




Phytophthium helicoides asociado con aguas para irrigación agrícola en Culiacán, Sinaloa, México

Phytophthium helicoides associated with agricultural irrigation water in Culiacán, Sinaloa, Mexico

Josué Cárdenas-Rodríguez¹ , Felipe Ayala-Tafoya¹ , Moisés Gilberto Yáñez-Juárez^{1*} ,
Carlos Alfonso López-Orona¹ , Guadalupe Alfonso López-Urquidez¹ ,
Luz Llarely Cázarez-Flores¹ 

¹Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Carretera Culiacán-Eldorado, km 17.5, Culiacán Rosales, 80000, Sinaloa, México.

*Autor para correspondencia: moisesyj@uas.edu.mx

Fecha de recepción:

21 de agosto de 2022

Fecha de aceptación:

20 de junio de 2024

Disponible en línea:

5 de diciembre de 2024

Este es un artículo en acceso abierto que se distribuye de acuerdo a los términos de la licencia Creative Commons.



Reconocimiento-

NoComercial-

CompartirIgual 4.0

Internacional

(CC BY-NC-SA 4.0)

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de especies fitopatógenas del género *Phytophthium* en aguas empleadas para la irrigación agrícola. Así, en el periodo de septiembre de 2018 a enero de 2019, en infraestructuras empleadas para almacenamiento y distribución de agua para la agricultura (presas, estanques, ríos y canales) del distrito de riego número 010 del valle de Culiacán, Sinaloa, por 48 horas, se colocaron trampas flotantes con frutos de pera, empleados como fruto-cebo. Se obtuvieron 11 aislamientos que se identificaron mediante características morfológicas y análisis genético de ADNr con los iniciadores ITS 4-6, COX, NADH, y se construyó un árbol filogenético. Su patogenicidad a plantas de tomate, chile y pepino también fue determinada. Los resultados indicaron que todos los aislamientos correspondieron a *Phytophthium helicoides*. Tres de los aislamientos obtenidos fueron clones. Los 11 aislamientos fueron patogénicos a plantas de tomate, chile y pepino.

PALABRAS CLAVE

Ácidos nucleicos, especies fitopatógenas, frutos cebos, oomicetes

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the presence of phytopathogenic species of the genus *Phytophthium* in waters used for agricultural irrigation. In the period from September 2018 to January 2019, in infrastructures used for storage and distribution of water for agriculture (dams, ponds, rivers and canals) of the irrigation district number 010 of the Culiacán Valley, Sinaloa, floating traps with pear fruits were placed for 48 hours, used as trap fruits. Eleven isolates were obtained and identified by morphological characteristics and genetic analysis of rDNA with the primers ITS 4-6, COX, NADH and a phylogenetic tree was built. Its pathogenicity to tomato, chili and cucumber plants was also determined. The results indicated that all isolates corresponded to *Phytophthium helicoides*. Three of the isolates obtained were clone isolates. The 11 isolates were pathogenic to tomato, chili and cucumber plants.

KEY WORDS

Nucleic acids, phytopathogenic species, fruit baits, oomycetes.

INTRODUCCIÓN

El agua empleada para cultivar plantas es frecuentemente almacenada y distribuida por medio de infraestructuras construidas con la finalidad de facilitar y optimizar su uso; sin embargo, se ha comprobado que esas prácticas favorecen la dispersión de agentes fitopatógenos desde y hacia espacios de explotación agrícola (Corrales et al. 2018; Zappia et al. 2014). Los oomicetes son un grupo diverso de microorganismos con más de 1,500 especies descritas, presentes en hábitats acuáticos, suelos húmedos (Judelson y Ah-Fong 2019; Nam y Choi 2019) y agua destinada para cultivar plantas (Álvarez-Rodríguez et al. 2017; Marčiulynas et al. 2020), razones por las que se les considera una amenaza persistente para plantas cultivadas (Agrios 2005), ya que está documentada la existencia de oomicetes fitoparásitos (Adhikari et al. 2013; Aram y Rizzo 2018; Judelson y Ah-Fong 2019).

El descubrimiento de nuevos linajes de oomicetes ha favorecido la investigación sobre su evolución, diversidad y relación filogenética; así, el género *Phytophythium* fue descrito por Bala et al. (2010) y ubicado como oomicete miembro de la familia Pythiaceae, orden Peronosporales, con 19 especies adjuntas (De Jesus et al. 2016; Seveda et al. 2021). Las especies del género *Phytophythium* se desarrollan favorablemente en ambientes húmedos, cuando la temperatura fluctúa entre 15 y 40 °C. Forman micelio cenocítico, esporangios ovoides o globosos papilados, con proliferación interna, con liberación de zoosporas en vesícula y oosporas sin ornamentación (Baten et al. 2014; De Cock et al. 2015; Chen et al. 2016). Entre los hospedantes susceptibles a este organismo se reportaron plantas de *Actinidia chinensis* Planch. (Donati et al. 2020), *Citrus reticulata* Blanco (Chen et al. 2016), *Durio zibethinus* L. (Thao et al. 2020), *Fragaria ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne (Marin et al. 2019), *Malus domestica* Baumg. (Jabiri et al. 2021), *Persea americana* Mill. (Rodríguez-Padrón et al. 2018), *Platanus orientalis* L. (Dervis et al. 2020), *Prunus dulcis* (Mill.) Rchb. (Beluzán et al. 2022), *Pyrus communis* Decne. (Jabiri et al. 2021), *Rhizophora* spp. (Bennett et al. 2017) y *Zea mays* L. (Xie et al. 2021). Por otra parte, Ghimire y Baysal-Gurel (2023) refieren que *Phytophythium* spp. es diseminado por agua utilizada para el riego agrícola y se ha encontrado como parásito de plantas pertenecientes a 18 familias botánicas.

