

# Activités des champignons entomopathogènes (*Fungi imperfecti*) sur les adultes de *Cosmopolites sordidus* Germ. (*Coleoptera, Cucurliionidae*)\*1/ \_\_\_\_\_ P. DELATTRE, A. JEAN-BART,\*\*

## ABSTRACT

*Problems aroused by control of the harmful banana weevil have focused our study on the use of pathogenic germs against this pest.*

*In a first phase, we selected those germs and showed efficiency of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae strains.*

*Treatment in field conditions, and laboratory breeding of natural populations which were parasitised, proved that insects were really infected. However, in these conditions some inhibition of the disease appeared and that difficulty is discussed.*

### Introduction

LES interventions contre le charançon du bananier *Cosmopolites sordidus* (COLEOPTERA CURCULIONIDAE), responsable de dégâts au niveau du bulbe de la plante, ont jusqu'à présent été de nature chimique et se sont heurtées à plusieurs reprises au développement de phénomènes de résistance vis-à-vis des produits employés. Ce fut le cas avec le dieldrine (9) puis avec le H.C.B. (2) dont les autorisations d'emploi furent prolongées pour ce seul usage jusqu'en 1975.

Le Kepone, actuellement employé, est également un organochloré dont l'utilisation continue pose les problèmes de concentration croissante du produit au sein des chaînes alimentaires. Ceci laisse supposer une interdiction prochaine de ce produit. Or la rémanence des insecticides chlorés constituait un atout majeur dans la lutte contre le charançon et leur remplacement par des insecticides plus facilement dégradables s'accompagne régulièrement d'une efficacité moindre.

Parmi les autres moyens de lutte envisagés contre ce charançon, des introductions d'insectes entomophages, uniquement des prédateurs, furent réalisées sans succès

dès le début du siècle (5, 7). Hormis quelques germes pathogènes, aucune adaptation d'ennemis naturels ne paraît s'être réalisée. C'est donc dans ce domaine de la lutte microbiologique que nous avons engagé notre étude en cherchant dans une première étape à définir les souches de diverses espèces de *Fungi imperfecti* les plus actives à l'égard de ce coleoptère.

Nous avons porté notre intérêt sur le seul stade adulte car dans la nature le comportement fouisseur des larves à l'intérieur du bulbe du bananier les place à l'abri des contaminations. Il en est de même pour les nymphes.

### Methodes et techniques

Nous avons procédé en 3 étapes expérimentales:

- 1) des essais en laboratoire destinés à sélectionner les germes actifs
- 2) une expérimentation en cuves
- 3) l'application sur le terrain, sous couvert de bananeraie.

En raison de la longévité des insectes, l'hétérogénéité de ce matériel est grande et pour compenser celle-ci chaque traitement est effectué sur 10 lots de 10 insectes prélevés au hasard dans une population d'insectes de même origine.

Au laboratoire 2 modes de traitements ont été comparés:

\* Manuscrit reçu le 30 juin 1978.

1/ Je remercie M. HURPIN B. Directeur de la Station de Recherches de Lutte Biologique de la Minière ainsi que M. FERRON P., qui m'ont aidé de leurs conseils critiques et autorisé à utiliser plusieurs souches entomopathogènes conservées à la mycothèque de la Station.

\*\* Institut National de la Recherche Agronomique (I.N.R.A.), Centre des Antilles, Station de Zoologie et Lutte Biologique, 97170 Petit Bourg, Guadeloupe, Antilles Françaises.

Tableau 1.—Origine des souches de champignons entomopathogènes utilisées.

Germe	Hôte d'origine		
Beauveria brongniartii (= B. tenella)			
	N° 39		Tinoidae — Lepidoptera
	N° 47	Melolontha melolontha L.	Scarabaeidae — Coleoptera
Beauveria bassiana			
	N° 18	Epinotia cedricida	Tortricidae — Lepidoptera
	N° 32	Leptinotarsa decemlineata Say	Chrysomelidae — Coleoptera
	N° 42	Otiorrhynchus Sp.	Curculionidae — Coleoptera
	N° 109	Hylobius abietis L.	— Coleoptera
	G1 et G2	Cosmopolites sordidus Germar	Chrysomelidae — Coleoptera
Metarhizium anisopliae			
	N° 71	Leptinotarsa decemlineata Say	Chrysomelidae
	N° 84	Cosmopolites sordidus Germar	Curculionidae — Coleoptera
	G1	Cosmopolites sordidus Germar	Curculionidae — Coleoptera
	G2	Metamasius hemipterus	Curculionidae — Coleoptera
	G3	non déterminé	— Orthoptera
Nomuraea rileyi (= Spicaria rileyi)			
	N° 5	Prodenia (= Spodoptera) cethoralis	Noctuidae — Lepidoptera

