

ASPECTOS DE SISTEMÁTICA Y BIOLOGÍA DEL COMPLEJO *RHIZOCTONIA*

Marleny González García

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.^a B y 5.^a F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, mgonzalez@inisav.cu

RESUMEN

Los miembros del complejo *Rhizoctonia* constituyen un grupo de hongos filamentosos no productores de conidios que comparten caracteres comunes en su fase anamórfica. Aquí se incluyen patógenos de cultivos importantes, especies saprofitas y simbioses. Para segregarse al complejo se agruparon a sus taxones en siete géneros a partir de criterios de comparación de ultraestructura del aparato septal. Tradicionalmente para la clasificación se ha utilizado la agrupación según la anastomosis hifal, debido a la carencia de caracteres morfológicos exhibidos; también se han incluido datos moleculares para estudios de filogenia y fundamentalmente para el diagnóstico. El presente trabajo expone aspectos actuales de clasificación y biología de este complejo fúngico.

Palabras claves: *Rhizoctonia*, anastomosis, sistemática

ABSTRACT

Members of *Rhizoctonia* complex are considered a group of filamentous fungi having in common a non-spored unperfected state, including pathogens, symbionts and saprotrophic organisms. Taxa from the complex have been split into several genera employing criteria such as the analysis of the ultra structural of septal apparatus. Classification for some groups within the complex has been based in hyphal anastomosis, traditionally, since other diagnosis features are scarce. Molecular techniques also have been used for phylogenetic studies and diagnosis. This review focuses on the knowledge of several aspects in classification and biology of this complex.

Key words: *Rhizoctonia*, anastomosis, systematic

INTRODUCCIÓN

El complejo *Rhizoctonia* es un grupo heterogéneo de hongos filamentosos que no producen esporas asexuales y comparten caracteres morfológicos generales como la formación de micelio y esclerocios de coloración parda. Los organismos pertenecientes a este complejo están distribuidos por el mundo; muchos son patógenos importantes de plantas de interés agrícola, forestal, e incluso de especies acuáticas; sin embargo, no todos los aislamientos causan daños. Algunos tienen un comportamiento saprobio y viven en materia orgánica en descomposición, mientras que otros pueden establecer relaciones simbióticas con determinadas especies de orquídeas y musgos [Cubeta y Vilgalys, 2000]. Se encuentra segregado en siete géneros según el estado teleomórfico y las características del aparato septal [Moore, 1987; Stalpers y Anderson, 1996]. La identificación de especies dentro del grupo se hace difícil, ya que tiene pocos caracteres morfológicos, y los rasgos fisiológicos y patogénicos varían de un individuo a otro;

además, raramente se producen estructuras sexuales en medio de cultivo, las cuales pueden esclarecer la taxonomía de estos hongos.

Hasta mediado de 1980 la clasificación estuvo basada en caracteres morfológicos, número de núcleos por célula vegetativa, patogenicidad y anastomosis hifal. Este último es el criterio más usado hasta la fecha. Los enfoques recientes para caracterizar los distintos aislamientos incorporan caracteres que se obtienen a través de técnicas moleculares como hibridación de ADN, el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción y la secuenciación directa de genes, entre otros [Carling y Kuninaga, 1990; Vilgalys y González, 1990b; Cubeta y Vilgalys, 1997].

Rhizoctonia solani es la especie más estudiada dentro del complejo, y la mayoría de los estudios se han basado en ese taxón. Se encuentra dividida en 14 grupos de anastomosis (AG), que se subdividen en subgrupos se-

gún caracteres morfológicos, patológicos, bioquímicos y moleculares [Laroche *et al.*, 1992; Johnk y Jones, 1993; Liu *et al.*, 1993; Liu y Sinclair, 1993]. Este taxón puede afectar a más de quinientos géneros de plantas superiores [Farr *et al.*, 1989] y provocar *damping off* en posturas, lesiones necróticas en raíces, semillas y tallos, además de daños foliares [Sneh *et al.*, 1991].

El presente trabajo muestra los conocimientos actuales sobre aspectos del complejo, como clasificación, biología y sistemática de los géneros más importantes desde el punto de vista fitopatológico, así como aspectos del proceso patogénico.

El complejo *Rhizoctonia*

El género *Rhizoctonia* fue erigido después de observar el crecimiento del hongo en alfalfa. Se señala como carácter básico la producción de esclerocios de textura uniforme y micelio asociados a raíces de plantas [De Candolle, 1815, citado por Parmerter y Whitney, 1970]. La carencia de caracteres morfológicos específicos trajo como consecuencia la identificación como *Rhizoctonia* spp. de una serie de aislamientos no relacionados [Parmerter y Whitney, 1970; Moore, 1987]. La incorporación de un taxón dado dentro del género estuvo basada en la presencia de características vegetativas como la pigmentación parda del micelio, la constricción en los puntos de ramificación de las hifas formando ángulos rectos y la ausencia de conidios. Además de estas características, que siempre están presentes, hay otras que se encuentran en un gran número de individuos, pero pueden estar ausentes en otros. Son ellas la formación de células moniloides y esclerocios en medio de cultivo, la alta tasa de crecimiento y un aparato septal dolíporo complejo. Aproximadamente ciento veinte epítetos específicos se le asignaron al género, pero revisiones taxonómicas más recientes han disminuido el número a 37 [Anderson y Stalpers, 1994] o a 49 [Roberts, 1999].

Las técnicas para la identificación de taxones similares a *Rhizoctonia* se han basado en estudios de las hifas vegetativas. Varios resultados experimentales han mostrado que, aunque los estudios basados en la morfología y características culturales del micelio son útiles para realizar una caracterización preliminar, es necesaria la incorporación de otros caracteres [Andersen *et al.*, 1990; Sneh *et al.*, 1991] debido a la gran variabilidad entre individuos. Otra técnica ampliamente utilizada para la identificación es el conteo de núcleos por hifa somática [Parmerter *et al.*, 1967]. No obstante, se

conoce que este carácter también puede variar entre especies de un mismo género o incluso entre aislamientos de una misma especie [Hietala *et al.*, 1994; Stalpers y Andersen, 1996].

R. solani [teleomorfo = *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk] es, sin duda, la especie más estudiada dentro del grupo. La descripción original de *R. solani* se hizo sobre aislamientos obtenidos de papa (*Solanum tuberosum* L.), y se concluyó que esta especie posee las siguientes características: a) pigmentación de las hifas en diferentes gamas del pardo; b) constricción de la hifa y formación del septo a corta distancia del punto de ramificación del micelio; c) células multinucleadas en hifas vegetativas jóvenes. La presencia de esclerocios, de células moniloides, alta velocidad de crecimiento micelial y patogenicidad son atributos que pueden o no estar en los aislamientos. La formación de mitosporas, esclerocios diferenciados y presencia de rizomorfos son caracteres que nunca se van a encontrar en miembros de esta especie [Parmerter *et al.*, 1967; Parmerter y Whitney, 1970].

Este taxón tiene una distribución mundial amplia y es poco probable que exista un país donde no esté presente [Mordue, 1974]. Es un patógeno con un elevado rango de hospedantes y causa daños en gran diversidad de cultivos. Por la gran versatilidad de esta especie es objeto de estudios de tipo ecológico, patológico y de control biológico [Sneh *et al.*, 1996].

Hasta mediados de la década de 1980 la clasificación de *R. solani* se basaba en características culturales, rasgos morfológicos, número de núcleos y anastomosis de las hifas [Parmerter, 1970], y hasta el momento este es el criterio más empleado para clasificar este hongo; sin embargo, los enfoques recientes para el estudio de aislamientos de *R. solani* tienen en cuenta caracteres bioquímicos y moleculares. El microscopio electrónico de barrido también se ha utilizado para observar los detalles estructurales de las hifas y del aparato septal [Andersen, 1996; Moore, 1996]. A pesar de que se emplean nuevos métodos y técnicas en los análisis taxonómicos fúngicos, la clasificación de especies de *Rhizoctonia* se considera aún en desarrollo.