Dado lo novedoso del género *Phytophythium*, en México existen limitadas referencias científicas donde se determine su potencial patogénico, rango de hospedantes, especies presentes en agroecosistemas y la influencia facilitadora de la actividad agrícola en su dispersión; por ello, esta investigación se planteó el objetivo de determinar la presencia de especies fitopatógenas del género *Phytophythium* en aguas empleadas para la irrigación agrícola en el valle de Culiacán, Sinaloa, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención, aislamiento y purificación de los organismos

Durante el periodo comprendido entre el 1 de septiembre de 2018 y el 31 de enero de 2019, en 39 puntos ubicados con información disponible en la Comisión Nacional del Agua (<https://www.gob.mx/conagua>) sobre infraestructuras empleadas para almacenamiento y distribución de agua para la agricultura (presas, estanques, ríos y canales) del distrito de riego número 010 del valle de Culiacán, Sinaloa, México, se colocaron trampas flotantes elaboradas con bolsas de polipropileno y dos frutos de pera que sirvieron como cebo. Después de 48 h, los frutos fueron extraídos con visibles síntomas de infección (lesiones de color café sobre el epicarpio de los frutos). Los frutos con lesiones fueron lavados con agua destilada estéril y desinfectados con alcohol etílico a 96 por ciento. De cada fruto, se tomaron aleatoriamente cinco cortes de pericarpio infectado de 1 cm² de diámetro y 5 mm de profundidad. El tejido vegetal enfermo se depositó sobre cajas Petri con medio de cultivo PARP, para lo cual se empleó como base el medio harina de maíz agar (HMA, BD Difco TM Detroit, Estados Unidos), a razón de 17 g·L⁻¹ de agua destilada estéril, al cual se agregaron 200, 25, 10 y 10 µg·L⁻¹ de ampicilina, pentacloronitrobenzeno, penicilina y rifampicina, respectivamente, y se incubaron a temperatura ambiente (27 ± 2 °C) por 48 h (Jeffers 2006; Soto et al. 2017). Posteriormente, se obtuvieron cultivos puros mediante transferencias hifales individuales (técnica de punta de hifa) sobre placas con medio de cultivo HMA incubadas por 48 h

a temperatura ambiente (27 ± 2 °C). Una vez obtenido el aislamiento y con la finalidad de su conservación, se efectuaron cinco cortes de 0.5 cm de diámetro con sacabocados sobre las colonias puras activas, y se colocaron en tubos Eppendorf con 5 mL de agua destilada estéril. Los tubos se almacenaron en una incubadora a 15 °C para posteriores estudios de laboratorio.

Caracterización morfológica

Se realizó identificación morfológica a partir de colonias desarrolladas sobre medio de cultivo V8A [800 mL de agua destilada, 200 mL de jugo V8, 2 g de CaCO_3 y 15 g de agar (BD Difco TM Detroit, Estados Unidos)]. Así, de cada aislamiento se tomaron fragmentos de 0.5 cm de diámetro que fueron colocados, individualmente por 24 h, en extracto acuoso de suelo bajo condiciones ambientales de laboratorio (27 ± 2 °C), durante cinco días, para inducir crecimiento y producción de estructuras sexuales y asexuales de los organismos. Un microscopio óptico (Leica DM100, Alemania) con medidor ocular integrado se utilizó para observar, medir y caracterizar la morfología de los aislamientos (Chen et al. 2021).

Identificación molecular

Extracción de ADNr

Se desarrollaron colonias individuales de cada aislamiento sobre medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA, BD Difco TM Detroit, Estados Unidos), a razón de $39 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de agua destilada estéril, a temperatura ambiente (27 ± 2 °C) por 72 h, para después tomar muestras de 100 a 200 mg de micelio para la extracción del ADN. Cada muestra fue sumergida en nitrógeno líquido sobre un mortero y se trituró con pistilo hasta obtener un polvo fino, el cual se transfirió a tubos Eppendorf de 2 mL sostenidos en congelación, para adicionársele 1 mL de buffer bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB 2%, TRISH-HCl 100 mM pH 8, EDTA 20 mM pH 8, NaCl 1.4 mM, β -mercaptoetanol 2%). Se colocaron los tubos en vortex (Vortex-Genie 2; Scientific Industries Inc. Estados Unidos) durante un minuto y después se centrifugaron a 12,000 rpm por 15 min (Spectrafuge 24D, Labnet International Inc., Estados Unidos). El sobrenadante se recuperó y se transfirió

