

EFFET PATHOGÈNE COMPARÉ DE 12 SOUCHES DE *BACILLUS THURINGIENSIS* BERL. SUR L'ABEILLE DOMESTIQUE ET SON COUVAIN

O. HARAGSIM et Jirina VAŇKOVA

Institut de recherches apicoles, Dol par Libčice-sur-la-Moldau (Tchécoslovaquie)
Laboratoire de pathologie de l'Insecte de l'Institut entomologique,
Académie tchécoslovaque des Sciences, Prague (Tchécoslovaquie).

SOMMAIRE

Les auteurs ont comparé l'effet pathogène de 12 souches de *Bacillus thuringiensis* sur les abeilles et leur couvain. Les variétés *anduze* et *alesti* se sont avérées les plus toxiques pour les butineuses tandis que la souche *galleriae* était la moins toxique. Dans les expériences sur le couvain d'abeilles la souche *bombycis* s'est montrée la plus toxique tandis que la souche *galleriae* ne présentait aucune toxicité. Simultanément a été étudiée une préparation commerciale tchèque appelée « Bathurin » concentré de spores et d'inclusions de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*. A une forte concentration (3×10^8 spores par gramme de nourriture) cette préparation est dangereuse pour les abeilles mais à la concentration de 10^8 on peut la considérer comme inoffensive.

INTRODUCTION

Bacillus thuringiensis BERLINER constitue un élément prometteur dans la lutte biologique contre les chenilles des Lepidoptères qui s'attaquent aux produits agricoles, alimentaires ou industriels.

Du point de vue apicole on fait ressortir que *Bacillus thuringiensis* est un « insecticide vivant » qui n'est pas nuisible pour les abeilles et que son emploi dans l'agriculture réduit le danger d'intoxication des abeilles par les insecticides chimiques. En particulier, on prévoit son utilisation dans la lutte contre les chenilles de la fausse teigne (*Galleria mellonella* L.) et de la petite teigne (*Achroia grisella* F.) qui appartiennent, comme on le sait aux parasites les plus dangereux des rayons d'abeilles.

Ce sont les inclusions parasporales protéiniques naissant à l'intérieur des cellules bactériennes à l'époque de la sporulation, qui sont considérées comme vecteurs de

l'efficacité des souches du groupe de *Bacillus thuringiensis* contre l'insecte (ANGUS 1954, 1956, 1964, VAŇKOVÁ 1957). Certaines variétés de *Bacillus thuringiensis* diffusent dans le milieu de culture, outre l'endotoxine ci-dessus mentionnée, une exotoxine soluble thermostable (McCONNEL et RICHARDS 1959). A l'effet pathogène peuvent également participer la lécithinase et un complexe de protéases.

Au cours des travaux antérieurs (VAŇKOVÁ 1965, 1964, 1966) nous avons mis en évidence que les souches du groupe de *Bacillus thuringiensis* exercent une action différente sur les divers Lépidoptères. La virulence différente des souches particulières s'est manifestée de la façon la plus marquée sur la teigne de la cire, *Galleria mellonella* L. Sur 12 souches examinées, c'est la souche de *Bacillus thuringiensis*, variété *galleriae* qui accusait la toxicité la plus élevée pour *Galleria mellonella*. Pour qu'on puisse utiliser la souche en question et le cas échéant, les souches ultérieures dans la pratique de la lutte biologique, il était nécessaire de mettre en évidence, soit l'innocuité, soit la toxicité des souches particulières à l'égard des abeilles. Les travaux présentés jusqu'ici par les auteurs qui ont étudié l'influence des différentes souches sur les abeilles concernaient en premier lieu la souche classique de *Bacillus thuringiensis*, variété *thuringiensis* Berliner et les souches employées dans l'industrie à la production des préparations Thuricide, Biospor, Biotrol, Entobakterin, Dendrobacillin et Parasporin (CANTWELL, et coll., 1964, 1966, CELLI et GORDANI 1966, KRIEG 1964, STUTE 1963, LESKOVA et KULIKOV 1963, WILSON 1962, JOHANSEN 1962, POLTEV 1963). Les effets des différentes souches ne peuvent être comparés que très difficilement, les auteurs utilisant des méthodes d'application différentes. La plupart d'entre eux sont cependant d'accord pour admettre que les préparations à base de *Bacillus thuringiensis* et des souches parentes ne sont toxiques pour l'abeille qu'à des doses élevées qui ne sont pas utilisées au cours du traitement des plantes sur le terrain.