- 1) Les insectes sont élevés sur une double feuille de papier filtre (de 7 cm de diamètre) sur laquelle est déposé, avant l'introduction des insectes, 1 cm<sup>3</sup> d'une suspension de spores titrée.
- 2) les élevages sont conduits sur un substrat permettant l'enfouissement des insectes (sable ou argile). La contamination du substrat est réalisée à l'aide d'une suspension aqueuse de spores.

Les diverses souches de champignons ont été isolées dans certains cas de *C. sordidus* morts dans la nature. Dans les autres cas elles proviennent de la mycothèque de la Station INRA de lutte biologique de la Minière et appartiennent aux espèces suivantes:

*Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch (= *B. tenella*) (Delac) Siem).

*Beauveria bassiana* (Bals) Vuill

*Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sor.

*Nomuraea rileyi* (= *Spicaria rileyi*) Farlow

Les hôtes d'origine des germes sont indiqués dans le Tableau 1.

Pour l'ensemble des expériences décrites, les conidiospores ont été produites en fiole de Roux sur milieu de Sabouraud gélosé tandis que les blastospores ont été obtenues en Erlenmeyers agités en utilisant le milieu Sabouraud liquide. Les traitements sont effectués avec des suspensions aqueuses de spores dont la teneur en spores est évaluée à l'aide de la cellule de Malassez.

Les applications sur le terrain ont été précédées d'une série d'expériences réalisées en cuves métalliques (de dimensions 0,75 x 0,90 m x 0,70 m) contenant 0,30 m<sup>3</sup> de terre de bananeraie et 4 jeunes plants de bananiers. La surface totale des cuves est traitée après l'introduction des insectes. Un grillage à mailles fines sert de couvercle. Des piègeages par des morceaux de pseudotrons fraîchement coupés, effectués à intervalles réguliers dans ces enceintes, ont permis d'estimer l'importance des populations survivantes.

En bananeraie, l'application des spores (par aspersion) est localisée à la surface entourant les pieds de bananiers. Le dénombrement des insectes dans ce cas est établi par une méthode de capture, marquage et recapture successifs.

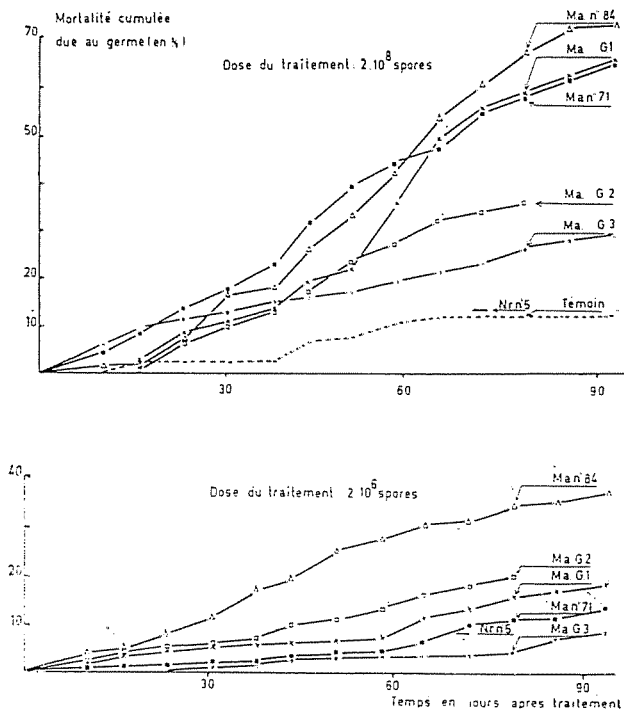


Fig. 1. Mortalité cumulée en fonction du temps après traitements à base de conidiospores de diverses souches de champignons entomopathogènes. (B.b.: Beauveria bassiana, B.t.: Beauveria tenella).