individualmente a nuevos tubos Eppendorf de 2 mL, que contenían 1 mL de solución cloroformo-alcohol isoamílico (49:1), y se mezcló el contenido de los tubos con la fase recuperada. Las muestras se colocaron en vortex por 10 min. Se realizó una segunda recuperación de fase acuosa y una segunda transferencia a nuevos tubos Eppendorf. Se añadió acetato de sodio 3M con 1 mL de alcohol isopropílico con valor 1/10 del volumen recuperado y se almacenaron los tubos a -20 °C por 20 min (los tubos pueden ser almacenados hasta por 24 h para maximizar la obtención de ADN). Se centrifugaron los tubos a 12,000 rpm por 15 min, y, posteriormente, se decantaron sin desperdiciar el contenido de ADN precipitado. Se añadió 1 mL de etanol y se centrifugaron las muestras a 12,000 rpm por 3 min. El sobrenadante se extrajo sin tocar la fase sólida, luego de lo cual se colocaron los tubos con la fase sólida a temperatura ambiente para la evaporación de líquidos. El ADN (fase sólida) fue disuelto en 50 μL de buffer TE. Las características del ADN se calcularon con Nanodrop 8000 a 260 nM (Thermo Fisher Scientific, Inc. Estados Unidos). La calidad se estimó con la proporción 280/260 y la integridad se visualizó en una cámara de electroforesis en gel de agarosa a 0.8 por ciento con una solución amortiguadora de 1X TAE.

Amplificación, purificación y secuenciación del ADNr

La mezcla para PCR se preparó con 2.5 μL de buffer específico para la Taq (10X), 1.25 μL de MgCl_2 (50 mM), 0.5 μL de mezcla de dNTPs (200 mM), 0.625 μL de cada iniciador individual (0.25 μM), 1 μL de ADN ($50 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$), y 0.25 μL de Taq ADN polimerasa (5 UI mL^{-1}). Todo se disolvió en agua de grado molecular, suficiente para completar el volumen total de 25 μL . El ADN se amplificó con un termociclador (Bio-Rad T100). Las condiciones utilizadas en el termociclador fueron: desnaturalización inicial a 94 °C por 2 min, 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 s a ITS 930 pb (ITS4F: TCCTCCGCTTATTGATATGC; ITS6R: GAAGGTGAAGTCGTAACAAGG), 60 s a COX 972 pb (COXF: GTATTTCTTCTTTATTAGGTG; COXR: CGTGAAGTAATGTTACATATAC) y 60 s a NADH 897 pb (NADHF: CTGTGGCTTATTTTACTTTAG; NADHR: CAGCAGTATACAAAAGCAAC), alineamiento por 30 s, extensión a 72 °C por 60 s y extensión

final a 72 °C por 10 min. La temperatura de alineamiento fue de 62 °C para ITS, 52 °C para COX y 53 °C para NADH. La amplificación se verificó mediante electroforesis en gel (Choi et al. 2015; Cooke et al. 2000; Chen et al. 2021). La purificación de los productos de PCR se realizó con el kit Wizard® SV Gel and PCR CleanUp System (Promega, USA). Las dos cadenas del amplicón fueron enviadas para ser secuenciadas en Macrogen, Korea. Las secuencias se compararon en la base de datos del GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI). El árbol filogenético y el historial evolutivo se construyeron a partir del método de máxima verosimilitud y modelo Tamura-Nei (Tamura y Nei 1993), para 848 pares de bases correspondientes al espacio transcrito del ADNr (los gaps/missing se consideraron como deleciones completas) y con la máxima verosimilitud posible. La búsqueda heurística se aplicó automáticamente con los algoritmos de Neighbor-Join y BioNJ, para emparejar las distancias estimadas utilizando el modelo de Tamura-Nei y después de seleccionar el valor de máxima topología posible. Para establecer los valores de confianza entre las agrupaciones del árbol resultante, se utilizaron 1,000 bootstraps. Este análisis filogenético se llevó a cabo empleando el *software* MEGA X (Kumar et al. 2018).

Pruebas de patogenicidad

La actividad patogénica de los aislamientos se comprobó mediante su inoculación a plántulas de tomate saladette 'SV-3543', chile bell 'Caravaggio' y pepino slicer 'Luxell'. Previamente, se sembraron semillas de cada especie vegetal en charolas de poliestireno de 256 cavidades rellenas con sustrato Peat Moss (Berger) y conservadas en condiciones de invernadero. Cuando las plántulas completaron 7 días después de la emergencia fueron trasplantadas individualmente a macetas de plástico de 3 kg de capacidad rellenas con sustrato Peat Moss previamente esterilizado. Las plántulas fueron abastecidas diariamente con solución nutritiva (composición g·L⁻¹: extractos orgánicos 112, auxinas 0.09, giberelinas 0.10, citoquininas 1.5, nitrógeno 6.6, fósforo 13.3, potasio 13.3, calcio 2.0, magnesio 4.0, hierro 17.2, zinc 26.5, manganeso 13.3 y cobre 13.3). La inoculación de las plantas se realizó 15 días después del trasplante con un cilindro de 0.5 cm de diámetro,

