Rhizoctonia 属菌における菌糸融合群判定および集団遺伝学解析のための分子マーカー

荒川 征夫^{1*}・稲垣 公治¹

ARAKAWA, M.^{1*} and INAGAKI, K.² (2014). Molecular markers for genotyping anastomosis groups and understanding the population biology of *Rhizoctonia* species.

Key words: *Rhizoctonia*, anastomosis groups, microsatellite, phylogeography

I. はじめに

Rhizoctonia 属菌は、農耕地・非農耕地を問わず世界中の土壤に広く分布し、植物に対する病原菌、共生菌あるいは腐生菌として多様な生活を行っている。中には主要作物に重大な被害を引き起こす種あるいは分類群が含まれるため(国永, 2002; 国永, 2003; Naito and Sugimoto, 1978; Ogoshi, 1987; Sharon *et al.*, 2006; Sharon *et al.*, 2008), 本属菌による病害に対する防除法確立は重要な課題となっている。

Rhizoctonia 属に分類される菌類はその形態的特徴差が乏しく、また交配実験系が完全には確立されていないため、種レベルの区別を明確に行うことが困難である。後述の通り、菌糸細胞内の核数や菌糸融合群(AG: anastomosis group)の判定が分類基準として広く受け入れられている(Cubeta and Vilgalys, 1997; 国永, 2002; MacNish *et al.*, 1993; Ogoshi and Ui, 1983; Ogoshi, 1987)。このような中、*Rhizoctonia* 属の種複合体をジェノタイピングすることで、系統識別を可能とする分子マーカーがここ二十数年間で飛躍的に整備されてきた(Cubeta and Vilgalys, 1997; González García *et al.*, 2006; McDonald, 1997)。さらに近年では、*Rhizoctonia* 属の特定の種内系統群あるいは分類群を対象とした、集団遺伝学解析用の分子マーカーが作成されつつある(Chaijuckam *et al.*, 2010; Ferrucho *et al.*, 2009; Zala *et al.*, 2008)。種あるいは亜種の単位で集団遺伝学的に病原菌を解析することで、伝染環における有性・無性的繁殖の依存度、系統地理学的な分布様式あ

るいはグローバルな遺伝子流動について評価することが可能である。本稿では*Rhizoctonia* 属菌の種複合体を対象とし、主に菌糸融合群の判定あるいは集団遺伝学の解析を目的として開発された分子マーカーについて、近年の研究動向を概観する。

II. 形態学的特徴に基づく分類

Rhizoctonia は無性世代の属名で、有性世代が担子菌亜門に分類される代表的な5属(*Thanatephorus*, *Ceratobasidium*, *Waitea*, *Sebacina* および *Tulasnella*)で構成される(Stalpers and Andersen, 1996)。*Rhizoctonia* 属菌に認められる形態的特徴として、(1) 菌糸の分岐は若い栄養菌糸における先端付近で起こり、(2) 分岐形成部近くの基部側に隔壁を生じ、(3) ドリボア隔壁を形成し、(4) かすがい連結(clamp connection)を形成せず、(5) じゅず状細胞(monilioid cell)を生じることはあるが分生子を形成せず、(6) 菌核内部は外皮と内層を分化せず、(7) 根状菌糸束を形成しないことがOgoshi (1987)によって取りまとめられている。

Rhizoctonia 属は土壌生息性の菌類であり、植物の種類とその栽培条件により根、茎、塊茎、球茎あるいはまれに葉に対し、激しい病的症状を引き起こす。一方、例えばラン科植物との間で菌根性の内部共生の関係を結ぶ*Rhizoctonia* 属菌も多く報告されている(Sharon *et al.*, 2008)。また土壤に含まれる有機物残渣から、腐生性を示す*Rhizoctonia* 属菌が高頻度に分離され、これらが生きた植物に対し明確な相

¹ 名城大学農学部 (〒468-8502 名古屋市天白区塩釜口1-501) Faculty of Agriculture, Meijo University, 1-501 Shiogamaguchi, Tempaku, Nagoya 468-8502, Japan

*Corresponding author (E-mail: aramasa@meijo-u.ac.jp)

この総説は先に Journal of General Plant Pathology の 80 巻 5 号の pp. 401 ~ 407 に掲載された総説 (<http://dx.doi.org/10.1007/s10327-014-0536-0>) の抄訳です。報文としてのプライオリティーは JGPP 掲載の総説にありますので、引用の際には本総説ではなく JGPP の総説を用いるようにご注意ください。

