hanyakjae.net)에서 건조 상태의 것을 구입하여 분쇄기(대성파워 믹서/분쇄기 DA-280G, Seoul, Korea)로 분쇄한 다음 사용 하였다. 건조 시료 500g에 10배(w/v)의 methanol(Mallinckrodt Baker Inc., Philipsburg, MT, USA)을 첨가하여 24시간 동안 정치하는 방법으로 3회 반복 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman No. 3, Whatman International Ltd., Maidstone, England)로 여과한 다음 rotary evaporator(UT-1000, EYELA, Tokyo, Japan)을 이용해 55°C에서 농축한 후 동결 건조하였

으며, 이로부터 58.8g의 추출물을 얻어 실험에 사용하였다.

노제마 포자 분리 및 동정

노제마 포자는 일벌의 중장을 해부하여 분리하였다. 먼저 핀셋으로 채집한 일벌의 중장을 분리한 뒤 막자사발을 이용해 PBS 5ml과 함께 마쇄하였다. 마쇄된 현탁액은 여과지(Whatman No. 1, Whatman International Ltd., Maidstone, England)로 여과하여 일벌의 조직 및 오염물질을 제거하였다. 회수한 여과액은 12,000g에서 10분간 원심분리하여 노제마 포자를 침전시킨 후 상등액을 제거하고, 침전물은 PBS 200 μ l에 재 현탁하였다(Vidau *et al.*, 2011). 현미경 관찰을 위하여 포자 현탁액 10 μ l를 혈구계수기(Superior, Marienfeld, Germany)에 넣고 2~3분 기다린 후 광학현미경(DM2500, Leica)을 이용해($\times 400$) 쌀알모양의 노제마 포자(2.3~3 μ m \times 4.4~5.0 μ m)를 Cantwell의 분석법을 이용해 포자수를 계산하였다. 노제마 균주 동정은 꿀벌에서 분리한 중장의 genomic DNA를 추출하여 PCR을 통해 확인하였다. *N. ceranae* 진단용 primer (F: CGGATAAAAGAGTCCGTTACC, R: TGAGCAGG GTTCTAGGGAT) 및 *N. Apis* 진단용 primer (F: CCAT TGCCGGATAAGAGAGT, R: CCACCAAAAA CTCCC AAGAG) (Chen *et al.*, 2008)를 이용하여 PCR하였다.

일벌 선발

꿀벌 노제마 포자 감염 실험은 Vidau 등(2011)의 방법을 변형하여 꿀벌 노제마 포자를 일벌에 먹이는 방법을 통해 수행되었다. 먼저 농촌진흥청 국립농업과학원 실험 양봉장에서 연중 계대 사육 중인 서양종꿀벌(*A. mellifera*) 중 다른 질병에 의한 감염증상을 보이지 않는 봉군을 선택하여, 일벌 10 마리씩을 봉군별로 채집하였다. 채집한 일벌은 중장을 분리하여 노제마 포자 감염 여부를 조사하였으며, 이를 통해 노제마 포자가 검출되지 않은 봉군을 선발하였다. 이와 동시에 노제마 포자가 많이 검출되는 시료는 별도로 PCR 진단을 통해 *N. ceranae*인지 여부를 동정하고, 남은 시료는 냉장보관 하였다. 감염실험에 사용할 갓 태어난 어린 일벌(emerged bee)은 노제마 포자에 감염되지 않은

것으로 확인된 봉군으로부터 확보하였으며, 유봉 50 마리씩을 실험용 케이지에 담고 3시간동안 먹이를 공급하지 않았다. 그 이후 냉장 보관되어 있는 노제마 포자 시료를 계수하여 일벌 개체 당 $1 \times 10^4/2\mu$ l가 되도록 계산한 후 50% 설탕물로 희석하여 케이지 내의 일벌에 먹여 꿀벌 노제마 감염을 유도 하였다. 본 연구에서는 최종적으로 6마리의 일벌에서 분리한 노제마 포자를 섞어 실험에 사용하였다.