con medio de cultivo y crecimiento de micelio, colocado en la base del tallo en cada plántula inoculada (para el caso de plántulas testigo se colocó un cilindro con medio de cultivo sin crecimiento de patógeno). El inóculo se cubrió con sustrato Peat Moss, para evitar su degradación. Cinco días después de la inoculación, los riegos se efectuaron con mayor intensidad, con el propósito de favorecer la infección del patógeno. Con la finalidad de demostrar que los organismos inoculados fueron patogénicos, se realizaron los postulados de Koch, para lo cual se transfirieron muestras individuales de tejido enfermo de las plantas inoculadas con los aislamientos a cajas de Petri con medio de cultivo (PARP) y permanecieron a temperatura ambiente (24 ± 2 °C).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

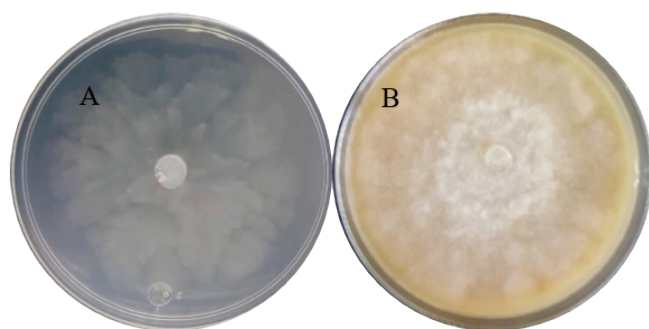
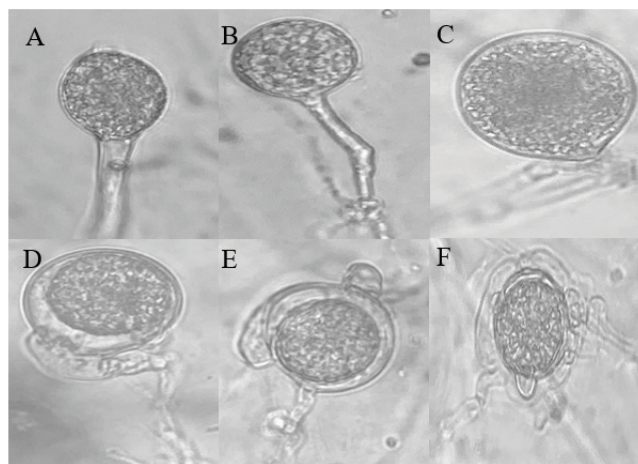
Se obtuvieron 11 aislamientos que pertenecen a organismos del género *Phytophthium* (Cuadro 1). Los aislamientos desarrollaron micelio blanquecino irregular en los medios de cultivo HMA y V8A, sin formación de micelio aéreo sobre medio HMA, pero sí sobre medio V8A (Figura 1). Todos los organismos aislados desarrollaron micelio cenocítico, esporangióforos simples, esporangios globosos terminales, con dimensiones de 30 a 45 µm de largo (promedio de 37.5 µm) y de 15 a 20 µm de ancho (promedio de 17.5 µm). También formaron oosporas sin ornamentación con diámetro que fluctuó entre 30 y 35 µm (promedio 32.5 µm) (Figura 2).

El resultado del BLAST del NCBI coincidió con secuencias de aislamientos obtenidos en otros países, con porcentajes de identidad para *Phytophthium helicoides* que variaron desde 97 hasta 100 por ciento (Cuadro 2). El análisis filogenético demostró que los aislamientos obtenidos (registrados como: irrigation water-México) se emparejaron en el clado específico para *P. helicoides* (Figura 3).

Estos resultados demuestran la presencia de *P. helicoides* en aguas de uso agrícola, lo cual coincide con lo publicado por Ghimire y Baysal-Gurel (2023), quienes describen que *P. helicoides* se encontró en tanques de agua para el riego de invernaderos con sistemas hidropónicos, ríos y embalses naturales utilizados como fuentes para el riego agrícola.

Cuadro 1. Aislamientos obtenidos de aguas de uso agrícola y localización de los sitios de colecta, distrito de riego número 010 del valle de Culiacán, Sinaloa, México.