Una limitante lo constituye el hecho de que la mayoría de los estudios se efectúan en cultivos *in vitro*, en los cuales las estructuras sexuales no suelen observarse. El análisis de la fase sexual constituye una valiosa herramienta para esclarecer y correlacionar la taxonomía de este grupo; pero son muy pocas las ocasiones en

que se ha logrado la inducción del estado perfecto bajo condiciones de laboratorio [Ogoshi *et al.*, 1983a; González *et al.*, 2002].

Sistemática actual del complejo *Rhizoctonia*

Por la heterogeneidad del complejo, varios autores han dividido las especies con anamorfos similares a *Rhizoctonia* en al menos siete géneros, a partir de la ultraestructura del aparato septal y el estadio teleomórfico. A continuación se listan los que están reconocidos hasta la fecha [Moore, 1987; Andersen y Stalpers, 1994; Roberts, 1999]:

- ***Ascorhizoctonia* Yang y Korf:** Incluye especies que presentan septo simple con uno o dos cuerpos de Woronin asociados y estadios teleomórficos similares a los producidos por miembros del orden *Pezizales*.
- ***Ceratrhiza* R. T. Moore:** Agrupa especies con teleomorfo perteneciente a *Ceratobasidium* Rogers y septo dolíporo con parentosoma perforado.
- ***Chrysorhiza* Andersen y Stalpers:** Incluye estados anamorfos de *Waitea circinata* Warcup y Talbot y *Waitea nuda* Clemencon con septo dolíporo con parentosoma perforado.
- ***Epulorhiza* R. T Moore y Andersen:** Aislamientos con fase perfecta en *Tulasnella* Schroeter y septo dolíporo con parentosoma no perforado.
- ***Thanatophytum* Nees:** Es el nombre correcto para designar anamorfos pertenecientes a *Helicobasidium* Pat. con presencia de septo simple.
- ***Opadorhiza* Andersen y R. T Moore:** Agrupa especies con teleomorfo pertenecientes al género *Sebacina* Tul con septo dolíporo con parentosoma no perforado.
- ***Moniliopsis* Ruhland:** Incluye especies con fase perfecta en *Thanatephorus* y septo dolíporo con parentosoma perforado. El nombre de *Rhizoctonia* se conserva en lugar de *Moniliopsis*.

Los teleomorfos más estudiados, por su importancia desde el punto de vista fitopatológico, son *Thanatephorus* y *Ceratobasidium*, aunque las relaciones evolutivas entre ambos aún no están completamente dilucidadas. Roberts (1999) consideró, basado en estudios con materiales tipo y filogenia molecular, que ambos géneros debían ser sinonimias; sin embargo, en un análisis filogenético de la familia *Ceratobasidiaceae* se sugiere que a pesar de la cercanía que presentan, deben permanecer como entidades independientes [González *et al.*, 2001; 2006a], y de esta forma se acepta. Los anamorfos de estos dos géneros se han identificado y clasificado tradicionalmente sobre la base del número de núcleos por célula. Se considera a *Thanatephorus*

multinucleado y a *Ceratobasidium* binucleado, a pesar de que el número de núcleos es desconocido aun para muchas especies. En ambos géneros se incluyen aislamientos saprobios, patógenos y simbioses [Robert, 1999].

Existen otros taxones asociados con los anamorfos similares a *Rhizoctonia* spp. Varios aislamientos de *Rhizoctonia* se han conectado con el género *Waitea*, el cual tiene importancia desde el punto de vista fitopatológico. Por ejemplo, *Waitea circinata* está asociado a *Chrysorhiza zeae* (*Rhizoctonia zeae*). Este taxón se ha relacionado con enfermedades en poaceas [Sneh *et al.*, 1991]. *Waitea circinata* posteriormente se desplegó en tres variedades al considerar caracteres morfológicos y moleculares: var. *circinata*, var. *zeae* y var. *oryzae* [Leiner y Carling, 1994; Toda *et al.*, 2005].

Biología del complejo *Rhizoctonia*

Grupos de anastomosis

El sistema de clasificación principal para el grupo está fundamentado en la anastomosis de las hifas. Los primeros registros de anastomosis en este hongo los informaron Matsumoto (1921) y Matsumoto *et al.* (1931), citados por Carling (1996). Esto es aplicable tanto a especies multinucleadas como binucleadas.

La reacción de anastomosis hifal es una expresión de la incompatibilidad o compatibilidad somática [Anderson, 1982]. Un grupo de anastomosis (AG) está formado por aislamientos genéticamente relacionados, según su capacidad de anastomosarse entre ellos. Esta reacción puede ir desde una fusión perfecta en la cual hay unión de pared celular y membrana citoplasmática hasta ausencia total de reacción.

Aunque los mecanismos y el significado biológico de la reacción de anastomosis no son completamente entendidos, representan la interacción somática entre individuos genéticamente diferentes o similares, lo cual en el caso de *Rhizoctonia* se observa a nivel microscópico e incluso macroscópico [Sneh *et al.*, 1991]. Entre aislamientos pertenecientes al mismo AG se produce fusión de las hifas, lo que sugiere la existencia de compatibilidad o incompatibilidad vegetativa. Los aislados de diferentes AG no se fusionan entre sí, lo que indica diferencias genéticas entre ellos. Esto ha llevado a varios autores a elaborar la hipótesis de que constituyen especies diferentes [Mordue *et al.*, 1989; Boidin, 1998].

El estatus taxonómico de los diferentes AG es controversial. Se ha propuesto una correlación entre el

concepto de AG y especies biológicas; pero en el caso de *Rhizoctonia* no se ha logrado definir debido a la carencia de caracteres morfológicos exhibidos y el desconocimiento de los mecanismos sexuales que operan en este complejo [Carling y Sumner, 1992]. Varios autores sugieren que los diferentes AG pueden representar poblaciones genéticamente aisladas dentro de un taxón común, en el cual un sistema de interesterilidad pudiera limitar o impedir el intercambio sexual entre los grupos [Adams, 1988; Vilgalys y Cubeta, 1994].

Las reacciones de anastomosis pueden afectarse por varios factores, como por ejemplo condiciones nutricionales y de laboratorio, inestabilidad genética y el estado nuclear de los aislamientos (homocariótico,

heterocariótico o ambos), por lo que su interpretación en ocasiones se hace difícil.

Grupos de anastomosis de Rhizoctonia solani. Hasta la fecha se han descrito 14 AG para *R. solani*, nominados del AG1 al AG13, cuyos miembros, de forma general, se anastomosan solo con individuos del mismo grupo y el AG-BI, que incluye aislados capaces de fusionarse entre ellos y con otros grupos (Tabla 1). Muchos AG han sido divididos en subgrupos que difieren en características bioquímicas, moleculares o patogénicas [Laroche *et al.*, 1992; Johnk y Jones, 1993; Liu *et al.*, 1993; Liu y Sinclair, 1993]. Esto sugiere que los AG y los subgrupos pudieran representar poblaciones de evolución independiente dentro del complejo *R. solani* [Vilgalys y Cubeta, 1994].