추출물 처리

울금에 의한 꿀벌 노제마 포자 저감효과를 확인하기 위해, *N. ceranae* 포자를 감염시킨 일벌에 0%, 0.1%, 0.25%, 0.5%, 1%의 울금 추출물을 50% 당액(sugar syrup)에 섞어 20일간 투여하였다. 노제마 포자 발생량은 처리 후 5일, 10일, 15일에 처리구별로 일벌 5마리씩을 무작위로 채취하여 노제마 포자수를 조사하였으며, 이를 평균으로 나타내었다. 농도별 울금 추출물에 의한 일벌의 생존률은 일자별로 죽는 개체수를 조사하여 백분율로 나타내었으며, 각각의 실험은 3번 반복 수행하였다.

통계처리

모든 실험 결과는 3회 반복 수행된 평균값이며, 각 실험결과에 대한 통계분석은 이원배치분산분석(two-way ANOVA)법을 이용하여 유의성을 검정하였고, 각 실험 군간의 유의적 차이는 Tukey's HSD test로 사후 분석 하였다($p < 0.05$). 수행된 모든 통계분석은 SPSS program(Ver. 18.0, Chicago, IL, USA)을 이용하였다.

결과 및 고찰

N. ceranae 포자 *in vivo* 감염에 의한 꿀벌 노제마 발생량 조사

N. ceranae 포자 *in vivo* 감염에 의한 꿀벌 노제마 발생량을 조사하기 위해, 본 연구에서는 *N. ceranae* 포자를 감염시킨 시험구와(*N. ceranae*-infected)와 감염시키지 않은 시험구(Uninfected)로 나누어 시험에 사용하

였다(Table 1). 결과에 따르면, *N. ceranae* 포자를 감염시킨 시험구의 노제마 포자수는 시험이 시작 된지 10일, 15일, 20일이 경과함에 따라 각각 167×10^4 , 883×10^4 , $2,817 \times 10^4$ 로 그 수가 급격히 증가하는 것을 관찰할 수 있었다, 반면, *N. ceranae* 포자를 감염시키지 않은 시험구의 경우 시험이 시작 된지 10일, 15일, 20일이 경과함에 따라 각각 23×10^4 , 278×10^4 , 372×10^4 의 포자가 검출되어, *N. ceranae* 포자를 감염시킨 시험구에 비해 약 13.2%(20 day)의 비교적 낮은 발생률을 보였다. 이 결과는 앞선 연구결과(김 등, 2015)와 비교했을 때, 다소 다른 양상을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 앞선 연구에서는 *N. ceranae* 포자를 감염시킨 시험구의 감염률은 감염 16일 이후 40~56%를 나타내었으나, *N. ceranae* 포자를 감염시키지 않은 시험구에서는 전혀 노제마 포자가 관찰 되지 않았다. 그 이유는 실험 설계 단계에서 차이가 났다. 먼저 앞선 연구에서는 실험용 일벌 선별 시 인큐베이터 내에 봉판(brood)을 넣고 우화시킨 뒤 태어나는 일벌을 사용하였으나, 본 연구에서는 조금 더 성숙한 어린벌을 실험에 사용함으로써 기타 외부 요인에 의해 죽는 개체수를 줄이고자 하였다. 때문에 벌통 내에서 이미 노제마 포자에 일부 노출된 개체를 실험에 사용하였으나, 노제마 발생률은 노제마 포자를 먹인 시험구 대비 약 13.2%로 현저히 낮은 것으로 확인되어 본 연구의 실험 설계는 잘 이루어 졌다고 판단된다.