Le but de notre travail a consisté à déterminer et à comparer l'effet pathogène des 12 souches de *Bacillus thuringiensis* sur les imagos et le couvain de l'abeille domestique. Les préparations étaient produites et examinées d'une façon uniforme. De toutes ces souches six n'avaient jamais été essayées sur l'Abeille.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les souches de *Bacillus thuringiensis* ont été cultivées en milieu liquide aéré et agité, dans des fermentateurs de laboratoire de 20 litres, selon la méthode élaborée pour le *Bacillus thuringiensis*, variété *thuringiensis* (VAŇKOVÁ 1958, VAŇKOVÁ et WEISER 1962). Le matériel sporulé (spores, inclusions et résidus des cellules végétatives) a été séparé du milieu de culture par centrifugation et séché par lyophilisation. Le matériel sec a été dilué au moyen de talc pour ajuster la concentration des spores à 10^{11} par gramme.

Origine des souches testées (tabl. 1)

Outre les souches mentionnées on a testé l'effet de la préparation tchécoslovaque dénommée « Bathurin », ce qui est un concentrat de spores et d'inclusions de *Bacillus thuringiensis*, variété *thuringiensis* sans addition de charge.

Au cours des essais les abeilles ont été placées dans un étuve à une température de 30°C et une humidité de 60-70 p. 100 et maintenues dans des cagettes de bois de 5 × 7 × 15 cm, à raison de 50 dans chaque cagette. L'une des parois de la cagette était formée d'un grillage métallique, l'autre étant en verre. Le nourrisseur de la cagette était en verre ; on pouvait introduire dans la cagette la nourriture de l'extérieur, sans pour cela troubler les abeilles.

TABLEAU I

	Souche	Hôte (vecteur)	Auteur de la souche isolée	Origine du matériel
1	Var. <i>thuringiensis</i>	<i>Plodia interpunctella</i>	WEISER, 1955	WEISER
2	<i>galleriae</i>	<i>Galleria mellonella</i>	CHVETZOVA, 1957	CHVETZOVA
3	<i>entomocidus</i>	<i>Aphonita gularis</i>	STEINHAUS, 1959	HEIMPEL
4	<i>plebeja</i>	<i>Cicada plebeja</i>	VAGO, 1957	VASILJEVITCH
5	<i>bombycis</i>	<i>Bombyx mori</i>	MACCIATI, 1958	STEINHAUS orig. MASERA
6	<i>dendrolimus</i>	<i>Dendrolimus sibiricus</i>	TALALAJEV, 1958	TALALAJEV
7	<i>sotio</i>	<i>Bombyx mori</i>	VAGO, 1960*	BONNEFOI
8	<i>subtoxicius</i>	<i>Plodia interpunctella</i>	STEINHAUS, 1959	HEIMPEL
9	<i>alesti</i>	<i>Bombyx mori</i>	TOUMANOFF, 1959*	TOUMANOFF
10	<i>gelechiae</i>	<i>Clethra gossypiella</i>	TOUMANOFF, 1960*	TOUMANOFF, orig. METALNIKOV
11	<i>casabon</i>	<i>Pyrausta nubilalis</i>	TOUMANOFF, 1960*	TOUMANOFF orig. METALNIKOV
12	<i>anduze</i>	<i>Bombyx mori</i>	VAGO 1960	BONNEFOI

* Souches conservées en collection à l'Institut Pasteur de Paris.

Les abeilles provenaient des colonies de l'Institut de recherches apicoles de Dol et d'après les caractères morphologiques nous les considérons comme les produits du croisement naturel de l'abeille locale (*Apis mellifera mellifera* L.) avec l'abeille carniolienne (*Apis mellifera carnica*). On a testé toujours deux séries de butineuses d'âge indéterminé et de jeunes abeilles provenant de la même colonie mais âgées de 6 à 8 jours.