互作用を示さない場合もある。ただし傾向として、植物に何らかの病原性を示す *Rhizoctonia* 属菌は、有性世代が *Thanatephorus*, *Ceratobasidium* あるいは *Waitea* 属に該当することが多い (国永, 2002)。

Rhizoctonia 属菌の担子孢子が、宿主表面あるいはその地際部近くの土壌表面に形成される場合があるが、その役割は明確でない (Ogoshi, 1987)。ただし中には、担子孢子が宿主植物に感染能力を示す報告例もある (Naito and Sugimoto, 1978; Naito *et al.*, 1995; Priyatmojo *et al.*, 2001)。しかし、必ずしもすべての *Rhizoctonia* 属菌が自然条件下で子実層や担子孢子を容易に形成するとは限らない。一方、培養基質上に、有性世代を効率的に形成させる方法もあり、Ogoshi (1987) による土壌法として、分類学および交配生理学的研究を行う上で有用となっている。

罹病植物の病徴あるいは分離菌の培養的性状のみを頼りに、*Rhizoctonia* 属菌を正確に分類することは困難である。分離菌同士が示す細胞間の菌糸融合反応および栄養菌糸体の細胞内核数が本属菌を分類する際の重要な指標となる。対峙培養する菌株の菌糸接触部位で認められる相互作用の程度を光学顕微鏡で観察することにより、菌糸融合反応は計4つのカテゴリーに区別される (Cubeta and Vilgalys, 1997; MacNish *et al.*, 1993)。菌糸融合群 (AG) が異なる菌糸細胞同士では C0 もしくは C1 反応を示し、それぞれ無反応もしくは接触した菌糸のごく狭い範囲でまれに細胞死を起こす。これに対し、同一 AG の菌糸間では C2 もしくは C3 反応が観察される。このうち C2 反応は遺伝的に異なる菌糸細胞間の相互作用で生じる体細胞的不和合の結果引き起こされる死反応であり、不完全融合と表現されることがある。一方、C3 反応は完全融合とも表現され、遺伝的に同一あるいは極めて近似した (クローン性の高い) 細胞間で生じる和合反応である。個体群生態学の研究では、同一 AG の分離菌株間の対峙培養で C2 もしくは C3 反応を確認し、前者であれば個性が異なり、後者であれば同一個体として判別される (Cubeta and Vilgalys, 1997; Guo *et al.*, 2003; Guo *et al.*, 2006; Inagaki, 1998; Inagaki *et al.*, 2004; Ogoshi and Ui, 1983)。

新規に分離された *Rhizoctonia* 属菌を詳細に分類するには、まず菌糸細胞内核数が1核、2核あるいは3核以上の多核のいずれかを確認することが基本となる (国永, 2002)。有性世代 *Thanatephorus* 属は、栄養菌糸体に核が3つ以上確認されることから「多核 *Rhizoctonia*」と表現され、代表的な無性世代の種として *R. solani* が含まれる。*R. solani* における菌糸融合群の区別表記にはアラビア数字が用いられ、現在までに計13のAGが報告されている。なおAG-BIの表記も用いられ、これは bridging isolate または bridging group を意味し、

