

Activités in vitro de plusieurs huiles essentielles sur *Bacillus larvae* White et essai au rucher

I Floris ¹, C Carta ², MDL Moretti ³

¹ Istituto di Entomologia agraria;

² Istituto di Patologia vegetale, Università degli Studi, Via De Nicola;

³ Dipartimento di Scienze farmaceutiche, Università degli Studi, Via Muroni 23/a, 07100 Sassari, Italie

(Reçu le 4 mars 1996; accepté le 25 mars 1996)

Résumé — L'activité antibactérienne de plusieurs huiles essentielles sur les formes végétatives et sporulées de six souches de *Bacillus larvae* White, agent de la loque américaine, a été évaluée in vitro. Les résultats indiquent que les huiles d'oranger (*Citrus sinensis*), cannelle (*Cinnamomum sp*), cumin (*Cuminum cyminum*), giroflier (*Eugenia spp*), thym (*Thymus vulgaris*) et verveine (*Verbena*) présentent in vitro des pouvoirs bactéricides et sporicides ; celle de la cannelle a montré la meilleure activité, avec une concentration minimale bactéricide de 50 ppm et sporicide de 100 ppm. À la concentration de 400 ppm, incorporée dans le candi, cette huile a été efficace aussi contre la loque américaine dans une expérience en rucher. L'aromathérapie peut donc permettre de contrôler la loque américaine sans avoir recours ni aux sulfamides ni aux antibiotiques et de préserver le caractère naturel du miel.

***Bacillus larvae* / activité antibactérienne / huiles essentielles / aromathérapie / loque américaine**

INTRODUCTION

Les activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles sont depuis longtemps connues en phytothérapie (Maruzella et al, 1963). Récemment, elles ont été reconnues aussi sur *Ascosphaera apis*, agent du couvain plâtré (Colin et al, 1989), et sur *Bacillus larvae* (Carta et Floris, 1989 ; Floris et Carta, 1990 ; Calderone et Shimanuki, 1994), agent de la loque américaine. Il faut souligner en outre que l'aromathérapie

est pratiquée aussi bien en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine (Allegrini et al, 1974 ; Belaiche, 1979). L'utilisation de ces substances naturelles en apiculture présente un grand intérêt par rapport aux méthodes traditionnelles, car elle permet d'éviter le risque de résidus dangereux pour le consommateur comme cela s'est produit avec l'utilisation des antibiotiques (Gilliam et Argauer, 1981 ; Lodesani et al, 1994) et le développement de souches résistantes (Alippi, 1994). En outre, les antibiotiques et

les sulfamides utilisés dans la pratique apicole agissent seulement par un effet bactériostatique contre *Bacillus larvae*, donc il est nécessaire de trouver des substances réunissant des pouvoirs bactéricide et sporicide. Pour ces raisons, on a vérifié, d'abord in vitro (Carta et Floris, 1989) et puis dans les ruchers (Floris et Carta, 1990), l'action de plusieurs huiles essentielles disponibles dans le commerce en Italie.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Mesure in vitro des activités

Les essais in vitro ont été faits sur les huiles suivantes, pour lesquelles on a indiqué la source botanique principale et le type : anis étoilé (*Illium verum* Hook, F, E-ANIV/01), basilic (*Ocimum basilicum* L, E-BASI/01), bergamotier (*Citrus bergamia* Risso, E-BERG/01), cumin (*Cuminum cyminum* L, E-CUM/01), eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labille, E-EUC/01), genévrier (*Juniperus communis* L, E-GEN/01), giroflier (*Eugenia* spp, E-GIR/01), géranium (*Pelargonium graveolans* L, E-GER/01), hysope (*Hyssopus officinalis* L, E-HYS/01), lavande (*Lavandula officinalis* Chaix, E-LVD/01), citron (*Citrus limon* (L) Burm F, E-MELV/01), menthe (*Mentha arvensis* L, var *piperrascens*, E-MTHS/02), oranger (*Citrus sinensis* L, E-ORD/01), origan (*Thymus vulgaris* L, E-ORI/01), pin (*Pinus* sp, E-PIN/01), romarin (*Rosmarinus officinalis* L, E-ROM/01), sarriette (*Thymus vulgaris* L, E-SAR/01), sauge (*Salvia officinalis* L, E-SAG/01), thym (*Thymus vulgaris* L, E-THY/01) et verveine (huile reconstituée, E-VEIR/01). En outre on a utilisé, in vitro et in vivo, l'huile de cannelle (*Cinnamomum* sp) dont le tableau I montre la composition chimique déterminée à travers la méthode reportée sur «British Pharmacopoeia» (1995, vol II, Appendix XK) et par chromatographie en phase gazeuse (Peana et al, 1994).

