



Artículo Científico

Caracterización morfológica, filogenia y patogenicidad de *Setophoma terrestris* causante de raíz corchosa y rosada de jitomate (*Solanum lycopersicum*) en Sinaloa, México

Ana María López-López, Juan Manuel Tovar-Pedraza, Josefina León-Félix, ¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Coordinación Regional Culiacán, 80110, Sinaloa, México; Raúl Allende-Molar, Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Tuxpan, 92895, Veracruz, México; Nelson Bernardi Lima, Universidad Nacional de Catamarca, Departamento de Ingeniería Agronómica, 4700, Catamarca, Argentina; ¹Isidro Márquez-Zequera, ¹Raymundo Saúl García-Estrada.

*Autor de
correspondencia:
Raymundo Saúl
García Estrada
rsgarcia@ciad.mx

Sección:
Edición periódica

Recibido:
27 Septiembre, 2023

Aceptado:
28 Enero, 2024

Publicado:
13 Febrero, 2024

Cita:
López-López AM, Tovar-Pedraza JM, León-Félix J, Allende-Molar R, Bernardi LN, Márquez-Zequera I y García-Estrada RS. 2024. Caracterización morfológica, filogenia y patogenicidad de *Setophoma terrestris* causante de raíz corchosa y rosada de jitomate (*Solanum lycopersicum*) en Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 42(2): 12. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2309-5>



Objetivos/antecedentes. El jitomate (*Solanum lycopersicum*) es uno de los principales cultivos en México. En los años 2017 y 2018, se observaron síntomas de raíz corchosa y rosada con una incidencia de 10 a 20 % en Culiacán, Sinaloa, México. En el follaje, las plantas presentaron clorosis generalizada, con crecimiento raquíptico y senescencia de las hojas. En las raíces, se desarrollaron lesiones de color café oscuro y rosa, además de textura corchosa. El objetivo de este estudio fue caracterizar morfológica y molecularmente a los aislados fúngicos asociados a los síntomas de raíz corchosa y rosada en campos de jitomate de Culiacán, Sinaloa, así como evaluar su patogenicidad.

Materiales y Métodos. Se obtuvieron aislados monoconidiales y se identificaron como *Setophoma terrestris* con base en los caracteres morfológicos. Para la confirmación de la identidad, se amplificó y se secuenció la región de los espaciadores transcritos internos (ITS) del ADNr, así como un fragmento del gen 28S del ARNr (LSU).

Resultados. Con las secuencias obtenidas se construyó un árbol filogenético con el método de Inferencia Bayesiana y se encontró que las secuencias se agruparon con las secuencias ex-tipo de *Setophoma terrestris*. La patogenicidad de los aislados se verificó mediante la inoculación de discos miceliales en raíces de 10 plántulas de jitomate de un mes de edad. Las raíces de plántulas que se inocularon con discos de PDA sin micelio, sirvieron como control. Treinta días después de la inoculación se observaron síntomas de raíz corchosa y rosada, mientras que las raíces de las plantas de control permanecieron sanas.

Conclusión. De acuerdo con la caracterización morfológica, la identificación molecular y las pruebas de patogenicidad, se confirmó que *Setophoma terrestris* es el agente causal de la raíz corchosa y rosada en campos agrícolas de jitomate distribuidos en Culiacán, Sinaloa.

Palabras clave: *Setophoma*, hongo, jitomate, inferencia bayesiana, enfermedad radical.

INTRODUCCIÓN

México ocupa el noveno lugar como productor mundial de jitomate (*Solanum lycopersicum*). En el ciclo agrícola 2018-2019 produjo un total de 938,009 t, siendo Sinaloa, el estado que encabezó la lista de productores a nivel nacional con 605,261 t (SIAP, 2020). Sin embargo, las plagas y enfermedades son los principales problemas que impactan a este cultivo (Jones *et al.*, 2016).

Dentro de las enfermedades en jitomate, la raíz corchosa es escasamente estudiada a pesar de ser muy problemática; dicha enfermedad desarrolla lesiones de color café y raíces corchosas. En un inicio, la lesión es limitada y posteriormente se extiende progresivamente y rodea las raíces, desarrollando lesiones que van desde algunos milímetros hasta varios centímetros (Blancard, 2011). En este contexto, la enfermedad denominada raíz corchosa, es uno de los problemas más graves en los últimos años en predios agrícolas dedicados al cultivo de jitomate en México (Pardo, 1999; Martínez-Ruiz *et al.*, 2016).

Aunque la enfermedad de raíz corchosa se observa a menudo en cultivos en invernadero, y su distribución se reportó principalmente en Europa (Schneider, 1966), Estados Unidos (Campbell *et al.*, 1982), Líbano (Davet, 1973) y Chile (Ola-varría, 1991); no hay suficientes estudios relacionados con el agente causal de la enfermedad (USDA, 2017).

De manera general, la raíz corchosa en jitomate esta asociada a *Pseudopyrenochaeta lycopersici* (sin. *Pyrenochaeta lycopersici*) como su agente causal (Golzar, 2009); sin embargo, en un estudio realizado en México, se demostró con base en datos morfológicos, análisis filogenéticos y pruebas de patogenicidad, que la raíz corchosa en campos de Sinaloa es causada por *Setophoma terrestris* y que, además, podía causar raíz rosada en el cultivo (López-López *et al.*, 2020).

Según De Gruyter *et al.* (2010), *S. terrestris* y *P. lycopersici* comparten características morfológicas y genéticas muy similares, las cuales se diferenciaron taxonómicamente de acuerdo con análisis filogenéticos con datos de secuencias concatenadas de la región ITS y fragmentos del gen LSU (Valenzuela-López *et al.*, 2018).

Setophoma es un género de hongo que forma picnidios, los cuales son estructuras de reproducción asexual. El picnidio puede tener forma globosa a subglobosa,

así como setas (de allí el origen del prefijo del género “seto”), con un cuello ostiolar alrededor. Dentro de los picnidios se encuentran las esporas denominados conidios, que son hialinos, cilíndricos, aseptados y principalmente gutulados (De Gruyter *et al.*, 2010).

Setophoma terrestris se ha estudiado mayormente en el cultivo de cebolla (*Allium cepa*), ya que es su principal hospedante, ocasionando la enfermedad conocida como raíz rosada, la cual es de importancia y alto impacto económico a nivel mundial. Este hongo primero ataca el sistema radical y progresivamente afecta a la planta hasta la muerte (Castillo y Plata, 2010). También se reportó causando daños a otros hospedantes como: canola (*Brassica napus*) en Canadá (Yang *et al.*, 2017), calabacita (*Curcubita maxima*) en EE. UU. (Rivedal *et al.*, 2018), así como plantas de ajo (*Allium sativum*) y de té (*Camellia sinensis*) en China (Liu *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019).