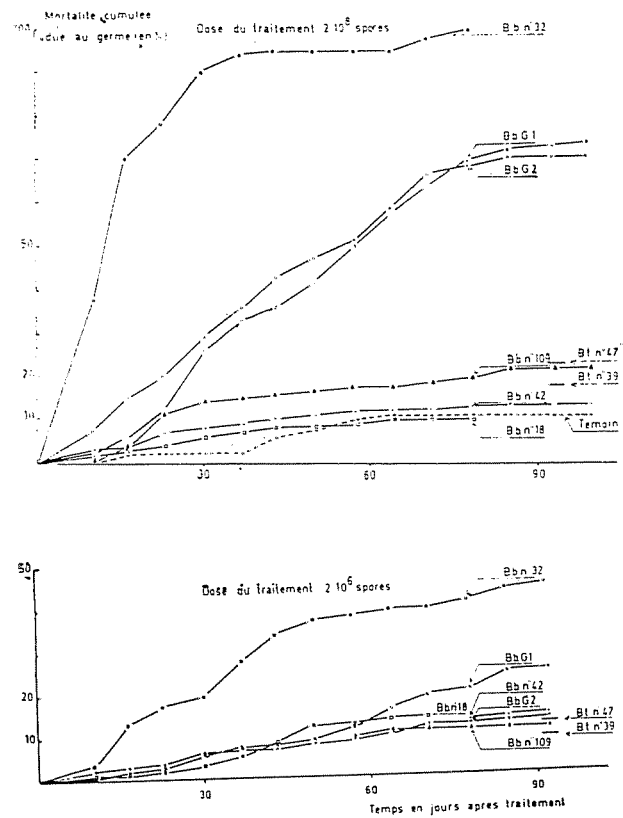


Fig. 2. Mortalité cumulée en fonction du temps après traitements à base de conidiospores de diverses souches de champignons entomopathogènes (M.a.: Metarhizium anisopliae, N.r. Nomuraea rileyi).

Resultats

1) Comparaison en laboratoire du pouvoir pathogène de différents champignons.

Les essais réalisés sur support "papier filtre" ont donné les résultats présentés par les Figures 1 et 2, l'expérimentation sur substrat de sable ou de terre a abouti au Tableau 2.

Quelques remarques peuvent être faites:

1) Plusieurs souches de *B. bassiana* sont actives sur *C. sordidus* (souches B.b. N° 32, B.b. G1 et B.b. G2). L'action de la souche B.b. N° 32 diffère de celle des

souches locales par sa rapidité. Les souches B.b. G1 et B.b. G2 isolées à partir de *C. sordidus* en des lieux différents de la Guadeloupe présentent le même type d'action et des taux de mortalité très voisins. Il s'agit sans doute du même "pathotype". Aucune des autres souches de *B. bassiana* (N° 109, N° 42 et N° 18) ne diffère du témoin.

2) Parmi les souches de *M. anisopliae*, M.a. N° 84 et M.a. G1, issues toutes deux de *C. sordidus* mais isolées à quelques années d'intervalle, présentent le même

Tableau 2.—Pourcentages de mortalité observés à J + 60 jours après des traitements à base de *Beauveria* (B.b. G1) en boîtes d'élevage. ( : pas d'essais effectués)

Type de spores	Spores par gramme		10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>
	substrat						
Blastospores	Terre		0%	—	3%	—	15%
Blastospores	Sable		—	11%	—	52%	—
Conidiospores	Sable		—	33%	—	54%	—

type d'action et peuvent donc être considérées également comme semblables. Les autres souches locales Mia. G2 et M.a. G3 diffèrent peu du témoin.

3) Les essais effectués avec *B. tenella* (souches N° 39 et N° 47) et *N. vileyi* (souche N° 5) sont négatifs.

4) Exception faite des souches B.b. N° 32 et M.a. N° 84, les taux de mortalité observés pour la concentration de  $1 \cdot 10^6$  spores par boîte diffèrent peu de ceux observés chez le témoin.