À partir de larves atteintes de loque américaine, provenant de trois ruchers différents de la Sardaigne du Nord, on a isolé trois souches de *B larvae* (C1, C2, C3), trois autres ont été fournies par l'Institut zooprophyllactique de Sassari (C4) et par l'Institut national d'apiculture de Bologna (C5, C6).

Préalablement l'activité antibactérienne des huiles soit pures soit faiblement diluées (1:5 dans l'éthanol à 95 %) a été évaluée par la méthode de diffusion en agar (Carta et al, 1989). Les cultures et les essais ont été effectués sur le substrat décrit par Forster et al (1950). Les spores ont été obtenues sur le milieu 'Brain Heart Infusion' de la Difco. Pour chaque souche, une suspension dense dans l'eau a été obtenue à partir d'une culture de 24 heures. Cette suspension, diluée à 1/10, a été utilisée pour ensemencher l'agar nutritif (1 mL suspension / 100 mL substrat) maintenu en bain thermostatique à 47 °C. Ensuite, le substrat a été coulé dans des boîtes de Pétri de 90 mm ; après la solidification, au centre de chaque plaque on a mis un petit disque de papier filtre stérile ('Bacto Concentration Disks' de la Difco) saturé avec les substances à tester ; dans les boîtes témoin le disque était imbibé d'éthanol à 95 %. Pour chaque souche et pour chaque

Tableau I. Composition de l'huile essentielle de *Cinnamomum* sp utilisée dans l'expérience de terrain.

N°	Composant	Pourcentage
1	a-theyène	1,1
2	a-pinène	1,8
3	camphène	0,2
4	b-pinène	0,1
5	phellandrière	0,1
6	limonène	0,2
7	p-cymène	0,2
8	camphre	0,1
9	benzaldéhyde	0,2
10	linalol	0,5
11	bornylacétate	0,5
12	b-caryophyllène	0,1
13	a-terpinéol	0,2
14	bornéol	0,2
15	isobutyrate de linalyl	0,1
16	géranol	0,2
17	alcool cinnamique	0,5
18	aldéhyde cinnamique	79,3
19	aldéhyde hydroxycinnamique	1,8
20	inconnu	0,3
21	eugénol	11,9
22	méthyl eugénol	0,1
23	inconnu	0,2
24	farnésol	0,1

substance on a effectué trois répétitions. Après 48 heures d'incubation à la température de 36 °C, les huiles qui avaient généré un diamètre d'inhibition d'au moins 20 mm ont été essayées à différentes concentrations (de 50 à 400 ppm) pour établir les concentrations minimales inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et sporicide (CMS).

Tolérance

Pour estimer les effets secondaires sur les abeilles (*Apis mellifera ligustica* L), on a utilisé des cagettes contenant chacune un fragment de rayon et 50 abeilles adultes prélevées dans les ruchers. Pour chaque huile nous avons utilisé trois cagettes. On a décidé d'essayer les effets seulement sur les abeilles adultes en considérant le type d'administration de l'huile choisi pour l'essai in vivo (par le candi). Les différentes huiles essentielles ont été administrées à la concentration de 400 ppm dans du sirop de sucre pendant dix jours. Pendant les expériences, on a enregistré la mortalité des abeilles et le taux de consommation des solutions.

