

ESPECIES DE *Pythium* ASOCIADAS AL CULTIVO DE MAÍZ EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES: RESULTADOS PRELIMINARES

Pablo E. Grijalba*, Hemilse E. Palmucci, Juan A. Pucheta, Estela P. Petrone y Juan Belfiori

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Fitopatología

* E-mail: grijalba@agro.uba.ar

Recibido: 16/05/2021
Aceptado: 29/06/2021

RESUMEN

Pythium spp. causa pudriciones radiculares en el cultivo de maíz en todo el mundo, ocasionando clorosis y marchitamiento de la parte aérea. Entre 2018 y 2020 se efectuaron recorridas en lotes de producción de maíz de la zona norte de la provincia de Buenos Aires, en estadios V1-V3. Se recolectaron muestras de plántulas enfermas y suelo, para aislar e identificar las especies de *Pythium* asociadas al cultivo de maíz durante su implantación y primeros estadios del cultivo. Para obtener aislamientos a partir de plántulas, muestras de tejidos con síntomas se sembraron en medio de cultivo con el agregado de antibióticos y fungicidas. Para obtener aislamientos a partir de suelos, se utilizó la técnica denominada "trampa", con granos de maíz. De cada aislamiento se comprobó la patogenicidad *in vitro* (cajas de Petri) e *in vivo* (macetas). Durante la campaña 2018/2019 se obtuvieron 25 aislamientos de las localidades de San Antonio de Areco, Pergamino y Fontezuela, mientras que en la campaña 2019/2020 se efectuaron 18 aislamientos de Chacabuco, Chivilcoy y 25 de Mayo. Los aislamientos de la primera campaña fueron identificados como correspondientes a las especies *P. ultimum*, *P. irregulare* y *P. sylvaticum*. Las cepas evaluadas mostraron diferente grado de patogenicidad (*in vitro* e *in vivo*), siendo *P. irregulare* la de mayor grado seguida de *P. ultimum*.

Palabras clave: detección de patógenos, *in vitro*, *in vivo*, patogenicidad.

Pythium SPECIES ASSOCIATED WITH CORN IN BUENOS AIRES PROVINCE: PRELIMINARY RESULTS

SUMMARY

Pythium spp. causes root rot in corn worldwide, producing chlorosis and wilting of the aerial part. Between 2018 and 2020, surveys were carried out on corn field plots from northern Buenos Aires province in V1-V3 stages. Samples of diseased seedlings and soil were collected to isolate and identify the *Pythium* species present, so as to characterize their diversity affecting the implantation and early stages of corn. To obtain isolation from seedlings, pieces of tissue with symptoms were plated in culture medium with the addition of antibiotics and fungicides, while, to obtain isolates from soil, the baiting technique with kernels seeds was used. The pathogenicity of each isolate was verified *in vitro* (Petri dishes) and *in vivo* (pots). During the 2018/2019 growing season, 25 isolates were obtained from San Antonio de Areco, Pergamino and Fontezuela, while in the 2019/2020 growing season, 18 were obtained from Chacabuco, Chivilcoy and 25 de Mayo. The isolates from the first growing season were identified as corresponding to the species of *P. ultimum*, *P. irregulare* and *P. sylvaticum*. The strains evaluated showed different degrees of pathogenicity (*in vitro* and *in vivo*), *P. irregulare* being the one with the highest degree, followed by *P. ultimum*.

Key Words: pathogen detection, *in vitro*, *in vivo*, pathogenicity.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los principales cultivos sembrados en la Argentina, alcanzando, en los últimos años, una superficie que oscila las 9,1 millones ha y una producción estimada para la campaña 20-21 de 55,5 millones t (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación-MAGyP, 2020). Su plantación se concentra principalmente en el norte de la provincia de Buenos Aires, sudeste de Córdoba y sur de Santa Fe, y en menor superficie en las provincias de Entre Ríos, Santiago del Estero, La Pampa y Chaco (Storti, 2019; MAGyP, 2020). La variabilidad de las condiciones climáticas, a lo largo de este territorio, determina dos períodos de siembra, el primero desde mitad de septiembre hasta fines de noviembre (fecha temprana) y el segundo durante los meses de diciembre y enero (fecha tardía) (AAPRESID, 2020).

