

REVISTA

DE LA

FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

FEBRERO DE 1942

ENTREGA III

TOMO IX

El «verdín» del maíz

POR EL PROFESOR TITULAR DE FITOPATOLOGÍA
ING. AGR. JUAN B. MARCHIONATTO

Con el nombre de «verdín» se conoce en el comercio de cereales una afección de los granos de maíz, que se manifiesta en el cereal almacenado.

Esta afección es tan común que en las transacciones comerciales de maíz se establecen ciertas tolerancias en la entrega del cereal con este defecto, dependiendo las mismas de las condiciones climáticas del año.

El promedio de «verdín» varía entre 1/2 % (1) y 3 % (2), según sea la característica del año, seco o húmedo, notándose un aumento progresivo desde septiembre a diciembre, y siendo la humedad contenida en el grano un factor decisivo en el desarrollo de la enfermedad.

El maíz atacado de «verdín» queda inutilizado, tanto para consumo como para semilla, y la composición química del grano se altera, considerándose tóxico para los animales. Desde este último punto de vista, debemos especialmente mencionar los trabajos hechos por Alsberg y Black (3) en los Estados Unidos de América, en que determinaron que el *Penicillium puberulum* Barnier — uno de los hongos que produce una deterioración de los granos del maíz semejante a nuestro «verdín» — es tóxico para los animales.

Por nuestra parte debemos mencionar que desde el año 1928, y en diversas ocasiones, hemos recibido en la División de Fitopatología del Ministerio de Agricultura muestras afectadas por «verdín», como causantes de intoxicaciones en cerdos y caballos.

(1) Resolución N° 139 de la Comisión Nacional de Granos y Elevadores (Bol. Inf., v. III, p. 378, 1939).

(2) Resolución N° 233 de la Comisión Nacional de Granos y Elevadores (Bol. Inf., v. V, p. 8, 1941).

(3) ALSBERG, C. L. y O. F. BLACK, *Contributions to the study of maize deterioration*, Bull. N° 270, U. S. Dep. Agr., pp. 7-48, 1913.

La circunstancia de no haberse hecho entre nosotros un estudio fitopatológico sobre este problema, y de ser el año 1940 muy favorable para el desarrollo del «verdín», nos decidimos a emprender esa tarea, para la que contamos con la valiosa ayuda del Ing. Agr. Edgardo M. Grasset, Jefe de la División de Exportación de la Comisión Nacional de Granos y Elevadores, que nos hizo llegar un gran número de muestras de granos atacados de «verdín» obtenidas en diversos puertos de embarque de la República.

SINTOMATOLOGÍA

El maíz afectado por el «verdín» se caracteriza por presentar en la parte interna, de la región del escudete, un color verdoso, que se transparenta a través de la envoltura del grano en forma visible (Lámina I). Esta misma afección se conoce en los Estados Unidos de América con el nombre de «blue eye» (*ojo azul*).

El pericarpio se mantiene al principio intacto, pero finalmente se contrae o se raja longitudinalmente y deja en libertad un polvillo de color verdusco, constituido por los esporos del parásito. Cuando se deja al descubierto la región del escudete, puede observarse que la infección domina primero al cotiledón, que rodea como un estuche a la yémula y radícula y, después, a todo el embrión y regiones subyacentes al endosperma. Los tejidos atacados terminan por descomponerse y tienen un olor que recuerda muy bien al alcohol de quemar.

El estudio histológico del embrión atacado reveló que los tejidos estaban en parte disociados y las células invadidas por un micelio muy delgado (d. 2.5μ) y hialino, que lo atravesaba en todas direcciones y cuyos órganos de reproducción se constituían exteriormente bajo la forma típica de pincel, que caracteriza a los hongos del género *Penicillium*. La «cámara» que forma la hoja cotiledonar al envolver al germen es lo que favorece la producción de las eflorescencias del hongo, y de esta región se lo puede obtener en estado puro y comprobar fácilmente, con la ayuda del microscopio, el género a que pertenece.