Essais thérapeutiques

En ce qui concerne les essais sur le terrain, qui ont un caractère préliminaire, un nombre limité de ruchers a été employé en considérant les difficultés pratiques et la nécessité d'avoir à disposition des groupes de colonies génétiquement homogènes. Dans le premier essai, on a utilisé seulement l'huile qui s'est révélée la plus efficace in vitro, c'est-à-dire l'huile de cannelle. Les effets de cette huile sur l'évolution de la loque américaine ont été jugés sur 4 nuclei, provenant de la même ruche, ayant de jeunes reines fécondées et approximativement des quantités égales de couvain, miel et pollen (Lindenfelser, 1968). L'infection a été réalisée par l'aspersion de la surface du couvain d'une suspension aqueuse contenant environ 1×10^8 mL de spores de *B larvae*. L'huile a été administrée (d'octobre à décembre) à la concentration de 400 ppm incorporée dans un candi au miel (1 partie de miel/1,5 partie de sucre glace). La dose par colonie traitée était de 1,2 g d'huile, répartie dans 3 kg de candi et administrée en six doses hebdomadaires de 0,5 kg chacune. Trois ruches ont été nourries avec le candi aromatisé : la première au moment de l'infection

(début octobre), la deuxième 10 jours après et la troisième 20 jours après l'infection. La ruche témoin a reçu le candi simple.

Dans le deuxième essai, cinq colonies ont été obtenues comme indiqué ci-dessus : deux ont été traitées avec le candi aromatisé ; deux par le sulfathiazol (Giordani et al, 1982) et une avec du candi simple. L'essai a commencé en août lorsque les symptômes de la loque américaine étaient évidents.

Au cours des deux essais on a examiné périodiquement (toutes les 2 semaines) le couvain pour évaluer l'évolution de la maladie, en observant l'état général du couvain et en prélevant un échantillon d'environ 30 larves pour l'analyse de laboratoire (Lloyd, 1986).

RÉSULTATS

Essais in vitro (tableaux II, III et IV; fig 1)

Pures, la plupart des huiles montre une action inhibitrice sur toutes les souches de *B larvae*. À la dilution de 1/5, l'efficacité des huiles de cannelle, cumin et verveine est presque inchangée, réduite pour celles de bergamotier, giroflier, géranium, hysope, citron, menthe, orange, romarin, sarriette et thym, négligeable pour les autres : anis, basilic, eucalyptus, genévrier, lavande, origan, pin et sauge. Les essais à différentes concentrations indiquent que l'huile de cannelle est la plus efficace (CMB = 50–100 ppm ; CMS = 100–200 ppm). Dans tous les cas, la CMB a été au maximum de 200 ppm et la CMS de 300 ppm.

L'analyse de variance a été utilisée pour évaluer les différences dans l'action des huiles essentielles sur les six souches de *B larvae*.

Tolérance

Les ouvrières des cagettes ont accepté de la même façon les différentes solutions

Tableau II. Diamètre moyen d'inhibition (en mm) des huiles essentielles pures et diluées à 1:5 sur six souches différentes de *Bacillus larvae* White.