Las limitaciones hídricas, sanitarias o nutricionales, las condiciones climáticas, la selección del híbrido a utilizar son los diferentes factores que pueden afectar los rendimientos potenciales del maíz. Dentro de estas limitaciones, en todas las zonas productoras de maíz del país, se destacan las enfermedades, de las cuales las ocasionadas por *Pythium* spp. se caracterizan por causar pudriciones radiculares que conducen a la clorosis y marchitamiento de la parte aérea. *Pythium* es un género muy cosmopolita, que afecta a casi todos los cultivos. A nivel mundial, se han identificado más de 354 especies (www.mycobank.org; Van der Plaats-Niterink, 1981), distribuidas en suelos y espejos de agua. En su mayoría, se trata de organismos saprófitos o parásitos de plantas. En el cultivo de soja, donde las enfermedades son monitoreadas frecuentemente, se identificaron diferentes especies de *Pythium* que suelen manifestarse cuando se siembra en suelos fríos y con drenaje deficiente, lo cual permite la dispersión de las zoosporas (Grijalba et al., 2021).

En la Argentina se ha citado el complejo de la pudrición del tallo y raíz (PTR) causado por varios patógenos, entre ellos *Fusarium*, *Pythium* spp. y *P. aphanidermatum*. Este complejo puede manifestarse en cualquier momento durante el cultivo del maíz, especialmente si las condiciones son muy húmedas, aunque generalmente se presenta después de la floración, que es el estado en el que los factores involucrados en la aceleración de la senescencia del cultivo contribuyen al aumento de la susceptibilidad de las plantas (Carmona et al., 2006; 2010; Couretot et al., 2013; Moschini et al., 2020). *Pythium aphanidermatum* es uno de los patógenos ve-

getales más comunes de varios cultivos en diferentes partes cálidas del mundo, en maíz provoca la descomposición del primer entrenudo por encima del suelo. Tanto la corteza como la médula se vuelven marrones y con podredumbre blandas. El tallo generalmente se retuerce y cae, pero la planta puede permanecer verde durante varias semanas porque el tejido vascular no se destruye (White, 1999). En la Argentina *P. aphanidermatum* se reportó principalmente en cultivos intensivos producidos bajo condiciones de invernáculo (Palmucci et al., 2011; Grijalba et al., 2015). Recientemente este patógeno fue detectado en plantas de soja de siembras tardías (Grijalba et al., 2020). Salvo estos antecedentes, es escasa la información disponible acerca de las especies del género *Pythium* que, en la Argentina, afectan la implantación y los primeros estadios del cultivo de maíz. La mayoría de las veces, las pérdidas de plantas en estos estadios son atribuidas al ambiente (textura y estructura del suelo, nutrición mineral, desnivel del terreno), dejando muchas patologías sin reportar o identificar, lo cual explicaría el escaso número de citas de *Pythium* spp. afectando cultivos extensivos en la Argentina (Palmucci, 2015). En otros países se han citado numerosas especies de *Pythium* ocasionando severas pérdidas por muerte de plántulas o disminución del rendimiento por infecciones subclínicas (Hoppe y Middleton, 1950; Zhang y Yang, 2000; Dorrance et al., 2004; Broders et al., 2007; Ellis et al., 2012), en la Argentina se hallan citadas 23 especies de *Pythium*, en 274 relaciones hospedante-patógeno (Palmucci, 2015; Grijalba 2021). Esto permite presumir que el listado de las especies presentes en la Argentina, así como las asociaciones con hospedantes susceptibles, es muy superior al registrado.

El presente trabajo tuvo la finalidad de caracterizar la diversidad de especies de *Pythium* que pueden afectar al cultivo de maíz durante su implantación y primeros estadios. Para ello, se efectuaron recorridos en lotes de producción de la zona norte de la provincia de Buenos Aires en 2018 que permitieron recolectar muestras de plántulas enfermas y suelo que se utilizaron para aislar e identificar las especies presentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante las campañas de maíz 2018/19 y 2019/20 se recorrieron lotes de producción de la zona norte de la provincia de Buenos Aires, con la finalidad de recolectar muestras de material vegetal y suelo. Las plántulas de maíz se recolectaron de zonas con encharcamiento, cuando estas presentaban síntomas de podredumbre y

muerte y además se extrajeron muestras de suelo de las inmediaciones de sus raíces.