Tabla 1. Grupos y subgrupos de *R. solani*, principales cultivos que ataca y estado teleomórfico asignado

Grupo-subgrupo	Cultivos que ataca	Teleomorfo
AG1-IA	Arroz, maíz, sorgo, soya, frijol, césped	<i>Thanatephorus cucumeris</i> ¿ <i>Thanatephorus sasakii</i> ?
AG1-IB	Frijol, arroz, soya, leguminosas, lechuga, col, hortensia	<i>T. cucumeris</i> ¿ <i>T. microsclerotius</i> ?
AG1-IC	Zanahoria, soya, pino, lino	<i>T. cucumeris</i>
AG2-1	Crucíferas, fresa, tulipán	<i>T. cucumeris</i>
AG2-2IIIB	Arroz, jengibre, césped, maíz, remolacha	<i>T. cucumeris</i>
AG2-2IV	Remolacha, césped	<i>T. cucumeris</i>
AG-3	Papa, tabaco, tomate, berenjena	<i>T. cucumeris</i>
AG4 (HGI, HGII y HGIII)	Tomate, papa, soya, cebolla, algodón, pino, guisantes	<i>T. cucumeris</i> ¿ <i>T. praticola</i> ?
AG 5	Papa, césped, frijol, soya	<i>T. cucumeris</i>
AG6 (HG-I y GV)	No patogénico	<i>T. cucumeris</i>
AG7	Soya	<i>T. cucumeris</i>
AG8	<i>Poaceae</i>	<i>T. cucumeris</i>
AG9 (TP y TX)	Crucíferas, papa	<i>T. cucumeris</i>
AG10	No patogénica	<i>T. cucumeris</i>
AG11	Trigo	<i>T. cucumeris</i>
AG12	Coliflor, rábano	<i>T. cucumeris</i>
AG13	No patogénico	<i>T. cucumeris</i>
AGBI	No patogénico	<i>T. cucumeris</i>

Los nombres entre signos de interrogación se han propuesto como especies diferentes a *T. cucumeris* [González *et al.*, 2006b].

MacNish *et al.* (1993) describieron cuatro tipos de reacciones (C0, C1, C2 y C3), según el grado de interacción entre las hifas, para explicar la relación genética entre los aislamientos (Tabla 2). Entre AG diferentes no existe interacción o existe muy poca, lo que se ha denominado *reacción C0* y *C1* respectivamente, aunque se señala que C1 también puede observarse entre individuos de un mismo AG [Cubeta y Vilgalys, 1997]. Para aislamientos pertenecientes a igual AG se describen las reacciones C2 y C3. La primera se denomina *reacción de muerte*, en la que los aislados se fusionan y ocurre la lisis de las células anastomosadas, lo que indica incompatibilidad vegetativa entre individuos genéticamente

diferentes. La reacción C3, conocida como *fusión perfecta*, ocurre entre individuos genéticamente cercanos. Este es el caso que se produce cuando se enfrenta un aislado con él mismo. La reacción C2 es importante para definir individuos genéticamente diferentes dentro de una población, mientras que C3 se espera que ocurra entre clones. A pesar de ello, el agrupamiento según la anastomosis no es completamente satisfactorio debido a que en ocasiones un aislado se anastomosa total o parcialmente con aislamientos de más de un grupo de anastomosis; algunos además pierden su capacidad de fusionarse [Anderson 1982; 1984; Vilgalys y Cubeta, 1994; Carling, 1996].

Tabla 2. Clasificación de las reacciones de anastomosis [MacNish *et al.*, 1993]

<i>Reacción</i>	<i>Fenotipo</i>	<i>Relación genética entre los aislamientos.</i>
C0: No interacción	No hay reconocimiento entre las hifas	No existe relación genética entre los aislamientos. Pertenecen a diferentes AG
C1: Ligero contacto hifal	No se evidencia contacto entre la pared o la membrana. Puede o no estar acompañada de muerte celular	Aislamientos con relación genética muy distante. Pueden o no pertenecer al mismo AG
C2: Reacción de muerte	Ocurre anastomosis entre las hifas, con muerte celular de las hifas anastomosadas y las adyacentes. Incompatibilidad somática evidente incluso a nivel macroscópico	Aislamientos genéticamente diferentes que pertenecen al mismo AG
C3: Fusión perfecta	Anastomosis evidente entre las paredes y membranas. No hay muerte celular	Aislamientos genéticamente idénticos o muy relacionados. Pertenecen al mismo AG y pueden ser clones

Grupos de anastomosis de otros taxones multinucleados. Los anamorfo multinucleados del género *Waitea* Warcup y Talbot también se agrupan en AG. Incluye dos especies que se ubican en el género *Chryzorrhiza* Andersen y Stalpers: *C. zae* y *C. oryzae*. Para la primera especie está descrito un AG, el WAG-Z aislado de arroz, uno de los principales cultivos que ataca este hongo. Para *C. oryzae* también aparece un AG, el WAG-O obtenido de suelo [Sneh *et al.*, 1991].

Grupos de anastomosis en taxones binucleados. Al igual que para *R. solani*, las reacciones de anastomosis han constituido el principal criterio para clasificar las especies binucleadas. En el mundo existen dos escuelas dedicadas al estudio de los aislamientos binucleados:

autores japoneses, los que han descrito 17 AG (AGA-AGQ) [Ogoshi *et al.*, 1983a; Ogoshi *et al.*, 1983b] y autores de Estados Unidos, que ubicaron sus aislamientos en siete grupos (CAG-1 a CAG-7) [Burpee *et al.*, 1980a; 1980b], aunque Ogoshi *et al.* (1983b) demostraron que ambos criterios se correspondían, a excepción de los grupos CAG-5 y CAG-7, los cuales posteriormente se denominaron AG-R y AG-S respectivamente. En Japón Hyakumachi *et al.* (2005) describieron dos nuevos grupos: AG-T y AG-U. Este último lo hallaron también Copes *et al.* (2005) en Mississippi, Estados Unidos. En la Tabla 3 se muestran todos los AG descritos para taxones binucleados, según la nomenclatura utilizada por Sneh *et al.* (1991).

Tabla 3. Grupos y subgrupos de taxones binucleados de acuerdo con la nomenclatura japonesa, estados anamorfos y teleomorfos asociados y cultivos que atacan [González *et al.*, 2006b]

<i>Grupo de anastomosis</i>	<i>Anamorfo</i>	<i>Teleomorfo</i>	<i>Cultivos que atacan</i>
AG A (CAG2)	<i>R. candida</i> ; <i>R. endophytica</i> <i>var. ndophytica</i> ; <i>R. fragariae</i> ; <i>R. ramicola</i>	<i>Ceratobasidium cornigerum</i> <i>C. ramicola</i>	Fresa, remolacha azucarera, frijol, tomate, melón, espinaca, pepino, lechuga
AG Ba	<i>R. fumigata</i>	<i>C. setariae</i>	Arroz, millo
AG Bb	<i>R. oryzae-sativae</i>	<i>C. oryzae-sativae</i>	Arroz, millo
AG B(o)	Desconocido	<i>C. cornigerum</i>	Arroz
AG C	<i>R. globulares</i>	<i>C. cornigerum</i>	Poco patogénico (remolacha azucarera, trigo)
AG D (CAG1)	<i>R. cereales</i>	<i>C. cereale</i>	Césped, cereales, remolacha azucarera, cebolla, papa, algodón, frijol, soya
AG E (CAG3, CAG6)	<i>R. muneratii</i>	<i>Ceratobasidium</i> sp.	Frijol, rábano, cebolla, remolacha azucarera, lechuga, tomate
AG F (CAG4)	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	Frijol, rábano, cebolla, lechuga, tomate
AG G	<i>R. fragariae</i>	<i>Ceratobasidium</i> sp.	Fresa, remolacha azucarera, frijol, tomate
AG H	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG I	<i>R. fragariae</i>	Desconocido	Fresa y caña de azúcar
AG J	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG K	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG L	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG M	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG N	Desconocido	Desconocido	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG O	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG P	Desconocido	<i>C. cornigerum</i>	Té
AG Q	Desconocido	<i>C. cornigerum</i>	Césped
AG R (CAG 5)	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	Frijol, papa, rábano, lechuga
AG S (CAG7)	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	Azalea
AG T	Desconocido	Desconocido	Rosa, azalea
AG U	Desconocido	Desconocido	Rosa, azalea

Entre paréntesis se muestra la equivalencia con los aislamientos americanos.