농도별 울금 추출물에 의한 노제마 병 방제 효과 검증

농도별 울금 추출물을 일벌에 투여한 경우 일벌 개체 당 가장 높은 노제마 감염을 일으킨 처리구는 울금을 전혀 투여하지 않은 시험구(0%)로 10일, 15일, 20일 일벌 시료를 채취하여 조사한 결과 각각 167×10^4 , 883×10^4 , $2,817 \times 10^4$ 의 노제마 포자가 검출되었으며, 통계적 유의성은 있는 것으로 확인되었다(two-way ANOVA test $F_{(8)}=3.793$, $p=0.004$). 울금 추출물을 함유한 처리구 중 가장 높은 노제마 포자 감염을 일으킨 처리구는 0.25% 울금 추출물을 투여한 처리구이다. 처리구의 10일, 15일, 20일 일벌 시료를 채취하여 조사한 결과 각각 52×10^4 , 296×10^4 , 855×10^4 의 노제마

포자가 검출되어 울금을 처리하지 않은 시험구 대비 30% 노제마 감염율을 보이는 것으로 확인할 수 있었다(20 day). 반면 농도별 울금 추출물을 투여한 처리구 중 일벌 개체 당 가장 낮은 노제마 감염을 일으킨 것은 0.5% 울금 추출물을 투여한 처리구이며, 일자별로 각각 7.8×10^4 , 263×10^4 , 210×10^4 의 노제마 포자가 검출되어 울금을 처리하지 않은 시험구 대비 7.5%의 감염율을 보이는 것으로 확인되었다(20 day). 이 결과에 의하면, 가장 높은 농도인 1% 울금 추출물을 처리 하였을 때에 비해 오히려 낮은 0.5% 울금 추출물을 처리 하였을 때 꿀벌 노제마 발생이 더욱 억제되는 것으로 확인되었지만, 이는 거의 유사한 수준의 효과를 보이고 있을 뿐만 아니라 통계적인 유의성 또한 확인되지 않았다.

현재까지 천연 화합물을 이용한 꿀벌 노제마병 방제 연구는 다양하게 이루어지고 있다. Maistrello 등 (2008)은 티몰(Thymol)을 이용해 꿀벌 노제마 방제효과를 확인하였다. 결과에 의하면, 티몰 처리 후 19일과 25일에 각각 29.8×10^6 , 20.2×10^6 의 노제마 포자가 관찰되어, 대조군 대비 각각 44%, 8.8%의 포자수가 검출되는 것으로 확인 되었다. 본 연구결과에서는 0.5% 울금 추출물을 처리한 경우 20일에 대조군 대비 7.5% 감염률을 보였으나 노제마 포자 증가 추이로 보았을 때 20일 이후에는 감염률이 더 낮아질 것으로 판단되어 티몰에 비해 꿀벌노제마 방제 효율이 우수할 것으로 여겨진다. 앞선 연구결과에서는(김 등, 2015) 동충하초 자실체 추출물 및 폐배지 추출물에 의한 꿀벌 노제마 방제 효과를 확인하였다. 결과에 의하면, 10% 동충하초 자실체 및 동충하초 폐배지 추출물 처리 후 20일째, 꿀벌 노제마 감염률은 대조군 대비 각각 7.1%와 2.2%로 상당히 높은 방제 효율을 보였으나, 1% 동충하초 자실체 및 폐배지 추출물을 처리한 경우 15일째 20% 이상의 꿀벌 노제마 감염률을 보이는 것으로 확인 되었다. 그러나 본 연구결과에서는 이보다 낮은 0.5% 울금 추출물을 처리 했을 때 7.5%의 노제마 감염율을 보이는 것으로 확인 되어, 동충하초 자실체 및 배지 추출물에 비해 낮은 농도에서도 효과적으로 꿀벌 노제마 발생을 억제하는 것으로 판단된다.

Table 1. The effect of *N. ceranae* treatment upon the mean number of midgut spores between *N. ceranae* infected and uninfected

Treatment	Average number of Nosema spores per bee					
	10 days		15 days		20 days	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Uninfected	225,000	225,000	2,783,333	894,097	3,720,000	907,138
<i>N. ceranae</i> -infected	1,669,444	1128,363	8,833,333	3573,898	28,166,667	6661,102

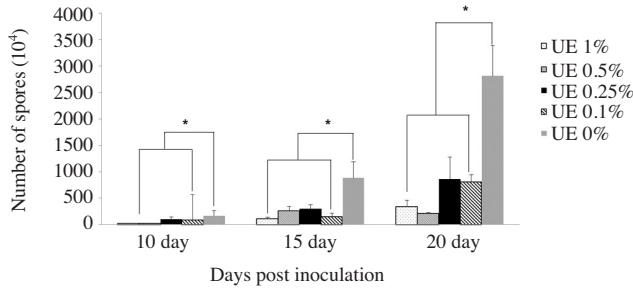


Fig. 1. Effect of ulgeum (*C. longa* L.) extract on *N. ceranae* spore production. Spore production was assessed by counting the spores number at 10, 15, and 20 days. Asterisks indicate the level of significance at $p < 0.05$ (*).

