



**PRIMER REPORTE DE *Macrophomina pseudophaseolina* ASOCIADO A LA PUDRICIÓN DE RAÍZ EN CHILE APAXTLECO NATIVO (*Capsicum annuum* L.) EN GUERRERO, MÉXICO †**

**[FIRST REPORT OF *Macrophomina pseudophaseolina* ASSOCIATED WITH ROOT ROT IN APAXTLECO NATIVE CHILI (*Capsicum annuum* L.) AT GUERRERO, MEXICO]**

**José Francisco Díaz-Nájera<sup>1</sup>, Sergio Ayvar-Serna<sup>1\*</sup>, José Luis Arispe-Vázquez<sup>3\*</sup>, Alfredo Flores-Yáñez<sup>1</sup>, Mateo Vargas-Hernández<sup>2</sup>, Leslie Carnero-Avilés<sup>4</sup> and Juan Mayo-Hernández<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, Avenida Vicente Guerrero No. 81, Colonia Centro, 40000 Iguala de la Independencia, Gro., México. Email: [sergio.ayvar@csaegro.edu.mx](mailto:sergio.ayvar@csaegro.edu.mx)\*

<sup>2</sup>Departamento de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México- Texcoco km 38.5, Chapingo. 56230 Texcoco, Estado de México, México.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, km 2.5 Carretera Iguala-Tuxpan, Colonia Centro Tuxpan C.P. 40000, Iguala de la Independencia, Guerrero, México. Email: [arispe.jose@inifap.gob.mx](mailto:arispe.jose@inifap.gob.mx)\*

<sup>4</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, km 2, Carretera Delicias-Rosales C.P. 33000, Centro, Cd. Delicias, Chihuahua, México.

<sup>5</sup>Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro #1923, C.P. 25315, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

\*Corresponding authors

## SUMMARY

**Background.** Chili is an important crop for Mexican culture. **Objective.** To identify the pathogen associated with the causal agent of root rot in a native chili pepper Apaxtleco at Guerrero, Mexico. **Methodology.** Root samples of diseased plants were taken from a chili plot in Apaxtla, Guerrero, and were taken to the Phytopathology Laboratory, at Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO), México. Subsequently, 1 cm root sections were made from healthy and diseased tissue, which were disinfected with 3% sodium hypochlorite for 1 min, and washed three times with sterile distilled water for 1 min, and dried with sterile absorbent paper, later, moistened sterilized paper was placed in the Petri dish and moistened with sterile distilled water and two slides were placed on it arranged in the shape of a cross and at each end of the slides and in the center of these, a piece of previously disinfected root was placed. The plates were kept at 28 °C ± 2 °C for 168 h. The purification of the pathogen was carried out using the hyphal tip and the identification was morpho-molecular. **Results.** The causal agent of root rot in Apaxtleco native chili plants was *Macrophomina pseudophaseolina*. **Implications.** Our result reveals the opportunity to improve the control of this pathogen at Guerrero, Mexico. **Conclusion.** *M. pseudophaseolina* causing root rot, in Apaxtleco native chili is reported for the first time.

**Key words:** Pathogen; root; rot; identification.

## RESUMEN

**Antecedente.** El chile es un cultivo muy importante para la cultura mexicana. **Objetivo.** Identificar el patógeno asociado con el agente causal de la pudrición de raíz en chile Apaxtleco nativo, en Guerrero, México. **Metodología.** Se tomaron muestras de raíces de plantas enfermas de una parcela de chile en Apaxtla, Guerrero, y se llevaron al Laboratorio de Fitopatología del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO), México. Posteriormente, se realizaron secciones de raíz de 1 cm de tejido sano y enfermo, los cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% durante 1 min, y se lavaron tres veces con agua destilada estéril durante 1 min, y se secaron