En un trabajo previo (López-López *et al.*, 2020) se demostró por primera vez la naturaleza infecciosa de *Setophoma terrestris* en plantas de jitomate (*S. lycopersicum*) en México, con base a un solo aislado. El objetivo de este estudio fue caracterizar morfológica y molecularmente a los aislados fúngicos asociados a los síntomas de raíz corchosa y rosada en campos de jitomate de Culiacán, Sinaloa, así como evaluar su patogenicidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras. Las muestras se recolectaron en cinco sitios (Figura 1), los cuales se encuentran distribuidos en cinco localidades dentro del Valle de Culiacán, así como en los límites de Navolato, Sinaloa, con producción intensiva de jitomate de crecimiento indeterminado en etapa de producción (tres meses de edad). Estos sitios tenían antecedentes de presencia de raíz corchosa y rosada en jitomate. En algunas plantas en etapa de cosecha, se observaron diferentes tipos de síntomas en el área foliar; como clorosis y reducción del crecimiento. Por ello, se hizo un muestreo dirigido de acuerdo a los síntomas mencionados. También, se revisaron las raíces de las plantas mediante su extracción y observación de daños a lo largo de las mismas. Una vez confirmados los síntomas relacionados a la enfermedad en el cultivo, se recolectaron 15 muestras de raíces de jitomate enfermas por cada sitio. Los lugares de colecta fueron invernaderos de tipo casa sombra de aproximadamente 5 ha cada una. Finalmente, se colocaron en bolsas de plástico y se trasladaron a las instalaciones del Laboratorio de Fitopatología, de la Coordinación Culiacán del CIAD para su análisis.

Aislamiento, purificación y conservación de hongos. Las raíces enfermas se sumergieron en agua potable para eliminar el exceso de suelo sin lastimar el tejido



Figura 1. Localización de los sitios de recolección de plantas con síntomas de raíz corchosa en agrícolas con producción de jitomate en el valle de Culiacán, Sinaloa. Sitio 1 (24°42'56.58"N, 107°26'42.86"O), Sitio 2 (24°35'21.67"N, 107°24'56.50"O), Sitio 3 (24°46'2.77"N, 107°32'51.30"O), Sitio 4 (24°48'47.44"N, 107°39'26.19"O) y Sitio 5 (24°32'34.07"N, 107°26'44.93"O).

vegetal. Posteriormente, a partir de lesiones necróticas desarrolladas en las raíces de jitomate, se cortaron fragmentos de 5 mm de longitud, luego se desinfectaron en la superficie mediante inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 2 % durante 2 minutos, se enjuagaron en agua destilada estéril y se colocaron en placas Petri con medios de cultivo papa dextrosa agar acidificado (APDA) y jugo V8 agar acidificado (V8A), y se incubaron a 25 °C en oscuridad continua. Posteriormente, se realizó la transferencia de los aislados fúngicos a nuevas placas Petri con V8A y después de 10 días en incubación a 25 °C, se purificaron los aislados mediante la técnica de cultivos monospóricos (Crous *et al.*, 2019). El cuál consistió en colocar los picnidios sobre portaobjetos y los conidios se observaron bajo el microscopio compuesto, a partir de estos conidios, se obtuvieron cultivos monospóricos en placas Petri con medio V8A y a los 7 días después de la siembra se observó el crecimiento de micelio color rosa. La conservación de los aislados fúngicos se realizó colocando discos de 4 mm de diámetro a partir de colonias con cinco días de crecimiento y se preservaron a temperatura ambiente en tubos estériles de 2 mL

conteniendo agua destilada estéril para resguardarse en la colección de cepas del Laboratorio de Fitopatología en CIAD, Unidad Culiacán. .

Caracterización morfológica. Con la finalidad de estimular la producción de estructuras asexuales, se colocaron aproximadamente tres raíces de jitomate en cámaras húmedas a temperatura de 20 °C. A los 30 días, se retiraron y se observaron en el microscopio estereoscópico, localizando los picnidios y colocándolos en portaobjetos con agua destilada estéril para su observación y caracterización.

La caracterización morfológica de los aislados se realizó usando claves y descripciones reportadas por De Gruyter *et al.* (2010). Para ello, se cultivó el hongo en cajas Petri con medio V8A por un periodo de 10 días. Los aislados que no formaron picnidios en el medio V8A, se estimularon mediante el método descrito por Clerjeau (1973), el cual consiste en colocar raíces de plántulas de melón (*Cucumis melo*) sobre el micelio del hongo de interés con 5–7 días de crecimiento y posteriormente incubar nuevamente a temperatura ambiente (25–30 °C) por 15 a 20 días para la producción artificial de picnidios. Una vez que estos se obtuvieron, se examinaron las características de los picnidios, conidios y setas en un microscopio compuesto (Zeiss®, Alemania) con cámara digital integrada (AxioCam) y se realizaron 50 mediciones de cada una de las diferentes estructuras fúngicas asexuales de cada aislado.

Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación. La extracción de ADN total se realizó a partir de colonias fúngicas de siete días de edad, cultivadas en medio V8A. El micelio de cada aislado se raspó con un portaobjetos estéril, se maceró en un mortero estéril usando nitrógeno líquido y se transfirió a un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL con 500 µL de solución de Bromuro de hexadeciltrimetilamonio, CTAB (Tris 100 mM, pH 8; 20 mM de EDTA, pH 8; NaCl, 1.4 M y 3 % de CTAB), se mezcló con vórtex por 10 s y se incubó por 60 min a 65 °C. Se agregaron 700 µL de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1v/v), se pasó por vórtex por 10 s y se colocó en una centrífuga 5810 R (Eppendorf®, EE. UU.) a 13000 g durante 10 min. Después, el sobrenadante se transfirió a un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL y se agregó 700 µL de isopropanol. Los tubos se mezclaron por inversión de cuatro a cinco veces y se dejaron a -20 °C durante 10 min, luego se centrifugó a 13000 g durante 10 min para precipitar el ADN. Posteriormente, se realizaron dos lavados del precipitado con 500 µL de etanol al 70 %, centrifugando a 13000 g por 5 min y desechando el sobrenadante en cada vez. Enseguida, se dejó secar la pastilla de ADN colocando los tubos invertidos sobre papel secante por no más de 15 min para permitir la evaporación del etanol y finalmente, se resuspendió el ADN en 100 µL de agua estéril libre de DNAsa y RNAsa. La calidad y concentración del ADN se evaluó en un espectrofotómetro Q 3000 UV (Quawell, EE. UU.)

y electroforesis en geles de agarosa al 1 %, considerando adecuado el ADN con valores de pureza (relación de A260/280) entre 1.8 y 2.0 y concentración (A260) de aproximadamente 2.0 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$, así como bandas íntegras de alto peso molecular, respectivamente. El ADN se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su uso posterior.