5) L'activité des germes est plus grande sur substrat sableux. La pathogénicité des conidiospores est sensiblement différente de celle des blastospores; elle est nettement supérieure pour les concentrations faibles.

Après ces essais préliminaires il apparaît que le pouvoir pathogène de certaines souches "étrangères" égale (cas de la souche M.a. N° 71) ou dépassent (souche B.b. N° 32) celui des souches locales et qu'en conséquence la poursuite des expérimentations avec ces souches était justifiée.

## 2) Essai d'infection en cuves par *Beauveria bassiana*

### Conditions de l'essai A:

— Introduction, dans chacune des 5 cuves utilisées, de 200 insectes.

— Traitement avec la souche B.b. G1, le 14 Août 1974 à raison de  $5 \times 10^{11}$  blastospores/m<sup>2</sup> dans 3 des cuves et  $5 \times 10^{11}$  conidiospores/m<sup>2</sup> dans l'une des cuves.

— Echantillonnage des populations le 28 Août (J + 14) et le 18 septembre (J + 35).

Les résultats de cet essai (Tableau 3) ne font pas apparaître de différences entre les lots traités et le lot témoin.

### Conditions de l'essai B:

— Introduction dans chaque cuve de 100 insectes.

— Traitement avec la souche B.b. G1 le 25 septembre 74 (mêmes doses que pour l'essai A).

— Echantillonnage des populations le 28 octobre.

A l'issue de cette expérience les insectes récoltés sont élevés sur papier filtre humidifié et les taux de mortalité pour chacun des traitements sont calculés à différents intervalles de temps (Tableau 4).

Au cours des observations quelques insectes mycosés ont été trouvés en surface des cuves. Cependant aucune différence significative n'apparaît entre les lots témoins et les lots traités mais le changement dans les conditions subies par les insectes, produit par la mise en élevage des individus prélevés environ 1 mois après le traitement (dans le cas de l'essai B) induit le développement rapide de la maladie, spécialement chez les insectes traités par des conidiospores. Les taux de mortalité sont les plus élevés durant le 1er mois qui suit le ramassage des insectes. Après 2 mois la mortalité par mycose devient très faible.

## 3) Essais en bananeraie

### Conditions des essais

Essai C: — Parcelle expérimentale de 400 m<sup>2</sup> plantée de 115 bananiers de la variété 'Poyo' (placés à écartements 2 m  $\times$  2 m).

— Traitement avec la souche B.b. G1 le 23 mars 76 à raison de  $2,2 \times 10^{10}$  conidiospores/m<sup>2</sup>.

Essai D: — Parcelle expérimentale de 1100 m<sup>2</sup> plantée de 220 bananiers de la variété 'Yangambi' (placés à écartements 3,5 m  $\times$  1,5 m).

Tableau 3.—Nombre de survivants 14 et 35 jours après un traitement à base de spores de *Beauveria* B.b. G1) au cours d'un essai d'infection en cuves (essai A: 200 insectes par cuve).

Observations	Témoin	Lots traités			
		avec blastospores			avec conidiospores
		1	2	3	
Nombre à J+14 d'insectes	171	150	131	135	137
à J+35 vivants	156	157	140	141	155

Tableau 4.—Résultant d'un essai d'infection en cuves (essai B). Pourcentages de mortalité observés après récoltes et au cours de l'élevage d'insectes ayant reçu un traitement à base de spores de *Beauveria* (B.b. G1).

Observations	Témoïn	Lots traités			
		Avec blastospores			avec conidiospores
		1	2	3	4
Nombre d'insectes récoltés					
à J+35	83	70	81	72	64
Pourcentage de mortalité					
à J+60	8(2)*	44(38)	64(58)	54(36)	89(87)
à J+90	23(10)	73(53)	95(83)	74(37)	100(97)
à J+120	40(10)	92(66)	97(83)	75(37)	

\*Les valeurs entre parenthèses indiquent le pourcentage de mortalité dû aux mycoses.

D1: — Traitement avec la souche B.b. G1 le 25 Août 76 à raison de  $5 \times 10^{10}$  conidiospores/m<sup>2</sup>.

