

Estado Actual de la Taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn

Dolores González-Hernández, Departamento de Sistemática Vegetal, Instituto de Ecología, A.C. Apdo. Postal 63, Xalapa, Veracruz CP 91000. Correspondencia: dolores@ecologia.edu.mx

(Recibido: Enero 29, 2002 Aceptado: Mayo 6, 2002)

Resumen.

González-Hernández, D. 2002. Estado actual de la taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn. Revista Mexicana de Fitopatología 20:200-205.

Con base en la variación fenotípica entre los aislamientos de *Rhizoctonia solani* y la reacción de anastomosis de hifas se ha dividido a este hongo en 14 grupos anastomóticos y varios subgrupos. Para resolver si cada grupo anastomótico corresponde a una especie distinta o a poblaciones divergentes de una sola especie se han usado caracteres morfológicos, bioquímicos, citológicos y de ultra-estructura, sin que a la fecha se haya solucionado este problema taxonómico. No obstante, estudios filogenéticos recientes con secuencias del ADN ribosomal nuclear (ITS y 28S) confirman que *R. solani* es un complejo de especies, por lo que varios grupos anastomóticos se deben reconocer con este rango taxonómico.

Palabras clave adicionales: sistemática, filogenia, grupos anastomóticos, ADNr.

Abstract. Based on phenotypic variation among *Rhizoctonia solani* isolates and hyphal anastomosis criteria, this fungus has been divided into 14 anastomosis groups and several subgroups. To solve the question concerning whether each anastomosis group corresponds to a distinct species or to divergent populations from a single species, several characters such as morphology, biochemistry, cytology, and ultrastructure have been used without solving this taxonomic problem. Nevertheless, recent phylogenetic studies using nuclear ribosomal DNA (ITS and 28S) have confirmed that *R. solani* is a species complex; therefore, several anastomosis groups should be recognized with this taxonomic rank.

Additional keywords: systematics, phylogeny, anastomosis groups, rDNA.

Rhizoctonia solani Kühn es un fitopatógeno importante. Se distribuye en todo el mundo causando diversas enfermedades en una gran variedad de cultivos (Parmeter, 1970; Sneh et al., 1991; Sneh et al., 1996). Además, se encuentra como saprófito y en simbiosis con orquídeas (Warcup y Talbot, 1962; Currah, 1987; Sneh et al., 1991; Pope y Carter, 2001). Por su versatilidad, ha sido objeto de múltiples estudios de tipo ecológico,

patológico y de control biológico (Sneh et al., 1996). Sin embargo, su taxonomía todavía es confusa y controversial. Esto se debe a que su morfología es muy sencilla y los rasgos fisiológicos y patológicos que se usan en su clasificación varían mucho, lo cual dificulta aún más la delimitación taxonómica del grupo (Parmeter y Whitney, 1970). Otro factor que contribuye a la confusión en su taxonomía, es que raramente produce estructuras sexuales, utilizadas tradicionalmente en la taxonomía de hongos. A pesar de la diversidad de formas que presenta, *R. solani* se ha asignado a *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk como el estado teleomórfico común a la mayoría de los grupos anastomóticos (AG, por sus siglas en inglés). Sin embargo, la presencia de estos grupos relativamente definidos ha hecho difícil juzgar si éstos son poblaciones divergentes de una especie o si son especies distintas. El objetivo de esta revisión es presentar los avances que se han hecho para clasificar a *R. solani* y resaltar la utilidad de los caracteres moleculares cuando los morfológicos son escasos o muy variables.