Huiles	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
	Pure	Diluée	Pure	Diluée	Pure	Diluée	Pure	Diluée	Pure	Diluée	Pure	Diluée
<i>Citrus sinensis</i>	50,0 ± 1,0 c	33,3 ± 0,6c	59,3 ± 0,6c	30,0 ± 1,0e	59,3 ± 0,6c	30,0 ± 1,0e	50,0 ± 1,0d	28,0 ± 1,0c	63,3 ± 0,6b	46,0 ± 1,0c	62,3 ± 0,6c	51,7 ± 0,6b
<i>Citrus bergamia</i>	24,3 ± 0,6 e	10,0 ± 1,0g	27,3 ± 0,6f	15,0 ± 1,0ghi	27,3 ± 0,6f	15,0 ± 1,0gh	27,3 ± 0,6f	10,7 ± 0,6f	37,3 ± 0,6e	10,0 ± 1,0i	34,7 ± 0,6h	10,0 ± 1,0i
<i>Cinnamomun</i> sp	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 1,0a	83,0 ± 1,0a	83,0 ± 1,0a	83,0 ± 1,0a	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 1,0a	83,0 ± 1,0a
<i>Cuminum cyminum</i>	83,0 ± 2,0a	60,0 ± 1,0b	83,0 ± 1,0a	83,0 ± 1,0a	83,0 ± 1,0a	83,0 ± 1,0a	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 2,0a	21,7 ± 0,6f	83,0 ± 1,0a	29,0 ± 1,0d
<i>Eugenia</i> spp	27,0 ± 1,0d	20,7 ± 0,6e	83,0 ± 2,0a	40,0 ± 1,0c	83,0 ± 1,0a	40,0 ± 1,0c	42,0 ± 1,0e	34,7 ± 0,6b	34,3 ± 0,6f	26,7 ± 0,6d	36,7 ± 0,6g	30,0 ± 1,0d
<i>Pelargonium graveolans</i>	25,3 ± 0,6def	11,7 ± 0,6g	83,0 ± 2,0a	23,3 ± 0,6f	83,0 ± 1,0a	23,3 ± 0,6f	41,7 ± 0,6e	17,3 ± 0,6e	38,3 ± 0,6e	16,7 ± 0,6h	61,7 ± 0,6c	16,0 ± 1,0f
<i>Hyssopus officinalis</i>	27,0 ± 1,0d	16,7 ± 0,6f	83,0 ± 2,0a	14,0 ± 1,0i	83,0 ± 1,0a	14,0 ± 1,0h	77,7 ± 0,6c	17,7 ± 0,6e	41,7 ± 0,6d	14,7 ± 0,6i	55,0 ± 1,0d	13,7 ± 0,6g
<i>Citrus limon</i>	68,3 ± 0,6b	7,3 ± 0,6h	53,0 ± 1,0d	10,0 ± 1,0m	53,0 ± 1,0d	10,0 ± 1,0l	80,3 ± 0,6b	7,3 ± 0,6g	38,3 ± 0,6e	10,0 ± 1,0i	39,0 ± 1,0f	10,0 ± 1,0i
<i>Mentha arvensis</i>	48,3 ± 0,6c	6,0 ± 1,0h	83,0 ± 2,0a	11,7 ± 0,6i	83,0 ± 2,0a	11,7 ± 0,6i	83,0 ± 1,0a	11,0 ± 1,0f	61,7 ± 0,6b	11,3 ± 0,6i	80,3 ± 0,6b	11,7 ± 0,6h
<i>Rosmarinus officinalis</i>	18,3 ± 0,6f	2,0 ± 1,0i	33,3 ± 0,6e	9,3 ± 0,6m	33,3 ± 0,6e	9,3 ± 0,6l	15,0 ± 1,0g	6,0 ± 1,0g	39,3 ± 0,6e	8,3 ± 0,6m	45,0 ± 1,0e	10,0 ± 1,0i
<i>Thymus vulgaris</i> type E-SAR01	48,0 ± 1,0c	17,7 ± 0,6f	61,7 ± 0,6b	16,3 ± 0,6g	61,7 ± 0,6b	16,3 ± 0,6g	49,3 ± 0,6e	17,7 ± 0,6e	58,3 ± 0,6c	18,3 ± 0,6g	61,0 ± 1,0c	18,3 ± 0,6e
<i>Thymus vulgaris</i> type E-THY/01	83,0 ± 2,0a	29,3 ± 0,6d	83,0 ± 1,0a	32,0 ± 1,0d	82,7 ± 1,5a	32,0 ± 1,0d	83,0 ± 2,0a	25,7 ± 0,6d	83,0 ± 2,0a	24,7 ± 0,6e	83,0 ± 1,0a	35,3 ± 0,6c
<i>Verbena</i> (huile reconstituée)	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 1,0a	68,7 ± 0,6b	82,7 ± 1,5a	68,7 ± 0,6b	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 2,0a	83,0 ± 2,0a	61,7 ± 0,6b	83,0 ± 1,0a	83,0 ± 1,0a

Dans une colonne les chiffres suivis de la même lettre ne sont pas statistiquement différents pour $p \leq 0,05$.

d'huiles essentielles administrées : en moyenne 50 abeilles avaient consommé 60,1 ± 8,9 mg de solution en dix jours avec une mortalité de 28,7 ± 6,2 % abeilles. Dans les cagettes témoin 50 abeilles avaient consommé 78,2 ± 22,5 mg de sirop de sucre pour une mortalité de 24 ± 7,2 %. L'analyse statistique n'indique pas de différence significative au seuil de 5 % parmi les cagettes autant pour la mortalité des abeilles que pour la quantité de sirop consommé.