† Submitted October 12, 2023 – Accepted May 3, 2024. <http://doi.org/10.56369/tsaes.5208>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = J.F Díaz-Nájera: <http://orcid.org/0000-0001-7181-9425>; S. Ayvar- Serna: <http://orcid.org/0000-0002-9974-5752>; J.L. Arispe-Vázquez: <http://orcid.org/0000-0003-1357-2238>; A. Flores-Yáñez: <http://orcid.org/0009-0007-4865-7078>; M. Vargas-Hernández: <http://orcid.org/0000-0002-0735-3242>; L. Carnero-Avilés: <http://orcid.org/0000-0002-7269-8845>; J. Mayo-Hernández: <http://orcid.org/0000-0002-2903-2386>

con papel absorbente esterilizado, más tarde, se colocó papel esterilizado humedecido en la placa de Petri y sobre él se colocaron dos portaobjetos dispuestos en forma de cruz y en cada extremo de los portaobjetos y en el centro de estos se colocó un trozo de raíz previamente desinfectada. Las placas se mantuvieron a  $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 168 h. La purificación del patógeno se realizó mediante punta de hifa y la identificación fue morfomolecular. **Resultados.** El agente causal de la pudrición de la raíz en plantas de chile Apaxtleco nativo fue *Macrophomina pseudophaseolina*. **Implicaciones:** Nuestro resultado revela la oportunidad de mejorar el control de este patógeno en Guerrero, México. **Conclusión.** Se reporta por primera vez *M. pseudophaseolina* causante de pudrición de raíz en chile Apaxtleco nativo. **Palabras Clave:** Patógeno; raíz; pudrición; identificación.

## INTRODUCCIÓN

México se considera el centro de origen, de diversidad genética y domesticación del cultivo de chile, *Capsicum annuum* L. (Solanaceae). Actualmente, en el país existen más de 40 variedades de chile (Laborde y Pozo, 1982; López y Castro, 2006; Montes, 2010). Durante el ciclo 2021, la producción de chiles secos y verdes en el mundo fue de 4,839,309.17 t y 36, 286, 642.77 t, respectivamente (FAOSTAT, 2023). La producción en el ciclo 2022, fue de 20,011,529.54 t con un valor de \$MX 884,875,927.11; mientras que el estado de Guerrero tuvo una producción de 911,505.18 t con un valor de \$MX 20,940,811.56, y para el ciclo 2022, la producción de chile más alta en Guerrero estuvo conformada por 10 municipios, los cuales fueron: Acapulco de Juárez, Atoyac de Álvarez, Coyuca de Benítez, Cuajinicuilapa, Zihuatanejo de Azueta, Ometepec, Petatlán, San Marcos y Técpan de Galeana (SIAP, 2023). Sin embargo, este cultivo, como el resto, es afectado por plagas, enfermedades y malezas, en este caso, los hongos del suelo como: *Phytophthora capsici* Leo. (Peronosporaceae), *Rhizoctonia solani* Kühn. (Ceratobasidiaceae), *Fusarium oxysporum* Shtl. (Nectriaceae), *Verticillium* spp. (Plectosphaerellaceae), *Sclerotium rolfsii* Sacc (Atheliaceae) y *Macrophomina phaseolina* Tassi (Goid.) (Botryosphaeriaceae) son uno de los factores más importantes a considerar en el cultivo, ya que pueden provocar el 70% de mortalidad de plantas. Este último patógeno provoca la “pudrición carbonosa de la raíz”, que es una enfermedad muy frecuente y destructiva en el cultivo de chile durante el ciclo primavera/verano, de la región norte; aunque, en el 2014, en Senegal, se descubrió una nueva especie que debido a su similitud morfológica con *M. phaseolina*, se denominó *Macrophomina pseudophaseolina* Crous, Sarr y Ndiaye (Botryosphaeriaceae) la cual fue aislada de *Arachis hypogaea* L. (Fabaceae), *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) y *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae) y es capaz de causar la pudrición carbonosa de la raíz (Sarr *et al.*, 2014). Por lo antes mencionado, el objetivo de la investigación fue identificar el patógeno asociado con el agente causal

de la pudrición de raíz en chile Apaxtleco nativo, en Guerrero.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitio de muestreo