Enfoques tradicionales en la clasificación de *Rhizoctonia solani*. La clasificación es una disciplina que permite organizar la diversidad biológica, y uno de sus objetivos es integrar la biología básica y aplicada. Desde el punto de vista práctico, la clasificación de *R. solani* basada en sus relaciones históricas permitiría generar un marco previsible para el manejo de este hongo. Hasta mediados de los años 80's la clasificación de *R. solani* se basaba en rasgos morfológicos, el número de núcleos, la apariencia de los cultivos, la patología y sobre todo la anastomosis de hifas (Parmeter, 1970). Sin embargo, no se encontró una característica o combinación de éstas que sirviera para delimitar a los aislamientos de este hongo (Parmeter y Whitney, 1970). En la actualidad, se ha incorporado el microscopio electrónico de barrido con filamento de emisión de campo para observar los detalles morfológicos de las hifas (Andersen, 1996; Moore, 1996), aunque esta técnica todavía no se aplica extensivamente a diversos aislamientos. Hasta ahora, la anastomosis de hifas es el criterio más usado para clasificar a este hongo en grupos relativamente homogéneos.

Anastomosis de hifas. El sistema de clasificación fundamental para *R. solani* está basado en la anastomosis de las hifas. Los primeros registros de reacciones de anastomosis en ese hongo los hicieron Matsumoto (1921) y Matsumoto et al. (1931),

citados por Carling (1996); desde entonces se ha convertido en la información clave para agrupar a *R. solani*. Las hifas de los aislamientos que pertenecen a distintos grupos anastomósicos, usualmente no se fusionan, mientras que los aislamientos que pertenecen al mismo grupo anastomósico sí. No obstante, el agrupamiento por reacción de anastomosis no es completamente satisfactorio debido a que en ocasiones un aislamiento se anastomosa, total o parcialmente, con aislamientos de más de un grupo anastomósico. Además, algunos aislamientos ocasionalmente pierden su habilidad de fusionarse (Anderson, 1982, 1984; Kim y Yoshino, 1988; Vilgalys y Cubeta, 1994; Carling, 1996). Con base en el criterio de anastomosis, *R. solani* se ha dividido en 14 grupos anastomósicos (1 al 13 y el AGBI); sin embargo, se han generado subgrupos para explicar las diferencias que existen en morfología, patología, requerimiento de tiamina y grado de anastomosis (Ogoshi, 1987, 1996; Carling, 1996). Recientemente, se han propuesto categorías adicionales (C3, C2, C1 y C0) para describir las reacciones de anastomosis. Estas categorías toman en consideración los cambios citológicos que se llevan a cabo en la zona de anastomosis entre las dos hifas, además de la reacción (MacNish *et al.*, 1993; Carling, 1996). Aunque el criterio de anastomosis ha servido para agrupar a los aislamientos de *R. solani*, la relación entre el sistema de grupos anastomósicos y sus subgrupos respecto a un sistema taxonómico de especies aún no se establece.

Enfoques recientes en la clasificación de *R. solani*. Los enfoques recientes para agrupar los distintos aislamientos de *R. solani*, incorporan nuevos caracteres que se obtienen a través de técnicas bioquímicas y moleculares. Entre los caracteres bioquímicos se encuentran: la identificación de proteínas solubles, isoenzimas, lectinas, ácidos grasos y anticuerpos poli y monoclonales (Reynolds *et al.*, 1983; Kellens y Peumans, 1991; Johnk y Jones, 1993; Laroche *et al.*, 1992; Balali *et al.*, 1996; Cubeta *et al.*, 1996). Entre los moleculares están: la hibridación de ADN, los fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLPs), el ADN polimórfico amplificado al azar (RAPDs) y las secuencias de ADN (Neate *et al.*, 1988; Carling y Kuninaga, 1990; Vilgalys y González, 1990; Duncan *et al.*, 1993; O'Brien, 1994; Liu *et al.*, 1993; 1995; Cubeta y Vilgalys, 1997). Sin embargo, la mayoría de estos trabajos no están enfocados a conocer las relaciones filogenéticas de *R. solani*, ya que usan estos caracteres únicamente para identificar nuevos aislamientos; para detectar subgrupos o poblaciones; o para determinar la variación genética dentro y entre grupos anastomósicos. Sólo en pocos trabajos se han utilizado caracteres bioquímicos o moleculares para clasificar a este hongo.