Essais de terrain

Sur le terrain, le traitement à l'huile de cannelle s'est révélé efficace en prévention. À l'examen effectué deux semaines après le début du traitement on a trouvé des larves qui présentaient les symptômes caractéristiques de la loque américaine dans trois des quatre colonies, à l'exception de celle traitée au moment de l'aspersion des spores. Après 4 semaines d'administration du candi

Tableau III. Concentration (mg/kg) minimale bactéricide (CMB) des huiles essentielles les plus efficaces sur six souches différentes de *Bacillus larvae* White.

Huiles	Souches						Moyenne ± écart type
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	
<i>Citrus sinensis</i>	100	100	200	200	100	100	133,3 ± 51,6
<i>Cinnamomun</i> sp	100	50	100	100	100	100	91,7 ± 20,4
<i>Cuminum cyminum</i>	100	100	100	200	100	200	133,3 ± 51,6
<i>Eugenia</i> spp	200	100	200	200	200	200	183,3 ± 40,8
<i>Thymus vulgaris</i> (type E-THY/01)	200	200	200	200	200	200	200,0 ± 0,0
<i>Verbena</i> (huile reconstituée)	200	200	200	200	200	100	183,3 ± 40,8

Tableau IV. Concentration (mg/kg) minimale sporicide (CMS) des huiles essentielles les plus efficaces sur six souches différentes de *Bacillus larvae* White.

Huiles	Souches						Moyenne ± écart type
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	
<i>Citrus sinensis</i>	200	200	300	300	200	200	233,3 ± 51,6
<i>Cinnamomun</i> sp	200	100	200	200	200	200	183,3 ± 40,8
<i>Cuminum cyminum</i>	200	200	200	300	200	300	233,3 ± 51,6
<i>Eugenia</i> spp	300	200	300	300	300	300	283,3 ± 40,8
<i>Thymus vulgaris</i> (type E-THY/01)	300	300	300	300	300	300	300,0 ± 0,0
<i>Verbena</i> (huile reconstituée)	300	300	300	300	300	200	283,3 ± 40,8