Avant le début des essais on a laissé les abeilles à jeun pendant 24 heures. Au cours des essais on les nourrissait de sirop de sucre dans lequel on avait introduit les spores et les inclusions de la souche testée correspondante de *Bacillus thuringiensis*. Pour choisir la concentration des spores dans la nourriture, on s'est appuyé sur les données de KRIEG et de HERFS (1964) qui indiquent la concentration de spores de 10^8 par gramme de nourriture comme seuil de la dose létale de *Bacillus thuringiensis* pour les abeilles. Pendant toute la durée de l'essai (16 jours) on a nourri les abeilles *ad libitum* avec le sirop de sucre (1/1) additionné de spores. Du pollen d'arbres fruitiers, conservé dans un petit rayon constituait la composante azotée de la nourriture. Le contrôle des caquettes se faisait tous les jours ; on éliminait les abeilles mortes et on distribuait la nourriture fraîche.

Pour vérifier l'effet de *Bacillus thuringiensis* BERL. sur le couvain d'abeilles, on a pulvérisé du sirop de sucre contenant les spores et les inclusions de la souche correspondante à la concentration de 10^8 par gramme, la pulvérisation s'effectuant en une seule fois sur 1 dm² de couvain non operculé de deux ou trois jours. L'effet de l'intervention était évalué en comparant les photographies du rayon traité avant et après l'intervention (cellules operculées et abeilles écloses). En outre on suivait l'état sanitaire des abeilles en voie d'éclosion et l'époque de l'éclosion.

Les résultats, c'est-à-dire la mortalité, ont été calculés selon la formule d'ABBOTT (1925) :

$$M \text{ p. } 100 = \frac{(n - k) \cdot 100}{n} \quad \begin{array}{l} n = \text{mortalité dans l'essai} \\ k = \text{mortalité chez le témoin} \end{array}$$

RÉSULTATS

Il ressort des résultats, résumés dans les tableaux 2 et 3, que c'est *Bacillus thuringiensis*, variété *anduze* isolé par VAGO à partir de *Bombys mori* qui exerce l'effet toxique le plus important sur les abeilles butineuses. En effet, 43,8 p. 100 des buti-

TABLEAU 2

Effet toxique des spores et des inclusions de diverses souches de B. thuringiensis sur les imagos des abeilles

	Souche utilisée	n	Série (nombre)	Mortalité (%)	Remarque
1	Var. <i>anduze</i>	200	4	43,8	conc. des spores 10^8
2	<i>alesti</i>	200	4	34,3	—
3	<i>cazaubon</i>	200	4	18,3	—
4	<i>bombycis</i>	200	4	15,3	—
5	<i>entomocidus</i>	200	4	12,5	—
6	<i>thuringiensis</i>	200	4	11,5	—
7	<i>sotto</i>	200	4	8,0	—
8	<i>gelechiae</i>	200	4	6,3	—
9	<i>plebeja</i>	200	4	5,5	—
10	<i>subtoxicus</i>	200	4	4,5	—
11	<i>dendrolimus</i>	200	4	1,0	—
12	<i>galleriae</i>	200	4	0,5	—
13	Bathurin I	200	4	29,3	conc. 3×10^8
14	Bathurin II	200	4	4,3	conc. 10^8

neuses sont mortes au bout des 16 jours de l'essai. La souche *alesti* se rapproche le plus de la souche *anduze*, son effet se manifestant sur les abeilles par une mortalité de 34,3 p. 100. Les deux souches appartiennent au groupe dont l'effet pathogène est supérieur à 20 p. 100. Un autre groupe est formé par des souches de *Bacillus thuringiensis*, dont la toxicité s'est manifestée au cours de nos essais par une mortalité inférieure à 20 p. 100. Ce sont les souches *cazaubon* (18,3 p. 100), *bombycis* (15,3 p. 100), *entomocidus* (12,5 p. 100), *thuringiensis* (11,5 p. 100) qui appartiennent à ce groupe. L'effet toxique de toutes les autres souches ne dépassait pas, quant à la mortalité des abeilles, 10 p. 100 : la souche *sotto* (8,0 p. 100), *gelechiaie* (6,3 p. 100), *plebeja* (5,5 p. 100), *subtoxicus* (4,5 p. 100), *dendrolimus* (1,0 p. 100), *galleriae* (0,5 p. 100).

Le « Bathurin » préparation tchécoslovaque du commerce accusait, à une concentration de 3×10^8 un effet toxique causant une mortalité des abeilles égale à 29,3 p. 100. A une concentration moins élevée, soit 10^8 spores par gramme de nourriture, la mortalité n'a été que de 4,3 p. 100.