Caracteres bioquímicos. En tan sólo un trabajo taxonómico se empleó la asimilación de vitaminas y algunos rasgos fisiológicos para clasificar a *R. solani* y a otras especies de *Rhizoctonia* que forman simbiosis con orquídeas (Mordue *et al.*, 1989). Se determinaron caracteres del crecimiento en distintos medios de cultivo, actividad lipolítica y pruebas

para algunas enzimas como fenol-oxidasa, tirosinasa y beta-galactosidasa en seis grupos anastomósicos y seis subgrupos. Los datos se analizaron a través de métodos fenéticos, elaborando matrices de similitud usando el coeficiente de Jaccard's y el coeficiente de distancia promedio; sin embargo, no se menciona el algoritmo de agrupación usado para generar el fenograma. Mordue y colaboradores (1989) concluyen que sus resultados apoyan sólo el reconocimiento del grupo anastomósico 4 como una especie distinta (*Thanatephorus praticola*). El resto de los grupos anastomósicos se mantuvieron como *T. cucumeris*.

Caracteres moleculares. Los trabajos taxonómicos con datos moleculares también son escasos (González, 1992; Kuninaga *et al.*, 1997; Boidin, 1998). González (1992) utilizó caracteres de mapas de sitios de restricción y secuencias de la terminación 5' de la subunidad larga del ADN ribosomal nuclear. Los caracteres obtenidos se utilizaron para conocer las relaciones filogenéticas de 10 grupos anastomósicos y subgrupos de *R. solani*. En este trabajo filogenético se utilizaron dos grupos externos para polarizar el cladograma (*R. cerealis* y *R. zae*). Los análisis cladísticos mostraron que las relaciones encontradas, con pocas excepciones, son congruentes con las agrupaciones inferidas por morfología y por las reacciones de anastomosis. Sin embargo, a los grupos reconocidos tampoco se les asignó una categoría taxonómica formal, ya que los clados resultantes fueron poco robustos. Esto se debió básicamente a que la subunidad larga del ADN ribosomal en este hongo tiene muy pocos caracteres informativos. En este trabajo, también se observó de una forma preliminar, que la información filogenética en *R. solani* estaba restringida a la región de los espaciadores intergénicos (ITS, por sus siglas en inglés) 1 y 2. Consecuentemente, Kuninaga y colaboradores (1997) utilizaron las secuencias de la región del ITS 1 y 2 para conocer la variación de diez de los catorce grupos anastomósicos y algunos subgrupos de *R. solani*. En sus resultados indican que esta región es útil para identificar subgrupos con "significado biológico"; sin embargo, consideran que no es apropiada para estudios filogenéticos en *R. solani* por su elevada tasa de mutación. El método de análisis que usaron fue fenético basado en una matriz de distancias calculadas con el modelo de dos parámetros de Kimura. El fenograma se generó con el algoritmo "neighbor-joining" (unión de vecinos más cercanos) (Felsenstein, 1991), y se evaluó haciendo remuestreo con reemplazo ("bootstrap"). Sin embargo, tampoco hicieron decisiones taxonómicas formales sobre los grupos que se generaron. Recientemente, Boidin (1998) usó 104 secuencias publicadas por varios autores y disponibles en GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) de la región del ITS 1 y 2 de varios aislamientos de los grupos y subgrupos anastomósicos (con excepción del AG 10 y 11), y de los géneros *Ceratobasidium*, *Waitea* y *Uthatabasidium*. Este autor también usó métodos fenéticos para el análisis de las secuencias.