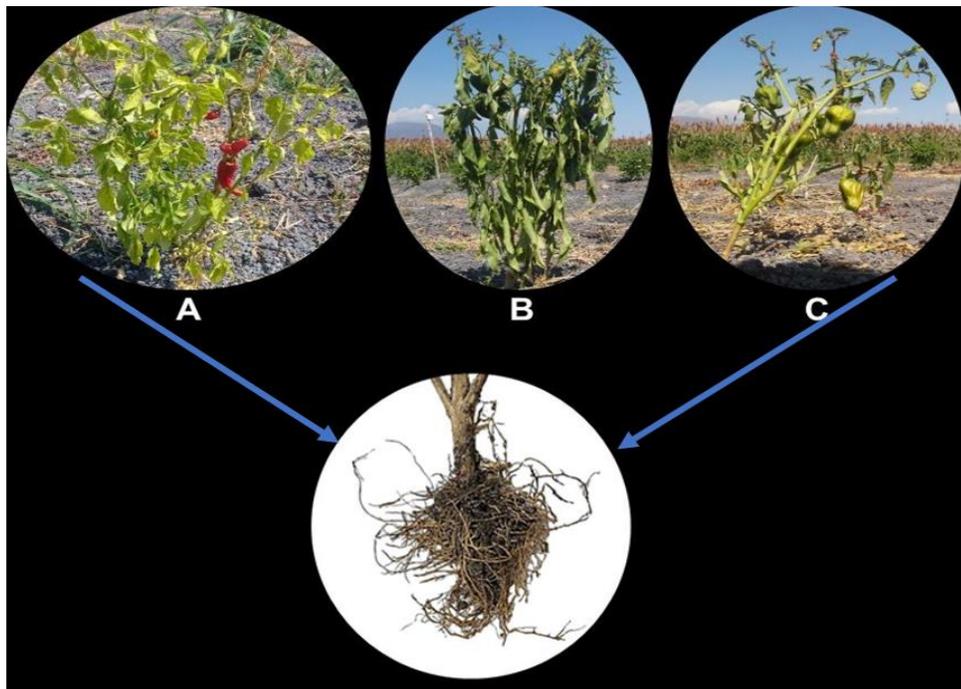
El sitio de muestreo fue una parcela de chile Apaxtleco nativo del campo experimental del Centro de Estudios Profesionales (CEP), del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO), situado en el km 14.5 de la carretera Iguala-Cocula en las coordenadas  $18^{\circ} 15' 26''$  latitud y  $99^{\circ} 39' 46''$  longitud.

### Colecta de material vegetal

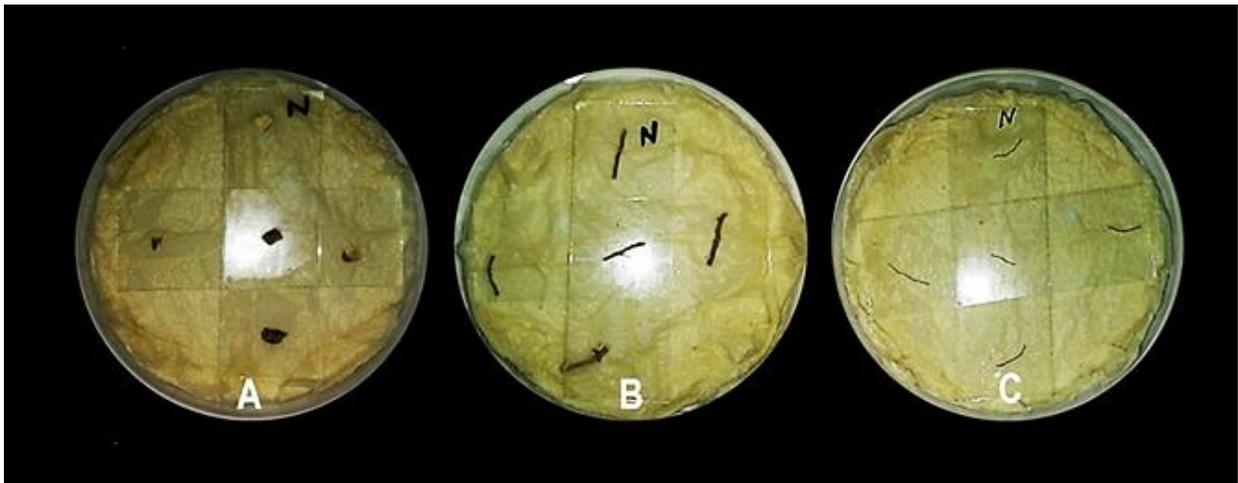
Se localizaron las plantas afectadas (Fig. 1) y con una pala recta (coa) se excavó para extraer la raíz completa de cada una de ellas y se eliminó el exceso de suelo sin dañar la raíz, y se cortó el tallo a nivel del cuello, donde se rotularon y se colocaron dentro de bolsas de papel de estraza y se colocaron en hieleras de poliestireno expandido; se obtuvo un total de 108 muestras de raíz de una parcela de 0.5 ha, las cuales se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología para su análisis.