TABLEAU 3

Effet toxique des spores et des inclusions de diverses souches de Bac. thuringiensis sur le couvain d'abeilles

	Souche utilisée	Mortalité du couvain (%)	Remarque
1	Var. <i>bombycis</i>	14,6	conc. de spores 10^8
2	<i>gelechiaie</i>	11,9	—
3	<i>cazaubon</i>	11,7	—
4	<i>dendrolimus</i>	11,7	—
5	<i>thuringiensis</i>	7,7	—
6	<i>plebeja</i>	6,8	—
7	<i>alesti</i>	5,2	—
8	<i>entomocidus</i>	3,7	—
9	<i>anduze</i>	3,4	—
10	<i>sotto</i>	2,1	—
11	<i>subtoxicus</i>	1,2	—
12	<i>galleriae</i>	0	—
13	Bathurin I	5,5	conc. 3×10^8
14	Bathurin II.....	4,3	conc. 10^8

Au cours de nos essais sur le couvain d'abeilles, c'est la souche *bombycis*, isolée à partir du ver à soie, qui s'est manifestée comme étant la plus toxique. Son action sur le couvain d'abeilles s'est manifestée par une mortalité des larves se chiffrant à 14,6 p. 100. Les souches *gelechiaie*, *cazaubon*, *dendrolimus* sont presque identiques en ce qui concerne leur effet toxique sur le couvain d'abeilles (tabl. 3). Leur action s'est manifestée par une mortalité des larves supérieure à 10 p. 100. Les autres souches — *thuringiensis*, *plebeja*, *alesti*, *entomocidus*, *anduze*, *sotto* et *subtoxicus* ont accusé un effet toxique inférieur à 10 p. 100. Mais la souche *galleriae* apparaît comme tout à fait dépourvue de toxicité pour les larves des abeilles ; elle est également la moins toxique pour les butineuses.

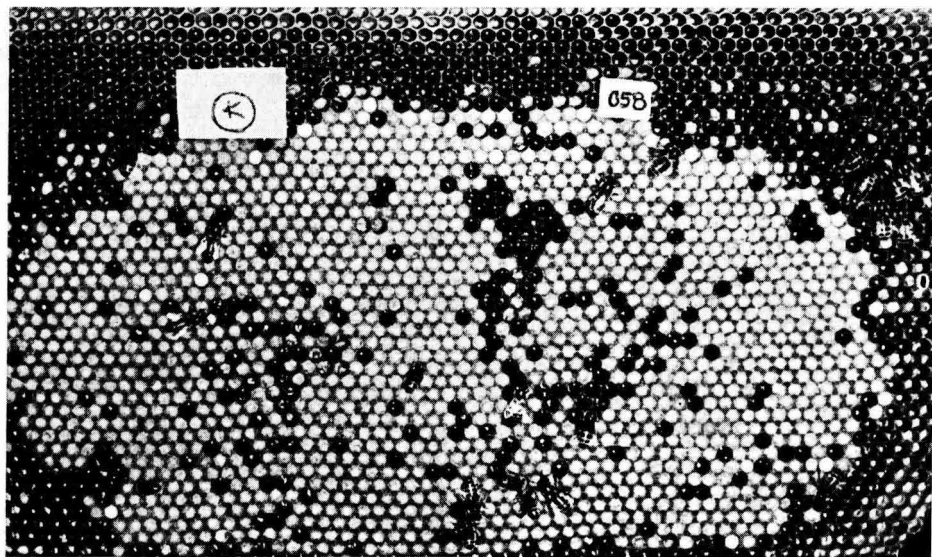


FIG. 1. — Rayon avec couvain d'abeilles operculé après l'application de *Bac. thuringiensis*, 058
 (= souche *thuringiensis*),
 K = Témoin traité seulement par le sirop de sucre sans spores
 (photo O. Haragsim).