El algoritmo de agrupamiento empleado fue el

“neighbor-joining”, PHYLIP versión 3.4 (Felsenstein, 1991), y sus resultados estuvieron en concordancia con los del análisis cladístico de González (1992). Con esta base, Boidin (1998) les dio categoría taxonómica a los distintos aislamientos de *Rhizoctonia solani* y reconoció cuatro especies: *Thanatephorus microesclerotius*, *T. sasaki*, *T. praticola* y *T. cucumeris*. Los aislamientos del grupo anastomósico 1 subgrupo IB los asignó a *T. microesclerotius*; los del grupo anastomósico 1 subgrupos IA y IC a *T. sasaki*; los del grupo anastomósico 4 a *T. praticola*. Los de los grupos anastomósicos 2, 3, 5, 6, 8, 9 y BI a *T. cucumeris*. Al grupo anastomósico 7 no se le asignó categoría taxonómica. Aunque los resultados concuerdan con los obtenidos por González (1992), las conclusiones taxonómicas no están sustentadas sólidamente. La búsqueda de árboles por métodos fenéticos mediante matrices de distancias es la más sencilla, pero agrupa los taxa por su similitud total (sinapomorfias, homoplasia y simplesiomorfias combinadas) y no por sus relaciones filogenéticas. Además, el convertir las secuencias en distancias ocasiona la pérdida de la información que aportan los caracteres, por lo que los árboles basados en distancias no permiten evaluar el papel de cada carácter en la formación de los grupos. Por lo anterior, se concluye que son muy pocos los estudios taxonómicos que existen con *R. solani* y además, la mayoría son fenéticos.

Relaciones filogenéticas de *R. solani* basadas en las secuencias del ADN ribosomal nuclear. Las secuencias de ácidos nucleicos se están usando para estudiar la taxonomía de taxa cuya clasificación es incierta debido a la ausencia o plasticidad de los caracteres morfológicos (Bruns et al., 1991; Taylor, 1995). Entre los genes que se usan para estudios taxonómicos destacan los que codifican para el ARN ribosomal. Esto se debe a que un gen contiene regiones con distintas tasas de mutación. Por ejemplo, las regiones de ADN que codifican para la subunidad corta (18S) y larga (28S) del ARN ribosomal son potencialmente informativas en grupos taxonómicos de divergencia antigua. Al mismo tiempo, las regiones no codificadoras de ARN, como el ITS 1 y 2, son útiles a niveles taxonómicos de divergencia reciente (Fig. 1) (Olsen et al., 1986; Hillis y Dixon, 1991; Bowman et al., 1992; Hamby y Zimmer, 1992). Últimamente, se propuso una hipótesis de relaciones filogenéticas en *R. solani*, basada en un análisis cladístico con las secuencias de la región del ITS y parte del 28S del ADN ribosomal (González et al., 2001).

En ese estudio se incluyeron secuencias de aislamientos colectados en doce países (Japón, Canadá, Estados Unidos, España, Australia, Costa de Marfil, Escocia, Malasia, Israel, Filipinas, Vietnam y China). Un primer análisis se realizó con 122 secuencias, de las cuales, 101 corresponden a doce de los catorce grupos anastomósicos y subgrupos (por lo menos con un duplicado). También se incluyeron 21 aislamientos de *R. cerealis*, un hongo binucleado, como posible grupo externo para polarizar el cladograma. Un segundo análisis se realizó adicionando secuencias de la subunidad larga (28S) del ADN ribosomal, pero con una muestra menor de aislamientos. El análisis filogenético de las secuencias se llevó a cabo con el programa PAUP* ver. 4 usando máxima parsimonia (Swofford, 2000). Debido a que el número de 122 OTUs (Operational Taxonomic Units) de la matriz de secuencias de la región del ITS, limita las habilidades de cualquier algoritmo para examinar las relaciones filogenéticas, se usaron las estrategias de búsquedas encadenadas sugeridas por Soltis y Soltis (1996). El apoyo de los clados dentro del cladograma se estimó con operaciones estadísticas de re-muestreo con reemplazo para calcular la frecuencia con la que se detecta cada clado en las búsquedas replicadas (Felsenstein, 1985). Los resultados más evidentes que se observaron en el cladograma de consenso para 21763 árboles (Fig. 2) fueron: 1) las secuencias del ITS no dieron resolución en ramas basales del cladograma, y 2) *R. solani* no constituye un grupo monofilético. La resolución pobre en las ramas basales se debe a la gran cantidad de topologías en competencia (21763) que se obtuvieron en estos análisis. Se observa también que los aislamientos de *R. solani* y *R. cerealis* están mezclados y dispersos a través de los clados más pequeños indicando que estas especies no son monofiléticas. Sin embargo, hay clados internos robustos que incluyen únicamente aislamientos de *R. solani* del mismo grupo anastomósico. Los clados que se recobran con valores por arriba del 80% de apoyo son el AG4, AG5, AG6, AG7, AG8, AG11, AGBI y los subgrupos IA, IB, IC del AG1. Esto pudiera ser una indicación de que sólo estos grupos anastomósicos son grupos naturales. El resto de los clados tienen poco apoyo. Los resultados que se obtuvieron con un número menor de muestras, pero con más caracteres son consistentes con los obtenidos para 122 aislamientos. Por lo tanto, se requiere ampliar el muestreo incluyendo más aislamientos y más caracteres, sobre todo,