詳細な菌糸融合反応の観察や分子系統的な解析の結果、現在AG-2へ組み入れられている (Carling *et al.*, 2002)。有性世代 *Ceratobasidium* 属は1核もしくは2核細胞の菌糸体を形成する。*Ceratobasidium bicorne* は「1核 *Rhizoctonia*」であるが (Hietala *et al.*, 2001)、ほとんどの *Ceratobasidium* 属は「2核 *Rhizoctonia*」である。この *Ceratobasidium* 属に該当する2核 *Rhizoctonia* の菌糸融合群表記には、アルファベット文字が用いられている。現在までにAG-AからAG-Uまでが報告されているが、後の詳細な形態観察や分子系統的解析によりAG-JやAG-Mは除外されている (国永, 2002)。*Waitea* 属は「多核 *Rhizoctonia*」に分類されるが、上記 *Thanatephorus* 属と *Ceratobasidium* 属に対し、系統的に明らかな隔りがある (国永, 2002)。*Waitea* 属に分類される *Rhizoctonia* 属菌として、これまで *W. circinata* 種内に5つの変種 (variety) が報告されている。*W. circinata* var. *agrostis*, var. *circinata*, var. *oryzae*, var. *prodigus* および var. *zeae* があげられ、主にゴルフ場ターフでパッチ性病害の原因となる (Chen *et al.*, 2011; Kammerer *et al.*, 2011; Toda *et al.*, 2004)。これらのうち var. *oryzae* と var. *zeae* は、イネの葉鞘に腐敗性病害を起こす性質もある (Guo *et al.*, 2006; Inagaki *et al.*, 2004)。*Rhizoctonia* 属菌全体において、AGにはさらにサブグループ (亜群) が認められる場合があり、培養的および分子系統的な区別がなされている (国永, 2002)。特に近年、新規AGあるいは既知AG内のサブグループ分化の報告例が増加しており (Godoy-Lutz *et al.*, 2008; Hayakawa *et al.*, 2006; Hyakumachi *et al.*, 2005)、*Rhizoctonia* 属菌における種複合体の分類はさらに複雑化しつつある。

Rhizoctonia 属菌は一般に、多犯性の植物病原菌であることが知られている。例えば *R. solani* AG-4 は、様々な植物種の苗に立枯症状を引き起こす (Anderson, 1982; Ogoshi, 1987)。幼若な苗は抵抗性の確立が不十分なため、特に土壌からの出芽前後は病原体による腐生的な感染を受けやすいためと考えられる。これに対し、ある特定のAGまたはそのサブグループが、特定の植物種や科に対し、たとえ栄養生長的に成熟した個体であっても重篤な病気を引き起こす例も認められる。例えば *R. solani* AG-3 は主にナス科植物に病原性を示すなかで、ジャガイモ、タバコあるいはトマトなどの特定種に対し、遺伝的に分化したAG-3内のサブグループが、栽培環境に依存して選択的な感染性を示す例が報告されている (Ceresini *et al.*, 2007; Kuninaga *et al.*, 2000; 国永, 2003)。

近年の傾向として、*Ceratobasidium* (2核 *Rhizoctonia*) や *W. circinata* に属するこれまで未知の分類群が、新規病原菌として激しい病害を引き起こす例が相次いで報告されている (Chen *et al.*, 2011; Hayakawa *et al.*, 2006; Hyakumachi *et al.*,

2005; Kammerer *et al.*, 2011; Toda *et al.*, 2004). また *R. solani* AG-1 IA のイネ寄生性およびダイズ寄生性個体群間で検出される遺伝的な相違は、大きく変遷しつつある栽培環境への適応分化の結果であるとも推察されている (Bernardes de Assis *et al.*, 2008). これまでなかった栽培環境への種苗の導入、あるいは意図せず引き起こされる病原体のグローバルな伝搬は、新たな宿主-病原体の相互作用を生み出す場となり、その結果生じた高感受性の植物に重篤な被害を及ぼすことがある (Stukenbrock and McDonald, 2008). 温暖化を原因とする地球規模の気候変動、潜在的な宿主植物の導入あるいは化学物質の過剰施用による微生物叢の脆弱化などにより、世界中の食料生産環境は現在大きく変化しつつある。これらの変化により、生産圃場でまだ顕在化していない *Rhizoctonia* 属菌が、今後病原菌として環境適応する可能性が考えられる。農業生態系における環境要因の変化が、植物-病原体の相互作用に及ぼす影響について、より詳細に把握する必要がある。

III. 分子的特徴に基づく分類と診断

Rhizoctonia 属菌の分類で、菌糸融合群の概念が世界中で広く採用される理由の1つに、分子系統的な解析で各 AG やそれらのサブグループの遺伝的独立性がおおよそ支持されることがあげられる (国永, 2002; 国永, 2003). 表現型としての菌糸融合反応と、遺伝型としての分子系統関係が統合的に解釈されることで、*Rhizoctonia* 属菌による病害の診断技術は飛躍的に進歩しつつある。ITS 領域を含む rDNA の塩基配列を比較することで、各 AG のサブグループ分化やそれらの系統的差異を明確化することができ (Sharon *et al.*, 2008), 分類識別や診断検出のための分子マーカー設計に利用されている。