Aislamiento	Localidad	Coordenadas
PhyH1	Presa Adolfo López Mateos	25°10'08" N 107°26'10" O
PhyH2	Presa Adolfo López Mateos	25°09'10" N 107°26'11" O
PhyH3	Presa Adolfo López Mateos	25°09'10" N 107°26'11" O
PhyH4	Río Humaya	24°51'48" N 107°24'25" O
PhyH5	Empaque Castro (estanque)	24°55'28" N 107°31'59" O
PhyH6	Empaque Castro (estanque)	24°55'28" N 107°31'59" O
PhyH7	La Presita	24°55'49" N 107°25'39" O
PhyH8	Presa Sanalona	24°48'46" N 107°08'14" O
PhyH9	Río Tamazula	24°49'00" N 107°11'16" O
PhyH10	Río Tamazula	24°48'53" N 107°21'29" O
PhyH11	Jardín Botánico (estanque)	24°49'24" N 107°23'04" O

Figura 1. Crecimiento de *Phytophythium helicoides* (PhyH11) sobre medio de cultivo A) HMA y B) V8A.Figura 2. Estructuras morfológicas de *Phytophythium helicoides* (PhyH11). A-C) esporangios globosos, simples terminales; D-F) oosporas sin ornamentación.**Cuadro 2. Similitud a *Phytophythium helicoides* de los aislamientos obtenidos de aguas de uso agrícola en Culiacán, Sinaloa, México.**

Aislamiento	Número de acceso	Similitud	Especie
PhyH1	MT322872	97.0%	<i>Phytophythium helicoides</i>
PhyH2	MT322863	99.0%	<i>Phytophythium helicoides</i>
PhyH3	MT322864	100%	<i>Phytophythium helicoides</i>
PhyH4	MT322862	100%	<i>Phytophythium helicoides</i>
PhyH5	MT322861	98.7%	<i>Phytophythium helicoides</i>
PhyH6	MT322869	99.0%	<i>Phytophythium helicoides</i>
PhyH7	MT322865	97.9%	<i>Phytophythium helicoides</i>
PhyH8	MT322873	99.3%	<i>Phytophythium helicoides</i>
PhyH9	MT322866	98.6%	<i>Phytophythium helicoides</i>
PhyH10	MT322867	99.0%	<i>Phytophythium helicoides</i>
PhyH11	MT322871	100%	<i>Phytophythium helicoides</i>