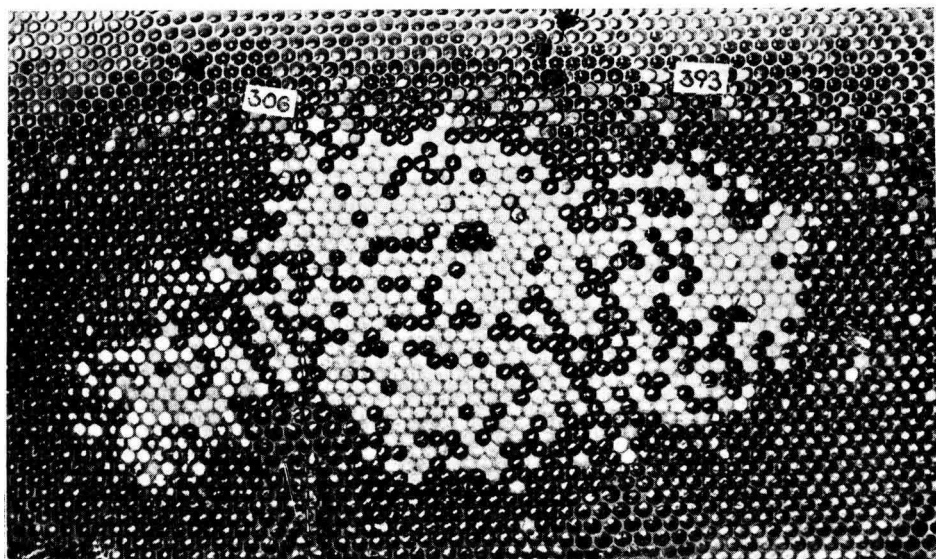


FIG. 2. — Couvain d'abeilles mourant, traité avant l'operculation
 par suspension de spores de *Bacillus thuringiensis*
 (conc. 10^8 spores/g dans du sirop de sucre)
 Souches 306 : *dendrolimus*; 393 : *bombycis*

(Photo O. Haragsim).

La préparation « Bathurin » exerçait à la concentration de 3×10^8 et 10^8 sur le couvain d'abeilles un effet toxique faible, la mortalité du couvain étant respectivement de 5,5 p. 100 et de 4,3 p. 100.

Il ressort de nos essais effectués au laboratoire que pour l'abeille domestique ce sont les souches *anduze* et *alesti* du groupe de *Bacillus thuringiensis* qui sont les plus toxiques pour l'abeille domestique. Les autres souches exercent un effet toxique faible, de sorte qu'on peut pratiquement les considérer comme non pathogènes pour les abeilles. L'effet toxique du « Bathurin » ne s'est manifesté sur les abeilles qu'à une concentration élevée de spores et d'inclusions. Cette préparation, à une concentration moins élevée recommandée dans la lutte biologique, apparaît comme une substance non nocive pour les abeilles.

Les abeilles mortes par suite de l'effet toxique de *Bacillus thuringiensis* ne manifestaient extérieurement aucun symptôme caractéristique d'une infection. Le caractère le plus marqué consistait dans un noircissement de l'exosquelette et une raréfaction des poils sur la face dorsale du thorax. L'exosquelette n'était cependant que d'un noir mat, ce qui le différencie considérablement du noircissement brillant de la chitine, caractéristique du mal noir (« petites noires ») des abeilles.

DISCUSSION

Les résultats obtenus montrent qu'on peut attribuer aux différentes souches de *Bacillus thuringiensis* un degré variable de toxicité à l'égard de l'abeille domestique et de son couvain. Le fait que la souche de *Bacillus thuringiensis*, variété *galleriae*, qui est la plus virulente contre *Galleria mellonella* L. (VAŇKOVÁ, 1966), est par ailleurs la moins toxique pour les butineuses dans la concentration utilisée (0,5 p. 100) et parfaitement non toxique pour le couvain d'abeilles, mérite de retenir notre attention.

POLTEV (1963) n'a pas pu mettre en évidence une mortalité chez les abeilles nourries avec un sirop de sucre contenant de l'Entobakterin (préparation à base de *Bacillus thuringiensis*, variété *galleriae*) pendant un temps de 24 heures à la concentration de 1 p. 100. Au contraire, LESKOVA et KULIKOV (1963) en procédant au nourrissage ininterrompu des abeilles avec un sirop contenant 1 gramme de spores par centimètre cube, pendant neuf jours, ont pu mettre en évidence un effet toxique marqué. En employant l'Entobakterin au cours d'essais en plein champ, à la dose de 0,1-1,0 g par cm^2 , aucune mortalité des abeilles n'a été constatée. De même en utilisant 10 à 50 grammes de préparation par m^2 de rayons on n'a pu observer aucun dommage pour les abeilles ou leur couvain. Les travaux en question laissent entrevoir que, même en utilisant une souche identique on ne peut que très difficilement comparer les résultats obtenus par l'application de différentes méthodes. De même les tests de laboratoire ne sont pas tout à fait analogues à ceux de plein champ. Tant que la standardisation internationale des préparations biologiques ne sera pas introduite et cela non seulement en ce qui concerne la fixation du nombre de spores, mais aussi quant aux biotests réalisés sur plusieurs hôtes standards, on doit admettre que les charges des différentes préparations fabriquées par un même producteur, peuvent introduire des différences considérables quant à leur efficacité (CANTWELL et coll., 1966).