PATOGENIA

Según Vigliano (4) «experimentalmente se puede producir el

(4) VIGLIANO, I. C., *El «fermentado» del maíz*. Publ. N° 23, pág. 6. (Com. Nac. Gran. y Elev.), 1938.

«verdín» recurriendo a la infección artificial del maíz sano, mantenido en un ambiente húmedo a temperatura de 20 a 28 grados centígrados, con esporos, por ejemplo de *Penicillium glaucum*.» Por la transcripción que acabamos de hacer parecería que este autor hubiera hecho pruebas en tal sentido, desde que no da otros detalles, pero de cualquier modo la posibilidad de poder utilizar la especie que indica es problemática, desde que, como ya lo señalara Thom (5), el hongo así denominado por Link fué muy mal definido para poder reconocerlo.

B. Koehler (6), que ha realizado un importante estudio de esta afección del maíz en los Estados Unidos, ha determinado que varios *Penicillium* provocan típicamente el «blue eye»; *P. notatum* cuando la humedad máxima del grano es de 16,7 %, y *P. palitans* a los 19,5 %, y que la afección progresa con la elevación de la humedad del maíz.

En nuestros ensayos para reproducir experimentalmente el «verdín», hemos adoptado el dispositivo empleado por Koehler y que consiste, esencialmente, en una serie de frascos que contienen los granos de maíz, en bolsitas suspendidas de las tapas, y las soluciones saturadas de las sales, según sea la humedad en que se desea operar, las que se hacen burbujear con una corriente de aire, que se establece cerrando uno de los extremos del dispositivo con un tubo de algodón y el otro con un aspirador (fig. 1). Cada ensayo duró 60 días; el maíz se mantenía en el dispositivo indicado veinte días y, al retirarlo de él, se hacía a ojo desnudo el primer recuento de los granos afectados por el «verdín», los que se colocaban después en caja de Petri durante cuarenta días, haciéndose el segundo recuento.

Sobre un total de 117 muestras de maíces colorado, amarillo y perla atacados de «verdín», se aislaron cuatro especies de *Penicillium* y una de *Aspergillus*. En las pruebas de infección, sólo produjeron típicamente «verdín» dos de los *Penicillium* aislados.

Para reproducir la afección se utilizaba, cada vez, 100 granos de maíz, que se desinfectaban con bicloruro de mercurio al 1 0/00 durante 20 minutos, y después se lavaban abundantemente con agua corriente. En seguida los granos se trataban con una suspen-

(5) THOM, Ch., *Cultural studies of species of Penicillium*. Publ. 118, p. 25 (U. S. Dep. Ag.), 1910.

(6) KOEHLER, B., *Fungus growth in shelled corn as affected by moisture*. «Journ. Agr. Res.», v. 56, pp. 291-306, 1938.

sión de esporos, en agua estéril, obtenida de cultivos jóvenes (12-14 días), y se mantenían en frascos de 1000 cc. de capacidad con una humedad elevada (alrededor de 98 %) por medio de sulfato de calcio, en ambiente de laboratorio y a las temperaturas medias de 17° C., 19° C., 22° C. y 25° centígrados (1).

Se realizó un total de 15 ensayos, con los resultados que se resumen en el cuadro siguiente:

No de ensayado	Hongo utilizado	o/o con verdín		o/o sin verdín		% Infecciones secundarias
Nº 1	<i>Penicillium</i> Nº 2	48	52	—	—	—
Testigo	—	2	88	10	(<i>Aspergillus</i> sp.)	—
Nº 2	<i>Penicillium</i> Nº 2	50	50	—	—	—
Testigo	—	5	82	13	(<i>Aspergillus</i> sp.)	—
Nº 3	<i>Penicillium</i> Nº 2	66	34	—	—	—
Testigo	—	3	86	11	(<i>Aspergillus</i> sp.)	—
Nº 4	<i>Penicillium</i> Nº 2	68	32	—	—	—
Testigo	—	4	82	14	(<i>Aspergillus</i> sp.)	—
Nº 5	<i>Penicillium</i> Nº 22	1	87	13	(<i>Fusarium</i> sp.)	—
Testigo	—	2	92	6	(<i>Fusarium</i> sp.)	—
Nº 6	<i>Penicillium</i> Nº 22	1	88	11	(<i>Fusarium</i> sp. y <i>Aspergillus</i> sp.)	—
Testigo	—	2	92	6	(<i>Fusarium</i> sp. y <i>Aspergillus</i> sp.)	—
Nº 7	<i>Aspergillus</i> Nº 3	1	87	12	(<i>Fusarium</i> sp. y <i>Penicillium</i> sp.)	—
Testigo	—	—	93	7	(<i>Fusarium</i> sp.)	—
Nº 8	<i>Aspergillus</i> Nº 3	—	88	12	(<i>Fusarium</i> sp. y <i>Penicillium</i> sp.)	—
Testigo	—	1	94	5	(<i>Fusarium</i> sp.)	—
Nº 9	<i>Penicillium</i> Nº 6	48	16	36	(<i>Fusarium</i> sp. y <i>Aspergillus</i> sp.)	—
Testigo	—	3	85	12	(<i>Fusarium</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp. y <i>Penicillium</i> sp.)	—
Nº 10	<i>Penicillium</i> Nº 6	42	30	28	(<i>Fusarium</i> sp.)	—
Testigo	—	4	81	15	(<i>Fusarium</i> sp.)	—
Nº 11	<i>Penicillium</i> Nº 6	46	25	29	(<i>Fusarium</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp. y <i>Penicillium</i> sp.)	—
Testigo	—	1	90	9	(<i>Fusarium</i> sp.)	—
Nº 12	<i>Penicillium</i> Nº 227	1	83	16	(<i>Fusarium</i> sp. y <i>Aspergillus</i> sp.)	—
Testigo	—	1	92	7	(<i>Fusarium</i> sp. y <i>Aspergillus</i> sp.)	—
Nº 13	<i>Penicillium</i> Nº 227	1	99	—	—	—
Testigo	—	—	93	7	(<i>Aspergillus</i> sp.)	—
Nº 14	<i>Penicillium</i> Nº 1	—	87	13	(<i>Fusarium</i> sp.)	—
Testigo	—	1	92	7	(<i>Aspergillus</i> sp.)	—
Nº 15	<i>Penicillium</i> Nº 1	1	85	14	(<i>Aspergillus</i> sp.)	—
Testigo	—	1	99	—	(<i>Aspergillus</i> sp.)	—

(1) Agradecemos al Ing. Agr. HORACIO A. SPERONI la ayuda prestada para la preparación del material empleado en estos experimentos.

De los hongos experimentados, demostraron ser patógenos el *Penicillium* n° 2 y el *Penicillium* n° 6, e inocuos los *Penicillium* n° 1, *P.* n° 22 y *P.* n° 227 y el *Aspergillus* n° 3. Tanto el *Penicillium* n° 2 como el *Penicillium* n° 6 produjeron el «verdín» típico, aunque ambos hongos también atacaron a otras partes del grano, como la región de la corona y la raquilla; en cambio los *Penicillium* n° 1, *P.* n° 22 y *P.* n° 227 y el *Aspergillus* n° 3 se desarrollaron indistintamente en la superficie del grano, pero sin afectar el embrión.

En los lotes testigos se observaron frecuentemente algunos granos con «verdín», pero en los aislamientos efectuados no siempre hubo coincidencia con las cepas experimentales, pues se obtuvo indistintamente el *Penicillium* n° 2 y *Penicillium* n° 6. La aparición del «verdín» en estos granos se explicaría por la existencia de infecciones internas que no pueden ser evitadas por el método de desinfección utilizado.