La amplificación de la región ITS del DNAr y la subunidad larga (LSU) se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en punto final. La región ITS (ITS1–5.8S–ITS2) se amplificó usando los iniciadores ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) e ITS4 (TCCTCCGCTTATTGA TATGC) con 480 pb aproximadamente (White *et al.*, 1990), mientras que la banda amplificada del gen LSU (incluyendo los dominios D1 y D2) se realizó mediante una PCR anidada usando los iniciadores PM3 (Takamatsu y Kano, 2001) /TW14 (Mori *et al.*, 2000) y NL1/TW14 (Mori *et al.*, 2000) para la primera y segunda reacción, respectivamente. La mezcla de reacción se preparó a un volumen final de 25 μL , conteniendo amortiguador de PCR 1X, 2.5 mM de MgCl_2 , 0.5 mM de dNTPs, 1 μM de cada iniciador, 1U de ADN polimerasa (Promega®, EE. UU.) y 100 ng de ADN. La PCR se realizó bajo las siguientes condiciones de termociclado (termociclador C-1000, Bio-Rad®, EE.UU.): desnaturalización inicial de $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 min, 35 ciclos de $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 s, $54\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 s, con una extensión final de $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 10 min. Para la amplificación del gen 28S se usó las mismas condiciones de termociclado excepto por la temperatura de alineamiento, la cual fue de $52\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los productos amplificados se analizaron por electroforesis en gel de agarosa al 1 %, teñido con bromuro de etidio. La electroforesis se realizó a 90 V por 40 min y los resultados se visualizaron en un transiluminador M-26X en un sistema de imágenes GelDoc-ItTM 300 (UVP®, EE. UU.). Los productos de PCR se purificaron mediante el kit DNA Clean & Concentrator (Zymo Research®, EE. UU), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante y se secuenciaron en la empresa Macrogen (www.macrogen.com) en Seúl, Corea del Sur.

Análisis filogenético. La calidad de las secuencias de nucleótidos y el método de ensamblaje se realizaron utilizando el Paquete Staden (Staden *et al.*, 2000). Las secuencias se limpiaron y las generadas a partir de la región del ITS y la subunidad grande (LSU) del ARNr se alinearon con secuencias de diferentes especies del género *Setophoma* obtenidas del GenBank y a partir de datos de referencia publicados (De Gruyter *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2019) (Cuadro 1). Se generaron alineamientos múltiples de secuencias utilizando ClustalW tal como se implementó en MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021) y se mejoraron manualmente para permitir la máxima similitud entre el conjunto de datos. Las estimaciones filogenéticas bayesianas se infirieron con MrBayes 3.2.6 (Ronquist *et al.*, 2012) implementado en el clúster CIPRES (<https://www.phylo.org/portal2/home.action>) y seleccionando el modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajustó a los datos de esta investigación,

Cuadro 1. Información de los aislados fúngicos y números de acceso del GenBank de especies de *Setophoma* usadas en el análisis filogenético.

Taxon	Código de colección	Hospedante	País	No. de acceso	
				LSU	ITS
<i>Setophoma antiqua</i>	LC6594	<i>Camellia sinensis</i>	China	MK511947	MK511909
	LC6595	<i>C. sinensis</i>	China	MK511948	MK511910
<i>S. chromolaenae</i>	CBS 135105 ^x	<i>Chromolaena odorata</i>	Brasil	KF251747	KF251244
<i>S. cyperi</i>	CBS 141450 ^x	<i>Cyperus sphaerocephala</i>	Sudáfrica	KX228337	KX228286
<i>S. endophytica</i>	CGMCC 3.19528	<i>C. sinensis</i>	China	MK511956	MK511931
	LC3164	<i>C. sinensis</i>	China	MK511957	MK511932
<i>S. longinqua</i>	LC6593 ^x	<i>C. sinensis</i>	China	MK511946	MK511908
<i>S. poaeicola</i>	MFLUCC 16-0880 ^x	-	Tailandia	KY550386	KY568988
<i>Setophoma</i> sp.	CGMCC 3.19526	Carbonatita en cueva	China	MK511965	MK511944
<i>S. sacchari</i>	MFLUCC 12-0241	<i>Saccharum officinarum</i>	Tailandia	KJ476147	KJ476145
	CBS 333.39 ^x		Brasil	MH867535	MH856038
	LC6449 ^x	<i>Allium sativum</i>	EE.UU.	KF251749	KF251246
<i>S. terrestris</i>	CBS 335.87	<i>Allium cepa</i>	Senegal	KF251750	KF251247
	CCLF01	<i>Solanum lycopersicum</i>	México	MN596167	MN596166
<i>S. terrestris</i>	CCLF02	<i>S. lycopersicum</i>	México	OL960402	OL960206
<i>S. terrestris</i>	CCLF03	<i>S. lycopersicum</i>	México	OL960403	OL960207
<i>S. terrestris</i>	CCLF04	<i>S. lycopersicum</i>	México	OL960404	OL960208
<i>S. terrestris</i>	CCLF05	<i>S. lycopersicum</i>	México	OL960398	OL960202
<i>S. terrestris</i>	CCLF06	<i>S. lycopersicum</i>	México	OL960399	OL960203
<i>S. terrestris</i>	CCLF07	<i>S. lycopersicum</i>	México	OL960400	OL960204
<i>S. terrestris</i>	CCLF08	<i>S. lycopersicum</i>	México	OL960401	OL960205
<i>S. vernoniae</i>	CBS 137988 ^x	<i>Vernonanthura</i> sp.	Brasil	KJ869198	KJ869141
<i>S. yingyisheniae</i>	LC12699	<i>C. sinensis</i>	China	MK511951	MK511915
	LC13479 ^x	<i>C. sinensis</i>	China	MT523031	MK511918
<i>S. yunnanensis</i>	LC6532	<i>C. sinensis</i>	China	MK511945	MK511907
	LC6753 ^x	<i>C. sinensis</i>	China	MK511949	MK511913

^xaislados ex-tipo. Los números de acceso de las secuencias generadas en este estudio se destacan en negrita.

CBS: Colección de aislados en Centraal bureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Países Bajos; IMI: Colección de aislados de CABI Europe UK Centre, Egham, Reino Unido; CPC: Colección de trabajo de Pedro W. Crous, alojada en CBS. CGMCC: Centro General de Recolección de Cultivos Microbiológicos de China, Instituto de Microbiología, Academia de Ciencias de China, Beijing, China; LC: Colección de trabajo de Lei Cai, alojada en el Instituto de Microbiología, Academia China de Ciencias, Beijing, China; MUCL: Mycothèque de l'Université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Bélgica.

de acuerdo con el criterio de información de Akaike (AIC) obtenido con MrModeltest 2.3 (Nylander, 2004). El número de generaciones fue de 10.000.000 y las probabilidades posteriores se calcularon después de descartar el primer 25 % de las iteraciones. Los árboles filogenéticos se visualizaron con TreeView (Page, 1996).

Pruebas de patogenicidad. La patogenicidad de siete aislados fúngicos se determinaron mediante la inoculación en la raíz principal de plántulas de jitomate cv.