D2: — Traitement avec la souche B.b. N° 32 le 29 Décembre 76 à raison de  $1 \times 10^{11}$  conidiospores/m<sup>2</sup>.

L'expérience précédente montre que l'appréciation de l'effet des traitements ne peut être établie par le dénombrement des cas de mycoses chez les insectes récoltés sur le terrain après le traitement si l'on met en élevage au laboratoire les insectes. Nous avons donc choisi d'estimer la population d'insectes à intervalles réguliers par la méthode de capture, marquage et recapture successifs. Une évaluation de la densité des insectes a été établie avant les traitements puis chaque mois. Dans un cas (essais D) les estimations ont été comparées à celles d'une parcelle témoin, dans l'autre cas (essais C) les densités de populations du charançon du bananier étant élevées (57, 6 insectes/m<sup>2</sup> avant traitement) et relativement stables, nous avons évalué l'effet du traitement par l'observation de la dynamique de cette population.

Les Tableaux 5, 6 et 7 ne montrent aucune influence sensible des traitements sur l'évolution des populations étudiées. Par contre nous avons trouvé, à plusieurs reprises, des insectes mycosés lors des piégeages et des observations effectuées dans la bananeraie. Le comportement fouisseur et lucifuge des insectes est en effet perturbé pendant les quelques heures qui précèdent la mort et ceci les conduit fréquemment à quitter leurs abris, facilitant ainsi la recherche des insectes mycosés. Le nombre d'insectes ainsi récupérés reste cependant insignifiant.

#### Discussion

Ces premiers résultats montrent que plusieurs souches de champignons peuvent être retenues pour l'expérimentation. Au laboratoire des taux de mortalité élevés sont obtenus avec des souches locales isolées de *C. sor-didus* (B.b. G1 et B.b. G2) et avec des souches issues de *Leptinotarsa decemlineata* (B.b. N° 32 et M.a. N° 71). Dans un cas au moins une telle comparaison de souches de diverses origines fait apparaître l'activité supérieure d'une souche "étrangère" (B.b. N° 32) par rapport à celle des souches locales et souligne donc le caractère peu spécifique de certains germes et l'intérêt de mettre en oeuvre de tels tests.

Dans des conditions d'expérimentation plus naturelles (élevages sur terre, essais en cuves ou en bananeraies) la maladie est rarement observée et dans tous les cas l'effet de ces traitements sur les niveaux de population est faible ou nul par rapport aux témoins. Cependant, l'observation (dans le cas de l'essai B), chez les insectes récoltés dans les sites traités puis mis en élevage, d'un taux important de mortalité par mycoses (80% après 1 mois d'élevage avec le traitement à base de conidiospores) laisse suggérer qu'il se produit des phénomènes d'inhibition. Contrairement aux facteurs liés à l'agent pathogène et à l'insecte hôte qui sont actuellement mieux connus, l'importance de certains facteurs naturels du milieu reste encore mal perçue. Dans l'impossibilité de comprendre l'influence de ces différents éléments sur la sporulation il est difficile, sinon hasardeux, d'expliquer les raisons d'échecs enregistrés dans de telles conditions. Il conviendrait bien sûr d'aborder l'expérimentation en nature

avec un maximum de connaissances sur l'écologie des champignons utilisés, mais à défaut de la compréhension complète de ces mécanismes, certaines précautions au certaines techniques d'emploi sont préconisées pour éviter quelques-unes des influences défavorables présentées.

Ainsi dès 1963, Griffin (6) discute le rôle joué par les facteurs physiques du sol ainsi que l'effet de diverses influences inhibitrices; celles d'autres micro-organismes et celles de facteurs physiques externes (lumière, température, pesticides...) par exemple. De façon comparable Yendol et Hamlen (11) soulignent dans une discussion récente l'effet des ultra-violet sur la viabilité et la longévité des spores. Une diminution des capacités de sporulation dans le sol est en outre signalée par Walstad *et al.*, (10) ainsi qu'une rapide perte de viabilité des spores exposés à des températures élevées.