C'est l'exotoxine non spécifique, qui n'est produite que par certaines souches de *Bacillus thuringiensis* et qui exerce son action toxique même sur des hôtes sur lesquels les inclusions cristallines restent sans effet, qui pourrait devenir un facteur important dans la pathogénéité des préparations vis-à-vis de l'abeille domestique. Cela dépend du procédé de production utilisé pour la préparation et de la souche employée ainsi que du volume final d'endotoxine que contient la préparation sèche. KRIEG et HERFS (1963) ont constaté des mortalités d'abeilles de 60 p. 100 et de 100 p. 100 à la suite d'un nourrissage pendant neuf jours à l'exotoxine des souches de *Bacillus thuringiensis*, variété *dendrolimus* et de *Bacillus thuringiensis*, variété *thuringiensis*, tandis qu'à la suite de la distribution du filtrat des souches *euxoae* et *sotto* aucune mortalité n'a eu lieu. MARTOURET et EUVERTE (1964) ont montré que la présence de toxine thermostable dans une préparation commerciale de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* accroît considérablement la toxicité pour l'abeille.

CANTWELL, et al. (1966) ont essayé à leur tour l'exotoxine contenue dans une préparation du commerce de *Bacillus thuringiensis* et ont constaté au bout de quatre jours à des doses plus élevées (20 mg par ml de nourriture) une mortalité des abeilles de 100 p. 100. A des doses moins élevées (0,625 mg par ml de nourriture) pendant cinq jours aucune mortalité n'avait lieu. Sur les larves d'abeilles les doses élevées d'exotoxine exerçaient un effet toxique.

Les préparations utilisées au cours de nos essais, étaient séparées du milieu de culture par centrifugation pendant la production, ce qui a eu pour conséquence l'élimination de la plupart des exotoxines. Les préparations sèches ne pouvaient contenir que de faibles résidus d'exotoxine incapables d'influencer la pathogénéité de la préparation pour l'abeille. La souche de *Bacillus thuringiensis*, variété *thuringiensis*, isolée en Tchécoslovaquie et utilisée chez nous à la production de la préparation « Bathurin » ne produit pas d'exotoxine. En ce qui concerne la souche de *Bacillus thuringiensis*, variété *galleriae*, nous n'avons mis en évidence dans nos conditions de culture qu'une production insignifiante d'exotoxine (VAŇKOVÁ, 1966).

Les différences de toxicité des préparations que nous trouvons dans la bibliographie s'expliquent pour les raisons exposées ci-dessus. Ce qui importe à la plupart des auteurs c'est de déterminer la concentration seuil de toxicité des préparations pour l'abeille domestique. KRIEG et HERFS (1963) indiquent que les doses supérieures à 3×10^6 spores par jour et par abeille occasionnent une mortalité de 100 p. 100. Dans un travail ultérieur (1964) ils augmentent cette dose pour les préparations du commerce « Biospor » « Biotrol » et « Thuricide » jusqu'à une concentration de 10^7 à 10^8 spores par ml de nourriture. GUKASJAN (1958) a constaté une mortalité de 50 p. 100 des abeilles à la suite de l'application d'une préparation de *Bacillus thuringiensis*, variété *dendrolimus* à une concentration de 2×10^9 /ml. LECOMTE et MARTOURET (1959) ont déterminé chez la souche *anduze* une mortalité de 100 p. 100 pour une concentration de 80 000 UB par gramme de candi. Au cours de nos essais ultérieurs cette souche occasionnait une mortalité de 43,8 p. 100 d'abeilles, à la concentration de 10^8 /ml. Il est intéressant de constater que les deux souches qui étaient au cours de nos essais les plus toxiques pour l'abeille domestique ont été isolées, de *Bombyx mori*.