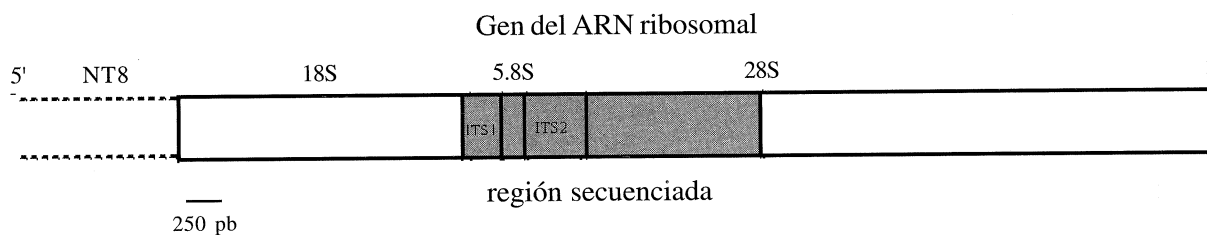


Fig. 1. Diagrama representando la región secuenciada del ITS y del 28S del ADN ribosomal nuclear (Aproximadamente 2000 nucleótidos).

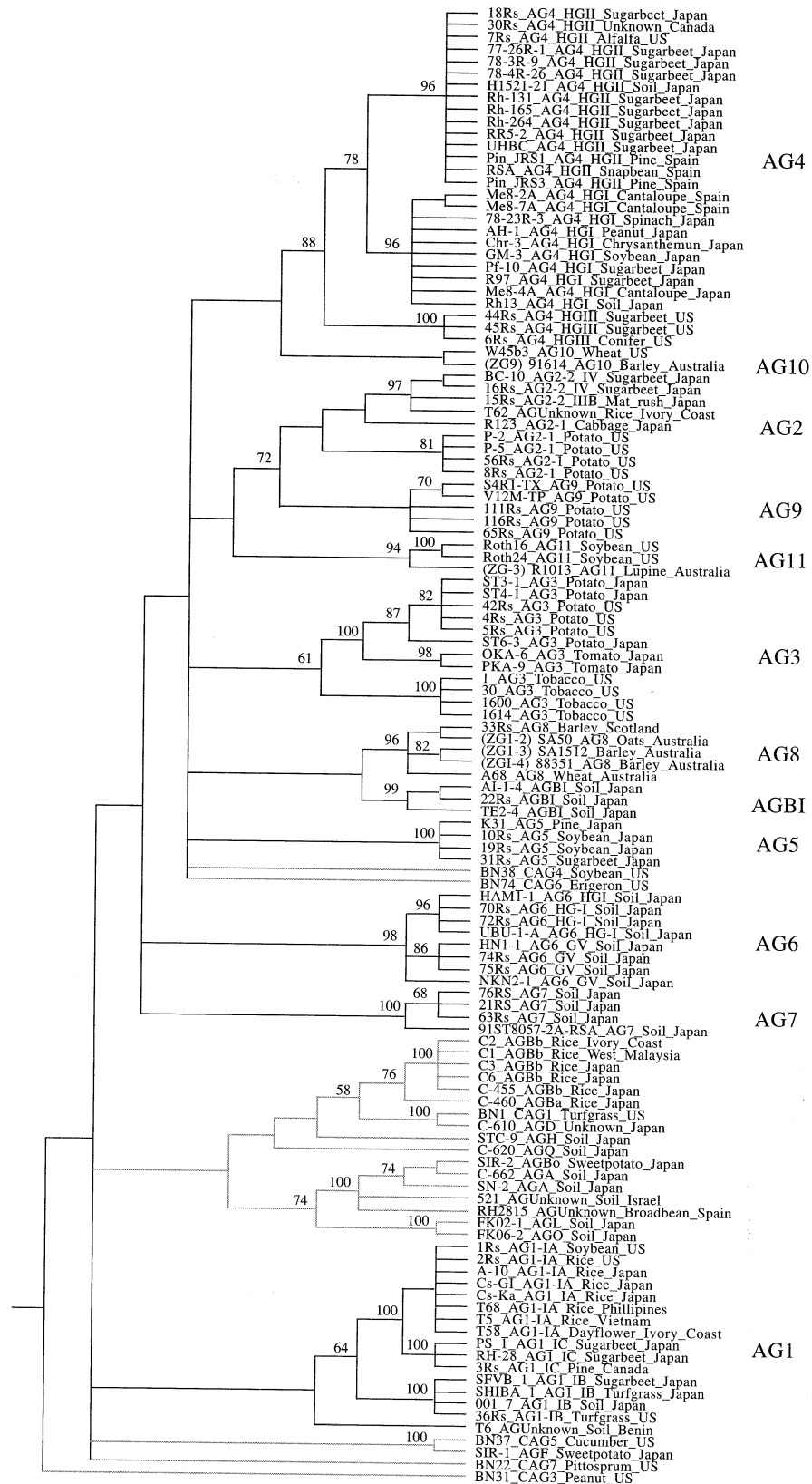


Fig. 2. Árbol de consenso basado en el análisis filogenético de las secuencias del ITS del ADN ribosomal nuclear para 122 aislamientos de *Rhizoctonia* [longitud 535, índice de consistencia (CI) = 0.551, índice de retención (RI) = 0.872]. Sobre las ramas se indica el valor relativo de apoyo a los clado por el análisis de haciendo re-muestreo con reemplazo ("bootstrap"). Las ramas en gris corresponden a los aislamientos de *R. cerealis* usados como grupo externo para polarizar el cladograma.

aquéllos que pudieran dar resolución en las ramas basales del cladograma; por ejemplo, un gen que tuviera una tasa de mutación intermedia entre el ITS y el 28S. También, se necesita identificar el grupo hermano de estos hongos. Los resultados indicaron que las especies de *Rhizoctonia* multinucleadas y binucleadas están más relacionadas de lo que se había propuesto, por lo que la condición del número de núcleos en las hifas no es un carácter diagnóstico para el reconocimiento de las distintas especies dentro del género *Rhizoctonia*. Los resultados obtenidos por González *et al.* (2001) muestran la necesidad de cambiar el sistema de clasificación actual de *R. solani* basado en grupos anastomóticos, ya que no refleja las relaciones filogenéticas de este importante hongo fitopatógeno. Para apoyar cualquier decisión taxonómica que se haga en la clasificación de *R. solani*, actualmente se están adicionando caracteres del gen beta-tubulina a la matriz de secuencias del ADN ribosomal (González datos no publicados), con el objetivo de definir si los grupos anastomóticos 4, 5, 6, 7, 8, 11, BI y los subgrupos IA, IB, IC del AG1 representan especies distintas.