rDNA-ITS 領域の塩基配列において、*Rhizoctonia* 属菌全体で広く共通的に認められる特性として、単一菌株内におけるヘテロ性 (heterogeneity) があげられる (Ahvenniemi *et al.*, 2009; Boysen *et al.*, 1996; Chen *et al.*, 2009; Justesen *et al.*, 2003; Pannecoque and Hofte, 2009). ITS1 あるいは ITS2 領域に単塩基または数塩基の挿入・欠失配列が存在すると、同領域の PCR 産物を鋳型にダイレクトシーケンエンス解析を行う際、読取りフレームのシフトが生じ、配列の質が極端に低下する。このような場合、PCR 産物のクローニングを行うか、多重ピーク性のエレクトロフェログラムをソフトウェア的にデコードすることで (Dmitriev and Rakitov, 2008), ヘテロ性配列を区別することが可能である。

現在のところ農業生産でより問題視される AG およびサブグループが優先的ではあるが、*Thanatephorus*,

Ceratobasidium および *Waitea* 属の各分類群の rDNA-ITS あるいは -IGS 領域に対する特異的な PCR 用プライマーが整備されつつある (Arakawa and Inagaki, 2014; Godoy-Lutz *et al.*, 2008; Johanson *et al.*, 1998; Justesen *et al.*, 2003; Lees *et al.*, 2002; Matsumoto, 2002; Okubara *et al.*, 2008; Saylor and Yang, 2007; Toda *et al.*, 2004). これらのプライマーセットを組み合わせることで、分離菌の AG やサブグループをジェノタイプ識別するだけでなく、植物や土壌を試料とした病原菌の診断検出に利用することができる。ただし塩基配列情報のみを鵜呑みにせず、標準菌株との間で菌糸融合反応を確認するようにしなければ、正確な AG 判定が出来ないだけでなく、未報告分類群の発生を見逃しかねない。これらの分子的識別技術をさらに発展させ、リアルタイム PCR 法 (Q-PCR) のためのプライマーあるいは分子プローブを開発し、生産現場の試料に含まれる AG やサブグループを定量的に診断することが可能となっている (Lees *et al.*, 2002; Okubara *et al.*, 2008; Saylor and Yang, 2007). 病原菌の定量的検出手法により、発病に関わる接種源量のしきい値が判定可能となり、病害防除手段を決定する際の有用な情報になると期待される。

IV. 集団遺伝学と系統地理学のための分子マーカー

植物病原菌の生活様式を個体群生態学の観点で明らかにするうえで、集団遺伝学的解析手法が極めて有用であることを McDonald (1997) は概説した。*Rhizoctonia* 属菌においても、種や分類群レベルだけでなく分離菌株ごとに (個体レベルで) 遺伝型を判定するための分子マーカーが数多く開発されている。遺伝的多様性を個体群レベルで評価する方法として、*Rhizoctonia* 属菌では具体的にこれまでアイソザイム型、菌体内脂肪酸組成、制限酵素断片長多型 (RFLP) あるいは RAPD や AFLP 等の DNA フィンガープリント解析法が適用されてきた (Cubeta and Vilgalys, 1997; González García *et al.*, 2006).

さらにこの十年間で、マイクロサテライト (SSR : simple sequence repeats) 遺伝子座を利用した種特異的分子マーカーの有用性が、菌類遺伝学の分野でも急増した (Lim *et al.*, 2004). Zala *et al.* (2008) は、*R. solani* AG-1 IA を対象に 10 の SSR 遺伝子座を同定し、これらをマーカーに用いることで集団遺伝学および系統地理学的解析が可能であることを見出した。1915 年にイネ紋枯病菌がはじめて報告されてより約 100 年経過した現在、*R. solani* AG-1 IA はトウモロコシやダイズを含む主要作物に大被害を与える病原菌として世界中で問題視されている (Bernardes de Assis *et al.*, 2008; Bernardes-de-Assis *et al.*, 2009; Ciampi *et al.*, 2008; González-Vera *et al.*, 2010; Zheng *et al.*, 2013). 上記の SSR マーカーを