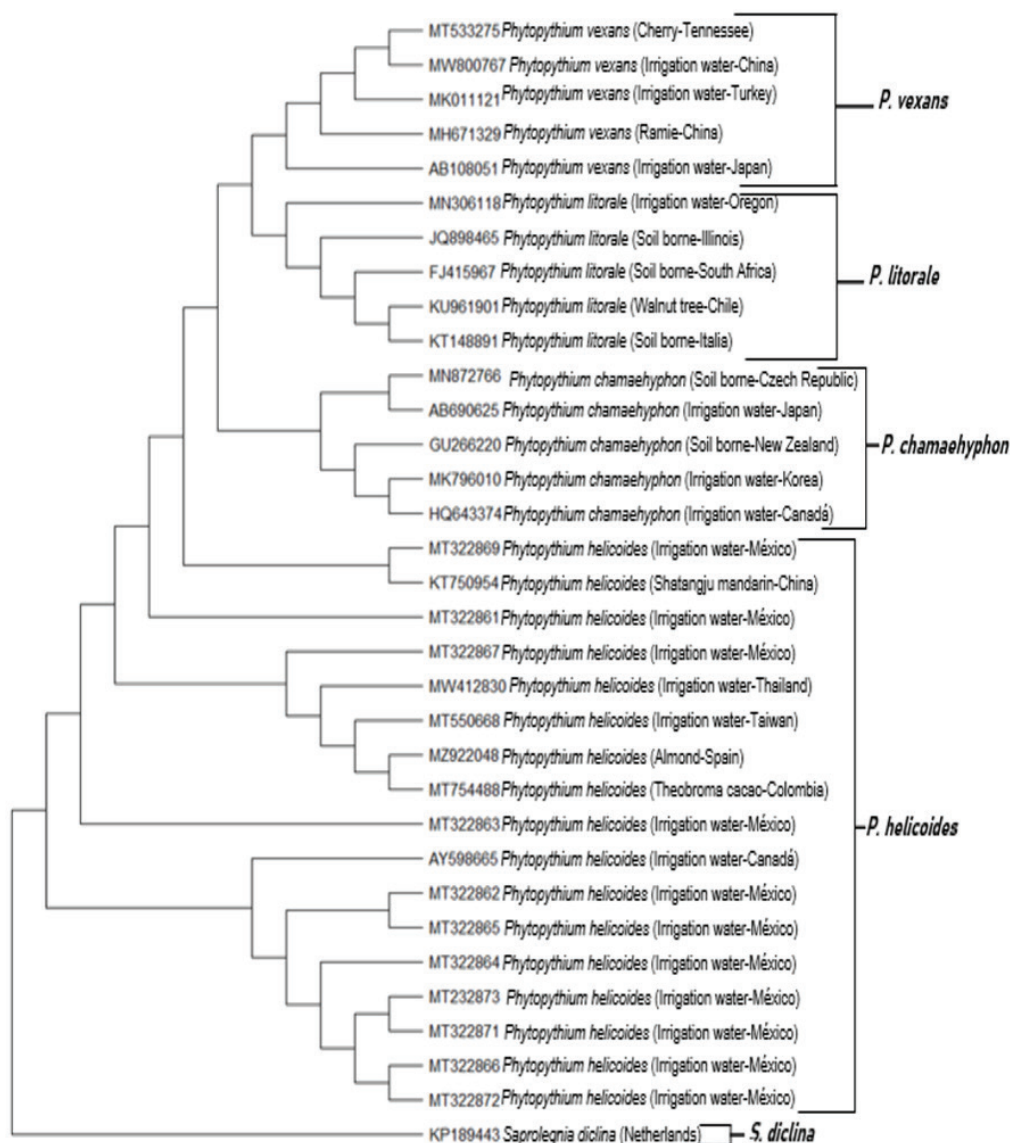


Figura 3. Árbol filogenético resultante para los aislamientos de *Phytophythium helicoides* de aguas de uso agrícola de Culiacán, Sinaloa (Irrigation water-México), México, elaborado con el método de máxima verosimilitud y modelo Tamura-Nei. Como secuencia outgroup se colocó a *Saprolegnia diclina*.

Los 11 aislamientos de *P. helicoides* resultaron patogénicos para las plantas de tomate, chile y pepino, los cuales produjeron síntomas de necrosis de tallo y raíces después de siete días de la inoculación (Figura 4). Los postulados de Koch comprobaron que el organismo inoculado fue el causante de los daños observados en las plantas.

Las características morfológicas de los 11 aislamientos estudiados fueron semejantes entre sí y coincidieron con aquellas descritas por Chen et al. (2021) para *P. helicoides*. La formación de oosporas en cultivos simples (homotáticos) observadas en esta investigación es congruente con lo descrito por

Chen et al. (2016) para *P. helicoides*. Así, todos los aislamientos fueron tentativamente identificados como *P. helicoides* y esa identificación fue confirmada con los resultados obtenidos de la secuenciación de las regiones ITS, el BLAST del NCBI y por la construcción del árbol filogenético. En el árbol filogenético construido, las secuencias de los aislamientos obtenidos se agruparon dentro del clado correspondiente a *P. helicoides*, donde, además, se situaron aislamientos de Canadá, Colombia, Tailandia y Taiwán (Figura 3).

Las secuencias ITS 4-6, COX y NADH mostraron que, entre los aislamientos, los porcentajes de identidad genética fluctuaron de 97 a 100 por ciento. La

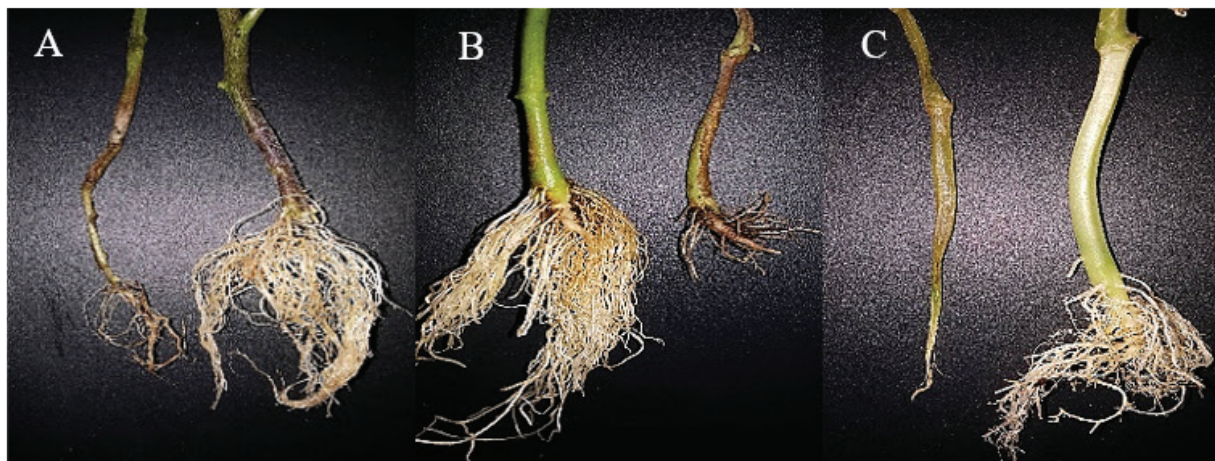


Figura 4. Pruebas de patogenicidad: a la izquierda, plantas inoculadas con *Phytophthora helicoides* (PhyH11); a la derecha, plantas testigo. A) plantas de tomate; B) plantas de chile y C) plantas de pepino.

heterogeneidad genética de *P. helicoides* también fue reportada por Xie et al. (2021). El mismo análisis mostró que en tres aislamientos la identidad fue de 100 por ciento (aislados PhyH3, PhyH4 y PhyH11), lo cual indica que se trató de aislados clon. Es pertinente señalar que dichos aislamientos se obtuvieron de sitios con coordenadas distintas, lo que sugiere una alta relación con la fuente de origen del agua que explicaría la dispersión a distancia de *P. helicoides*.