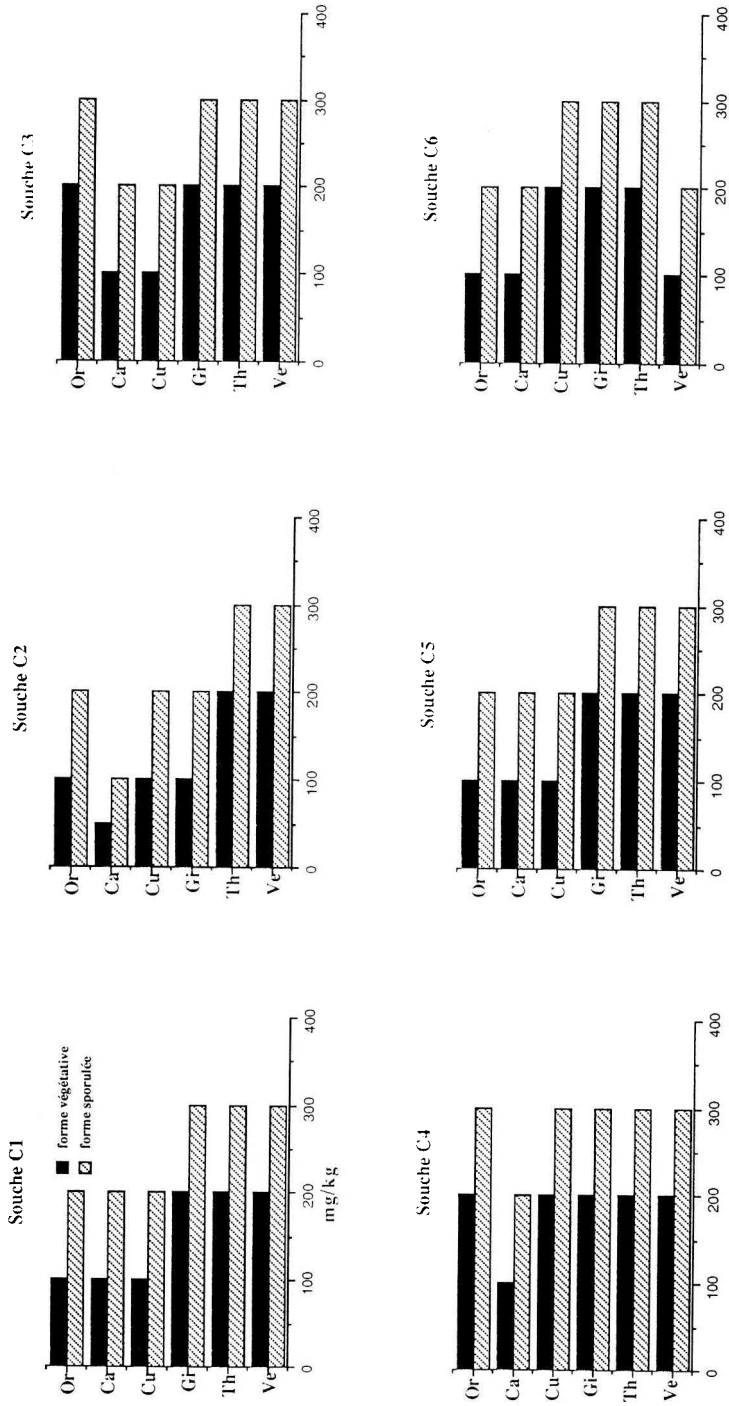


Fig 1. Concentration (mg/kg) minimale bactéricide et sporicide des huiles essentielles (Or : *Citrus sinensis* ; Ca : *Cinnamomum* sp ; Cu : *Cuminum cyminum*; Gi : *Eugenia* spp; Th : *Thymus vulgaris* type E-THY/01; Ve : *Verbena* (huile reconstituée) sur six souches différentes de *Bacillus larvae* White.

aromatisé, à l'observation du couvain sur le terrain et au laboratoire, les colonies traitées apparaissaient entièrement guéries et seule la colonie témoin restait atteinte. Au début de l'été (juin), les symptômes visibles sont réapparus aussi sur les colonies traitées.

Dans la deuxième expérience, le sulfathiazol comme le candi aromatisé a provoqué une interruption temporaire de l'évolution de la loque.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

L'aspect le plus important à souligner est l'activité bactéricide et sporicide in vitro de plusieurs huiles essentielles. Il faudrait mieux utiliser ces activités pour le contrôle de la loque américaine. Nos expériences ont confirmé la forte activité antibactérienne in vitro de l'huile de Cannelle. En ce qui concerne le terrain, les essais effectués confortent les résultats de laboratoire, en particulier pour la période automne-hiver, mais nécessitent une confirmation sur une base expérimentale plus vaste. Dans ce cas, l'huile pourrait remplacer le sulfathiazol et vraisemblablement les antibiotiques utilisés dans le contrôle de la maladie surtout pendant les traitements préventifs hivernaux. Cependant, l'administration choisie de l'huile dans les ruchers (par la nourriture) ne peut pas être considérée comme une désinfection, donc le problème de l'élimination de tout le matériel infecté par les spores demeure entier.

Les recherches futures devraient établir d'autres méthodes plus appropriées d'utilisation des huiles aussi pendant le printemps et pendant l'été, complétées par des techniques apicoles comme, par exemple, la réduction à l'état d'essaim, qui assure l'élimination de la plupart des spores dans la ruche, permettant ainsi d'obtenir une amélioration radicale de l'état de santé des colonies atteintes de loque américaine.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les docteurs M Dettori et A Lentini pour leur collaboration.