8444 de 30 días de edad. Se utilizaron 10 plantas por cada uno de los aislados, además de 10 plantas no inoculadas que se sirvieron como control. Se utilizaron discos de V8A de 4 mm de diámetro con crecimiento activo del hongo por aislado, los cuales se colocaron sobre una herida previamente realizada con un palillo de madera (mondadiente). El disco micelial se sujetó a la herida de la raíz usando papel Parafilm® (EE. UU.). En las plantas testigo, se realizó la herida y se colocó un disco con medio de cultivo V8A sin crecimiento fúngico. Las plantas se mantuvieron en un invernadero a temperatura de 20–35 °C durante 30 días. Posteriormente, se extrajeron las raíces inoculadas y se reaislaron los hongos en medio V8A. Una vez desarrollado el micelio, se consideraron las características morfológicas y culturales como son pigmentación del medio V8A, así como los caracteres cualitativos y cuantitativos de setas, picnidios y conidios de acuerdo a lo descrito previamente. La prueba se repitió dos veces.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron síntomas de clorosis y senescencia de hojas, así como reducción del crecimiento de plantas de jitomate (Figuras 2A–C) en una incidencia que varió de 10 a 20 % en los cinco diferentes campos agrícolas comerciales muestreados en el valle de Culiacán, Sinaloa, México. Las raíces sintomáticas desarrollaron lesiones de color café oscuro, hinchadas y con textura corchosa (Figura 2D–E) y rosada (Figura 2F). Estos síntomas en el área foliar y sistema radical concuerdan con los reportados por López-López *et al.* (2020); mientras que el mismo agente causal afectaron plantas de jitomate reportados en Brasil, Canadá, EE. UU. y Venezuela (Farr y Rossman, 2022). Asimismo, estos síntomas se registraron en otros hospedantes, como en cebolla china (*Allium fistulosum*) en China (Luong *et al.*, 2008). De manera similar, los síntomas de la enfermedad de raíz corchosa y rosada en jitomate coinciden con los descritos para *S. terrestris* en cebolla (Schwartz y Mohan, 2008).

La sintomatología de raíz rosada puede ser similar a la causada por *Pseudopyrenochaeta lycopersici*, la cual se registró en un amplio número de hospedantes como sorgo (*Sorghum*), maíz (*Zea mays*), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) (Sprague, 1950), césped (*Cynodon dactylon*) (Conners, 1967), puerro (*Allium porrum*) (Hall *et al.*, 2007), melón (*Cucumis melo*), calabacita (*Curcubita pepo*), trigo (*Triticum*) y espinaca (*Spinacia oleracea*) (USDA, 1960) y en árboles de sauce (*Salix*) (Pfleger y Vaughn, 1972). Por otra parte en el cultivo de jitomate lo han reportado en Australia (Golzar, 2009), África (Testen *et al.*, 2019) Alemania (Valenzuela-López *et al.*, 2018) y en Estados Unidos como patógeno asociado a la pudrición café de la raíz del jitomate (Vrisman *et al.*, 2017).



Figura 2. Síntomas de raíz corchosa y rosada en jitomate. A–C) Clorosis, crecimiento deficiente y senescencia en plantas. D–F) Lesiones en la raíz de color café oscuro, hinchadas, con textura corchosa y rosada.

Aislamiento e identificación morfológica. De las 15 muestras (plantas) de raíces de jitomate con síntomas de raíz corchosa y rosada por sitios, se trabajaron con siete aislados fúngicos, provenientes de los cinco sitios previamente señalados en el mapa con sus respectivas coordenadas en el Valle de Culiacán. La técnica que funcionó para el aislamiento de los hongos fue colocar secciones de tejidos infectados en cámara húmeda para la estimulación de los picnidios en los tejidos de las raíces a temperatura de 4 °C (Gilchrist-Saavedra *et al.*, 2005).

Los aislados obtenidos corresponden a *Setophoma terrestris*, y las colonias fueron de color rosa anverso y reverso, con crecimiento radial (80 mm) a los 7 días de crecimiento (Figuras 3A–B). Dichas características de crecimiento del hongo en medio V8A fueron similares a las reportadas por De Gruyter *et al.* (2010).

La examinación morfológica de las estructuras asexuales mostraron picnidios globosos a obpiriformes, de color negro a café oscuro (Figura 3C) y de $142\text{--}220 \times 104\text{--}140 \mu\text{m}$. Se observó la presencia de setas de color café oscuro, septadas, de $52\text{--}114 \times 2\text{--}8 \mu\text{m}$ y que rodeaban el cuello ostiolar (Figura 3D). Los conidios fueron hialinos, cilíndricos, de $2\text{--}8 \times 1\text{--}3 \mu\text{m}$, y con dos gúttulas muy características en sus extremos (Figuras 3E–F). Todos los caracteres morfológicos observados coincidieron con los reportados por otros autores (Koenning *et al.*, 2007; Wiriyajitsomboon, 2015; Yang *et al.*, 2017; Rivedal *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2019) (Cuadro 2). A pesar de que algunas mediciones fueron variables entre sí, estos datos no son contundentes para diferenciar entre una u otra especie, por lo cual se requieren de herramientas moleculares y análisis filogenéticos para la confirmación a nivel de especie.

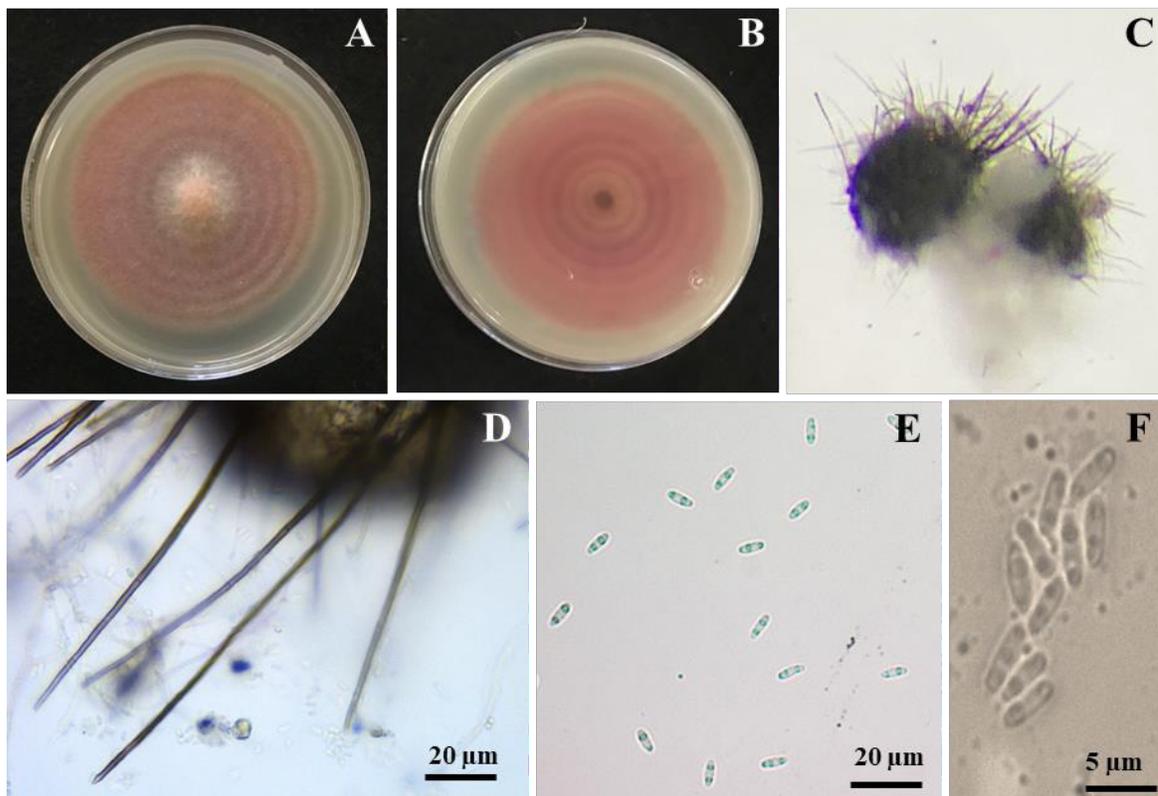


Figura 3. Colonias y estructuras de reproducción asexual de *Setophoma terrestris*. **A)** Colonia de *S. terrestris* en medio V8A con 7 días de crecimiento. **B)** Crecimiento de colonia en el reverso de la placa. **D)** Picnidio. **D)** Setas. **E–F)** Conidios gutulados.