Finalmente hemos comprobado que mientras en los lotes inoculados las infecciones de los granos se mantienen generalmente puras, en los lotes testigos hubo aparición de diversos hongos pertenecientes a los géneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Rhizopus*. Estas infecciones fueron, en parte, favorecidas por resultar algunos granos atacados con «gorgojo» (*Sitophilus granaria*) y «polilla» (*Sitotroga cerealella*).

Vigliano (Ibid., p. 6), indica que «el ataque al grano empieza en la región hilar (la punta con que el grano se inserta en el marlo), avanza hacia el interior y se centraliza alrededor del germen (región del scutellum) donde se hace visible por la presencia, debajo del pericarpio, de un característico polvo conidial azulado o verdoso.» Por nuestras observaciones deducimos que la penetración del hongo se hace indistintamente por la región del escudete o por la raquilla, posiblemente aprovechando cualquier pequeña herida, y que el ataque al embrión es favorecido por la cantidad elevada de agua que contiene éste y que se revela muy fácilmente por el simple examen macroscópico, cuando se lo comprime.

Bajo las mismas temperaturas (17°-25°C.) la humedad es el factor que ejerce la influencia mayor en el desarrollo del «verdín». Diversos lotes infectados y mantenidos con humedad relativa de 98 %, permitieron obtener ataques desde 42 a 68 %, según el patógeno empleado, y en porciones de los mismos lotes, mantenidos en atmósfera seca (humedad relativa 60 %), las infecciones no se produjeron.

Por otra parte, en maíces secos y aparentemente sanos mantenidos en ambiente de laboratorio (humedad relativa 62-63 %) no aparece el «verdín», pero colocados en atmósfera saturada de humedad manifiestan el ataque del hongo y de otros mohos.

CARACTERÍSTICAS DE LOS HONGOS PATÓGENOS

El *Penicillium* n° 2 en el agar de Czapek (1) forma colonias aterciopeladas, verde-azuladas, con micelio que se extiende al principio sin forma definida, pero al final irregularmente, y que se profundiza en el medio, que toma en la zona de la colonia un color amarillento por un pigmento que luego alcanza hasta el medio de cultivo; gotas del exudado hialinos. En la gelatina de ciruela la colonia es verdusca y licúa el medio a las 48 horas, siendo la reacción ácida. Olor inapreciable.

Los conidióforos son regularmente largos (250-350/ μ), solitarios, algunas veces reunidos en hacedillos, más bien inclinados sobre el substrato, cilíndricos, con la superficie finamente escabrosa, tabicados, hialinos, sencillos o ramificados, con métulas verticales (12-9 $\times$ 3 1/2/ μ) que terminan en tres esterigmas acuminados (9-8 $\times$ 2 1/2/ μ) y algo divergentes, que soportan conidios globosos o subglobosos (diám. 3-3 1/2/ μ), lisos o escabrosos, hialinos, o clorinos cuando agrupados, y dispuestos en largas cadenas que forman columnas paralelas entre sí (fig. 2). Esta especie pertenece a la sección *fasciculata* y el cultivo fué clasificado por el doctor Ch. Thom, especialista del género *Penicillium*, como de la serie *P. viridicatum* Westling.

Westling (7), al describir este hongo, indica que vive en los frutos podridos de algunas plantas, y Koehler (Ibid., 1927), lo aísla de grano de maíz atacado de «blue eye».

El *Penicillium* n° 6 cultivado en los mismos medios dió colonias semejantes, correspondiendo también las características morfológicas del hongo al *P. viridicatum*. Sin embargo esta línea se puede diferenciar de la anterior porque en el agar Czapek el pigmento no alcanza a difundirse en el medio y en la gelatina de ciruela la licuación se hace más rápidamente, a las 24 horas, y las colonias toman un color ocráceo-rosado.

(1) Es el medio líquido de Czapek con 15 gr. de agar.