集団遺伝学解析に用いることで、例えばブラジルでダイズ葉腐病を引き起こす *R. solani* AG-1 IA は、地理的移動経路の方向性が示された (Ciampi *et al.*, 2008). さらに中南米諸国 (González-Vera *et al.*, 2010) および北米 (Bernardes de Assis *et al.*, 2008) におけるイネとトウモロコシ栽培の混在地域で、それぞれの植物種に対する *R. solani* AG-1 IA の寄生性分化が歴史的に発生した可能性が示唆された。さらにこの SSR 遺伝子座のアリール構成を比較することで、ルイジアナ州に分布する *R. solani* AG-1 IA ダイズ由来個体群はイネ由来個体群に比べ、よりクローン (無性) 的に増殖分散していることが示された。各 SSR 遺伝子座におけるヘテロ接合性頻度を求めることで、個体群のハーディ・ワインベルグ平衡状態 (HWE) や配偶子平衡状態を検定することができる。これらの検定により、北米 (Bernardes de Assis *et al.*, 2008) や中国 (Bernardes-de-Assis *et al.*, 2009) に分布する *R. solani* AG-1 IA イネ個体群は、有性交雑における自由交配をおこなっている可能性が強く示唆された。

R. solani AG-1 IA の分離菌株について全ゲノム解析が行われたことで (Zheng *et al.*, 2013), *Rhizoctonia* 属菌による植物病害の解析モデルが飛躍的に進展すると予想される。全ゲノム配列情報により集団遺伝学解析にもたらされる1つの恩恵として、SSR マーカーの作成があげられる。ジャガイモ黒あざ病菌 *R. solani* AG-3 についても、多型性を示す SSR 遺伝子座が *in silico* で検出利用されている (Ferrucho *et al.*, 2009; Ferrucho *et al.*, 2013). 他にイネ褐色菌核病菌 (2核 *Rhizoctonia* AG-Bb: syn. *R. oryzae-sativae*) 用に開発された SSR マーカーによる解析の結果、イネ栽培地域内の病原菌の伝染に担子胞子が重要な役割を果たす可能性が示唆されている (Chaijuckam *et al.*, 2010). このように集団遺伝学解析用の分子マーカーを開発利用することで、植物病原菌の地理的な移動経緯、交配状態および農業生態系の環境変化に対する適応分化の評価が可能になると期待される。

謝 辞

本稿の執筆にあたり、スイス連邦工科大学チューリッヒ校 Bruce A. McDonald 教授および同 Paulo C. Ceresini 博士 (現ブラジル UNESP) に多大なご助力を頂いた。記して謝意を述べる。

引用文献

Ahvenniemi, P., Wolf, M., Lehtonen, M.J., Wilson, P., German-Kinnari, M. and Valkonen, J.P.T. (2009). Evolutionary diversification indicated by compensatory base changes in ITS2 secondary structures in a complex fungal species, *Rhizoctonia solani*. J. Mol. Evol. 69: 150–163.

Anderson, N. (1982). The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. Annu. Rev. Phytopathol. 20: 329–347.

Arakawa, M. and Inagaki, K. (2014). Molecular markers for genotyping anastomosis groups and understanding the population biology of *Rhizoctonia* species. J. Gen. Plant Pathol. 80: 401–407.

Bernardes de Assis, J., Peyer, P., Rush, M.C., Zala, M., McDonald, B.A. and Ceresini, P.C. (2008). Divergence between sympatric rice- and soybean-infecting populations of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-1 IA. Phytopathology 98: 1326–1333.

Bernardes-de-Assis, J., Storari, M., Zala, M., Wang, W., Jiang, D., Shidong, L., Jin, M., McDonald, B.A. and Ceresini, P.C. (2009). Genetic structure of populations of the rice-infecting pathogen *Rhizoctonia solani* AG-1 IA from China. Phytopathology 99: 1090–1099.

Boysen, M., Borja, M., del Moral, C., Salazar, O. and Rubio, V. (1996). Identification at strain level of *Rhizoctonia solani* AG4 isolates by direct sequence of asymmetric PCR products of the ITS regions. Curr. Genet. 29: 174–181.

Carling, D.E., Kuninaga, S. and Brainard, K.A. (2002). Hyphal anastomosis 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.

Ceresini, P.C., Shew, H.D., James, T.Y., Vilgalys, R.J. and Cubeta, M.A. (2007). Phylogeography of the Solanaceae-infecting Basidiomycota fungus *Rhizoctonia solani* AG-3 based on sequence analysis of two nuclear DNA loci. BMC Evol. Biol. 7: 163.