Cuadro 2. Medidas de estructuras asexuales en aislados de *Setophoma terrestres* obtenidos en plantas de jitomate.

Setas (µm)	Picnidio (µm)	Conidio (µm)	Referencia
^y NA	NA	4.5–5.5 × 1.8–2.3	Koenning <i>et al.</i> , 2007
≈ 100–120	≈ 200	≈ 4–5	Wiriyajitsomboon, 2015
≈ 100	≈ 300	≈ 5	Yang <i>et al.</i> , 2017
NA	NA	5.0 × 2.0	Rivedal <i>et al.</i> , 2018
55–150	160–230	4.0–5.0 × 1.5–2.0	Zhang <i>et al.</i> , 2019
68–84 × 2–3	237–345 × 105–250	5–7 × 2–3	López-López <i>et al.</i> , 2020 (CCLF01)
52–114 × 3–6	150–183 × 133–156	6–7 × 2–3	^z CCLF02
60–108 × 2–5	142–160 × 124–132	6–8 × 2–3	CCLF03
46–102 × 3–5	200–233 × 110–130	4–6 × 2–3	CCLF04
55–106 × 3–4	220–231 × 105–133	2–3 × 1–1.5	CCLF05
67–90 × 2.5–4	216–255 × 104–140	3–4 × 1–2	CCLF06
90–107 × 3–8	175–180 × 140–155	5–8 × 2–3	CCLF07
60–101 × 3–5	160–175 × 137–153	5–6 × 2–3	CCLF08

^yNA: No aplica / No se reportaron

^zLas mediciones generadas en este estudio se destacan en negrita en referencias.

Respecto a los rangos de valores morfométricos, se observó que los siete aislados de *S. terrestres* de este estudio se distribuyeron en tres grupos de acuerdo a medidas ascendentes: grupo 1 integrado por el aislado CCLF05, grupo 2 por CCLF06 y CCLF04, y por último el grupo 3 con los aislados CCLF07, CCLF08, CCLF02 y CCLF03. Es importante mencionar que en el grupo 3, también se encuentra el aislado (CCLF01) reportado previamente en otro estudio en Sinaloa, México (López-López *et al.*, 2020).

Por su parte, Luong *et al.* (2008) identificaron a *S. terrestres* como agente causal de raíz rosada en cebolla utilizando características de la colonia y observaron el pigmento rosa en el medio de cultivo, así como las setas en los picnidios y conidios típicos de este género en algunas raíces rosadas. Además, observaron grandes gúttulas en los conidios de sus aislados, las cuales coinciden con las reportadas en este estudio. Estas mismas características microscópicas en los conidios fueron descritas por De Gruyter y Boerema (2002).

Similarmente, Ikeda *et al.* (2012) identificaron como agente causal de raíz rosada en calabacita a *S. terrestres* y obtuvieron dos aislados que formaron picnidios de color café a negro oscuro, de forma subglobosa a globosa y con cuello ostiolar con setas alrededor. Estas setas se observaron de forma cilíndrica y de color café a café oscuro, y sus medidas fueron 104–262 × 3.5–6.9 µm. Estas características y medidas coinciden con las obtenidas en este estudio.

Por otra parte, las medidas pueden tener ligeras diferencias entre los aislados y lo antes señalado se puede deber a múltiples factores ambientales que afectan el desarrollo del patógeno, tal como lo mencionaron Burton *et al.* (1997), haciendo

una relación con los síntomas de la enfermedad en melón y sandía e identificando al agente causal con base a estructuras morfológicas y análisis de secuencias ITS. A diferencia de nuestros aislados, los picnidios reportados por Duarte y Barreto (2015), no cuentan con las típicas setas alrededor del ostiolo, señalando que este atributo no es un carácter genérico. Asimismo, las características que comparten los hongos *P. lycopersici* y *S. terrestris* son muy similares a diferencia que, en *P. lycopersici* las setas de sus picnidios son superiores a 200 μm de longitud, mientras que *S. terrestris* regularmente oscilan desde 50–150 μm aproximadamente (De Gruyter, 2010).

Análisis filogenético. Las secuencias alineadas correspondientes a la región ITS y la subunidad mayor (LSU), resultaron en una longitud total de 1,345 nucleótidos. El análisis filogenético generado con MrBayes basado en el conjunto de datos (Figura 4) mostraron que todos los aislados obtenidos en este estudio se agruparon con la especie *Setophoma terrestris*, con un soporte alto de probabilidad posterior (1.0).

Por otra parte, en el análisis filogenético se observaron dos agrupamientos, los cuales en su mayoría abarca todos los aislados con un 0.88 de probabilidad posterior, excepto por el aislado CCLF05, el cual se agrupó de manera separada y presentó la mayor diferencia filogenética. Asimismo, con lo previamente mencionado y de acuerdo a la morfometría se agrupó en un solo grupo. Con base en esto, se pudo comprobar nuevamente que *Pseudopyrenochaeta lycopersici*, no es la especie responsable de causar la enfermedad conocida como raíz corchosa y rosada en Sinaloa, México.

El análisis filogenético de este estudio concuerda con la identidad molecular reportada por Rivedal *et al.* (2018), quienes utilizaron la región ITS, encontrando que el ADN de todos sus aislados mostraron una similitud del 99 % con *Setophoma terrestris*. Asimismo, esas secuencias también se compararon con las reportadas por De Gruyter *et al.* (2010), obteniendo resultados similares. Por otra parte, Duarte y Barreto (2015) utilizaron el mismo criterio de análisis de inferencia bayesiana, pero como la diferencia que se apoyaron únicamente en secuencias LSU, mientras que en este trabajo se analizaron secuencias concatenadas ITS y LSU. Esto es de gran importancia ya que en estos años se ha demostrado y avalado que estos géneros son muy cercanos entre sí y se distinguen únicamente al realizar análisis filogenéticos con secuencias concatenadas (De Gruyter *et al.*, 2010). Dicha información es de gran importancia, ya que el género *Phoma* ha crecido para adaptar a más de 3000 especies que forman picnidios con conidios hialinos y septados (Aveskamp *et al.*, 2008), reevaluando así varios estudios relacionados con este género al identificarse correctamente (Boerema *et al.*, 2004).