미치지 않는 것으로 판단된다. Maistrello 등(2008)은 티몰(Thymol) 및 레즈베라트롤(Resveratrol) 등을 급이 한 이후 일벌 생존률을 확인하였다. 이들의 결과에서는 모든 시험구의 50% 생존률은 11일로 본 연구결과와 크게 다르지 않아 울금 추출물에 의한 일벌 독성은 없는 것으로 확인할 수 있었지만, 추후 더욱 정밀한 독성평가가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

적 요

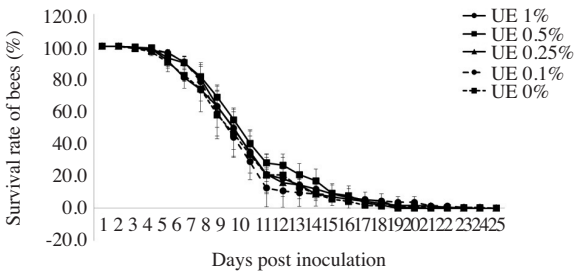


Fig. 2. Percentage of survival rate of honeybees treated with ulgeum extract. The mortality of caged bees after 9 days was 50%. No significant differences were detected among the groups.

미포자충류(microsporidia)의 감염은 꿀벌 먹이에 노제마 포자가 섞여 들어가면서 일어나 꿀벌 개체수가 급격히 증가하는 봄에 가장 많이 발병한다. 일벌이 노제마병에 감염되면 꿀 생산, 화분매개가 감소하고, 수명이 단축되며, 여왕벌이 산란하지 않아 봉군이 감소하고, 급격히 봉군내로 퍼지게 되어 그 피해가 매우 심각하다. 현재 국내에서 노제마 질병에 대해 사용하는 약제는 노제마 원충(*Nosema* sp.)의 방제에 직접적으로 약효를 나타내는 약품으로 푸마질린(fumagillin)을 함유한 제품이 유일하나, 안정성의 문제가 있어 이를 대체 할 천연물질의 개발이 시급하다. 본 연구에서는 울금 추출물을 노제마 원충 방제에 이용하기 위하여 농도별 울금 추출물에 대한 꿀벌 노제마병 방제효과를 검증 하였다. 그 결과 0.5% 울금 추출물을 20일간 투여한 처리구의 경우 울금을 전혀 투여하지 않은 시험구 대비 7.5% 꿀벌 노제마 감염률을 보여 방제 효과가 우수하며, 통계적으로도 유의차가 있는 것으로 확인되었다. 또한 농도별 울금 추출물을 급이 하고, 이에 대한 꿀벌의 치사율을 확인 한 결과 울금을 급이 하지 않은 시험구에 비해 사망률에 차이를 보이지 않아 꿀벌 독성은 없는 것으로 평가되었다. 본 연구결과와 천연물을 이용한 꿀벌 노제마 병 방제제로서 울금

농도별 울금 추출물 급이에 따른 꿀벌 독성 평가

농도별 울금 추출물 급이에 의한 꿀벌 독성을 확인하기 위해, 0.1%, 0.25%, 0.5%, 1% 울금 추출물을 급이 중인 시험구의 생존율을 조사하였다. 조사는 25일간 매일 진행되었으며, 살아있는 일벌 개체수를 백분율로 나타내었다. 결과에 따르면 추출물 급이 후 4일까지 모든 처리구의 살아있는 일벌 개체수는 완만한 감소세를 보이다가 9일째 50%, 13~14일째 10% 이내의 일벌 생존율을 나타내었다. 이때 대조군 및 농도별 시험군 간의 통계적인 유의차는 보이지 않았다. 이 결과에서는 울금 추출물의 농도는 일벌 생존률에 영향을

의 이용 가능성에 대해 시사하고 있으며, 이를 통한 방제제 개발 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대하고 있다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 시험연구사업(PJ01120101)의 연구비로 수행된 결과이며 이에 깊은 감사를 드립니다.