La totalidad de los aislamientos mostraron ser patogénicos a plántulas de tomate, chile y pepino; además, el distrito de riego 010 del valle de Culiacán, Sinaloa, gestiona agua para la irrigación de 212,000 ha de explotación agrícola (Ramírez-Sánchez et al. 2021), de las cuales 8,750 ha son empleadas para el cultivo de hortalizas, donde tomate, chile y pepino ocupan la mayor superficie (CIEGSIN 2021); también, nuestros resultados indican que el agua empleada para la irrigación agrícola contribuye a la diseminación de *P. helicoides*; por tanto, la información generada en este estudio es adecuada para ser considerada por los productores agrícolas en la planeación de estrategias para el manejo de problemas fitopatológicos.

CONCLUSIONES

En el agua superficial de uso agrícola, perteneciente al distrito de riego 010 de Culiacán, Sinaloa, México, se encontró la presencia de *Phytophthora helicoides* con la capacidad de infectar plantas de tomate, chile y pepino.

AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCyT, por el financiamiento de los estudios de Josué Cárdenas Rodríguez.

LITERATURA CITADA

- Adhikari BN, Hamilton JP, Zerillo MM, Tisserat N, Lévesque CA, Buell CR. 2013. Comparative genomics reveals insight into virulence strategies of plant pathogenic oomycetes. PLOS ONE 8: 75072. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075072>
- Agrios GN. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academic Press. Oxford, Estados Unidos.
- Álvarez-Rodríguez B, García-Estrada RS, Valdez-Torres JB, León-Félix J, Allende-Molar R y Fernández-Pavía SP. 2017. *Phytophthora hydropathica* and *Phytophthora drechsleri* isolated from irrigation channels in the Culiacan Valley. Revista Mexicana de Fitopatología 35: 20-39. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1606-1>
- Aram K, Rizzo DM. 2018. Distinct trophic specializations affect how *Phytophthora ramorum* and Clade 6 *Phytophthora* spp. colonize and persist on *Umbellularia californica* leaves in streams. Phytopathology 108: 858-869. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-17-0196-R>
- Bala K, Robideau GP, Lévesque CA, De Cock AWAM, Abad ZG, Lodhi AM, Shahzad S, Ghaffar A, Coffey MD. 2010. *Phytophthora* Abad, de Cock, Bala, Robideau, Lodhi & Lévesque, gen. nov. Persoonia 24: 136-137. <https://doi.org/10.3767/003158510X512748>

- Baten M, Asano T, Motohashi K, Ishiguro Y, Rahman M, Inaba S, Suga H, Kageyama K. 2014. Phylogenetic relationships among *Phytophythium* species, and re-evaluation of *Phytophythium fagopyri* comb. nov., recovered from damped-off buckwheat seedlings in Japan. *Mycological Progress* 13: 1003. <https://doi.org/10.1007/s11557-014-1003-1>
- Beluzán F, Miarnau X, Torguet L, Armengol J y Abad-Campos P. 2022. Survey of oomycetes associated with root and crown rot of almond in Spain and pathogenicity of *Phytophthora niederhauserii* and *Phytophythium vexans* to 'Garnem' rootstock. *Agriculture* 12: 294. <https://doi.org/10.3390/agriculture12020294>
- Bennett R, Nam B, Dedeles G, Thines M. 2017. *Phytophythium leanoi* sp. nov. and *Phytophythium dogmae* sp. nov., *Phytophythium* species associated with mangrove leaf litter from the Philippines. *Acta Mycologica* 52: 1103. <https://doi.org/10.5586/am.1103>
- Chen XR, Liu BB, Xing YP, Cheng BP, Liu ML, Tong YH, Xu J. 2016. Identification and characterization of *Phytophythium helicoides* causing stem rot of *Shatangju mandarin* seedlings in China. *European Journal of Plant Pathology* 146: 715-727. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0952-4>
- Chen Z, Yang X, Xu J, Jiao B, Li Y, Xu Y, Dai T. 2021. First report of *Phytophythium helicoides* causing crown and root rot of *Rhododendron pulchrum* in China. *Plant Disease* 105: 713. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1798-PDN>
- Choi YJ, Beakes G, Glockling S, Kruse J, Nam B, Nigrelli L, Ploch S, Shin HD, Shivas RG, Telle S, Voglmayr H, Thines M. 2015. Towards a universal barcode of oomycetes—a comparison of the *cox1* and *cox2* loci. *Molecular Ecology Resources* 15: 1275-1278. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12398>
- [CIEGSIN] Centro de Información Estadística y Geográfica del Estado de Sinaloa. [internet]. 2021. Agricultura indicadores por tema. [citado 2024 julio 12]. Disponible en: https://estadisticas.sinaloa.gob.mx/EM_Conociendo.aspx.
- Cooke DE, Drenth LA, Duncan JM, Wagels G, Brasier CM. 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes. *Fungal Genetics and Biology* 30: 17-32. <https://doi.org/10.1006/fgbi.2000.1202>
- Corrales LC, Sánchez LC, Quimbayo ME. 2018. Microorganismos potencialmente fitopatógenos en aguas de riego proveniente de la cuenca media del río Bogotá. *NOVA* 16: 71-89. <https://doi.org/10.22490/24629448.2691>
- De Cock A, Lodhi A, Rintoul TL, Bala K, Robideau GP, Abad ZG, Coffey MD, Shahzad S, Lévesque CA. 2015. *Phytophythium*: Molecular phylogeny and systematics. *Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. *Persoonia* 34: 25-39. <https://doi.org/10.3767/003158515X685382>
- De Jesus AL, Gonçalves DR, Rocha SCO, Marano AV, Jerônimo GH, De Souza JI, Pires-Zottarelli CLA. 2016. Morphological and phylogenetic analyses of three *Phytophythium* species (Peronosporales, Oomycota) from Brazil. *Cryptogamie Mycologie* 37: 117-128. <https://doi.org/10.7872/crym/v37.iss1.2016.117>
- Dervis S, Turkolmez S, Cifci O, Ozer G, Ulubas C, Dikilitas M. 2020. *Phytophythium litorale*: A novel killer pathogen of plane (*Platanus orientalis*) causing canker stain, root and collar rot. *Plant Disease* 104: 2642-2648. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-20-0141-RE>
- Donati I, Cellini A, Sangiorgio D, Caldera E, Sorrenti G, Spinelli F. 2020. Pathogens associated to kiwifruit vine decline in Italy. *Agriculture* 10: 119. <https://doi.org/10.3390/agriculture10040119>
- Ghimire B, Baysal-Gurel F. 2023. A diagnostic guide to *Phytophythium helicoides* and *Phytophythium vexans* causing root and crown rot diseases. *Plant Health Progress* 24: 527-538.
- Jabiri S, Bahra C, MacLean D, Radouane N, Barka EA, Bendriss-Amraoui M, Lahlali R. 2021. *Phytophythium vexans* associated with apple and pear decline in the saïss plain of Morocco. *Microorganisms* 9: 1916. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091916>
- Jeffers SN. 2006. Identifying species of *Phytophthora*. *Clemson*. *Plant Disease* 83: 1129-1136.
- Judelson HS, Ah-Fong AM. 2019. Exchanges at the plant-oomycete interface that influence disease. *Plant Physiology* 179: 1198-1211. <https://doi.org/10.1104/pp.18.00979>
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Marčiulynas A, Marčiulyrienė D, Lynikienė J, Gedminas A, Vaičiukynė M, Menkis A. 2020. Fungi and oomycetes in the irrigation water of forest nurseries. *Forests* 11: 459. <https://doi.org/10.3390/f11040459>
- Marin MV, Seijo T, Mertely J, Peres NA. 2019. First report of crown rot caused by *Phytophythium helicoides* on strawberry in the Americas. *Plant Disease* 103: 5. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-19-0658-PDN>