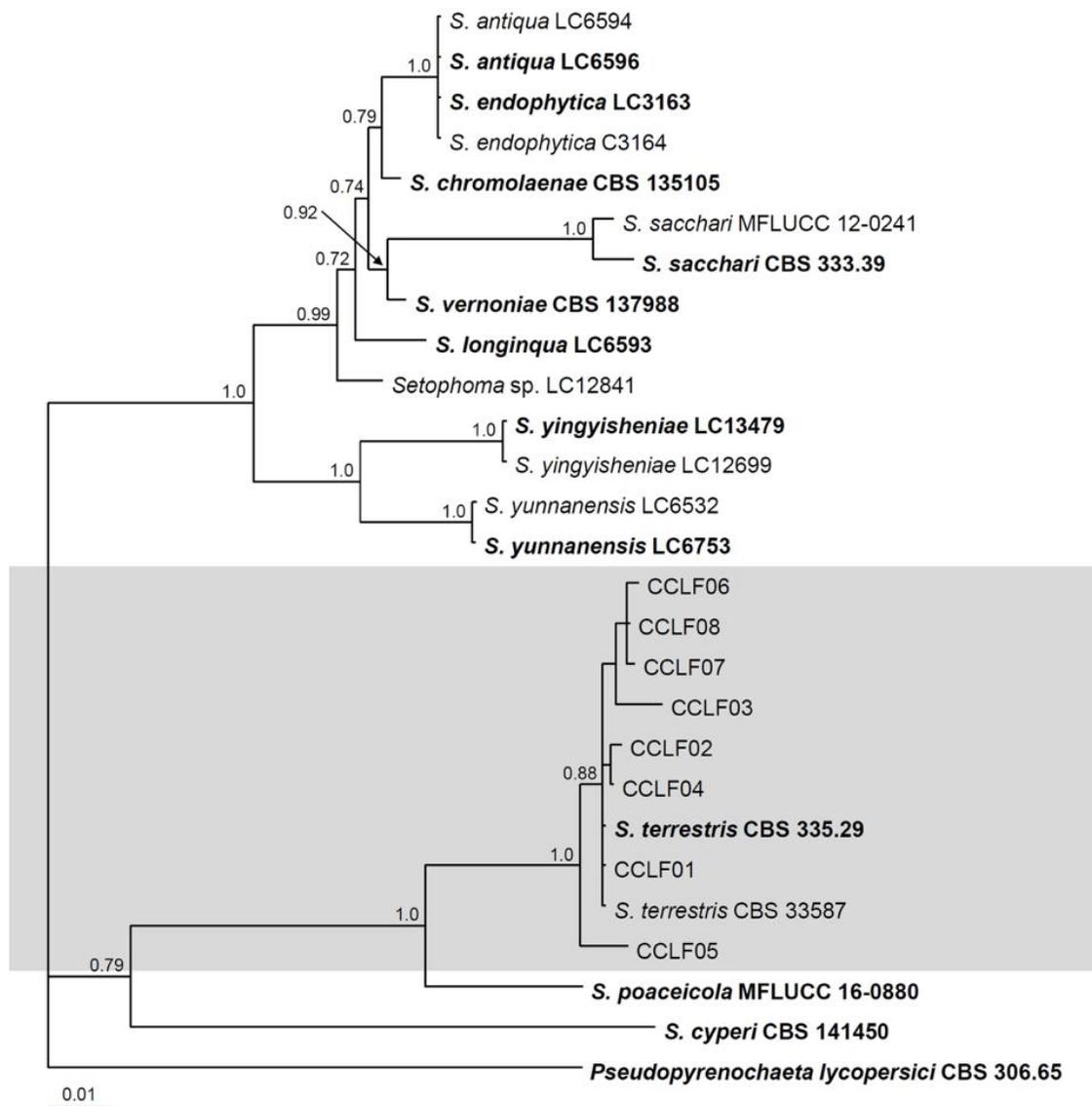


Figura 4. Árbol Bayesiano obtenido con datos combinados de secuencias ITS y LSU. El árbol muestra las relaciones filogenéticas de las especies de *Setophoma*. Los valores de probabilidad posterior Bayesiana por encima de 0.70 se muestran en los nodos. La especie *Pseudopyrenochaeta lycopersici* se utilizó como grupo externo y la barra de escala indica el número de cambios esperados por sitio.

Pruebas de patogenicidad. Treinta días después de la inoculación, las hojas mostraron amarillamiento (Figuras 5A–B). Las raíces de jitomate inoculadas mostraron textura corchosa y coloración rosada (Figura 5C), los cuales fueron similares a los síntomas observados en campo. De los reaislamientos, se obtuvieron colonias (Figura 5D) y estructuras fúngicas idénticas a las del hongo inoculado, lo que

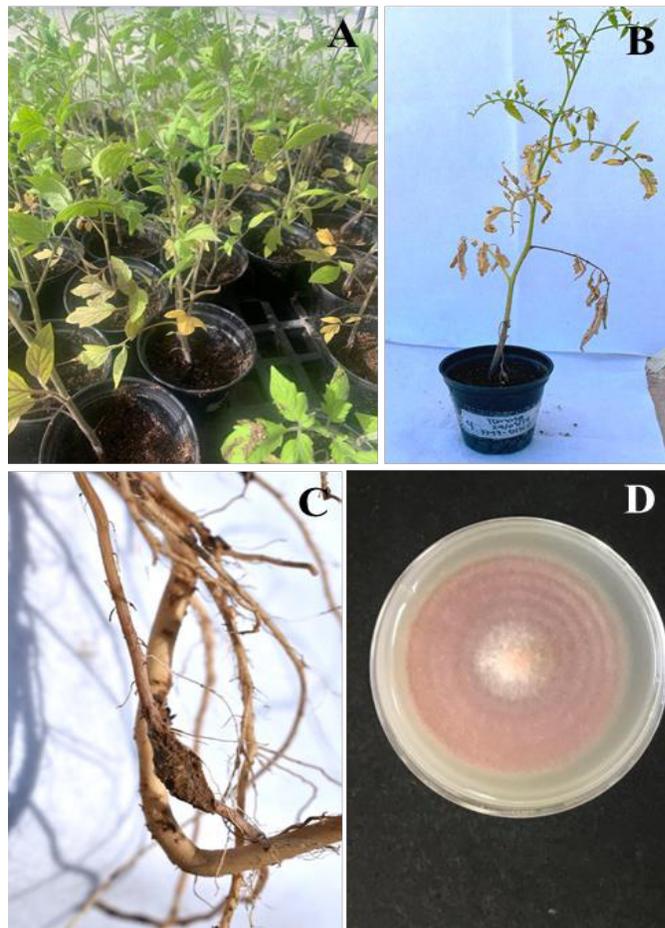


Figura 5. Pruebas de patogenicidad en plantas de jitomate. **A–B)** Plantas de jitomate variedad 8444 inoculadas con *S. terrestris* y mostrando síntoma de amarillamiento. **C)** Síntoma de raíz corchosa a los 30 días después de la inoculación con *S. terrestris*. **D)** Colonia obtenida del reislamiento *in vitro* de *S. terrestris*.

confirmó la patogenicidad de los siete aislados inoculados, mientras que las raíces de las plantas control permanecieron asintomáticas.