Aislamiento del patógeno

Aislamiento a partir de plántulas: secciones de raíz y base del tallo de las plántulas de maíz afectadas se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 2% durante 1 min y, luego, se lavaron con agua destilada estéril durante 1 min. Posteriormente, 3 a 5 trocitos de 3-4 mm se sembraron en cajas de Petri que contenían agar papa dextrosado (APD) y agar harina de maíz (AHM) más PARP (Pimaricin-ampicilin-rifampicin-pentachloronitrobenzene) (Jeffers y Martin, 1986), utilizando la técnica de la burbuja o del agar invertido, evitando de esta manera el desarrollo de bacterias (Grijalba y Ridao, 2017). Las cajas se incubaron a 22 ± 2 °C, en condiciones de oscuridad, durante 48 horas.

Aislamiento a partir de suelos: para obtener aislamientos a partir de suelo, se utilizó la técnica denominada trampa o "Baiting Technique" (Dorrance, 2004). Cada muestra de suelo se dispuso en tres macetas de plástico de 12 cm de diámetro. En cada maceta, se colocaron 10 granos de maíz previamente desinfectados superficialmente con hipoclorito de sodio al 2% durante 1 min y luego lavadas con agua destilada estéril durante 1 min. Las macetas se regaron hasta alcanzar la capacidad de campo. Cuando las plántulas comenzaron a emerger, las macetas se anegaron durante 12 horas. Posteriormente, se retiró el agua y se esperó 3-4 días para observar plántulas anormales y de menor tamaño que las sanas, las cuales se descalzaron en busca de síntomas como raíces necrosadas. Las plántulas con síntomas se cortaron en trozos de 3-4 mm, se desinfectaron superficialmente con la metodología previamente descrita y se sembraron en los medios de cultivo mencionados (APD y AHM más PARP). Con la finalidad de obtener cultivos puros en ambos tipos de aislamiento, 2-3 días después de la siembra, los extremos hifales de las colonias se transfirieron a cajas nuevas con los mismos medios de cultivo, pero sin antibióticos ni fungicidas.

Identificación del patógeno y determinación de la patogenicidad

Los aislamientos obtenidos se identificaron y caracterizaron por: (a) morfología de su colonia en diferentes medios de cultivo (APG, AHM y Agar jugo V8), (b) estructuras vegetativas y reproductivas sexuales y asexuales (Frezzi, 1950; 1956; Van der Plaats-Niterink, 1981; Dick, 2001). Se estimuló la formación de esporangios y

estructuras sexuales por medio de diferentes técnicas, como el uso de hojas de *Agrostis* sp. en agua destilada estéril en contacto con secciones de 0,5 cm de medio agarizado con desarrollo del patógeno (Abad *et al.*, 1994), entre otras.

Se probó la patogenicidad de los aislamientos *in vitro* e *in vivo* según la metodología propuesta por Dorrance *et al.* (2004). Se utilizó la variedad de maíz Indentata INTA Prohuerta debido a su susceptibilidad a enfermedades y por carecer de tratamientos con fungicidas curasemillas.

Patogenicidad *in vitro*

En condiciones controladas se realizó un experimento con diseño completamente aleatorizado, con diez placas o repeticiones por tratamiento (granos inoculados y testigo sin inocular). La unidad experimental consistió en cada placa de con 10 granos de maíz. Un segmento de cada aislamiento, de aproximadamente 1 cm de diámetro, con crecimiento de 7 días en APD, fue cortado del borde de crecimiento y transferido al centro de una placa Petri de 9 cm que contenía 25 ml de APD. Posteriormente, se colocaron cuidadosamente 10 granos de maíz (previamente desinfectados con hipoclorito de sodio al 2%) en la periferia de cada placa (Foto 1), las cuales se incubaron en estufa de cultivo a $22 \pm 0,2$ °C en oscuridad.