인용 문헌

- 김혜경, 홍인표, 트란 반 또한, 이명렬, 최용수, 심하식, 변규호, 강아랑. 2015. 동충하초 배지 추출물을 이용한 꿀벌 노제마병 방제. *Journal of Apiculture* 30(2): 119-126.
- 김민선, 전성식, 최정화. 2013. 울금(*Curcuma longa* L.)이 고지방 · 고콜레스테롤 식이 흰쥐의 항산화계 및 산화적 손상에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지* 42(4): 570-576.
- 유미선, 윤병수. 2009. 2009년 국내 꿀벌 질병의 발생 빈도. *Journal of Apiculture* 24(4): 273-278.
- 이명렬, 최지영, 이만영, 김영수. 2003. 국내 꿀벌 노제마병의 감염수준. *한국양봉학회지* 18(2): 151-154.
- 최용수, 이명렬, 이만영, 이광길. 2008. 국내 꿀벌에서의 바이러스진단 및 질병발생 현황 조사. *Journal of Apiculture* 23(2): 153-159.
- 홍인표, 이만영, 우순옥, 심하식, 최용수, 한상미, 김혜경, 변규호, 김남숙, 이명렬. 2013. 꿀벌 노제마병과 여왕벌 흑색병바이러스의 발생 현황. *Journal of Apiculture* 28(3): 199-203.
- Andrew, M. A. and S. M. Matthew. 2000. Isolation of curcuma from tumeric. *J. Chem. Educ.* 77: 359-362.
- Apisariyakul, A., N. Vanittanakom and D. Buddhasukh. 1995. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *Journal of ethnopharmacology* 49(3): 163-169.
- Chen, Y., J. D. Evans, I. B. Smith and J. S. Pettis. 2008. *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States. *J. Invertebr. Pathol.* 97(2): 186-188.
- Choi, H. Y. 2009. Isolation and identification of antimicrobial compound from ulgeum (*Curcuma longa* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38(9): 1202-1209.
- Eiri, D. M., G. Suwannapong, M. Endler and J. C. Nieh. 2015. *Nosema ceranae* can infect honey bee larvae and reduces subsequent adult longevity. *PloS one* 10(5): e0126330.
- Fries, I. 1988. Infectivity and multiplication of *Nosema apis* Z. in the ventriculus of the honey bee. *Apidologie* 19(3): 319-328.
- Geoffrey, N. R., C. Amitabh and G. N. Muraleedharan. 1998. Nobel bioactivities of *Curcuma longa* constituents. *J. Nat. Prod* 61: 542-545.
- Khattak, S., S. Rehman, H. U. Shah, W. Ahmad and M. Ahmad. 2005. Biological effects of indigenous medicinal plants *Curcuma longa* and *Alpinia galanga* *Fitoterapia* 76: 254-257.
- Lecocq, A., A. B. Jensen, P. Kryger and J. C. Nieh. 2016. Parasite infection accelerates age polyethism in young honey bees. *Scientific reports* 6.
- Li, J., H. Qin, J. Wu, B. M. Sadd, X. Wang, J. D. Evans, W. Peng, and Y. Chen. 2012. The prevalence of parasites and pathogens in Asian honeybees *Apis cerana* in China. *Plos one*, 7(11): e47955.
- Liu, T. P. P. and G. R. Myrick. 1988. Deformities in the spore of *Nosema apis* as induced by itraconazole. *Parasitol Res.* 75: 498-502.
- Maistrello, L., M. Lodesani, C. Costa, F. Leonardi, G. Marani, M. Caldon and A. Granato. 2008. Screening of natural compounds for the control of nosema disease in honeybees (*Apis mellifera*). *Apidologie* 39(4): 436-445.
- Martín-Hernández, R., C. Botías, E. G. Bailón, A. Martínez-Salvador, L. Prieto, A. Meana and M. Higes. 2012. Microsporidia infecting *Apis mellifera*: coexistence or competition. Is *Nosema ceranae* replacing *Nosema apis* *Environ Microbiol.* 14: 2127-2138.
- Medici, S. K., E. G. Sarlo, M. P. Porrini, M. Braunstein and M. J. Eguaras. 2012. Genetic variation and widespread dispersal of *Nosema ceranae* in *Apis mellifera* apiaries from Argentina. *Parasitol Res.* 110: 859-864.
- Mussen, E. C., B. Furgala and R. A. Hyser. 1975. Enzootic levels of nosema disease in the continental United States. 1974. *Am. Bee. J.* 115: 48 50.
- Oh, H., H. Park, M. S. Ju, S.Y. Jung and M. S. Oh. 2010. Comparative study of anti-oxidant and anti-inflammatory activities between *Curcuma longae* Radix and *Curcuma longae* Rhizoma. *Kor J Herbology* 25: 83-91.
- Paxton, R. J., J. Klee, S. Korpela and I. Fries. 2007. *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie* 38: 558-565.
- Pohorecka, K. 2004. Laboratory studies on the effect of standardized *Artemisia absinthium* L. extract on *Nosema apis* infection in the worker *Apis mellifera*. *J. Apicul. Sci.* 48(2): 131-136.
- Porrini, M. P., M. C. Audisio, D. C. Sabaté, C. Ibarguren, S. K. Medici and E. G. Sarlo. 2010. Effect of bacterial metabolites on microsporidian *Nosema ceranae* and on its host *Apis mellifera*. *Parasitology Research* 107(2): 381-388.