Summary — Activity of various essential oils against *Bacillus larvae* White in vitro and in apiary trials. The action of 21 essential oils against six strains of *Bacillus larvae* White, the causal agent of American foulbrood of honeybees, was studied in vitro. In a preliminary trial (table II) the effectiveness of either pure or diluted (1:5) oils was assessed by the diffusion agar method (Carta et al, 1989). The more effective ones were then tested in nutrient broth, at doses ranging from 50–400 mg/kg, to determine the minimal bactericide and sporicide concentrations. The most significant results were obtained with the oils of *Citrus sinensis*, *Cinnamomun* sp, *Cuminum cyminum*, *Eugenia* spp, *Thymus vulgaris* and reconstituted oil of *Verbena* (tables III and IV, fig 1). The same oils proved to be non-toxic for adult honeybees at the dose of 400 mg/kg. *Cinnamomun* oil was the most effective, with minimal bactericide and sporicide concentrations of 50 and 100 mg/kg respectively. This oil also gave positive results in controlling the American foulbrood in field trials, particularly in autumn and winter, when administered in semi-solid food (honey + caster sugar, 1:1.5) at a concentration of 400 mg/kg. In particular, the action of *Cinnamomun* oil on disease growth was evaluated in two distinct trials using four and five nuclei, respectively, obtained from the same colony (*Apis mellifera ligustica* Spin) so that each of them contained an approximately equal amount of adult bees, brood, honey and pollen beside a young queen (Liendenfelser, 1968). In both experimental trials, the worker brood was also carefully examined periodically by laboratory tests (Lloyd, 1986). The results showed that during autumn and winter, when the bees'

consumption of the extra food is favoured by the environmental conditions (weather, scarcity or absence of flowers), *Cinnamomum* oil acts also *in vivo* on *B larvae*. However, its use in the control of American foulbrood poses several practical problems including the time and the method of administration to take full advantage of the bactericidal properties found *in vitro*. If essential oils can be used against American foulbrood, the toxicological risks and the establishment of undesirable resistance factors associated with use of chemicals would be avoided.

***Bacillus larvae* / antimicrobial action / essential oil / American foulbrood control**

Zusammenfassung — Wirksamkeit verschiedener ätherischer Öle gegen *Bacillus larvae* White *in vitro* und Versuche am Bienenstand. Die Wirksamkeit von 21 ätherischen Ölen gegen 6 Linien von *Bacillus larvae* White, dem Erreger der amerikanischen Faulbrut bei Honigbienen, wurde *in vitro* untersucht. In Vorversuchen (Tabelle II) wurde die Wirksamkeit von reinen Ölen sowie ihrer verdünnten Lösungen (1:5) mit der "Diffusion Agar Methode" (Carta et al, 1989) bestimmt. Anschließend wurden nur die wirksamsten weiter in Futterlösung (nutrient broth) untersucht. Um die kleinsten bakterizide und sporozide Konzentrationen zu bestimmen, wurde die Dosis von 50 bis 400 mg/kg variiert. Die deutlichsten Ergebnisse wurden mit Ölen von *Citrus sinensis*, *Cinnamomum* sp., *Cuminum cyminum*, *Eugenia* spp., *Thymus vulgaris* und wieder aufbereitetem Öl von *Verbena* (Tabelle III und IV, Abb 1) erzielt. Bei der Dosierung von 400 mg/kg war dieses Öl für adulte Bienen ungiftig. *Cinnamomum* Öl zeigte die größte Wirksamkeit, die minimale bakterizide bzw sporozide Konzentration betrug 50 und 100 mg/1 kg. Dieses Öl zeigte auch eine positive Wirkung bei der Behandlung der amerikanischen Faulbrut in Feldversuchen, beson-