On retrouve la même origine (ver à soie) pour la souche *bombycis* qui s'est manifestée comme étant la plus toxique pour le couvain d'abeilles (mortalité de 14,6 p. 100). Au contraire, *Bacillus thuringiensis*, souche *galleriae*, isolé à l'origine chez *Galleria*

mellonella habitant permanent des ruches d'abeilles, est le moins toxique pour l'abeille domestique, qu'il s'agisse des imagos ou du couvain. L'idée qui s'impose, c'est que l'abeille domestique, du fait qu'elle entre souvent en contact avec *Bacillus thuringiensis*, variété *galleriae*, a gagné peut-être une certaine immunité à l'égard du microbe en question.

Reçu pour publication en mai 1968.

SUMMARY

COMPARATIVE PATHOGENIC EFFECT OF 12 STRAINS OF « BACILLUS THURINGIENSIS » BERL. ON THE HONEY BEE AND ON ITS BROOD

1. During trials carried out in the laboratory we compared the pathogenic effect of twelve strains of *Bacillus thuringiensis* BERL. on bees and on their brood. The spore material from the different strains was obtained by fermentation in a liquid medium which was aired and shaken; the spores and inclusions were separated by centrifugation, dried up by lyophilisation and standardized with talc so as to obtain a uniform concentration of spores equal to 10^{11} per gramm. For some strains of *Bacillus thuringiensis* this concentration had been indicated as the threshold of lethal doses.

2. By comparing the pathogenic effect of the different strains of *Bacillus thuringiensis*, we found out that the toxicity of the strains for adult bees had the following effects: *anduze* (43,8 p. 100), *alesti* (34,3 p. 100), *cazaubon* (18,3 p. 100), *bombycis* (15,3 p. 100), *entomocidus* (12,5 p. 100), *thuringiensis* (11,5 p. 100), *sotto* (8,0 p. 100), *gelechiae* (6,3 p. 100), *plebeja* (5,5 p. 100), *subtoxicus* (4,5 p. 100), *dendrolimus* (1,0 p. 100), *galleriae* (0,5 p. 100).

3. The strains of *Bacillus thuringiensis* which have been studied affected the brood as follows: *bombycis* (14,6 p. 100), *gelechiae* (11,9 p. 100), *cazaubon* (11,7 p. 100), *dendrolimus* (11,7 p. 100), *thuringiensis* (7,7 p. 100), *plebeja* (6,8 p. 100), *alesti* (5,2 p. 100), *entomocidus* (3,7 p. 100), *anduze* (3,4 p. 100), *sotto* (2,1 p. 100), *subtoxicus* (1,2 p. 100), *galleriae* (0 p. 100).

4. At the same time, we carried out investigations on the Czechoslovak commercial preparation called « Bathurin ». This preparation is a concentrate — produced industrially — of spores and inclusions of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*, isolated by WEISSER from *Plodia interpunctella* in 1955. The active part we analyzed contained 3×10^8 spores per gramm of food. At this concentration, « Bathurin » is dangerous for the bees. During our trials, we noted a death-rate of 29,3 p. 100. At a concentration of 10^8 « Bathurin » only has a low toxic effect on the bees and on their brood (the death-rate amounts to 4,3 p. 100), so that it can be considered, at that concentration, as non-dangerous for the bees.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANGUS T. A., 1954. A bacterial toxin paralyzing silkworm larvae. *Nature*, **178**, 545.
 ANGUS T. A., 1956. Extraction, purification and properties of *Bacillus sotto* toxin. *Canad. J. Microbiol.*, **2**, 416-426.
 ANGUS T. A., 1964. The biochemistry and mode of action of *Bacillus thuringiensis* Berl. and its varieties. *Entomophaga*, R.-S., n° 2, 165-173.
 BARJAC H. de, BONNEFOI A., 1962. Essai de classification biochimique et sérologique de 24 souches de *Bacillus* du type *B. thuringiensis*. *Entomophaga*, **7**, 5-31.
 BARJAC H. de, BONNEFOI A., 1967. Classification des souches de *Bacillus thuringiensis*. *Entomophaga*, C. R. Acad. Sci. Paris, **264**, 1811-1813.
 CANTWELL G. E., KNOX D. A., MICHAEL A. S., 1964. Mortality of honeybees (*Apis mellifera* L.), fed with exotoxin of *Bac. thuringiensis* BERL. var. *thuringiensis*. *J. Insect. Pathol.*, **6**, 532-536.