De nombreux antagonismes naturels existent donc dans le sol, mais malgré ceux-ci, des expérimentations récentes ont prouvé que le déclenchement de mycoses pouvait être obtenu au sein de populations d'insectes souterrains par traitement du sol. Ferron (3, 4) a démontré, dans le cas du hanneton et à l'aide de *B. tenella* que, même lorsque la maladie est naturellement présente, la création d'épizootie par apport supplémentaire de grandes quantités de spores est réalisable. Il recommande pour les traitements du sol de procéder par injection des spores plutôt que par aspersion, évitant ainsi d'exposer les spores aux effets des rayons ultra-violet. Bell et Hamalle (1) et plus récemment MULLER-KOGLER (8) ont démontré en utilisant des souches de *Metarhizium* la possibilité de déclencher des épizooties dans des populations naturelles et souterraines de *Curculionidae*. Et à Taiwan, en étudiant des populations d'un charançon du bananier (*Odoiporus*

Tableau 5, 6 et 7.—Variations des densités d'insectes observées après traitement à base de *Beauveria* au cours des essais C, D1 et D2.

Essai C: traitement à base de B.b. G1 effectué le 23 Mars 1976 (densité d'insectes exprimée en nombre par m<sup>2</sup>).

Epoque d'observation	Janvier 1976	TRAITEMENT	Avril	Mai	Juin	Juillet
Densité d'insectes (nombre/m <sup>2</sup> )	57,6			47,4	68,1	85,2

Essai D1: Traitement à base de B.b. G1 effectué le 25 Août 1976.

Epoque d'observation	Août 1976		Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
Parcelle traitée	6,3			13,5	4,1	5,8
Parcelle témoin	1,4		2,4,2	4,2	5,6	10,4

Essai D2: Traitement à base de B.b. N° 32 effectué le 29 Décembre 1976.

Epoque d'observation	Décembre 1976		Février 1977	Mars	Avril	Mai
Parcelle traitée	3,4			6,8	4,6	7,7
Parcelle témoin	7,1		4,9	8,4	5,4	8,0

*longicollis*), proche de *C. sordidus*, Yu-Chen Li (12) montre que des injections de suspensions de spores directement à l'intérieur du pseudotrunc de la plante permettent d'atteindre les populations larvaires et adultes et que dans ces conditions la sensibilité des larves est plus grande que celle des adultes. Au cours de nos observations nous avons constaté que la maladie se manifeste après transfert des insectes au laboratoire et il est peu probable dans ce cas que ce soient uniquement des phénomènes d'inhibition dans le sol qui puissent expliquer l'absence de mycose dans les récoltes. En effet, comme Ferron (3, 4) l'a constaté à diverses reprises, en particulier pour les vers blancs, ce transfert stimule, pour des raisons qui restent à expliciter, un processus pathologique latent. L'observation de cas de mycose dans ces conditions atteste donc de l'infection des insectes et par conséquent de l'intérêt du germe étudié. Pour que des effets significatifs soient notés dans les populations, il faut vraisemblablement utiliser des doses de spores plus importantes et surtout procéder par enfouissement de ceux-ci au lieu de les disperser en surface du sol où ils subissent l'action des facteurs climatiques.

Il convient à présent de poursuivre en les développant les expérimentations de terrain à partir de ces résultats préliminaires. Des techniques d'application différentes doivent être mises en oeuvre de façon à éviter les phénomènes d'inhibition observés; l'injection des spores directement dans la plante ou dans le sol, la détermination de la localisation précise des insectes et le traitement des débris végétaux les plus attractifs pour les adultes du charançon seront parmi les études à poursuivre.

#### Résumé

Les problèmes posés par la lutte contre le charançon du bananier ont orienté notre étude vers l'utilisation des germes entomopathogènes contre ce ravageur.

Dans une première étape une sélection de ces germes est effectuée et permet de montrer notamment l'activité de certaines souches de *Beauveria bassiana* et de *Metarhizium anisopliae*.

L'application sur le terrain et l'élevage au laboratoire des populations naturelles traitées révèlent l'infection effective des insectes mais font apparaître dans ces conditions des phénomènes d'inhibition de la maladie qui sont discutés.