(2) Obtenida con 10 ciruelas secas, agua 1 lt. y gelatina 15 %.

(7) WESTLING, R., *Über die grünen Spezies der Gattung Penicillium*. «Ark. för Botanik», t. II, p. 90, 1912.

Resultó pertenecer igualmente a la misma especie la cepa n° 267, de la colección de cultivo de la División de Fitopatología del Ministerio de Agricultura, aislada por el Ing. Agr. L. Grodsinsky de grano de maíz, pudiéndose caracterizar esta *línea* por dar en el agar Czapek un abundante pigmento amarillento, que termina por difundirse en todo el micelio, y por licuar la gelatina de ciruela más lentamente, se inicia a las 48 horas, y teñir a las colonias de anaranjado (Lám. II).

ENSAYOS DE CONTROL

En una comunicación del Ing. Agr. Arturo Rodríguez Jurado, hecha en septiembre del año pasado en la Sociedad Argentina de Agronomía, sobre el anhídrido silícico como medio de lucha contra los gorgojos de los cereales almacenados, tuvimos oportunidad de conocer algunas propiedades interesantes de esta substancia, particularmente por actuar sobre los insectos por desecación, según lo explica Shin (8), autor que se ha ocupado especialmente de este problema.

Siendo la humedad un factor predisponente decisivo en la producción del «verdín», supusimos que el anhídrido silícico podría ser eficaz para evitarla, y realizamos así varios ensayos con éxito.

La sílice cristalizada que empleamos en nuestros ensayos, es un producto nacional que se expende bajo el nombre de «Naaki» y que es un polvo blanquecino e impalpable, de partículas fácilmente separables, y muy semejante al producto extranjero. Según los análisis del Laboratorio de Química del Ministerio de Agricultura, está constituido por un 99 % de sustancias insolubles en ácido clorhídrico, contiene cantidades no dosables de hierro, aluminio y calcio, y su pérdida al rojo es inapreciable (% 0,05).

En una primera serie de ensayos, el maíz que había sido infectado artificialmente con «verdín» se mantuvo en sobres cerrados con la sílice cristalizada, en proporción de 3 a 4 % (en peso), con sus correspondientes testigos sin espolvorear. A los dos meses se comprobó que los granos espolvoreados con la sílice cristalizada se conservaban en las mismas condiciones, mientras que en los tes-

(8) SHIN FOON CHIN, *Toxicity of so-called inert materials with the bean weevil Acanthoscelides obtectus* Say, «Journ. Econ. Ent.», v. 32, pp. 810-821, 1933.

tigos el hongo había invadido y esporulado abundantemente en toda la superficie del grano.

En otra serie de ensayos el maíz infectado con «verdín», y su correspondiente testigo, se mantienen en caja de Petri en ambiente de laboratorio. En las cajas espolvoreadas no se observa el agua de transpiración, manteniéndose los granos en el mismo estado en cambio en la caja sin espolvorear hay condensación del agua transpirada en la parte interior de la tapa, y los granos infectados de «verdín» y los sanos se cubren de diferentes mohos (*Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*), como lo prueban las fotografías tomadas a los 18 días (fig. 3) y a los 60 días (fig. 4) de iniciados los ensayos.

De acuerdo con estos experimentos es evidente que la sílice cristalizada ejerce una acción manifiestamente desfavorable sobre el «verdín» y otros mohos que se desarrollan en los granos almacenados, porque sustrae en parte la humedad al grano e impide la formación de una atmósfera húmeda, que es un factor indispensable para la germinación de los esporos de estos microorganismos y su posterior desarrollo.

Como aún está en estudio la mejor forma de emplear las llamadas «materias inertes» para evitar cualquier inconveniente de su aplicación, por ahora sólo nos concretamos a señalar su interesante propiedad de proteger también los granos almacenados, por cierto tiempo, contra la invasión de los mohos.