- Nam B, Choi YJ. 2019. *Phytophthora* and *Pythium* species (Oomycota) isolated from freshwater environments of Korea. *Mycobiology* 47: 261-272. <https://doi.org/10.1080/12298093.2019.1625174>
- Ramírez-Sánchez AS, Ibarra-Armenta CI, Leos-Rodríguez JA. 2021. Evaluación de la administración de la infraestructura de riego por parte de Asociaciones de Usuarios de Módulos de Riego: el caso de Culiacán 010, módulos I-3 y IV-3, 2011-2017. *Acta Universitaria* 31: 2011-2017. <https://doi.org/10.15174/au.2021.2807>
- Rodríguez-Padrón C, Siverio F, Pérez-Sierra A, Rodríguez A. 2018. Isolation and pathogenicity of *Phytophthora* species and *Phytophthora vexans* recovered from avocado orchards in the Canary Islands, including *Phytophthora niederhauserii* as a new pathogen of avocado. *Phytopathologia Mediterranea* 57: 89-106. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-22022
- Sevda R, Masoud A, Youbert G. 2021. Taxonomic and pathogenic characterization of *Phytophthora* species from west Azarbaijan, Iran, and description of two new species. *Mycologia* 113: 612-628. <https://doi.org/10.1080/00275514.2020.1853986>
- Soto PA, Rodríguez AG, Fernández YL, Pedraza ME, López PL, Díaz SM, Fernández SP. 2017. Protocolos de aislamiento y diagnóstico de *Phytophthora* spp. enfoque aplicado a la investigación. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8: 1867-1880. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i8.708>
- Tamura K, Nei M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10: 512-526. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>
- Thao LD, Hien LT, Liem NV, Thanh HM, Khanh TN, Binh VTP, Trang TTT, Anh PT, Tu TT. 2020. First report of *Phytophthora vexans* causing root rot disease on durian in Vietnam. *New Disease Reports* 41: 2. <http://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2020.041.002>
- Xie XY, Zhou HZ, Fan SS, Zhang XJ. 2021. First report of *Phytophthora helicoides* causing stalk rot on corn in China. *Plant Disease* 105: 3766. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-21-0429-PDN>
- Zappia RE, Hüberli D, Hardy GSJ, Bayliss KL. 2014. Fungi and oomycetes in open irrigation systems: Knowledge gaps and biosecurity implications. *Plant Pathology* 63: 961-972. <https://doi.org/10.1111/ppa.12223>