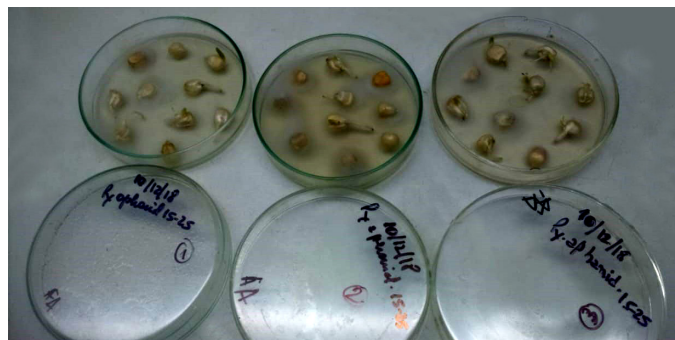


Foto 1. Prueba de patogenicidad *in vitro* llevadas a cabo en placas de Petri.

Luego de 7 días, los granos y plántulas muertas se evaluaron utilizando una escala de severidad con cinco grados de ataque, adaptada para el cultivo de maíz de la propuesta por Jiang *et al.* (2012). Los grados se describen a continuación (Foto 2):

- Grado 0: plántula sin síntomas de infección.
- Grado 1: plántula con síntomas de lesiones amarilladas en la radícula.
- Grado 2: plántula con radícula de menor tamaño y síntomas de lesiones más marcados.



Foto 2. Escala de severidad adaptada para maíz de Jiang *et al.* (2012).

- Grado 3: plántula con síntomas de infección y presencia de lesiones amarillentas-negras en la radícula.
- Grado 4: plántula no viable.

A efectos prácticos se consideró a los grados 0 y 1 como no patógenas. Una vez categorizadas las plántulas, se determinará el Índice de Severidad (IS) utilizando la ecuación (1).

Ecuación 1
$$IS = \frac{[\sum(\text{grado} \times N^{\circ} \text{ planta})]}{(N^{\circ} \text{ de grados} \times \text{Plantas totales})^{-1}}$$

A medida que el IS se aproxima a 0,2, menor es la patogenicidad del aislamiento. Por el contrario, a medida que el IS se aproxima a 1, mayor es la patogenicidad.

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANVA) y posterior comparación de medias a través del Test de LSD Fisher, utilizando el programa Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2017).

Patogenicidad *in vivo*

Cada unidad experimental consistió en una maceta de polietileno diámetro 12 cm. Se utilizó el método de la capa, que consistió en rellenar las macetas hasta la mitad con una mezcla de sustrato comercial, tinalizado dos veces, posteriormente el contenido de una placa de Petri con crecimiento de 10 días de cada aislamiento en APD a 22 °C y en oscuridad se colocó cuidadosamente sobre el sustrato. El micelio se cubrió con una capa de 2 cm del mismo sustrato e inmediatamente sobre este se colocaron 15 granos de maíz y se agregó una nueva capa de sustrato para cubrir los granos (Foto 3). Las macetas utilizadas como testigo se inocularon con discos de agar que no contenían desarrollo alguno. Las mismas se dispusieron en una cámara climática a 22±2 °C y 12 horas de fotoperíodo, en un diseño completamente



Foto 3. Pruebas de patogenicidad *in vivo* llevadas a cabo en macetas.

aleatorizado (DCA), con tres repeticiones por tratamiento. El suelo se mantuvo húmedo regando las macetas diariamente según requerimiento. Después de 15 días de la siembra se realizó el recuento de plántulas normales emergidas. En base a esto se calculó el porcentaje de plantas emergidas dividiendo el total de semillas normales emergidas por el total de semillas sembradas en cada maceta.