Chaijuckam, P., Baek, J.M., Greer, C.A., Webster, R.K. and Davis, R.M. (2010). Population structure of *Rhizoctonia oryzae-sativae* in California rice fields. Phytopathology 100: 502–510.

Chen, C.-M., de la Cerda, K.A., Kaminski, J.E., Douhan, G.W. and Wong, F.P. (2009). Geographic distribution and rDNA-ITS region sequence diversity of *Waitea circinata* var. *circinata* isolated from annual bluegrass in the United States. Plant Dis. 93: 906–911.

Chen, C.M., Douhan, G.W. and Wong, F.P. (2011). First report of basal leaf blight of kikuyugrass caused by *Waitea circinata* var. *prodigiosa* in southern California. Plant Dis. 95: 767.

Ciampi, M.B., Meyer, M.C., Costa, M.J., Zala, M., McDonald, B.A. and Ceresini, P.C. (2008). Genetic structure of populations of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-1 IA from soybean in Brazil. Phytopathology 98: 932–941.

Cubeta, M.A. and Vilgalys, R. (1997). Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. Phytopathology 87: 480–484.

Dmitriev, D. and Rakitov, R. (2008). Decoding of superimposed traces produced by direct sequencing of heterozygous indels. PLoS Comput. Biol. 4: e1000113.

Ferrucho, R.L., Zala, M., Zhang, Z., Cubeta, M.A., Garcia-Dominguez, C. and Ceresini, P.C. (2009). Highly polymorphic in silico-derived microsatellite loci in the potato-infecting fungal pathogen *Rhizoctonia solani* anastomosis group 3 from the Colombian Andes. Mol. Ecol. Res. 9: 1013–1016.

Ferrucho, R.L., Ceresini, P.C., Ramirez-Escobar, U.M., McDonald, B.A., Cubeta, M.A. and García-Domínguez, C. (2013). The population genetic structure of *Rhizoctonia solani* AG-3PT