LITERATURA CITADA

- Andersen, T.F. 1996. A comparative taxonomic study of *Rhizoctonia sensu lato* employing morphological, ultrastructural and molecular methods. *Mycological Research* 100:1117-1128.
- Anderson, N.A. 1982. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. *Annual Review of Phytopathology* 20:329-347.
- Anderson, N.A. 1984. Variation and heterokaryosis in *Rhizoctonia solani*. In: D.H. Jennings, and A.D. Rayner (eds.). *Symposium of the British Mycological Society. The Ecology and Physiology of the Fungal Mycelium*. Cambridge University Press. pp. 367-382.
- Balali, G.R., Whisson, D.L., Scott, E.S., and Neacite, S.M. 1996. DNA fingerprinting probe specific to isolates of *Rhizoctonia solani* AG-3. *Mycological Research* 100: 467-470.
- Boidin, J. 1998. Taxonomie moleculaire des Aphylophorales. *Mycotaxon* 66:445-491.
- Bowman, B.H., Taylor, J.W., and White, T.J. 1992. Molecular evolution of the fungi: human pathogens. *Molecular Biology and Evolution* 9:893-904.
- Bruns, T.D., White, T.J., and Taylor J.W. 1991. Fungal molecular systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22:525-264.
- Carling, D.E. 1996. Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction. pp. 37-47. In: B. Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate, and G. Dijst (eds.). *Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 578 p.
- Carling, D.E., and Kuninaga, S. 1990. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kühn: inter and intragroup relatedness of anastomosis group 9. *Phytopathology* 80:1362-1364.
- Cubeta, M.A., Vilgalys, R., and González, D. 1996. Molecular analysis of ribosomal RNA genes in *Rhizoctonia* fungi. pp. 81-86. In: B. Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate, and G. Dijst (eds.). *Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 578 p.
- Cubeta, M.A., and Vilgalys, R. 1997. Population biology of *Rhizoctonia* fungi. *Phytopathology* 87:480-484.
- Currah, R.S. 1987. *Thanatephorus pennatus* sp. nov. from the micorrhizal roots of *Calypso bulbosa* (Orchidaceae) from Alberta. *Canadian Journal of Botany* 65:1957-1960.
- Duncan, S., Barton, J.E., and O'Brien, P.A. 1993. Analisis of variation in isolates of *Rhizoctonia solani* by random amplified polymorphic DNA assay. *Mycological Research* 97:1075-1082.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Felsenstein, J. 1991. PHYLIP (Phylogeny Inference Package), version 3.4. University of Washington. Seattle, Washington, USA.
- González, D. 1992. Classification of the plant pathogenic fungus *Rhizoctonia solani* (Basidiomycotina: Tulasnellales) using ribosomal DNA sequence data. M.S. Thesis, Duke University, Durham, North Carolina, USA. 61 p.
- González, D., Carling, E.D., Kuninaga, S., Vilgalys, R., and Cubeta, M.A. 2001. Ribosomal DNA systematics of *Ceratobasidium* and *Thanatephorus* with *Rhizoctonia* anamorphs. *Mycologia* 93:1138-1150.
- Hamby, R.K., and Zimmer, E.A. 1992. Ribosomal RNA as a phylogenetic tool in plant systematics. pp. 50-92. In: P.S. Soltis, D.E. Soltis, and J.J. Doyle (eds.). *Molecular Systematics of Plants*. Chapman and Hall. New York, USA. 434 p.
- Hillis, D.M., and Dixon, M.T. 1991. Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology* 66: 411-453.
- Johnk, J.S., and Jones, R.K. 1993. Differentiation of populations of AG-2-2 of *Rhizoctonia solani* by analysis of cellular fatty acids. *Phytopathology* 83:278-283.
- Kellens, J.T., and Peumans, W.J. 1991. Biochemical and serological comparison of lectins from different anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. *Mycological Research* 95:1235-241.
- Kim, W.G., and Yoshino, R. 1988. Characteristics in hyphal anastomosis of *Rhizoctonia solani* AG-1 (IA) in relation to locality and cultural ages of the isolates. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 54:141-150.
- Kuninaga, S., Natsuaki, T., and Takeuchi, T. 1997. Sequence variation of the rDNA ITS regions within and between anastomosis groups in *Rhizoctonia solani*. *Current Genetics* 32:237-243.
- Laroche, J.P., Jabaji-Hare, S.H., and Charest, P.M. 1992.