RESULTADOS

Aislamiento e identificación

Los relevamientos efectuados durante las dos campañas consecutivas mostraron una alta frecuencia de aislamientos. Durante la campaña 2018/2019 se obtuvieron 25 aislamientos de campos comerciales ubicados en tres localidades del Norte de la provincia de Buenos Aires: San Antonio de Areco, Pergamino y Fontezuela. Las especies identificadas hasta el momento en el contexto de este trabajo son *P. ultimum*, *P. irregulare* y *P. sylvaticum*. No se identificó ningún aislamiento como perteneciente al género *Phytophthora*. Para la identificación de estas especies se consideraron las siguientes características:

***Pythium ultimum*:** en APG formó una colonia blanca densa algodonosa, de tipo aracnoide. Micelio cenocítico con abundante producción de apresorios grandes y curvos. Esporangios y zoosporas ausentes; hichamientos hifales globosos, terminales o intercalares de 16-27 (prom. 21) µm de diámetro; oogonio liso, terminal, predominantemente esférico, raramente intercalar, 16-25 (prom. 21) µm de diámetro; 1-2 anteridios monóclinos, usualmente uno por oogonio, con forma claviforme o reniforme, típicamente sésil, originado de la hifa oogonial; oospora esférica, de pared lisa, aplerótica, 12-23 (prom. 18,5) µm de diámetro.

***Pythium irregulare*:** formó colonia algodonosa, de crecimiento radiado con abundante micelio aéreo en los bordes de la caja de Petri. Esporangios terminales o intercalares esféricos de 10-28 (prom. 19) μm de diámetro. Hinchamientos hifales terminales o intercalares de forma variada. En APG y AHM se observaron abundantes oogonios de 10-29 (prom. 20) μm de diámetro, esféricos, subesféricos, limoniformes, terminales o intercalares, con la pared lisa, con 1-3 proyecciones cónicas, rectas o algo curvas, con ápice redondeado o ligeramente curvado; 1-3 anteridios por oogonio, generalmente monóclinos, claviformes, algo curvos y oosporas apeleróticas de pared lisa de 10-22 (prom. 17) μm de diámetro.

***Pythium sylvaticum*:** en APG formó micelio blanco algodonoso, de rápido crecimiento, con hifas aéreas en el borde de la caja de Petri. Micelio cenocítico con abundantes apresorios con forma de hoz o de clava. No se observaron esporangios ni zoosporas. Presentó hinchamientos hifales frecuentemente esféricos o limoniformes, terminales o intercalares, de 20 μm de diámetro promedio. En *Agrostis* sp. desarrolló oogonios lisos, terminales e intercalares, 16-22 (prom. 20) μm de diámetro; 2-4 anteridios por oogonio, diclinos, ramas anteridiales ramificadas; oosporas apeleróticas, 16-20 (prom. 18) μm de diámetro.

Por su parte, durante la campaña 2019/2020 se efectuaron 18 aislamientos de tres localidades: Chacabuco, Chivilcoy y 25 de Mayo. Se continúa con la identificación morfológica de estos aislamientos y las correspondientes pruebas de patogenicidad.

Ensayos de patogenicidad

Las cepas evaluadas mostraron diferente grado de patogenicidad tanto *in vitro* como *in vivo* (Figura 1). El 59,7% de las pruebas *in vitro* (n= 900), se calificó con 0 o 1, mientras que el 40,1% se calificó con 2, 3 ó 4. La especie con el mayor grado de patogenicidad fue *P. irregulare* con un 69,6% de calificación 2, 3 ó 4 en la prueba *in vitro* y un 26% de emergencia promedio de plántulas en la prueba *in vivo*. Los aislamientos de *P. ultimum* presentaron un 51,4% de calificación 2, 3 ó 4 en la prueba *in vitro* y un 24,3% de emergencia promedio en la prueba *in vivo*. Por su parte los aislamientos identificados como *P. sylvaticum* presentaron un 32% de calificación 2, 3 ó 4 *in vitro* y un 30% de emergencia promedio *in vivo*.

Los análisis estadísticos indicaron interacción positiva entre "prueba" $\times$ "aislamiento" altamente significativa. Los aislamientos que causaron niveles altos o bajos de enfermedad fueron consistentes en los experimentos, presentando un comportamiento similar en todos ellos. *P. irregulare* y *P. ultimum* se destacaron por su severidad.