Los resultados de las pruebas de patogenicidad de este estudio, concuerdan con los reportados por Zhang *et al.* (2019), quienes observaron síntomas típicos de raíz rosada en ajo. Asimismo, este patógeno también se ha encontrado causando daño a otros hospedantes como: canola (*Brassica napus*) en Canadá (Yang *et al.*, 2017), calabacita (*Curcubita maxima*) en EE. UU. (Rivedal *et al.*, 2018), planta del té (*Camellia sinensis*) en China (Liu *et al.*, 2019).

Los síntomas observados en las pruebas de patogenicidad del estudio llevado a cabo por Zhang *et al.* (2019), mostraron que *S. terrestris* causó clorosis, marchitez y muerte en plantas de ajo en un lapso de 40 días, dato similar a lo descrito por

López-López *et al.* (2020), y que a su vez concuerda con los resultados en este estudio. Esto demuestra que *Pseudopyrenochaeta lycopersici* no es el agente causal de la raíz corchosa en campos de jitomate en Sinaloa, México, como se estuvo considerando por mucho tiempo.

Por otra parte, se comprobó que *S. terrestris* es un patógeno de lento crecimiento y desarrollo, ya que en las pruebas de patogenicidad de Rivedal *et al.* (2018) mostraron síntomas de raíz rosada a las 12 semanas después de la inoculación en calabaza de invierno, mientras que en nuestras pruebas fue de 4 semanas, esto pudiera deberse a que la relación patógeno-hospedante es diferente. De manera similar, Yang *et al.* (2017) utilizaron discos miceliales de *S. terrestris* en Canola, observando a los 21 días síntomas de raíz corchosa y rosada, lo cual concuerda con el tiempo aproximado en este estudio. El tiempo que tarda el patógeno en colonizar el tejido vegetal puede verse afectado por las condiciones en las que se encuentre, es decir, después de múltiples reactivaciones en medios de cultivo su tasa de crecimiento varía (de Gruyer y Borema, 2002), posiblemente perdiendo así el grado de virulencia original de cada aislado, y por consecuencia, retrasar la visibilidad de los síntomas de la enfermedad en estudio.

CONCLUSIONES

De acuerdo con la caracterización morfológica, identificación molecular y pruebas de patogenicidad, se confirmó que *Setophoma terrestris* es el agente causal de la enfermedad conocida como raíz corchosa y rosada en campos agrícolas de jitomate distribuidos en Culiacán, Sinaloa. El análisis morfológico mostró que en *Setophoma terrestres* se observaron picnidios de $142\text{--}220 \times 104\text{--}140 \mu\text{m}$, setas de color café oscuro de $52\text{--}114 \times 2\text{--}8 \mu\text{m}$ y conidios de $2\text{--}8 \times 1\text{--}3 \mu\text{m}$. Asimismo, se obtuvieron tres agrupamientos de los aislados donde se observaron variaciones de valores morfométricos y filogenéticos. Los síntomas que presentaron las plantas de jitomate infectadas fue corchosis y raíz rosada, así como, disminución de cantidad de raíces.

LITERATURA CITADA

- Allescher A. 1896. Diagnosen einiger neuer, im Jahre 1895 gesammelter Arten bayerischer Pilze, aus der Abteilung der Fungi imperfecti. Berichte der Bayerischen Botanischen Gesellschaft. 4: 31–40. <https://biotanz.landcareresearch.co.nz/references/ea66d275-f7ff-47c8-8c62-0b41c359618f>.
- Aveskamp MM, Gruyter J and Crous PW. 2008. Biology and recent developments in the systematics of *Phoma*, a complex genus of major quarantine significance. Fungal Divers 31: 1–18. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.516.3365&rep=rep1&type=pdf>

- Blancard D, Laterrot H, Marchoux G y Condresse T. 2011. Enfermedades del tomate: identificar, conocer y controlar. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid – México. ISBN: 978-84-8476-427-4.
- Bruton BD, Biles CL and Duthie JA. 1997. Pink root of muskmelon and watermelon caused by *Phoma terrestris*. Subtropical Plant Science Journal. 49: 34–41. <http://www.subplantsci.org/wp-content/uploads/2016/02/SPSJ-49-34-41-Bruton-et-al.pdf>
- Boerema GH, Gruyter J de, Noordeloos ME, Hamers MEC. 2004. *Phoma* identification manual. Wallingford, UK: CABI Digital Library. ISBN: 0851997430, 9780851997438
- Castillo JA y Plata G. 2010. Diagnóstico de raíz rosada utilizando técnicas convencionales y moleculares. Revista de Agricultura. 62: 56-61 https://Diagnosis_of_pink_root_by_using_conventional_and_molecular_techniques
- Campbell R, Schweers V and Hall D. 1982. Corky root in California caused by *Pyrenochaeta lycopersici* and control by soil fumigation. Plant Disease 66: 657-661. <https://doi.org/10.1094/PD-66-657>
- Clerjeau M. 1973. Methode rapide de contamination des jeunes plantules de tomate par *Pyrenochaeta lycopersici* Schneider & Gerlach. Annales de Amelioration des Plantes 5 (2): 143-150.
- Connors IL. 1967. An Annotated Index of Plant Diseases in Canada and Fungi Recorded on Plants in Alaska, Canada and Greenland. Canada Department of Agriculture Publication. 1251: 1-381. urn:oclc:record:1039510843
- Davet P. 1973. Distribution et évolution du complexe parasitaire des racines de tomate dans une région du Liban où prédomine le *Pyrenochaeta lycopersici* Schneider et Gerlach. Annales de Phytopathologie 5: 53-63. <https://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:06471>
- Gruyter J & Boerema GH. 2002. Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) VIII. Section Paraphoma: Taxa with setose pycnidia. Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi 17(4) 541–561. <https://repository.naturalis.nl/pub/532020>
- Gruyter J, Woudenberg JHC, Aveskamp MM, Verkley GJM, Groenewald JZ, Crous PW. 2010. Systematic reappraisal of species in *Phoma* section *Paraphoma*, *Pyrenochaeta* and *Pleurophoma*. Mycotaxon 102: 1066-1081. <https://doi.org/10.3852/09-240>
- Duarte LL and Barreto RW. 2015. *Phoma canadensis* Allesch.: a synonym of *Pyrenochaeta cava*. Mycotaxon 130(3): 731-738. <https://doi.org/10.5248/130.731>
- Farr DF and Rossman AY. 2022. Funga Databases, Syst. Mycol. Microbiol. Lab., ARS, USDA. <https://nt.ars-grin.gov/fungal-databases/>. Google Scholar.
- French A M. 1989. California plant disease host index. California Department of Food and Agriculture, Sacramento, 394. <http://www.cdfa.ca.gov/plant/>.
- Gilchrist-Saavedra LG, Fuentes-Dávila C, Martínez-Cano RM, López-Atilano E, Duveiller RP, Singh MH y García A. 2005. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. Segunda edición. México, D.F.: CIMMYT. <http://hdl.handle.net/10883/3217>
- Golzar H. 2009. First report of *Pyrenochaeta lycopersici*, causal agent of tomato corky root rot in Australia. Australasian Plant Disease Notes 4: 126-128. <https://doi.org/10.1071/DN09051>
- Hall BH, Hitch CJ, Oxspring EA and Wicks TJ. 2007. Leek diseases in Australia. Australas. Plant Pathology 36: 383-388. <https://doi.org/10.1071/AP07038>
- Ikeda K, Kuwabara K, Urushibara T, Soyai P, Miki S & Shibata S. 2012. Pink root rot of squash caused by *Setophoma terrestris* in Japan. Journal of General Plant Pathology 78(5): 372–375. <https://doi.org/10.1007/s10327-012-0398-2>
- Jones JB, Zitter TA, Momol TM and Miller SA. 2016. Compendium of tomato diseases and pests. Second edition. American Press Society. ISBN: 978-0-89054-434-1. Pp. 15-119. <https://doi.org/10.1094/9780890544341>
- Liu F, Wang J, Li H, Wang W and Cai L. 2019. *Setophoma* spp. on *Camellia sinensis*. Fungal Systematics and Evolution 4: 43–57. <https://doi.org/10.3114/fuse.2019.04.05>
- López-López AM, León-Félix J, Allende-Molar R, Lima NB, Tovar-Pedraza JM and García-Estrada RS. 2020. First report of *Setophoma terrestris* causing corky and pink root of tomato in Sinaloa, Mexico. Plant Disease 104 (5): 1553 <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-19-2226-PDN> .
- Luong TM, Huynh LMT, Tran U, Dau VT, Burgess LW, Phan HT, Aveskamp MM and Vo AD. 2008. First report of *Phoma terrestris* causing pink root rot of Chinese onion in Vietnam. Australasian Plant Disease Notes 3: 147-149. <https://doi.org/10.1007/BF03211273>