ders im Herbst und Winter, wenn es mit Futtermittel (Honig + Puderzucker, 1:1,5) in einer Dosis von 400 mg/kg verabreicht wird. Weiterhin wurde die Wirksamkeit von *Cinnamomum* Öl in 2 getrennten Versuchen bestimmt: 4 bzw 5 Ableger wurden jeweils aus dem gleichen Volk gebildet (*Apis mellifera ligustica* Spin), sodaß alle etwa die gleiche Anzahl adulter Bienen, Brut, Honig und Pollen und eine junge Königin (Lindenfelder, 1968) erhielten. In beiden Versuchen wurde die Brut in festen Zeitabständen mit Labortests untersucht (Lloyd, 1986). Die Ergebnisse zeigten, daß *Cinnamomum* Öl *in vivo* im Bienenvolk eine Wirkung hat, wenn im Herbst und im Winter, bedingt durch die Außenbedingungen (Wetter, nur wenige oder gar keine Blüten), die Aufnahme von Zusatzfutter durch die Bienen begünstigt wird. Die Nutzung des Öls für die Behandlung der amerikanischen Faulbrut mit der vollen Wirksamkeit der *in vitro* gefundenen bakteriziden Eigenschaften wirft jedoch einige praktische Probleme auf, die sowohl die Zeit als auch die Methode der Applikation betreffen. Der Einsatz ätherischer Öle gegen amerikanische Faulbrut könnte möglicherweise toxikologische Risiken und die Bildung unerwünschter Resistenzen, verursacht durch wahllose Anwendung von Chemikalien, vermeiden.

***Bacillus larvae* / antimicrobial Wirkung / ätherische Öle / Behandlung der amerikanischen Faulbrut**

RÉFÉRENCES

- Alippi AM (1994) *In vitro* sensitivity of *Bacillus larvae* to different antibiotics. *Vida Apicola* 66, 20-24
- Allegrini J, Simeon de Buochberg M, Pellecuer J (1974) Étude *in vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique de l'essence de *Satureia montana* L. *J Pharm Belg* 29, 137-144
- Belaiche P (1979) *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome II. Maladies infectieuses*. Maloine, Paris

- Calderone NW, Shimanuki H (1994) An in vitro evaluation of botanical compounds for the control of the honeybee pathogens *Bacillus larvae* and *Ascosphaera apis*, and the secondary invader *B alvei*. *J Essent Oil Res* 6, 279-287
- Carta C, Floris I (1989) Prospettive di controllo della peste americana delle api con oli essenziali. Prove preliminari. *Società Italiana Ecologia, Atti* 8, 183-187
- Carta C, Foddai A, Marras F (1989) Attività di oli essenziali e di alcuni loro costituenti su *Agrobacterium tumefaciens* (Smith et Townsend) Conn biotipo 1 Keane et al. *Atti Giornate Fitopatologiche* 1, 527-536
- Colin ME, Ducos de Lahitte J, Larribau E, Boué T (1989) Activité des huiles essentielles de labiées sur *Ascosphaera apis* et traitement d'un rucher. *Apidologie* 20, 221-228
- Floris I, Carta C (1990) In vivo activity of *Cinnamomum zeylanicum* Nees essential oil against *Bacillus larvae* White. *Apicoltura* 6, 57-61
- Forster G, Hardwick WA, Guirard B (1950) Antisporulation factors in complex organic media. I. Growth and sporulation studies of *Bacillus larvae*. *J Bact* 59, 463-470
- Gilliam M, Argauer RJ (1981) Oxytetracycline residues in surplus honey, brood nest honey and larvae after medication of colonies of honey bees, *Apis mellifera*, with antibiotic extender patties, sugar dusts, and syrup sprays. *Environ Entomol* 10, 479-482
- Giordani G, Vecchi MA, Nardi M (1982) Nozioni pratiche sulle malattie delle api. Federazione Apicoltori Italiani ed, Roma, 23-44
- Lindenfelser LA (1968) In vivo activity of propolis against *Bacillus larvae*. *J Invertebr Pathol* 12, 129-131
- Lodesani M, Carpana E, Bassini A, Dottori M, Mascher A, Lavazza A (1994) Ricerca di residui di ossitetra-ciclina in alveari trattati secondo due diversi metodi di somministrazione. *Apicoltura* 9, 51-66
- Lloyd JM (1986) Simplified laboratory diagnosis of American foulbrood disease. *J Apic Res* 25, 55-57
- Maruzzella JC, Reine S, Solat H, Zeitlin H (1963) The action of essential oils on phytopathogenic bacteria. *Plant Disease Reporter* 47, 23-26
- Peana A, Satta M, Moretti MDL, Orecchioni M (1994) A study on choleric activity of *Salvia desoleana* essential oil. *Planta Med* 60, 478-479