### Aislamiento del patógeno

Las raíces se lavaron con agua de la llave y se cortaron trozos de aproximadamente 1 cm (sanos y enfermos), los cuales se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% por 1 min, se enjuagaron en agua destilada estéril y se secaron con papel absorbente estéril. En el fondo de una placa de Petri limpia se colocó papel absorbente estéril y se humedeció con agua destilada estéril y se colocaron dos portaobjetos sobre éste (dispuestos en forma de cruz y en cada extremo de los portaobjetos y en el centro de estos se colocó un trozo de raíz previamente desinfectado con hipoclorito de sodio al 1% por 1 min) (Fig. 2). Se seleccionaron muestras de tres categorías de raíces: fina, media y gruesa, y se colocaron en placas de Petri separadas, las cuales se rotularon y mantuvieron a  $\pm 28\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 72 h.



**Figura 1.** Plantas de chile, *C. annum*, enfermas de donde se obtuvo la raíz. A) Planta con clorosis severa, B) Planta con marchitez severa y C) Planta en etapa reproductiva, muerta a causa de hongos habitantes del suelo.



**Figura 2.** Cámaras húmedas para el aislamiento del patógeno: A) Trozos de raíz gruesa; B) Trozos de raíz media; C) Trozos de raíz fina.

### Aislamiento y purificación del patógeno

Dentro de una campana de flujo laminar vertical y con una aguja de disección flameada se tomó micelio de la raíz, y fue transferido a nuevas placas de Petri con Papa Dextrosa Agar (PDA). Las placas fueron mantenidas a 28 °C por 48 h para posteriormente tomar las puntas de hifas y colocarlas en medio de placas de Petri con PDA. Se hicieron 3 repeticiones por hongo e incubaron por 48 h a  $\pm$  28 °C. Posteriormente, al obtener la colonia pura se transfirió cada hongo a un tubo de ensayo con PDA, los cuales fueron incubados durante

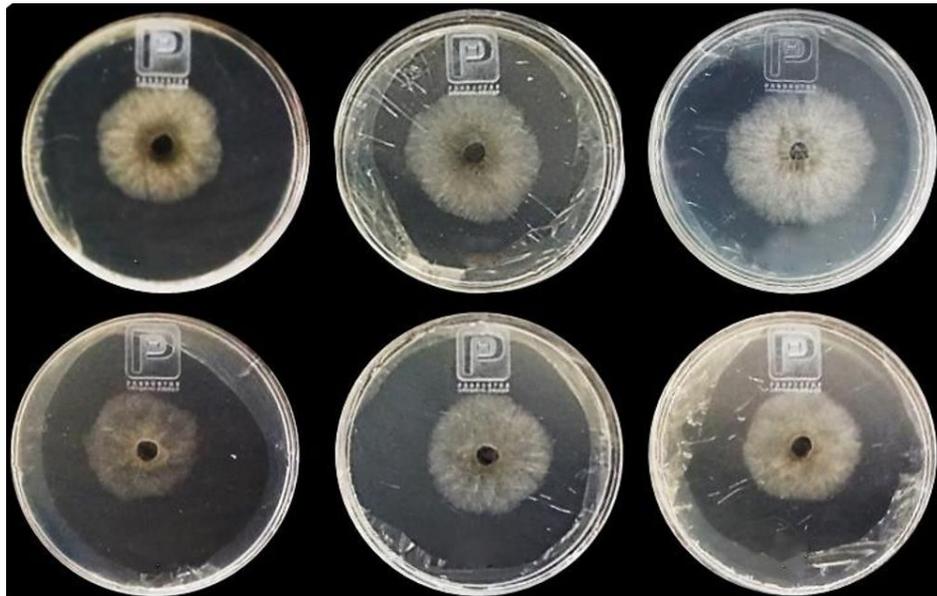
3 días para corroborar que el crecimiento fungoso no contara con contaminantes y fue conservada a 5 °C.