Marcadores moleculares en el estudio del complejo Rhizoctonia. Los marcadores moleculares revelan sitios de variación de la secuencia de ADN. A diferencia de los caracteres morfológicos, los cambios no se muestran por sí mismos en el fenotipo, porque pueden ser solo en un nucleótido del gen o en una secuencia repetitiva del ADN. Los marcadores moleculares son más numerosos que los morfológicos, por lo que su polimorfismo sobrepasa varias veces el de otras variantes genéticas, que incluyen las isoenzimas.

Determinados hongos filamentosos, como los pertenecientes al grupo *Rhizoctonia*, tienen pocos caracteres fenotípicos que pueden usarse para diferenciar entre individuos de una población, lo cual limita el estudio sobre la biología de las poblaciones en estos organismos. Los marcadores fenotípicos han sido útiles para diferenciar entre especies, pero no tienen suficiente resolución para distinguir entre individuos de una misma especie. La posibilidad de conocer la secuencia del ADN ha hecho práctico llevar a cabo estudios básicos de población y biología evolutiva en hongos [Rosewich y McDonald, 1994].

La profundización en el conocimiento de la biología de este complejo fúngico requiere cada vez más de la aplicación de marcadores moleculares para caracterizar genotípicamente la estructura de las poblaciones. Estas herramientas se han aplicado al estudio de diferentes especies de *Rhizoctonia* y están enfocados a la búsqueda de diferencias genotípicas entre AG, subgrupos e incluso dentro de un mismo AG [Ogoshi, 1987; Vilgalys y Cubeta, 1994].

Entre las técnicas moleculares utilizadas para estos fines se incluyen los análisis de polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) [Jajabi-Hare *et al.*, 1990; Cubeta *et al.*, 1996], hibridación de ADN [Matthew *et al.*, 1995; Balali *et al.*, 1996] y ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD) [Duncan *et al.*, 1993; Yang *et al.*, 1995]. La secuenciación directa de los fragmentos de la región diana es uno de los métodos más fiables y sensibles para detectar y comprender la diversidad genética. De esta forma las secuencias obtenidas se pueden comparar con las de otros taxones [Boysen *et al.*, 1996; Hsiang y Dean, 2001; González *et al.*, 2002; Fenilli *et al.*, 2003].

Un criterio que se ha de considerar para la elección de un marcador molecular es que pueda discriminar el genotipo de cada individuo en una población en estudio. Para el complejo *Rhizoctonia* se recomienda el uso de marcadores conservados desde el punto de vista

evolutivo, debido a que se ha demostrado un bajo nivel de complementariedad de secuencias entre grupos intraespecíficos [Vilgalys, 1988]. Para este propósito los genes que codifican para el ARN ribosomal son adecuados como marcadores moleculares, ya que estos evolucionan más lentamente que otras partes del genoma y abre posibilidades de comparaciones evolutivas a diferentes niveles taxonómicos [Appels y Dvorak, 1982; Hillis y Davis, 1986]. Debido a que cada método tiene sus ventajas y limitaciones se aconseja la combinación de varios de ellos de acuerdo con los aspectos metodológicos y logísticos, como por ejemplo preparación de la muestra, nivel de reproducibilidad, costo y seguridad, así como consideraciones analíticas.

Genes que codifican el ARN ribosomal. Las secuencias que codifican el ARN ribosomal (ADNr) se han utilizado para el estudio de las relaciones filogenéticas y taxonómicas en hongos [Bruns *et al.*, 1991]. Los genes ribosomales están localizados en las mitocondrias y en el núcleo, y contienen numerosas regiones con secuencias altamente conservadas y otras con gran variabilidad [White *et al.*, 1990].

El ADNr nuclear usualmente existe en los hongos como elementos en bloques repetidos. Cada unidad está formada por un sistema complejo de secuencias que incluye los genes 18S, 28S y 5.8S, que codifican para las proteínas que forman las subunidades ribosomales, y se encuentran separados por dos espaciadores internos que se transcriben, llamados ITS1 e ITS2, de una longitud entre 200 y 400 pares de bases (pb). Hay además un espaciador interno que no se transcribe, llamado IGS (*Fig. 1*). Los módulos repetidos del ADNr nuclear pueden encontrarse en uno o varios cromosomas, y el número varía de acuerdo con el genoma. Pueden encontrarse desde 60 copias en el género *Coprinus* hasta 200 en *Neurospora* [Iturralde *et al.*, 2002]. En *T. praticola* Kotila & Flentje, especie propuesta como teleomorfo del AG-4 de *R. solani*, se detectaron aproximadamente 59 copias [Vilgalys y González, 1990a]. En algunos casos existe la subunidad 5S que puede estar localizada dentro de la unidad ribosomal o en otra región del genoma [Iturralde *et al.*, 2002].

Las secuencias 28S, 18S y 5.8S están altamente conservadas y evolucionan lentamente, por lo que se utilizan para obtener información sobre las relaciones filogenéticas. Las zonas no codificantes (ITS1, ITS2 e IGS) son más variables porque acumulan mayor número de mutaciones y tienen gran interés en la identificación y tipificación de especies fúngicas.

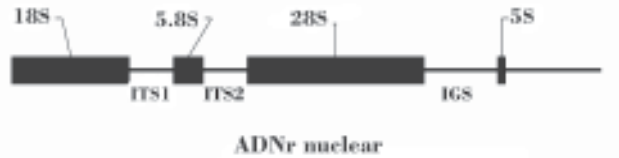


Figura 1. Estructura del ADN nuclear de los organismos eucariontes

White *et al.* (1990) diseñaron y describieron cebadores específicos para amplificar y secuenciar varios segmentos del ADN mitocondrial y nuclear de hongos, lo que abrió la posibilidad de realizar estudios filogenéticos con el uso de estos genes.

La diversidad intraespecífica en el ADN nuclear es común en hongos. En estudios de polimorfismo en esta región para varias especies fúngicas han mostrado que el ADN nuclear es adecuado para el análisis de la relación genética a nivel de género y especie [Kistler *et al.*, 1987; Klassen *et al.*, 1987; Liu *et al.*, 1992].

Los estudios para el complejo *Rhizoctonia* se han dirigido fundamentalmente a la caracterización de los diferentes AG, principalmente en anamorfos pertenecientes a *Ceratobasidium* y cepas de *R. solani* [Ceresini *et al.*, 2002a, 2002b; Perdomo *et al.*, 2007; Carling *et al.*, 2002a, 2002b; Lubeck y Poulsen, 2001; Priyatmojo *et al.*, 2001]. La determinación del contenido de guaninacitosina se llevó a cabo por Kuninaga y Yokosawa (1980) para *R. solani*, y se comprobó que era similar en cepas pertenecientes al mismo AG. Estudios de hibridización DNA-DNA demostraron que el agrupamiento por complementariedad de secuencias se correspondía con el propuesto según la anastomosis hifal [Kuninaga y Yokosawa 1984; 1985; Vilgalys, 1988; Carling y Kuninaga, 1990]. Se diferenciaron subgrupos dentro de los AG-2 y AG-8 de *R. solani* [Duncan *et al.* 1993]. Se encontró además alto nivel de correspondencia entre los patrones de restricción generados por RFLP y los grupos de anastomosis [Vilgalys y González 1990b]. Con respecto a los taxones binucleados, Cubeta *et al.* (1991) caracterizaron 13 de los 21 grupos descritos con el empleo de análisis de restricción en parte de la subunidad ribosomal 28S. También se ha podido separar en subgrupos dentro del AG-D mediante RAPD y RFLP [Toda *et al.*, 1999].