- Martínez-Ruiz FE, Cervantes-Díaz L, Aíl-Catzím CE, Hernández-Montiel LG, Del Toro Sánchez CL y Rueda-Puente EO. 2016. Hongos fitopatógenos asociados al tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en la zona árida del noroeste de México: la importancia de su diagnóstico. *European Scientific Journal* 12(18): 1857–7881. <https://doi.org/10.19044/esj.2016.v12n18p232>
- Mori Y, Sato Y & Takamatsu S. 2000. Evolutionary analysis of the powdery mildew fungi using nucleotide sequences of the nuclear ribosomal DNA. *Mycologia* 92(1): 74-93. <https://doi.org/10.1080/00275514.2000.12061132>
- Nylander J. 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. *Bioinformatics* 24. 581-583. <https://www.researchgate.net/publication/285805344>
- Olavarria L. 1991. Caracterización e identificación del agente causal de la enfermedad raíz corchosa en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Taller de licenciatura Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 59. <http://repositorio.ucv.cl/handle/10.4151/78293>
- Page RD. 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12 (4): 357–358. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/12.4.357>
- Pfleger FL and Vaughn EK. 1972. *Pyrenochaeta terrestris* as a naturally occurring component of the soil in Oregon. *Plant Disease Reporter* 56: 180-182. [sim_plant-disease_1972-01_56_1](https://doi.org/10.1094/PlantDiseaseReporter/1972.56.180).
- Quaedvlieg W, Verkley GJM, Shin H-D, Barreto RW, Alfenas AC, Swart WJ, Groenewald JZ and Crous PW. 2013. Sizing up Septoria. *Studies in Mycology* 75: 307–390. <http://dx.doi.org/10.3114/sim0017>.
- Rivedal HM, Stone AG and Johnson KB. 2018. First report of *Setophoma terrestris* causing pink root rot of winter squash (*Cucurbita maxima*) in Oregon. *Plant Disease* 102 (12) : 2661. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-18-0921-PDN>
- Rivedal HM, Tabima JF, Stone AG and Johnson KB. 2022. Identity and pathogenicity of fungi associated with root, crown, and vascular symptoms related to winter squash yield decline. *Plant disease* 106(6):1660-1668. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-20-2090-RE>
- Ronquist F, Teslenko M, Van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA and Huelsenbeck JP. 2012. MrBayes v. 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*. 61 (3): 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>.
- Schneider R and Gerlach W. 1966. *Pyrenochaeta lycopersici* nov. spec., der Erreger der Korkwurzelkrankheit der Tomate. *Journal of Phytopathology*. 56 (2): 117–122. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1966.tb02251.x>
- Schwartz HF and Mohan SK. 2008. Compendium of onion and garlic diseases. 2nd ed. American Phytopathological Society Press: St Paul, MN. <https://doi.org/10.1094/9780890545003>
- SIAP. 2020. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>. Fecha de consulta: junio del 2020.
- Sprague R. 1950. Diseases of Cereals and Grasses in North America. *Agronomy Journal* 43(3): 152. <https://doi.org/10.2134/agronj1951.00021962004300030013x>
- Staden R, Beal KF and Bonfiel JK. 2000. The Staden package, 1998. *Bioinformatics Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology* 132: 115-130. <https://doi.org/10.1385/1-59259-192-2:115>
- Takamatsu S and Kano Y. 2001. PCR primers useful for nucleotide sequencing of rDNA of the powdery mildew fungi. *Mycoscience* 42 (1): 135-139. <http://doi.org/10.1007/BF0246387>
- Tamura K, Stecher G and Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38 (7): 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Testen AL, Chala A, Azerefege F and Miller SA. 2019. First report of corky root rot of tomato caused by *Pyrenochaeta lycopersici* in Africa. *Plant Disease* 103(5): 1032. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-18-1887-PDN>
- USDA. 1960. Index of Plant Diseases in the United States. *Agric. Handb.* 165: 1-531. (94)
- USDA. 2017. Fecha de consulta: mayo del 2017. <https://nt.ars-grin.gov/fungalDATABASES/>
- Valenzuela-Lopez N, Cano-Lira JF, Guarro J, Sutton DA, Wiederhold N, Crous PW and Stchigel AM. 2018. Coelomycetous Dothiomyces with emphasis on the families Cucurbitariaceae and Didymellaceae. *Studies in mycology* 90(1): 1–69. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.11.003>
- Vrisman CM, Testen AL, Elahi F and Miller SA. 2017. First report of tomato brown root rot complex caused by *Colletotrichum coccodes* and *Pyrenochaeta lycopersici* in Ohio. *Plant Disease* 101(1): 247. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-16-0623-PDN>

Yang Y, Zuzak K, Harding M, Neilson E, Feindel D and Feng J. 2017. First report of pink root rot caused by *Setophoma (Pyrenochaeta) terrestris* on canola. Canadian Journal of Plant Pathology 39(3): 354-360. <https://doi.org/10.1080/07060661.2017.1355849>

Zhang FB, Zheng HL, Zhang MQ, Yin YS, Cui M and Gao M. 2019. First report of *Setophoma terrestris* causing pink root of garlic in China. Plant Disease 103(3): 584 <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0530-PDN>