### Identificación morfo-molecular del patógeno

Con una aguja de disección se tomó una pequeña porción del hongo a partir de cepas axénicas (Fig. 3) y fue colocada en un porta objetos con lactofenol para observarse en un microscopio compuesto en aumento de 10 y 40X, para la identificación morfológica se utilizaron los manuales de Watanabe (2002) y Barnett y Hunter, (2006). La extracción de ADN fue realizada

con cepas axénicas de 3 días de edad cultivada en PDA, el micelio se raspó de la superficie de la colonia para después ser liofilizado y congelado en nitrógeno líquido lo cual fue macerado para obtener un polvo fino. Las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) se realizaron utilizando los oligonucleótidos ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), los cuales amplifican los espacios internos transcritos y el gen 5.8S del ADN ribosomal (región ITS) y generan un producto de talla variable, aproximadamente entre 500 y 600 pares de bases (pb) (White *et al.*, 1990). Esta práctica se realizó con una mezcla de reacción en un volumen final de 25  $\mu$ L, cuyos componentes finales fueron: amortiguador de reacción 1X, MgCl<sub>2</sub> 2 mM, dNTP's 200 nM de cada uno, 20 pmoles de cada oligonucleótido y 1 unidad de Taq DNA polimerasa (Promega). El programa térmico consistió en mantener una temperatura de 94°C durante 2 min, seguido de 35 ciclos a 94-55-72 °C durante 30-30-60 s y una

extensión final de 5 min a 72 °C. Los fragmentos amplificados por PCR fueron observados en un transiluminador de luz UV y secuenciados directamente en un equipo ABI PRISM® 3700 Genetic Analyzer. La secuencia obtenida se editó con el programa BioEdit 7.2.5 (Tom Hall Ibis Biosciences) (Hall, 2004). Para el análisis evolutivo, todas las secuencias fueron alineadas con Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) incluido en el programa MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2015). Las reconstrucciones filogenéticas se realizaron para los datos del ITS1-5.8S-ITS2, con el método de máxima parsimonia, utilizando el algoritmo Subtree-Pruning-Regrafting, opción de búsqueda (nivel=1) con el árbol inicial por adición al azar (10 repeticiones). Para calcular los valores de confianza de los clados del árbol, se realizó una prueba de bootstrap con 1000 repeticiones (Felsenstein, 1985). *Pestalotiopsis* sp. (KM116223.1) fue utilizada como especie fuera de grupo. Por último, las secuencias se depositaron en la base de datos del Gen Bank.