Diferentes investigadores utilizan la secuenciación directa del ADN nuclear para dilucidar las relaciones filogenéticas entre diversos organismos del complejo *Rhizoctonia* [Boysen *et al.*, 1996; Kuninaga *et al.*, 1997;

Roberts, 1999; Salazar *et al.*, 1999; 2000; González *et al.*, 2001; 2002; 2006b; Carling *et al.*, 2002a]. Con el desarrollo alcanzado en las técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la automatización del proceso de secuenciación es posible y sencillo amplificar y estudiar la variación en la secuencia del ADN en el nivel taxonómico deseado. La secuencia del ADN puede brindar información y alto nivel de resolución de las diferencias genéticas entre especies de *Rhizoctonia*.

Aspectos sobre la patogenicidad del complejo. Cuando la hifa de *Rhizoctonia* se pone en contacto con la superficie externa del hospedante se produce un fenómeno de reconocimiento que resulta en un aumento en la ramificación micelial y formación de estructuras de infección (apresorios o ramas hifales en forma de T), que llegan a formar lo que se conoce como *colchón infeccioso*, lo que le permite al hongo penetrar en el tejido vegetal intacto (cutícula y epidermis). En el transcurso del proceso infeccioso se produce un intercambio de sustancias entre la planta (exudados vegetales) y el hongo (enzimas extracelulares).

El mayor número de estudios de patogenicidad se ha realizado con *R. solani*, específicamente con los AG-1, AG-2, AG-3 y AG-4, aunque en resultados experimentales se ha demostrado similitud entre varios AG de *R. solani* y aislamientos patogénicos de *Ceratophthora* spp. [González *et al.*, 2006b]. Después de la formación de las estructuras de infección ocurre la penetración a través de la cutícula o los estomas, aunque esta última vía es muy rara y se ha informado solo para el AG-1 [Weinhold y Sinclair, 1996]. Posteriormente ocurre la colonización de los tejidos con la producción de enzimas hidrolíticas que degradan las paredes celulares. Se ha demostrado que miembros del AG-4 producen enzimas pectinolíticas y celulolíticas [Marcus *et al.*, 1986]. Desde el punto de vista citológico el proceso patogénico se caracteriza por provocar daños severos e incluso la muerte de la célula vegetal. Esto puede ocurrir inmediatamente después de la penetración y colonización. Este hongo también

es capaz de colonizar tejido vegetal muerto, lo cual sugiere un comportamiento nutricional facultativo (necrotrófico y/o biotrófico).

Rhizoctonia solani ataca las partes bajo tierra de la planta como las semillas, hipocotilos y raíces, pero además es capaz de infectar las zonas aéreas como tallos y hojas. En las semillas infectadas se evidencia una inhibición total de la germinación, mientras que las posturas

pueden afectarse antes o después que emergen. El principal daño provocado es el *damping off*, en el cual las plántulas afectadas presentan una necrosis con constricción en la base del tallo y caen sobre la superficie del suelo (Fig. 2). De forma general las posturas son susceptibles al ataque por este hongo durante sus primeras semanas de desarrollo, lo que disminuye en los posteriores estadios de madurez con el desarrollo de los mecanismos bioquímicos y físicos de defensa.



Figura 2. Plántula de tabaco con *damping off*

Estudios en Estados Unidos han demostrado que bajo determinadas condiciones ambientales, como períodos prolongados de alta humedad, puede ocurrir la producción de basidiosporas, las cuales son importantes en la dispersión a largas distancias, que germinan dando lugar a nuevo micelio y pueden observarse en la base del tallo o en el borde de las hojas. Las basidiosporas generalmente se liberan y dispersan durante la noche, pues son sensibles a la desecación y a la luz ultravioleta. A pesar de que la mayoría de las enfermedades causadas por *Rhizoctonia* inician por micelio y esclerocios, algunas son resultado de la infección de basidiosporas. Se tienen reportes de manchas foliares en tabaco, necrosis foliar en soya y remolacha, y quemazón en hojas y tallos de frijol [Cubeta y Vilgalys, 2000; González *et al.*, 2006b].

Situación en Cuba

En la Tabla 4 se muestran las especies del complejo *Rhizoctonia* que aparecen informadas oficialmente para Cuba [Arnold, 1986; Minter *et al.*, 2001]. No obstante, Sneh *et al.* (1991) clasifican a *R. chousii* como especie dudosa, y excluyen a *R. bataticola* (sin: *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia lamellifera*, *R. phaseoli*) y a *R. tuliparum* (sin: *Sclerotium tuliparum*) debido a que los caracteres morfológicos no concuerdan con los descri-

tos para *Rhizoctonia* spp. Por lo anterior se puede afirmar que son pocas las especies reportadas en el país, a pesar de que se conoce que estos taxones se encuentran ampliamente distribuidos en toda la isla.

En Cuba hay importantes resultados para el control de *Rhizoctonia* spp. con el uso de productos químicos y biológicos [Sandoval y Saenz, 1992; Sandoval y López, 2001; Sandoval *et al.*, 2001; Alarcón *et al.*, 2005] y existen también estudios epidemiológicos cuyos resultados se introdujeron en estrategias de manejo integrado de plagas [Herrera y Camara, 1988; Marín, 2003].

La principal problemática que presenta este complejo fúngico dentro del sistema de sanidad vegetal del país es el diagnóstico, ya que se realiza basado en los caracteres morfológicos, culturales y la sintomatología, además de que en la mayoría de los casos no se realizan las tinciones nucleares, lo que conlleva a que los aislamientos se reporten como *Rhizoctonia* sp. o se le asigne deliberadamente el epíteto específico *solani*. Una de las principales limitaciones es que no se dispone de las cepas patrones representantes de los diferentes AG, por lo que es imposible realizar los enfrentamientos con los aislamientos cubanos.

Tabla 4: Miembros del complejo *Rhizoctonia* informados para Cuba

<i>Taxones informados</i>	<i>Sustrato de donde se aisló</i>	<i>Referencia</i>
<i>Rhizoctonia chousii</i> Grand. et Ari.	Café (<i>Coffea arabica</i> L.)	Arnold, 1986
<i>R. oryzae</i> Ryker et Gooch	Arroz (<i>Oryza sativa</i> L.)	Arnold, 1986
<i>Rhizoctonia solani</i> Kuhn	Más de cincuenta cultivos	Arnold, 1986
<i>R. bataticola</i>	No se informa	Arnold, 1986
<i>Rhizoctonia</i> spp.	Más de treinta cultivos	Arnold, 1986
<i>R. tuliparum</i>	Crotón (<i>Codiaeum variegatum</i> Blume)	Minter et al., 2001

De lo anterior se deduce que hay desconocimiento acerca de la estructura de las poblaciones cubanas de este grupo. No se sabe qué especies son las que más inciden sobre los cultivos, ni qué grupos de anastomosis se encuentran en el país, por lo que es necesaria la incorporación de nuevas herramientas, que de conjunto con las tradicionalmente utilizadas permitan dar un diagnóstico de óptima calidad, que es el punto de partida para un manejo exitoso de este grupo fúngico que incluye taxones fitopatógenos.