DISCUSIÓN

Las especies patógenas identificadas evidenciaron un alto índice de severidad (Figura 1). Los métodos empleados en las pruebas de patogenicidad realizadas en el presente trabajo han sido previamente utilizadas por numerosos investigadores para determinar patogenicidad de *Pythium* (Zhang y Yang, 2000; Dorrance *et al.* 2004; Broders *et al.* 2007; Grijalba *et al.* 2021). Sin embargo, es necesario continuar analizando las diferentes

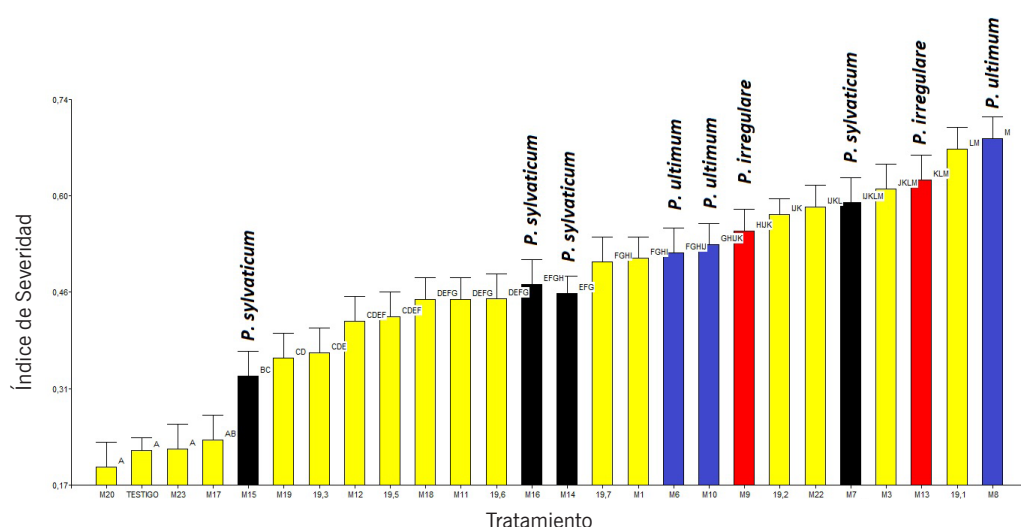


Figura 1. Índice de severidad (IS) para la determinación de patogenicidad *in vitro* de aislamientos de *Pythium* inoculados en granos de maíz. Letras diferentes indican diferencias significativas (LSD Fisher= 0,05).

pruebas a fin de poder establecer una clara relación entre los métodos *in vitro* e *in vivo* y la enfermedad en condiciones naturales.

Las diferentes especies de *Pythium* spp. se expresan en un amplio rango de temperaturas. Por ejemplo, muchas de estas especies producen muerte de plántulas en pre y postemergencia, en ambientes con baja temperatura y con óptimas entre 15-18 °C (*P. ultimum* y *P. irregulare*) (Ben-Yephe y Nelson, 1999; Grijalba *et al.*, 2020). Sin embargo, hay especies que atacan en estadios posteriores a temperaturas mayores de 30-32 °C (*P. aphanidermatum* y *P. myriotylum*) (McCarter y Littrell, 1970; Grijalba *et al.*, 2020). Debemos considerar que algunas diferencias observables en nuestros resultados en el IS podrían deberse a las temperaturas de 22±2 °C, en que el ensayo se llevó a cabo. Las especies se expresan en un rango de temperaturas, la severidad podría variar siendo mayor en su temperatura óptima. Debido a esto, se deberán efectuar ensayos a diferentes temperaturas estableciéndose rangos de 15 a 30 °C (McCarter y Littrell, 1970; Shurtleff, 1980).

En el presente trabajo, las recorridas estuvieron orientadas a los estadios V1-V3. Sin embargo, en el marco de este estudio se efectuarán recorridas en estadios más avanzados del maíz, donde se presenten plantas con PTR para efectuar aislamientos de ellas.

Asimismo, estas experiencias fueron realizadas con granos de maíz dulce que se comporta como más susceptible a las enfermedades. En futuros ensayos podrían

usarse granos de híbridos comerciales para observar su comportamiento frente a las enfermedades de implantación. En estas semillas, una práctica común consiste en la aplicación de fungicidas curasemillas que las protegen de la infección de patógenos de suelo en los primeros estadios. Muchos de estos productos de amplio espectro no son efectivos para el control de *Pythium* spp. Además, se ha reportado resistencia en algunas cepas de *Pythium* a productos específicos como el metalaxil-M (Cook y Zhang, 1985; Dorrance *et al.*, 2004; FRAC, 2020).