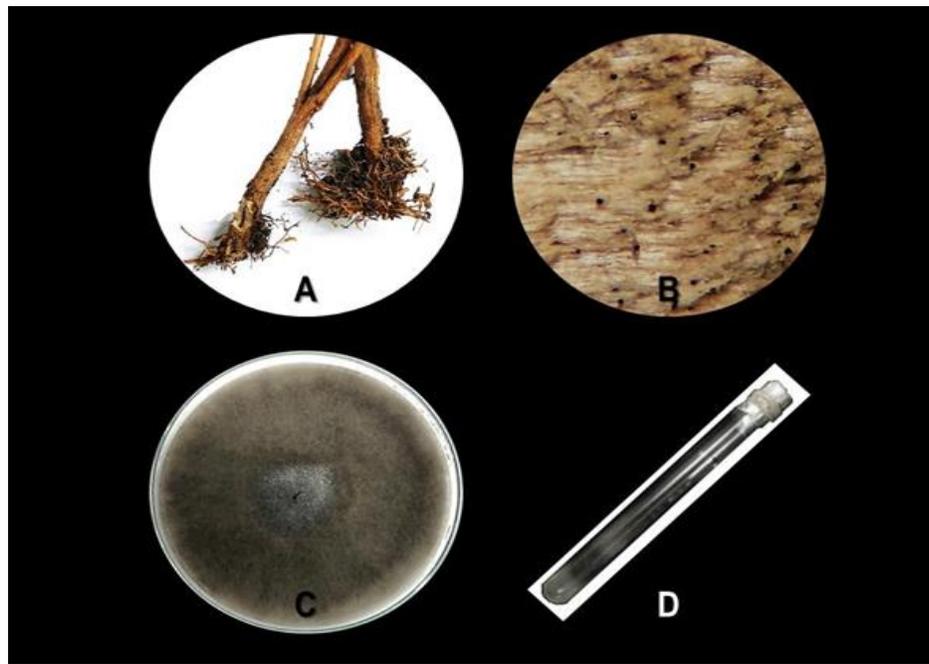


**Figura 3.** Cepas axénicas usadas para la identificación molecular de *Macrophomina* sp.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aislamiento puro del hongo obtenido de micelio y microesclerocios, presentó las siguientes características: micelio café-grisáceo septado, muy ramificado y de crecimiento rápido, con ritmo de 2.5 cm día en PDA, en fotoperiodo luz-oscuridad a 30 °C, microesclerocios negros, globosos y homogéneos, en

cuanto a tamaño y forma. A los cuatro días después de la siembra, la colonia del hongo cubrió la superficie de PDA en la placa de Petri (8 cm de diámetro) y se tornó de un color negruzco debido a la gran producción de microesclerocios. Estas características son determinantes para el género *Macrophomina* (Fig. 4) de acuerdo a las descritas e ilustradas por Watanabe (2002) y Sarr *et al.* (2014)



**Figura 4.** Aislamiento, purificación y preservación del patógeno aislado de plantas de Chile enfermas. A) Raíz infectada; B) Picnidios creciendo en raíz; C) Micelio joven del patógeno y D) Preservación del patógeno en tubo de ensayo con PDA.

La identificación de hongos fitopatógenos generalmente se realiza observando las características morfológicas y culturales (Hennebert y Sutton, 1994), porque es un método fácil, rápido y barato para el investigador con experiencia, sin embargo, es recomendable complementar con la identificación molecular o genética del hongo. Actualmente, la realización de análisis filogenéticos multilocus han revelado la presencia como primeros reportes de diferentes especies de *Macrophomina*, las cuales son; *M. pseudophaseolina* (Sarr *et al.*, 2014), *Macrophomina euphorbiicola* A.R. Machado, D.J. Soares & O.L. Pereira (Machado *et al.*, 2019), *Macrophomina vaccinii* Y. Zhang *et al.* & L. Zhao (Zhao *et al.*, 2019) y *Macrophomina tecta* Vaghefi, B. Poudel & R.G. Shivas (Poudel *et al.*, 2021).