Consideraciones finales

El sistema de clasificación de los hongos incluidos dentro del complejo *Rhizoctonia* constituye un problema debido a la escasez de caracteres morfológicos exhibidos. Desde la década de 1970 hasta la actualidad los grupos de anastomosis han constituido la forma más homogénea de organizar la diversidad del complejo, no obstante se conoce que no es completamente satisfactorio. Se han encaminados varios esfuerzos para establecer métodos de fructificación *in vitro*, que sería una valiosa herramienta para la identificación; pero en la mayoría de los casos se ha evidenciado la poca capacidad de estos individuos para fructificar bajo condiciones de laboratorio. Por otra parte, el estudio de la morfología del aparato septal ha sido muy útil para segregar el complejo de una forma filogenéticamente acertada, aunque la necesidad del microscopio electrónico hace que este carácter no se aplique de forma extensa. El uso de caracteres moleculares en el estudio de estos hongos esclareció muchos aspectos de su historia natural, y también se han utilizado directamente en el diagnóstico; no obstante, muchas de estas técnicas no se encuentran al alcance de los laboratorios que trabajan con este complejo fúngico.

En el caso específico de Cuba existe un problema adicional: las cepas patrones de los grupos de anastomosis

no están disponibles en el país, lo que dificulta el diagnóstico y el establecimiento de programas de manejo integrado. Se hace necesario caracterizar las poblaciones cubanas a través de estudios tradicionales y de avanzada para tener cepas patrones de anastomosis autóctonas que puedan distribuirse posteriormente por los laboratorios provinciales. Esto sin duda elevará la calidad del diagnóstico y aportará nuevos elementos para el manejo de enfermedades producidas por este complejo fúngico.

REFERENCIAS

- Adams, G. C.: «*Thanatephorus cucumeris* (*Rhizoctonia solani*), a Species Complex of Wide Host Range», *Adv. Plant Pathol.* 6: 535-552, EE.UU., 1988.
- Alarcón, L. P.; R. T. Reyes; G. G. Rodríguez; Z. A. D. Pupo: «Efectividad *in vitro* de *Trichoderma harzianum* (Rifai) en el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Piricularia grisea* en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.)», *Fitosanidad* 9 (3):57-61, Cuba, 2005.
- Anderson, N. A.: «The Genetics and Pathology of *Rhizoctonia solani*», *Ann. Rev. Phytopathol.* 20:329-347, EE.UU., 1982.
- : «Variation and Heterokaryosis in *Rhizoctonia solani*», *The Ecology and Physiology of the Fungal Mycelium*, Cambridge University Press, Inglaterra, 1984, pp. 367-382.
- Andersen, T. F.: «A Study of Hyphal Morphology in the form Genus *Rhizoctonia*», *Mycotaxon* 37:25-46, EE.UU., 1990.
- Andersen, T. F.; J. A. Stalpers: «A Check-List of *Rhizoctonia* Epithets», *Mycotaxon* 51:437-457, EE.UU., 1994.
- : «A Comparative Taxonomy Study of *Rhizoctonia sensu lato* Employing Morphological, Ultrastructural and Molecular Methods», *Mycological Research* 100:1117-1128, Holanda, 1996.
- Appels, R.; J. Dvorak: «Relative Rates of Divergence of Spacer and Gene Sequences Within the rDNA Region of Species in the Triticeae: Implications for the Maintenance of Homogeneity of a Repeated Gene Family», *Theor. Appl. Genet.* 63:361-365, Alemania, 1982.
- Arnold, G. R. W.: *Lista de hongos fitopatógenos de Cuba*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1986.
- Balali, G. R.; D. L. Whisson; E. S. Scott; S. M. Neate: «DNA Fingerprinting Probe Specific to Isolates of *Rhizoctonia solani* AG-3», *Mycol. Res.* 100:467-470, Holanda, 1996.