- CANTWELL G. E., KNOX D. A., LEHNERT T., MICHAEL A. S., 1966. Mortality of the honey bee (*Apis mellifera* L.) in colonies treated with certain biological insecticides. *J. Invert. Pathol.*, **8**, 228-233.
- CELLI G., GIORDANI G., 1966. Ricerche sull'attività del *Bacillus thuringiensis* BERLINER in riguardo all'*Apis mellifera* L. *Boll. Ist. Entomol. Univ. Bologna*, **23**, 141-175.
- GUKASJAN A. B., 1958. La sensibilité des abeilles vers le provocateur de la maladie de *Dendrolimus sibiricus* (orig. russe). *Pchelovodstvo*, **35** (11), 46-48.
- JOHANSON C., 1962. Impregnated foundation for Wax moth control. *Glean. Bee Cult.*, **90**, 682-684.
- KRIEG A., 1964. Über die Bienenverträglichkeit Industrie-Präparate des *Bacillus thuringiensis*. *Anz. Schädlingskde*, **37**, 39-40, 1964.
- KRIEG A., HERFS W., 1963. Empfindlichkeit verschiedener Insektenarten gegenüber dem « Exotoxin » von *Bacillus thuringiensis* BERL. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz*, **70**, 11-21.
- KRIEG A., HERFS W., 1963. Ueber die Wirkungen von *Bacillus thuringiensis* auf Bienen. *Entomol. exper. appl.*, **6**, 1-9.
- KRIEG A., HERFS W., 1967. Nebenwirkungen von *Bacillus thuringiensis* Einwirkungen auf Bienen (*Apis mellifera* L.). *Entomophaga*, h.-s. n° 2, 193-195.
- LECOMTE J., MARTOURET D., 1959. Non toxicité pour les abeilles des traitements à base de *Bacillus thuringiensis*, souche anduze. *Ann. Abeille*, **2**, 171-175.
- LESKOVA A. V., KULIKOV N. S., 1963. L'influence d'entobacterin et thuricide sur les abeilles (orig. russe). *Pchelovodstvo*, 40/3 32-33, 1963.
- MARTOURET D., EUVERTE G., 1964. The effect of *Bacillus thuringiensis* BERLINER preparations on the honey bee under conditions of forced feeding. *J. Insect Pathol.*, **6**, 198-203.
- MCCONNEL E., RICHARDS A. G., 1959. The production by *Bacillus thuringiensis* BERL. of a heat-stable substance toxic for insects. *Canad. J. Microbiol.*, **5**, 161-168.
- POLTEV V. I., 1963. Les méthodes microbiologiques de la lutte contre l'insecte nuisible dans l'apiculture. 19^e Congr. internation. Apicult. Prague, 107.
- STUTE K., 1963. Ueber die Wirkung von *Bacillus thuringiensis* auf die Honigbiene (*Apis mellifera* L.). *Nachrbl. dtsh. Pflanzenschutzdienstes, Braunschweig*, **15**, 102-104.
- VANKOVÁ J., 1957. Study on the effect of *Bacillus thuringiensis* on insects. *Folia biol.*, **3**, 175-182.
- VANKOVÁ J., 1958. Kultivierung von *Bacillus thuringiensis* im Versuchsbetriebsmasstab. *Trans. Ist. internation. Conf. Insect Pathol.*, Prague, 59-64.
- VANKOVÁ J., 1964. *Bacillus thuringiensis* in praktischer Anwendung. *Entomophaga*, h-5, n° 2, 271-291.
- VANKOVÁ J., 1965. Pathogenität einzelner Stämme der Gruppe *Bacillus thuringiensis* für verschiedene Lepidopteren-Verträter. *Proc. 12 internation. Congr. Entomol. London*, 1964, 739.
- VANKOVÁ J., 1966. Pathogenicity of different strains of *Bacillus thuringiensis* group for *Galleria mellonella* L. *Acta entomol. Bohemoslovaca*, **63**, 10-16.
- VANKOVÁ J., WEISER J., 1962. Preparation of insecticidal bacterial preparation from crystal-forming bacilli of the group *Bacillus thuringiensis*. Czechoslovak patent 105.416, Prague 1962.
- WILSON W. F., 1962. Observation on the effects of feeding large quantities of *Bacillus thuringiensis* BERL. to honey bee. *J. Insect. Pathol.*, **4**, 269-270.