- Differentiation of two anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* by isozyme analysis. *Phytopathology* 82:1387-1393.
- Liu, Z.L., Domier, L.L., and Sinclair, J.B. 1993. ISG-specific ribosomal DNA polymorphism of the *Rhizoctonia solani* species complex. *Mycologia* 85:795-800.
- Liu, Z.L., Domier, L.L., and Sinclair, J.B. 1995. Polymorphism of genes coding for nuclear 18S rRNA indicates genetic distinctiveness of anastomosis group 10 from other groups in the *Rhizoctonia* species complex. *Applied Environmental Microbiology* 61:2659-2664.
- MacNish, G.C., Carling, D.E., and Brainard, K.A. 1993. Characterization of *Rhizoctonia solani* AG 8 from bare patches by pectic isozyme (zymogram) and anastomosis techniques. *Phytopathology* 83:922-927.
- Moore, R.T. 1996. The dolipore/parenthesome septum in modern taxonomy. pp. 13-35. In: B. Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate, and G. Dijst (eds.). *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 578 p.
- Mordue, J.E.M., Currah, R.S., and Bridge, P.D. 1989. An integrated approach to *Rhizoctonia* taxonomy: cultural, biochemical and numerical techniques. *Mycological Research* 92:78-90.
- Neate, S.M., Cruickshank, R.H., and Rovira, A.D. 1988. Pectic enzyme patterns of *Rhizoctonia solani* isolates from agricultural soils in South Australia. *Transactions of the British Mycological Society* 90:37-42.
- O'Brien, P.A. 1994. Molecular markers in Australian isolates of *Rhizoctonia solani*. *Mycological Research* 98:665-671.
- Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. *Annual Review of Phytopathology* 25:125-143.
- Ogoshi, A. 1996. Introduction-The genus *Rhizoctonia*. pp. 1-9. In: B. Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate, and G. Dijst (eds.). *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 578 p.
- Olsen, G.J., Lane, D.J., Giovannoni, S.J., and Pace, N.R. 1986. Microbial ecology and evolution: A ribosomal RNA approach. *Annual Review of Microbiology* 40:337-365.
- Parmeter, J.R. Jr. 1970. *Rhizoctonia solani*: Biology and Pathology. Berkeley. University of California Press. Berkeley, CA, USA. 255 p.
- Parmeter, J.R. Jr., and Whitney, H.S. 1970. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. pp. 7-19. In: J.R. Parmeter (ed.). *Rhizoctonia solani*: Biology and Pathology. University of California Press. Berkeley, CA, USA. 255 p.
- Pope, E.J., and Carter, D.A. 2001. Phylogenetic placement and host specificity of mycorrhizal isolates belonging to AG-6 and AG-12 in the *Rhizoctonia solani* species complex. *Mycologia* 93:712-719.
- Reynolds, M., Weinhold, A.R., and Morris, T.J. 1983. Comparison of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* by polyacrylamide gel electrophoresis of soluble proteins. *Phytopathology* 73:903-906.
- Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS press. St. Paul, Minnesota, USA. 133 p.
- Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate, S., and Dijst, G. (eds.). 1996. *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 578 p.
- Soltis, P.S., and Soltis, D.E. 1996. Phylogenetic Analysis of large molecular data sets. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 59:99-113.
- Swofford, D.L. 2000. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). version 4. 0b4. Sunderland, Massachusetts. Sinauer Associates.
- Taylor, J.W. 1995. Molecular phylogenetic classification of fungi. *Archives of Medical Research* 26:307-314.
- Vilgalys, R., and Cubeta, M.A. 1994. Molecular systematics and population biology of *Rhizoctonia*. *Annual Review of Phytopathology* 32:135-155.
- Vilgalys, R., and González, D. 1990. Ribosomal DNA restriction fragment length polymorphisms in *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 80:151-158.
- Warcup, J.H., and Talbot P.H.B. 1962. Ecology and identity of mycelia isolated from soil. *Transactions of the British Mycological Society* 45:495-518.