- Boidin, J.: «Taxonomie moleculaire des Aphyllophorales», *Mycotaxon* 66:445-491, EE.UU., 1998.
- Boysen, M.; M. Borja; C. del Moral; O. Salazar; V. Rubio: «Identification at Strain Level of *Rhizoctonia solani* AG-4 Isolates by Direct Sequence of Asymmetric PCR Products of ITS Region», *Curr. Genetics* 29:174-181, Alemania, 1996.
- Bruns, T. D.; T. J. White; J. W. Taylor: «Fungal Molecular Systematics», *Annual Review of Ecology and Systematics* 22:525-564, EE.UU., 1991.
- Burpee L. L.; P. L. Sanders; H. Cole; R. T. Sherwood: «Anastomosis Groups Among Isolates of *Ceratobasidium cornigerum* and Related Fungi», *Mycologia* 72:689-701, EE.UU., 1980a.
- : «Pathogenicity of *Ceratobasidium cornigerum* and Related Fungi Representing four Anastomosis Groups», *Phytopathology* 70:843-846, EE.UU., 1980b.
- Carling D. E.; S. Kuninaga: «DNA Base Sequence Homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn: inter and Intragroup Relatedness of Anastomosis Group-9», *Phytopathology* 80:1362-1364, EE.UU., 1990.
- Carling, D. E.; D. R. Sumner: *Rhizoctonia. Methods in Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*, APS Press, St. Paul Minnesota, EE.UU., 1992, pp. 157-165.
- Carling, D. E.: «Grouping in *Rhizoctonia solani* by Hyfal Anastomosis Reaction», B. Sneh, S. Jajabi-Hare, S. Neate, G. Dijst *Rhizoctonia species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Diseases Control*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda, 1996, pp. 37-47.
- Carling, D. E.; S. Kuninaga; K. A. Brainard: «Hyphal Anatomosis Reactions, rDNA-Internal Transcribed Spacer Sequences, and Virulence Levels Among Subsets of *Rhizoctonia solani* Anastomosis Group-2 (AG-2) and AG-BI», *Phytopathology* 92:43-50, APS Press, EE.UU., 2002a.
- Carling, D. E.; R. E. Baird; R. D. Gitaitis; K. A. Brainard; S. Kuninaga: «Characterization of AG-13, a Newly Reported Anastomosis Group of *Rhizoctonia solani*», *Phytopathology* 92:893-899, APS Press, EE.UU., 2002b.
- Ceresini, P. C.; D. H. Shew; R. Vilgalys; L. U. Rosewich; M. Cubeta: «Genetic Structure of Populations of *Rhizoctonia solani* AG-3 on Potato in Eastern North Carolina», *Mycologia* 94:450-460, EE.UU., 2002a.
- Ceresini, P. C.; D. H. Shew; R. Vilgalys; M. Cubeta: «Genetic Diversity of *Rhizoctonia solani* AG-3 from Potato and Tobacco in North Carolina», *Mycologia* 94:437-449, EE.UU., 2002b.
- Copes, W.; T. Rinehart; M. A. Cubeta: «Genetics, Pathogenic and Phenotypic Characterization of *Rhizoctonia* spp. Isolated from Container-Grown Azalea in the Southern United States», *Phytopathology* 95 S21 (Resumen), EE.UU., 2005.
- Cubeta, M. A.; E. Echando; T. Abernethy; R. Vilgalys: «Characterization of Anastomosis Groups of Binucleate *Rhizoctonia* spp. Using Restriction Analysis of an Amplified Ribosomal RNA Gene», *Phytopathology* 81:1395-1400, EE.UU., 1991.
- Cubeta, M. A.; R. Vilgalys; D. González: «Molecular Analysis of Ribosomal RNA Genes in *Rhizoctonia* Fungi», Sneh, B.; Jajabi-Hare, S.; Neate, S.; Dijst, G.: *Rhizoctonia species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Diseases Control*, Kluwer Academy Publishers, Dordrecht, Holanda, 1996, pp. 81-86.
- Cubeta M. A.; R. Vilgalys: «Population Biology of the *Rhizoctonia solani* Complex», *Phytopathology* 87(4):480-484, EE.UU., 1997.
- : «*Rhizoctonia*», *Encyclopedia of Microbiology*, Academic Press 4, EE.UU., 2000, pp. 109-117.
- Duncan, S.; J. E. Barton; P. A. O'Brien: «Analysis of Variation in Isolates of *Rhizoctonia solani* by Random Amplified Polymorphic DNA Assay», *Micol. Res.* 97:1075-1082, Holanda, 1993.
- Farr, D. F.; S. G. F. Bill; G. P. Chamuris; A. Y. Rossman: *Fungi on Plants and Plant Production in the United States*, APS Press Inc., St. Paul, Minn., 1989.
- Fenilli, R. C.; M. B. Ciampi; E. E. Kuramae; L. S. Nilton: «Identification of *Rhizoctonia solani* Associated with Soybean in Brazil by rDNA-ITS Sequences», *Fitopatol. Bras.* 28 (4):413-419, 2003.
- González, D.; D. E. Carling; S. Kuninaga; R. Vilgalys; M. Cubeta: «Ribosomal DNA Systematics of *Ceratobasidium* and *Thanatephorus* with *Rhizoctonia* Anamorphs», *Mycologia* 93 (6):1138-1150, EE.UU., 2001.
- González, V.; O. Salazar; M. C. Julián; J. Acero; M. A. Portal; R. Muñoz; H. López; E. Gómez, P. López; V. Rubio: «*Ceratobasidium albasitensis*, a New *Rhizoctonia*-Like Fungus Isolated in Spain», *Persoonia* 17:601-614, Holanda, 2002.
- González, D.; R. Vilgalys; M. Cubeta: «Phylogenetics Utility of Indels Within Ribosomal DNA and β -Tubulin Sequences from Fungi in the *Rhizoctonia solani* Complex», *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40:459-470, Holanda, 2006a.
- González, V.; M. A. Portal-Onco; V. Rubio-Susan: «Review. Biology and systematics of the form Genus *Rhizoctonia*», *Spanish Journal of Agricultural Research* 4 (1):55-79, España, 2006b.
- Herrera, L.; M. Camara: *Bioecología y métodos de lucha contra hongos fitopatógenos del suelo en Cuba I*, monografía, Universidad Central de Las Villas, Cuba, 1988, pp. 15-28.
- Hietala, A. M.; R. Sen; A. Lilja: «Anamorphic and Teleomorphic Characteristics of a Uninucleate *Rhizoctonia* sp. Isolated from Roots of Nursery Grown Conifer Seedlings», *Micol. Res.* 98:1044-1050, Holanda, 1994.
- Hillis, D. M.; S. K. Davis: «Evolution of Ribosomal DNA: Fifty Million Years of Recorded History in the Frog Genus *Rana*», *Evolution* 40:1275-1288, EE.UU., 1986.
- Hsiang, T.; J. D. Dean: «DNA Sequencing for Anastomosis Grouping of *Rhizoctonia solani* Isolates from *Poa annua*», *International Turfgrass Society Research Journal* 9:674-678, Canadá, 2001.
- Hyakumachi, M.; A. Priyatmojo; M. Kubota; H. Fukui: «New Anastomosis Groups, AG-T and AG-U, of Binucleate *Rhizoctonia* spp. Causing Root and Stem Rot of Cut-Flower and Miniature Roses», *Phytopathology* 95(7):784-792, EE.UU., 2005.
- Iturralde, M. J.; S. Ballester; F. Ramón: «Retos en el diagnóstico de las intoxicaciones por setas», Simposio de Toxicología en homenaje a Manuel Repetto, Sesión IV, *Rev. Toxicol.* 19:97-144, España, 2002.
- Jajabi-Hare, S. H.; Y. Meller; S. Gill; P. M. Charest: «Investigation of Genetics Relatedness Among Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* Using Cloned DNA Probes», *Can. J. Plant Pathol.* 12:393-404, 1990.
- Johnk, J. S.; R. K. Jones: «Differentiation of Population of AG-2-2 of *Rhizoctonia solani* by Analysis of Fatty Acids», *Phytopathology* 83:278-283, EE.UU., 1993.
- Kistler, H. C.; P. W. Bosland; U. Benny; S. Leong; P. H. Williams: «Relatedness of Strains of *Fusarium oxysporum* from Crucifers Measured by Examination of Mitochondrial and Ribosomal DNA», *Phytopathology* 77:1289-1293, EE.UU., 1987.
- Klassen, G. R.; S. A. McNabb; M. W. Dick: «Comparison of Physical Maps of Ribosomal DNA Repeating Units in *Pythium*, *Phytophthora* and *Apodachya*», *J. Gen. Microbiol.* 133:2953-2959, Inglaterra, 1987.
- Kuninaga, S.; R. Yokosawa: «A comparison of DNA Base Composition Among Anastomosis Groups in *Rhizoctonia solani*», *Annu. Phytopathol. Soc. Japón* 46:150-158, 1980.
- : «DNA Base Sequence Homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn V. Genetics Relatedness with AG-6», *Annu. Phytopathol. Soc.* 50:346-352, Japón, 1984.