RESUMEN

En el presente trabajo se estudia la afección de los granos de maíz, conocida vulgarmente con la denominación de «verdín». Se describen los síntomas y se determina experimentalmente que el agente que lo produce es el *Penicillium viridicatum* Westling del cual se detallan las características morfológicas y su comportamiento en medios de cultivo apropiados. Finalmente, mediante experimentos de laboratorio realizados, relativos al control de la afección, se llega a la conclusión de que la sílice cristalizada espolvoreada sobre los granos atacados, produce efectos ampliamente satisfactorios.

SUMMARY

In this work the grain disease of corn commonly known as «verdin» is studied. Its symptoms have been described, and it has been experimentally verified or checked that this illness is produced by *Penicillium viridicatum* Westling. The morphological characteristics and behavior of this fungus in culture medium are given. Good results are obtained by means of dusting grains with crystallized silicic acid in laboratory experiments made to avoid the disease.

RESUMEN

No presente trabalho estuda-se a afeção dos grãos de milho, conhecida vulgarmente pela denominação de «verdín». Descrevem-se os sintomas e determina-se experimentalmente que o agente que o produz é o *Penicillium viridicatum* Westling do qual detalham-se as características morfológicas e o seu comportamento por meio de cultivos apropriados.

Finalmente, por meio de experiências de laboratório realizadas, relativas ao control da afeção chega-se a conclusão de que o silicato cristalizado pulverizado sobre os grãos, atacados, produz efeitos amplamente satisfatórios.

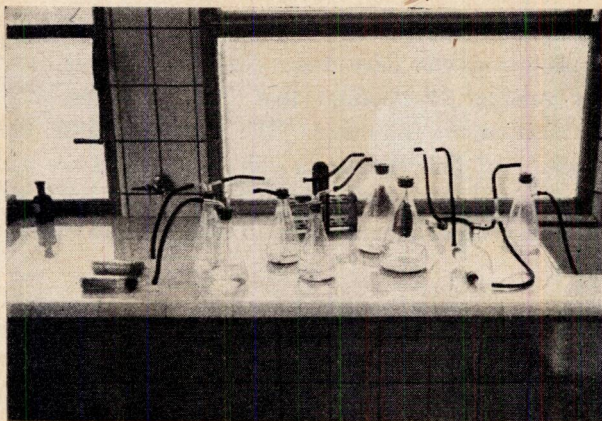


Fig. 1

Dispositivo empleado para reproducir experimentalmente el «verdin».
Fot. Ing. Agr. H. A. SPERONI

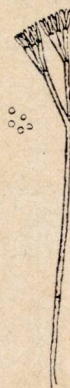


Fig. 2

Conidióforo y conidios de *Penicillium divaricatum*, WESTLING X 450

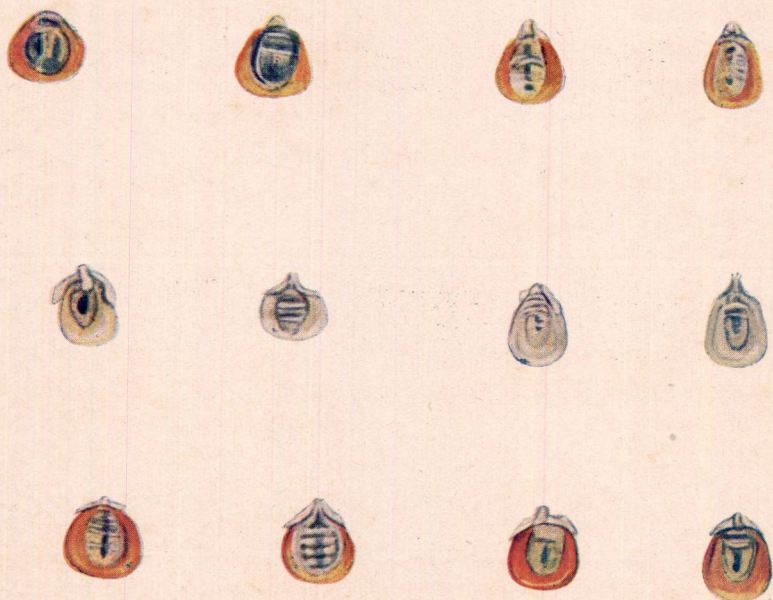


LÁMINA I

Granos de maíz colorado y perla atacados por el «verdín». Dibujo
del natural, por la señorita A. LAUTRE