Nuestros datos muestran que hay diferencias en la agresividad de los diferentes aislamientos obtenidos (Figura 1). En cultivos extensivos hay pocas especies de *Pythium* determinadas para nuestro país y varias se han citado en la rotación soja-maíz, como *P. ultimum* y *P. irregulare* (Griffin, 1990; Rizvi y Yang, 1996; Schmitthenner, 1962; Rojas *et al.*, 2017; Grijalba *et al.*, 2021). En este estudio, no se completaron las identificaciones de especies de todos los aislados individuales. Un estudio adicional para correlacionar la abundancia relativa de especies individuales con los niveles de enfermedad puede proporcionar más información sobre la pudrición de la raíz por *Pythium*.

Se continúa con el análisis de los aislamientos obtenidos y en casos dudosos se emplearán técnicas moleculares, secuenciando regiones conservadas como ser la región ITS del rADN nuclear usando los primers ITS4 e ITS5 (White *et al.*, 1990).

BIBLIOGRAFÍA

- Abad, Z. G., Shew, H. D. y Lucas, L. T. (1994). Characterization and pathogenicity of *Pythium* species isolated from turfgrass with symptoms of root and crown rot in North Carolina. *Phytopathology*, 84, 913-921.
- Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa, AAPRESID. (2020). *Revista Técnica de Maíz*. <https://www.aapresid.org.ar/blog/revista-tecnica-de-maiz-2020>
- Ben-Yephet, Y. y Nelson, E. B. (1999). Differential suppression of damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*, *P. irregulare*, and *P. myriotylum* in composts at different temperatures. *Plant Disease*, 83(4), 356-360.
- Broders, K. D., Lipps, P. E., Paul, P. A. y Dorrance, A. E. (2007). Characterization of *Pythium* spp. Associated with Corn and Soybean Seed and Seedling Disease in Ohio. *Plant Pathology*, 91(6), 727-735.
- Carmona, M. A., Reis, E. M. y Gally, M. (2006). Pudriciones de tallo y raíces del cultivo de maíz. *Maíz en siembra directa*. AAPRESID. 86-89 pp.
- Carmona, M. A. y Scandiani, M. (2010). Las pudriciones del tallo y raíces del maíz. Pudriciones por Fusarium. *Plagas y Enfermedades*. AAPRESID. 131-138 pp.
- Cook, R. J. y Zhang, B. X. (1985). Degrees of sensitivity to metalaxyl within the *Pythium* spp. pathogenic to wheat in the Pacific Northwest. *Plant Disease*, 69(8), 686-688.
- Couretot, L., Parisi, L., Hirsch, M., Suarez, M. L., Magnone, G. y Ferraris, G. (2013). Principales enfermedades del cultivo de maíz en las últimas campañas y su manejo. *EEA INTA Pergamino*. <http://inta.gob.ar/documentos/principales-enfermedades-del-cultivo-de-maiz-en-las-ultimas-campanas-y-su-manejo>
- Dick, M. W. (2001). *Straminipilous Fungi: Systematics of the Peronosporomycetes including accounts of the marine Straminipilous protists, the plasmodiophorids and similar organisms*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. y Robledo, C. W. (2017). *InfoStat versión 2017*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>