#### Bibliographie

1. BELL, J.V. et HAMALIE, R. J. A bacterium and dip-terous parasite in wild populations of cowpea curculio larvae: effects of treatments with spores of *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology, 17: 256-259 1971.
2. EDGE, V.E. Cyclodiène-B.H.C. resistance in *Cosmopolites sordidus* (Germ.) (Coleoptera curculionidae) in New South Wales, Australia. Bulletin of Entomological Research 64: 1-7. 1974.
3. FERRON, P. Essais préliminaires de lutte contre les larves du hanneton commun, *Melolontha melolontha* L., à l'aide de la mycose à *Beauveria tenella* (Delacr.) Siemasko. Phytatrie-Phytopharmacie 16:115-123 1967.
4. ——— Lutte microbiologique contre le hanneton commun, *Melolontha melolontha* L. Mededelingen der Veeartsennijsschool van de Rijksuniversiteitte Gent 42/2: 1323-1332. 1977.
5. FROGGATT, J.I. The banana weevil borer in Java with notes on other crop pests. Queensland Agricultural Journal 30 (6): 530-541. 1928.
6. GRIFFIN, D.M. Soil moisture and the ecology of soil fungi. Biological Review 38: 141-166. 1963.
7. JEPSON, J.F. A mission to Java in quest of natural enemies for a coleopterous pest of bananas. Fiji Department of Agriculture Suva Bulletin N° 7, 1914 18 p.
8. MULLER-KOBLER, et E., STEIN, W. Gewachshausversuche mit *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok zur Infektion Vom *Stitona lineatus* (L.) (Col. Curculionidae) in Boden. Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 83 (1/2/3): 96-108. 1976.
9. VILARDEBO, A. Resistance of the banana tree weevil, *Cosmopolites sordidus* Germ. (Col. Calandridae) to chlorinated hydrocarbon insecticides. International Congress of Plant Protection, 1967. 586 p.
10. WALSTAD, J.D., ANDERSON, R.F. et STAMBAUGH, W.J. Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*). Journal of Invertebrate Pathology 16:221-226. 1970.
11. JENDOL, W.G. et HAMIEN, R.A. Ecology of entomogenous viruses and fungi. Annals of the New York Academy of Sciences 217: 18-30 1973.
12. YU-CHEN LI. Results of testing with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill against banana stem-borer weevil larvae. Plant Protection Bulletin (Taichung) 6 (2): 16-21. 1964.

## Notas y Comentarios

### *Nitrógeno para los silos de granos*

Lo que parece ser una simple respuesta a los muchos problemas asociados con el almacenamiento de granos en silos está anunciando la compañía italiana Snam Progetti. La solución consiste en llenar los silos con gas nitrógeno, el que al reducir el contenido de oxígeno a menos de 1 por ciento inhibe el crecimiento de insectos y hongos. La técnica también elimina la posibilidad de "puntos calientes" que pueden conducir a fuego o explosiones (*New Scientist* vol. 79, p. 278).

Los problemas de almacenar granos por períodos largos contribuyen a menudo a escasez de alimentos. En países en desarrollo de clima cálido las pérdidas de grano a través de insectos, hongos y otras causas pueden alcanzar un 50 por ciento; en promedio, alrededor de 10 por ciento del grano de la cosecha mundial se desperdicia cada año.

Aun en países desarrollados, el almacenamiento de granos presenta dificultades. La manera como se almacena el grano depende considerablemente de su uso final. El grano para semilla para el cultivo del próximo año, o para producción de malta, tiene que ser almacenado en condiciones muy secas y es tratado (en el caso de semillas) con fuertes aplicaciones de fungicidas e insecticidas. En países cálidos puede también ser necesario refrigerarla.

El grano destinado a consumo humano puede ser almacenado con más humedad (hasta 16 por ciento en países como la Gran Bretaña, por ejemplo), y generalmente se trata también con sustancias para controlar insectos. Sin embargo, la humedad puede conducir a "puntos calientes"; conforme se mueve a través del grano va colectando el calor generado por actividad biológica en las semillas u organismos todavía presentes. Así los silos requieren algún método de mover el grano para prevenir que se formen los puntos calientes.