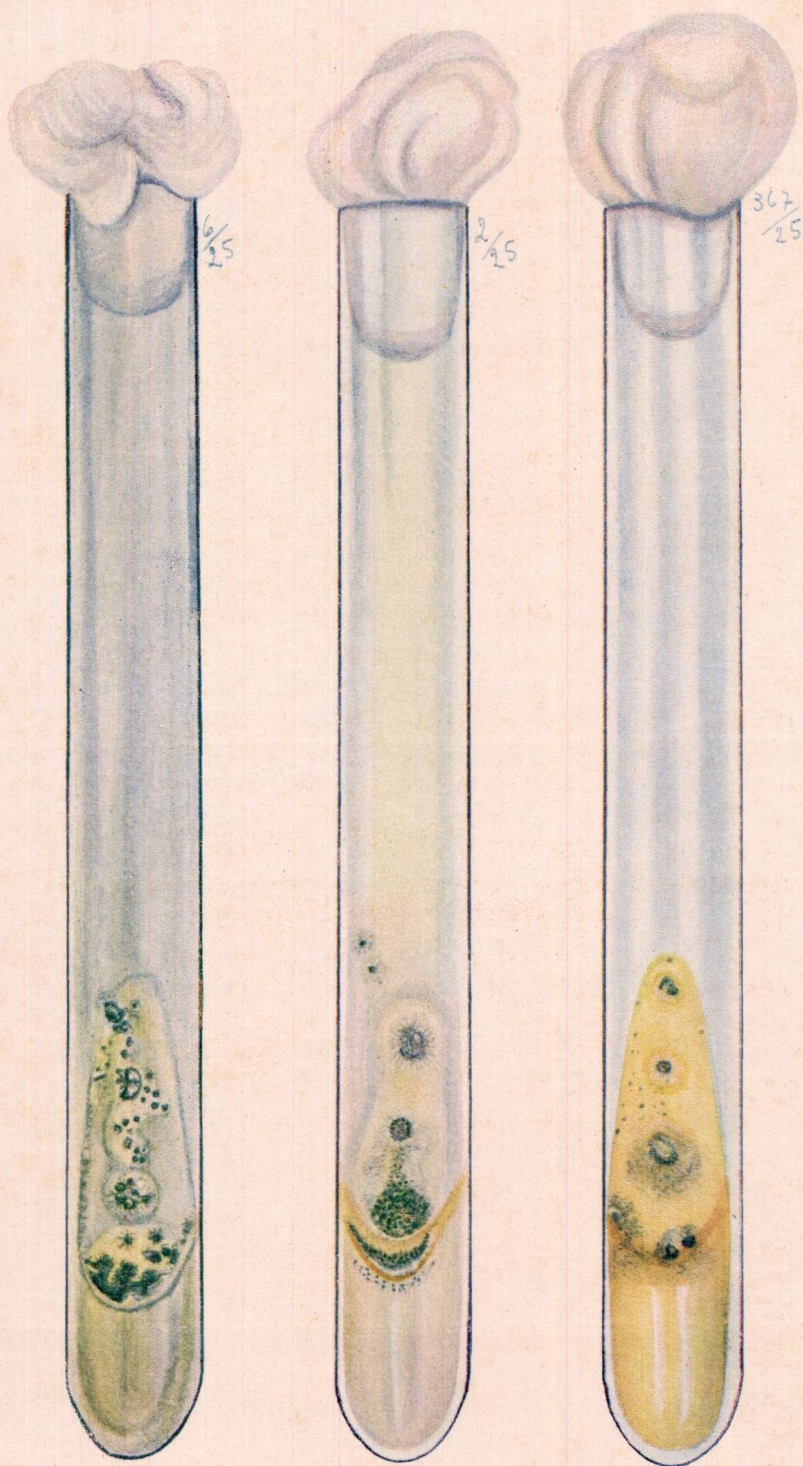


LÁMINA II

Tres razas de *P. divaricatum* en medio CZAPEK agarizado. Dibujo de A. LAUTRE

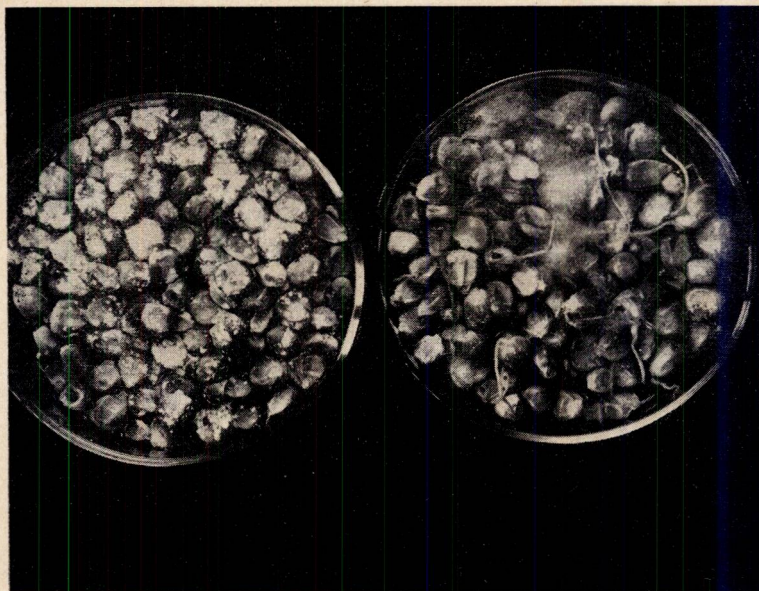


Fig. 3

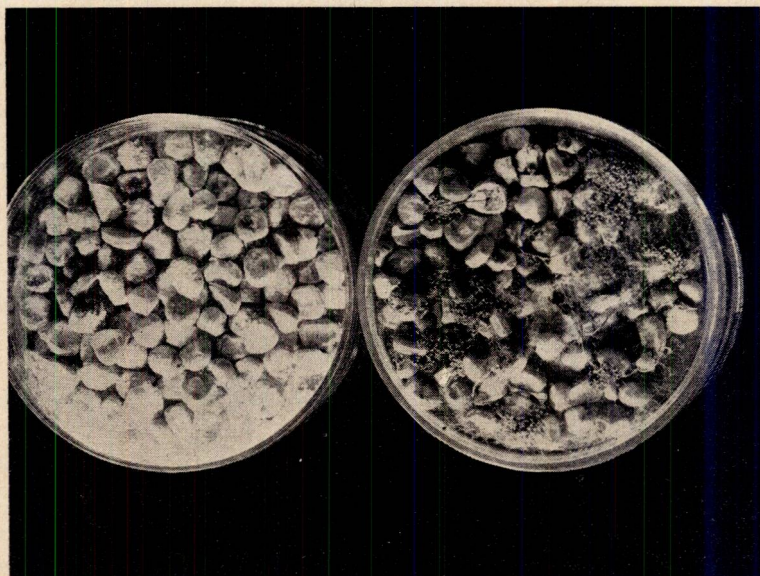


Fig. 4

Granos de maíz conservados sin sílice (a la derecha) y espolvoreados con sílice (a la izquierda). Fotografías tomadas a los 18 días (Fig. 3) y 60 días (Fig. 4), por el Ing. Agr. A. OFFERMANN.