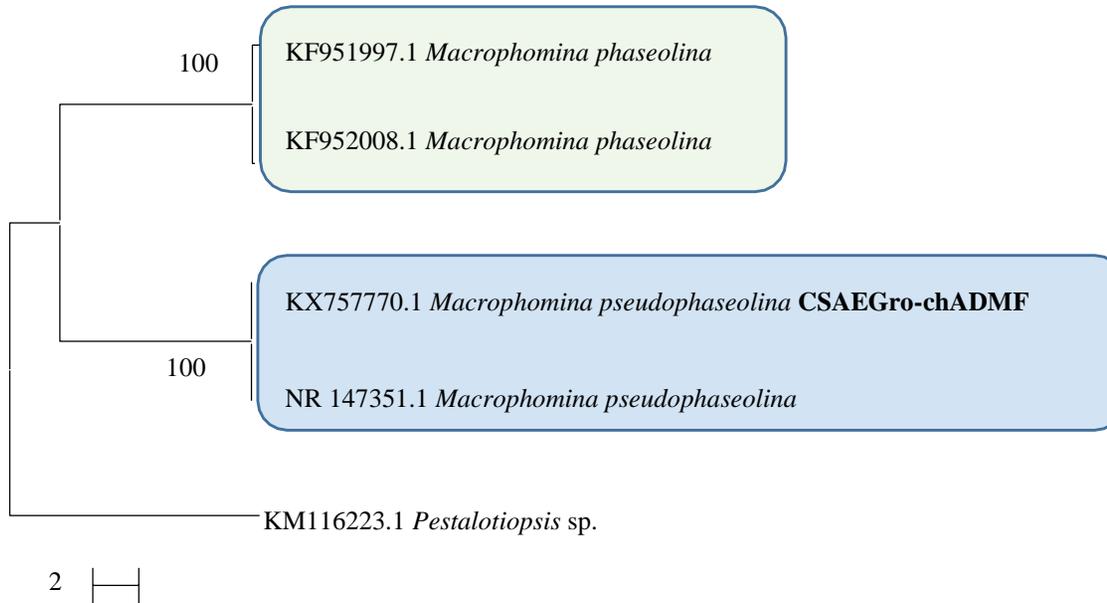
Por otra parte, el producto obtenido por la amplificación por PCR, con los oligonucleótidos específicos para el hongo de la región del espaciador transcrito interno (ITS), presentó un tamaño de 519 pb identificándose como *M. pseudophaseolina*, secuencia que se depositó en el Banco de Genes (Genbank) del Centro Nacional de Información Biotecnológica (accesión KX757770.1 CSAEGro-chADMF), del mismo modo varios autores confirmaron a éste patógeno usando los oligonucleótidos ITS1/ITS4 (Brito *et al.*, 2019; Kouadri *et al.*, 2021).

En la reconstrucción filogenética basada en la utilización de la región ITS, se identificó la especie *M. pseudophaseolina* (NR 147351.1). La región ITS logró diferenciar a la cepa *M. pseudophaseolina* (KF951997.1 y KF952008.1), de las especies de *M. phaseolina* con una confiabilidad bootstrap del 100%. En el alineamiento de secuencias se observaron las homologías y diferencias de nucleótidos entre accesiones de *M. pseudophaseolina* y *M. phaseolina* (Fig. 5 y 6).

La distribución de *M. pseudophaseolina* es menor a la de *M. phaseolina*, puesto que en un estudio realizado por Sarr *et al.* (2014), encontraron que de 180 aislamientos realizados, menos del 1% correspondieron a *M. pseudophaseolina*. Asimismo, estos investigadores señalaron que el análisis ITS indica que las dos especies pueden distinguirse en tres duplicaciones de nucleótidos en los primeros espaciadores transcritos internos. En ACT hay dos diferencias nucleotídicas fijas, y en CAL 15, TEF-1  $\alpha$  22 y TUB15 fijo nucleótido diferencias, sin embargo, estos autores mencionaron que el TEF-1  $\alpha$  dificultó la obtención de una buena secuencia consenso, posiblemente debido a la presencia de una copia adicional o un pseudo gen, copia del gen en el genoma. Un problema frecuente sería que la secuencia en una orientación no coincidiría con la de la otra dirección; es decir, una dirección sería de *M. phaseolina* y la otra de *M. pseudophaseolina*.



**Figura 5.** Representación del alineamiento múltiple de secuencias de *M. pseudophaseolina* y *M. phaseolina*, utilizado para la inferencia de relaciones filogenéticas.



**Figura 6.** Árbol filogenético obtenido con el método de máxima parsimonia utilizando el algoritmo Subtree-Pruning Regrafting. Los valores de confiabilidad de los nodos se formaron con 1000 repeticiones.

## CONCLUSIÓN

Se reporta por primera vez a *Macrophomina pseudophaseolina* como causante de la pudrición de raíz en Chile Apaxtleco Nativo en Guerrero, México.

### Acknowledgements

The authors would like to thank to comments and suggestions of the anonymous reviewers who have undoubtedly helped to strengthen the present article.