Los cereales almacenados como alimentos para el ganado pueden encontrar problemas todavía mayores debido al contenido de humedad. Por economía y debido a que estos cereales a menudo se almacenan en pequeñas cantidades en las fincas, donde el agricultor no tiene el equipo ni el tiempo para secar el grano, los silos tienen un contenido de humedad de más de 16 por ciento, a veces hasta 30 por ciento. Los controles químicos de hongos e insectos son caros, y a menudo dejan residuos tóxicos, desperdiciándose todo el grano. Además algunos insectos están desarrollando una alta tolerancia a los plaguicidas.

Los experimentos de Snam Progetti con nitrógeno gaseoso han sido tan exitosos, según anuncia la firma, que los tratamientos químicos y la refrigeración ya no son necesarios. Ha estado usando el proceso exitosamente por más de un año y manifiesta que el nitrógeno permite también que el grano sea almacenado por períodos más largos que con los métodos tradicionales, cualquiera que sea la variación en la temperatura ambiente. Granos con altos contenidos de grasa (soya, girasol) que generalmente se deterioran con almacenamientos largos, pueden ahora aparentemente ser almacenados sin perder sus propiedades.

### *Perros para detectar vacas en celo*

Los ganaderos podrían usar perros adiestrados para detectar el mejor momento para inseminar sus vacas. Un equipo de investigadores agrícolas de los Estados Unidos ha lanzado esta sugerencia después de una serie de pruebas con un grupo de perros previamente entrenados en buscar explosivos con el olfato (*Biology of Reproduction*, vol 19, p. 389).

Las vacas tienen una tasa de concepción notablemente alta, hasta 90 por ciento en cada ciclo estral si la esperma llega hasta el huevo en el momento exacto. Los toros parecen ser bastante hábiles en detectar el preciso momento cuando deben acercarse a las vacas para el mayor efecto reproductivo. Ahora que el toro ha sido casi desterrado de las pasturas, y el semen es proveído desde el extremo de un tubo inseminador, le corresponde al ganadero fijar el momento en el que la inseminación le va a proveer un ternero para su hato.

Cada recipiente de semen, cuesta varios dólares, de tal manera que este momento debe ser correcto, y muchos ganaderos simplemente no tienen tiempo suficiente para apoyarse en una cerca buscando los signos de conducta propios del estro en la vaca. A menudo el estro pasa completamente desapercibido, lo que causa un retraso de tres semanas para la nueva inseminación con la consecuente pérdida financiera.

La capacidad del toro para detectar el estro parece involucrar una dependencia en el sentido del olfato, por lo que parecía lógico que el perro, que no es un principiante en lo que se refiere a su nariz, podía efectuar el mismo truco. Un equipo combinado del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Laboratorio de Reproducción en Maryland), y el Southwest Research Institute, San Antonio, Texas, encabezado por C.A. Kiddy, decidió probar esto.

Un grupo de perros que ya había sido entrenado para olfatear explosivos fue enrolado para un experimento. El equipo para entrenamiento es simplemente una tabla con tres huecos. Los investigadores los llenaron con una muestra positiva y dos muestras testigo. El perro tenía que oler las tres, y sentarse frente a la que creía que era diferente de los otros dos. Si acertaba, recibía la estupenda recompensa de una palmada en la cabeza y una galleta para perros. Si se equivocaba, no obtenía nada.

Los ensayos emplearon fluidos vaginales y orina, y en una serie posterior, un grupo similar se probó con las vacas mismas como objetivos. Con los fluidos vaginales los perros fueron más aptos en detectar la diferencia entre estro y diestro cuando los fluidos provenían de la misma vaca (81 por ciento de detección). Este promedio, por supuesto, incluye algunos perros particularmente eficientes, con tasas de éxito de 90 por ciento.

El distinguir muestras de orina probó ser ligeramente menos confiable, pero cuando se permitió a los perros olfatear a la vaca misma, en el corral, las tasas de éxito promediaron casi 90 por ciento de respuestas correctas.

Estos resultados son alentadores, porque es probable que con más entrenamiento y selección genética, los perros podrían alcanzar tasas muy altas de detección olfatoria. Un perro bien entrenado podría olfatear las hileras de vacas durante el ordeño, y sentarse junto a las vacas en estro con una interferencia mínima con la rutina del ordeño. Esto suministraría al ganadero con un detector de estros altamente portátil que trabajara solamente por una palmada en la cabeza y una galleta para perros como salario.