- Ryn, G. Y., K. H. No, S. R. Ryu and H. S. Yang. 2005. Study of separation and analysis method an effective component from UI Geum (*Curcuma longa*) and a contained curcumin as product of national and partial region cultures. *Appl. Chem.* 9: 57-60.
- Sina, M., G. Alastair, M. Farmer, R. Andersen, O. Anderson, J. Barta, S. Bowser, G. Brugerolle, R. Fensome, S. Fredericq, T. James, S. Karpov, P. Kugrens, J. Krug, C. Lane, L. Lewis, J. Lodge, D. Lynn, D. Mann, R. Maccourt, L. Mendoza, O. Moestrup, S. Mozley, T. Nerad, C. Shearer, A. Smirnov, F. Spiegel and M. Taylor. 2005. The New Higher level classification of Eukaryotes with emphasis on the taxonomy of Protists. *J. Eukar. Microbiol.* 52: 399-451.
- Toan, T. V., D. Q. Tam, M. L. Lee, H. S. Sim, H. K. Kim, G. H. Byuon and Y. S. Choi. 2014. Nosema Disease on Honey Bee *Apis cerana* in Viet Nam. *Journal of Apiculture* 29(1): 35-42.
- Vidau, C., M. Diogon, J. Aufauvre, R. Fontbonne, B. Viguès, J. L. Brunet, C. Texier, D. G. Biron¹, N. Blot¹, H. E. Alaoui¹, L. P. Belzunces, F. Delbac. 2011. Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by *Nosema ceranae*. *PLoS one* 6(6): e21550.
- Webster, T. C., K. W. Pomper, G. Hunti, E. M. Thackerk and S. C. Jones. 2004. *Nosema apis* infection in worker and queen *Apis mellifera*. *Apidologie* 35(1): 49-54.
- Williams, G. R., M. A. Sampson, D. Shutler and R. E. L. Rogers. 2008. Does fumagillin control the recently detected invasive parasite *Nosema ceranae* in western honey bees (*Apis mellifera*)? *J. Invertebr. Pathol.* 99: 342-344.
- Yoon, S. J. and E. H. Choi. 2011. Quality characteristics of wheat flour Dasik by the addition of turmeric powder. *Korean J Culin Res* 17(3): 132-140.