**Funding.** There was no source of funding either public or private.

**Conflict of interest.** The authors declare non existing personal or institutional conflict of interest.

**Compliance with ethical standards.** Due to the nature of the study this does not apply.

**Data availability.** Data is available with the corresponding author upon reasonable request email: [sergio.ayvar@csaegro.edu.mx](mailto:sergio.ayvar@csaegro.edu.mx)

**Author contribution statement (CRediT).** **J.F Díaz-Nájera**, investigation, supervision, and writing – original draft, **S. Ayvar- Serna** - investigation, supervision, and writing – original draft, **J.L. Arispe-Vázquez** - investigation, supervision, and writing – original draft, **A. Flores-Yáñez** - investigation, supervision, and writing – original draft, **M. Vargas-Hernández** -visualization, writing – review & editing, **L. Carnero-Avilés** -visualization, writing – review & editing, **J. Mayo-Hernández**, -visualization, writing – review & editing.

## REFERENCES

- Brito, A.C.d., de Mello, J.F., Michereff, S.J., Souza-Motta, C.M. and Machado A.R., 2019. First report of *Macrophomina pseudophaseolina* causing stem dry rot in cassava in Brazil. *Journal of Plant Pathology*, 101, p. 1245. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00309-3>
- FAOSTAT (Food and Agriculture Organization), 2023. Statistical Database. Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits of phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 39(4), pp. 783–791. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb0042>
- Hennebert, G.L. and Sutton, B.C., 1994. Unitary parameters in conidiogenesis. In: *Ascomycete systematics: problems and perspectives in the nineties*. Plenum Press. New York, pp. 65–76. [https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9290-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9290-4_7)
- Kouadri, M.E.A., Zaim, S. and Bekkar, A.A., 2021. First report of *Macrophomina pseudophaseolina* infecting *Lens culinaris*. *Australasian Plant Disease Notes*, 16, p. 26. <https://doi.org/10.1007/s13314-021-00440-0>
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K., 2015. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), pp. 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Laborde, C.J.A. and Pozo, C.O., 1982. Presente y pasado del chile en México. Publicación especial No. 85. INIA-SARH, México.
- López, L.P. and Castro, F.H.G., 2006. La diversidad de los chiles (*Capsicum* spp., Solanaceae) de Oaxaca. In: López, L. P. y Montes, S. H. (eds.). 2006. Avances de investigación de la red de hortalizas del SINAREFI Pp. 135-178. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Bajío. Celaya, Guanajuato. México. 466 p.
- Machado, A.R., Pinho, D.B., Soares, D.J., Medeiros G.A.A. and Pereira O.L., 2019. Bayesian analyses of five gene regions reveal a new phylogenetic species of *Macrophomina* associated with charcoal rot on oilseed crops in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 153, pp. 89–100. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1545-1>
- Montes, H.S., 2010. Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género *Capsicum* que crecen y se cultivan en México. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Poudel, B., Shivas, R.G., Adorada, D.L., Barbetti, M.J., Bithell, S.L., Kelly L.A., Moore Natalie, Sparks A.H., Tan Y.P., Thomas, G., Leur, J.V. and Vaghefi, N., 2021. Hidden diversity of *Macrophomina* associated with broadacre and horticultural crops in Australia. *European Journal of Plant Pathology*, 161, pp. 1–23. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02300-0>
- Sarr, M.P., Ndiaye, M., Groenewald, J.Z. and Crous, P.W., 2014. Genetic diversity in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot. *Phytopathology*

- Mediterranean*, 53(2), pp. 250-268.  
[https://doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-13736](https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-13736)
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera), 2023. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola.  
<https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22, pp. 4673-4680.  
<https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- Watanabe, T., 2002. Pictorial atlas of soil and seed fungi. Morphologies of cultures fungi and key to species. Second edition. CRC Press. Boca Raton, Florida. USA. 486 p.  
<https://doi.org/10.1201/EBK1439804193>
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenies. In: M.A. Inns, D.H. Gelfland, J. J. Sninsky, And T.J. White (eds.). *PCR Protocols*, pp. 315-322. Academic Press. San Diego, CA.
- Zhao, L., Cai, J., He, W. and Zhang, Y., 2019. *Macrophominavaccinii* sp. nov. causing blueberry stem blight in China. *MycKeys*, 55, pp. 1-14.  
<https://doi.org/10.3897/mycokeys.55.35015>