- Dorrance, A. E., Berry, S. A., Bowen, P. y Lipps, P. E. (2004). Characteristics of *Pythium* spp. from the Ohio fields for pathogenicity on corn and soybean and metalaxyl sensitivity. *Plant Health Progress*, 5(1), 10.
- Ellis, M. L., Paul, P. A., Dorrance, A. E. y Broders, K. D. (2012). Two new species of *Pythium*, *P. schmitthenneri* and *P. selbyi* pathogens of corn and soybean in Ohio. *Mycologia*, 104, 477-487.
- Frezzi, M. J. (1950). Las especies de *Phytophthora* en la Argentina. *Revista de Investigaciones Agrícolas*, 4, 47-133.
- Frezzi, M. J. (1956). Especies de *Pythium* fitopatógenas identificadas en la República Argentina. *Revista de Investigaciones Agrícolas*, 10, 113-241.
- Fungicide Resistance Action Committee, FRAC. (2020). <http://www.frac.info>
- Griffin, G. J. (1990). Importance of *Pythium ultimum* in a disease syndrome of cv. Essex soybean. *Canadian Journal Plant Pathology*, 12, 135-140.
- Grijalba, P. E., Ridao, A. del C. y Steciow, M. (2020). Damping off on soybean caused by *Pythium aphanidermatum* in Buenos Aires province (Argentina). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNCuyo* 52(2), 282-288. <http://revistas.uncuyo.edu.ar/ojs3/index.php/RFCA/article/view/3027>
- Grijalba, P., Ridao, A. del C. y Steciow, M. (2021). Oomycetes species associated with soybean in Buenos Aires Province (Argentina). *Phytoparasitica*, 1-16.
- Grijalba, P. E. y Ridao, A. del C. (2017). Control químico de *Pythium* spp. asociado con plántulas de soja. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 43(1), 67-7.
- Hoppe, P. E. y Middleton, J. T. (1950). Pathogenicity and occurrence in Wisconsin soils of *Pythium* species which cause seedling disease in corn. *Phytopathology*, 40(1), 13.
- Jeffers, S. N. y Martin, S. B. (1986). Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant Disease*, 70(11), 1038-1043.
- Jiang, Y. N., Haudenschild, J. S. y Hartman, G. I. (2012). Characterization of *Pythium* spp. from soil samples in Illinois. *Plant Pathology*, 34(3), 448-454.
- McCarter, S. M. y Littrell, R. H. (1970). Comparative pathogenicity of *Pythium aphanidermatum* and *P. myriotylum* to twelve plant species and intraspecific variation in virulence. *Phytopathology*, 60, 264-268.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MINAGRI). 2020. Informe de coyuntura agrícola. Centro de estudios para la producción. XXI. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/informe_de_coyuntura_agricola_junio_2020_0.pdf
- Moschini, R. C., Borsarelli, M., Martinez, M. I., Presello, D. A., Ferraguti, F., Cristos, D., Rojas, D. (2020). Analysis of preharvest meteorological conditions in relation to concentration of fumonisins in kernels of two genetically different maize hybrids. *Australasian Plant Pathology*, 49(6), 665-677.
- Palmucci, H. E. (2015). *Caracterización de especies fitopatógenas de Pythium y Phytophthora (Peronosporomycetes) en cultivos ornamentales del cinturón verde La Plata-Buenos Aires y otras áreas y cultivos de interés* [Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Naturales]. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. 447 pp.
- Rizvi, S. A. A. y Yang, X. B. (1996). Fungi associated with soybean seedling disease in Iowa. *Plant Disease*, 80(1), 57-60.
- Rojas, A., Jacobs, J. L., Napieralski, S. et al. (2017) Oomycete species associated with soybean seedlings in North America. Part I: Identification and pathogenicity characterization. *Phytopathology*, 107, 280-292.
- Schmitthenner, A. F. (1962). Effect of crop rotation on *Pythium ultimum* and other *Pythium* species in the soil. *Phytopathology*, 52, 27.
- Shurtleff, M. C. (1980). *Compendium of corn diseases*. 2ª ed. Saint Paul, Estados Unidos: American Phytopathological Society Press.
- Storti, L. (2019). Informes de cadena de valor. Ministerio de Hacienda. Cereales: Maíz. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/ssp-micro_cadenas_de_valor_maiz.pdf
- Van der Plaats-Niterink, A. J. (1981). Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology*, 21. Baarn, the Netherlands: Centraalbureau Voor Schimmel cultures.
- White, D. G. (1999). *Compendium of Corn Diseases*. 3ª ed. Saint Paul, Minnesota, Estados Unidos: American Phytopathological Society Press.
- White, J., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky y T. J. White (eds.). *PCR Protocols: a guide to methods and applications* (pp. 315-322). Nueva York: Academic Press.
- Zhang, B. Q. y Yang, X. B. (2000). Pathogenicity of *Pythium* populations from corn-soybean rotation fields. *Plant Disease*, 84(1), 94-99.