- Kuninaga, S.; R. Yokosawa: «DNA Base Sequence Homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn VII. Genetics Relatedness with AG-BI and Others Anastomosis Groups», *Annu. Phytopathol. Soc.* 51:133-138, Japón, 1985.
- Kuninaga, S.; T. Natsuaki; T. Takeuchi; R. Yokosawa: «Sequence Variation of the rDNA its Regions Within and Between Anastomosis Groups in *Rhizoctonia solani*», *Current Genetics* 32:237-243, Alemania, 1997.
- Laroche, J. P.; S. Jabaji-Hare; P. M. Charest: «Differentiation of Two Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* by Isozyme Analysis», *Phytopathology* 82:1387-1393, EE.UU., 1992.
- Leiner, R. H.; D. E. Carling: «Characterization of *Waitea circinata* (*Rhizoctonia*) Isolated from Agricultural Soils in Alaska», *Plant Dis* 78:385-388, EE.UU., 1994.
- Liu, Z. L.; J. B. Sinclair; W. Chen: «Genetics Diversity of *Rhizoctonia solani* Anastomosis Group 2», *Phytopathology* 82:778-787, EE.UU., 1992.
- Liu, Z. L.; J. B. Sinclair: «Differentiation of Intraspecific Groups Within Anastomosis Group I of *Rhizoctonia solani* Using Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer and Isozyme Analysis», *Can. J. Plant pathol.* 12:376-382, Canadá, 1993.
- Liu, Z. L.; L. L. Domier; J. B. Sinclair: «ISG-Specific Ribosomal DNA Polymorphism of the *Rhizoctonia solani* Species Complex», *Mycologia* 85 (5):795-800, EE.UU., 1993.
- Lubeck, M.; H. Poulsen: «UP-PCR Cross Blot Hybridization as a Tool for Identification of Anastomosis Groups in the *Rhizoctonia solani* Complex», *FEMS Microbiology Letters* 9999:1-7 Elsevier, Holanda, 2001.
- MacNish, G. C.; D. E. Carling; K. A. Brainard: «Characterization of *Rhizoctonia solani* AG-8 from Bare Patches by Pectic Isozyme (Zymogram) and Anastomosis Techniques», *Phytopathology* 83:922-927, EE.UU., 1993.
- Marcus, L.; I. Barash; B. Sneh; Y. Koltin; A. Finkler: «Purification and Characterization of Pectinolytic Enzymes Produced by Virulent and Hypovirulent Isolates of *Rhizoctonia solani* Kuhn», *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 29:325-336, Inglaterra, 1986.
- Marín, G. D.: «Elementos para el manejo de patógenos de suelo en semilleros de tabaco con tecnología de bandejas flotantes». Tesis en opción al título de Maestro en Microbiología, Inisav, La Habana, 2003.
- Matthew, J.; M. Herdina; D. Whisson: «DNA Probe Specific to *Rhizoctonia solani* Anastomosis Group 8», *Mycol. Res.* 99:745-750, Holanda, 1995.
- Minter, D. W.; H. M. Rodríguez; P. J. Mena: *Fungi of the Caribbean*, PDMS Publishing, Inglaterra, 2001.
- Moore, R. T.: «The Genera of *Rhizoctonia*-Like Fungi: *Ascorhizoctonia*, *Ceratorhiza* gen. nov., *Epulorhiza* gen. nov., *Moniliopsis*, and *Rhizoctonia*», *Mycotaxon* 29:91-99, EE.UU., 1987.
- : «The Dolipore/Parentosome Septum in Modern Taxonomy», B. Sneh, S. Jajabi-Hare, S. Neate, G. Dijst: *Rhizoctonia species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Diseases Control*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda, 1996.
- Mordue, J. E.: *CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*, No. 406, Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Institute, Inglaterra, 1974.
- Mordue, J. E. M.; R. S. Currah; P. D. Bridge: «An Integrated Approach to *Rhizoctonia* Taxonomy: Cultural, Biochemical and Numerical Techniques», *Micological Research* 92:78-90, Holanda, 1989.
- Ogoshi, A.; M. Oniki; T. Araki; T. Ui: «Studies of the Anastomosis Groups of Binucleate *Rhizoctonia* and Their Perfect States», *Journal of the Faculty of Agriculture* 61(2):244-260, Japón, 1983a.
- : «Anastomosis Groups of Binucleate *Rhizoctonia* in Japan and North America and Their Perfect States», *Trans Mycol. Soc.* 24: 79-87, Japón, 1983b.
- Ogoshi, A.: «Ecology and Pathogenicity of Anastomosis and Intraspecific Groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn.», *Annu. Rev. Phytopathol.* 25:125-143, EE.UU., 1987.
- Parmerter, J. R.; H. S. Whitney; W. D. Platt: «Affinities of Some *Rhizoctonia* Species that Resemble Mycelium of *Thanatephorus cucumeris*», *Phytopathology* 57:218-223, EE.UU., 1967.
- Parmerter, J. R.: *Rhizoctonia solani: Biology and Pathology*, University of California Press. Berkeley, CA, EE.UU., 1970.
- Parmerter, J. R.; H. S. Whitney: «Taxonomy and Nomenclature of the Imperfect State. *Rhizoctonia solani: Biology and Pathology*, University of California Press. Berkeley, CA, EE.UU., 1970, pp 7-19.
- Perdomo, R.; A. Hernández; A. González; J. Pineda; J. Alezones: «Caracterización y evaluación de virulencia en aislamientos de *Rhizoctonia solana* Kuhn, causante de la mancha bandeada en maíz», *Interciencia* 32:48-55, Venezuela, 2007.
- Priyatmojo, A.; V. E. Escopala; N. G. Tangonan; C. B. Pascual; H. Suga; K. Kageyama; M. Hyakumachi: «Characterization of a New Subgroup of *Rhizoctonia solani* Anastomosis Group 1 (AG-1-ID), Causal Agent of a Necrotic Leaf Spot on Coffee», *Phytopathology* 91:1054-1061, APS Press, EE.UU., 2001.
- Roberts, P.: *Rhizoctonia-Forming Fungi: a Taxonomy Guide*, Royal Botanical Gardens, Kew., Inglaterra, 1999.
- Rosewich, U.; B. A. McDonald: «DNA Fingerprinting in Fungi», *Meth. Mol. Cell. Biol.* 5:41-48, EE.UU., 1994.
- Salazar, O.; J. H. Schneider; M. C. Julian; J. Keijer; V. Rubio: «Phylogenetic Subgrouping of *Rhizoctonia solani* AG 2 Isolates Based on Ribosomal ITS Sequences», *Mycologia* 91:459-467, EE.UU., 1999.
- Salazar, O.; M. C. Julian; M. Hyakumachi; V. Rubio: «Phylogenetic Grouping of Cultural Types of *Rhizoctonia solani* AG 2-2 Based on Ribosomal ITS Sequences», *Mycologia* 92:505-509, EE.UU., 2000.
- Sandoval, I.; M. Sáenz: «Estudio preliminar del biocontrol de *Phytophthora nicotianae* y *Rhizoctonia solani* en tabaco mediante *Trichoderma* spp.», Resúmenes Biotecnología Habana'92, La Habana, 8-12 junio, 1992.
- Sandoval, I.; M. O. López: «Hiperparasitismo de *Trichoderma harzianum*, *T. viride* y *T. pseudokoningii* sobre diferentes hongos fitopatógenos», *Fitosanidad* 5(1):41-44, Cuba, 2001.
- Sandoval, I.; M. O. López; M. Stefanova; B. Bernal; M. Neyra; D. García; F. Rodríguez: «Hongos que causan damping off en el tomate y control con *Trichoderma harzianum* cepa A 34 para el manejo integrado de plagas en el cultivo en Cuba», IV Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, Libro de Resumen, Varadero, 11-15 junio, 2001.
- Sneh, B.; L. Burpee; A. Ogoshi: *Identification of Rhizoctonia species*, The American Phytopathological Society, APS Press, EE.UU., 1991.
- Sneh, B.; S. Jajabi-Hare; S. Neate; G. Dijst: *Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Diseases Control*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda, 1996.
- Stalpers, J. A.; T. F. Anderson: «A Synopsis of the Taxonomy of Teleomorphs Connected with *Rhizoctonia* s.l.», B. Sneh, S. Jajabi-Hare, S. Neate, G. Dijst: *Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Diseases Control*, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Holanda, 1996.
- Toda, T.; M. Hyakumachi; H. Suga; K. Kageyama; A. Tanaka; T. Tani: «Differentiation of *Rhizoctonia* AG-D isolates from Turfgrass Into Subgroups I and II Based on rDNA and RAPD Analysis», *Eur J. Plant. Pathol.* 105:835-846, Alemania, 1999.
- Toda, T.; T. Mushika; T. Hayawaka; A. Tanaka; T. Tani; M. Hyakumachi: «Brown Ring Patch: a New Disease on Bentgrass Caused by *Waitea circinata* var. *circinata*», *Plant Dis* 89:536-542, EE.UU., 2005.
- Vilgalys, R.: «Genetics Relatedness Among Anastomosis Groups in *Rhizoctonia solani* as Measured by DNA/DNA Hybridization», *Phytopathology* 78:698-702, EE.UU., 1988.

- Vilgalys, R.; D. González: «Organization of Ribosomal DNA in the Basidiomycete *Thanatephorus praticola*», *Curr. Genet.* 18:277-280, Alemania, 1990a.
- : «Ribosomal DNA Restriction Fragment Length Polymorphisms in *Rhizoctonia solani*», *Molecular Plant Pathology* 80 (2):151-158, EE.UU., 1990b.
- Vilgalys, R.; M. Cubeta: «Molecular Systematics and Population Biology of *Rhizoctonia*», *Annual Review of Phytopathology* 32:135-155, EE.UU., 1994.
- Weinhold, A. R.; J. B. Sinclair: «*Rhizoctonia solani*: Penetration, Colonization and Host Response», Sneh B, Jajabi-Hare S, Neate S, Dijkstra G.: *Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Diseases Control*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda, 1996.
- White, T. J.; T. Bruns; S. Lee; J. W. Taylor: «Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics», *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, San Diego. Academic Press, EE.UU., 1990, pp. 315-322.
- Yang, H. A.; K. Sivasithamparam; J. E. Barton; P. A. O'Brien: «Characterization of Cereal Bare Match Isolates of *Rhizoctonia solani* by Random Amplified Polymorphic DNA Analysis», *Plant Pathol.* 44:811-818, EE.UU., 1995.