- from potato in the Colombian Andes. *Phytopathology* 103: 862–869.
- Godoy-Lutz, G., Kuninaga, S., Steadman, J.R. and Powers, K. (2008). Phylogenetic analysis of *Rhizoctonia solani* subgroups associated with web blight symptoms on common bean based on ITS-5.8S rDNA. *J. Gen. Plant. Pathol.* 74: 32–40.
- González García, V., Onco, P. and Rubio, S.V. (2006). Review. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. *Span. J. Agric. Res.* 4: 55–79.
- González-Vera, A.D., Bernardes-de-Assis, J., Zala, M., McDonald, B.A., Correa-Victoria, F., Graterol-Matute, E.J. and Ceresini, P.C. (2010). Divergence between sympatric rice- and maize-infecting populations of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA from Latin America. *Phytopathology* 100: 172–182.
- Guo, Q., Ogasawara, T., Arakawa, M. and Inagaki, K. (2003). Annual changes in the number of vegetative compatibility groups of rice sheath blight fungus, *Rhizoctonia solani* AG-1 (IA), in a paddy field. *Jpn. J. Phytopathol.* 69: 212–219.
- Guo, Q., Kamio, A., Sharma, B.S., Sagara, Y., Arakawa, M. and Inagaki, K. (2006). Survival and subsequent dispersal of rice sclerotial disease fungi, *Rhizoctonia oryzae* and *Rhizoctonia oryzae-sativae*, in paddy fields. *Plant Dis.* 90: 615–622.
- Hayakawa, T., Toda, T., Ping, Q., Mghalu, J.M., Yaguchi, S. and Hyakumachi, M. (2006). A new subgroup of *Rhizoctonia* AG-D, AG-D III, obtained from Japanese zoysia grass exhibiting symptoms of a new disease. *Plant Dis.* 90: 1389–1394.
- Hietala, A.M., Vahala, J. and Hantula, J. (2001). Molecular evidence suggests that *Ceratobasidium bicorne* has an anamorph known as a conifer pathogen. *Mycol. Res.* 98: 555–562.
- Hyakumachi, M., Priyatmojo, A., Kubota, M. and Fukui, H. (2005). 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: 784–792.
- Inagaki, K. (1998). Dispersal of rice sheath blight fungus, *Rhizoctonia solani* AG-1 (IA), and subsequent disease development in paddy fields, from survey of vegetative compatibility groups. *Mycoscience* 39: 391–397.
- Inagaki, K., Guo, Q. and Arakawa, M. (2004). Overwintering of rice sclerotial disease fungi, *Rhizoctonia* and *Sclerotium* spp. in paddy fields in Japan. *Plant Pathol. J.* 3: 81–87.
- Johanson, A., Turner, H.C., McKay, G.J. and Brown, A.E. (1998). A PCR-based method to distinguish fungi of the rice sheath-blight complex, *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae* and *R. oryzae-sativae*. *FEMS Microbiol. Lett.* 162: 289–294.
- Justesen, A.F., Yohalem, D., Bay, A. and Nicolaisen, M. (2003). Genetic diversity in potato field populations of *Thanatephorus cucumeris* AG-3, revealed by ITS polymorphism and RAPD markers. *Mycol. Res.* 107: 1323–1331.
- Kammerer, S.J., Burpee, L.L. and Harmon, P.F. (2011). Identification of a new *Waitea circinata* variety causing basal leaf blight of seashore paspalum. *Plant Dis.* 95: 515–522.
- Kuninaga, S., Carling, D., Takeuchi, T. and Yokosawa, R. (2000). Comparison of rDNA-ITS sequences between potato and tobacco strains in *Rhizoctonia solani* AG-3. *J. Gen. Plant. Pathol.* 66: 2–11.
- 国永史朗 (2002). *Rhizoctonia* 属菌および *Rhizoctonia* 種複合体の分類学の現状. *日植病報* 68: 61–68.
- 国永史朗 (2003). *Rhizoctonia solani* における菌糸融合による分類の現状. *植物防疫* 57: 219–222.
- Lees, A., Cullen, D., Sullivan, L. and Nicolson, M. (2002). Development of conventional and quantitative real-time PCR assays for the detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG-3 in potato and soil. *Plant Pathol.* 51: 293–302.
- Lim, S., Notley-McRobb, L., Lim, M. and Carter, D. (2004). A comparison of the nature and abundance of microsatellites in 14 fungal genomes. *Fungal Genet. Biol.* 41: 1025–1036.
- MacNish, G.C., Carling, D.E. and Brainard, K.A. (1993). Characterization of *Rhizoctonia solani* AG-8 from rare patches by pectic isozymes (zymogram) and anastomosis techniques. *Phytopathology* 83: 922–927.
- Matsumoto, M. (2002). Trials of direct detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG 1 and AG 2 subgroups using specifically primed PCR analysis. *Mycoscience* 43: 185–189.
- McDonald, B.A. (1997). The population genetics of fungi: tools and techniques. *Phytopathology* 87: 448–453.
- Naito, S. and Sugimoto, T. (1978). Basidiospore infection and lesion development on sugar beet leaves by *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 44: 426–431.
- Naito, S., Mochida, H., Nakajima, T. and Ohto, Y. (1995). Infection with basidiospores of *Thanatephorus cucumeris* (AG 2-3 of *Rhizoctonia solani*) and development of soybean foliar blight lesions. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 61: 362–368.
- Ogoshi, A. and Ui, T. (1983). Diversity of clones within an anastomosis group of *Rhizoctonia solani* Kühn in a field. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 49: 239–245.
- Ogoshi, A. (1987). Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. *Annu. Rev. Phytopathol.* 25: 125–143.
- Okubara, P.A., Schroeder, K.L. and Paulitz, T.C. (2008). Identification and quantification of *Rhizoctonia solani* and *R. oryzae* using real-time polymerase chain reaction. *Phytopathology* 98: 837–847.
- Pannecouque, J. and Hofte, M. (2009). Detection of rDNA ITS polymorphism in *Rhizoctonia solani* AG 2-1 isolates. *Mycologia* 101: 26–33.
- Priyatmojo, A., Escopalao, V.E., Tangonan, N.G., Pascual, C.B., Suga, H., Kageyama, K. and Hyakumachi, M. (2001). 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.
- Sayler, R.J. and Yang, Y. (2007). Detection and quantification of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA, the rice sheath blight pathogen, in rice using real-time PCR. *Plant Dis.* 91: 1663–1668.
- Sharon, M., Kuninaga, S., Hyakumachi, M. and Sneh, B. (2006). The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. *Mycoscience* 47: 299–316.
- Sharon, M., Kuninaga, S., Hyakumachi, M., Naito, S. and Sneh, B. (2008). Classification of *Rhizoctonia* spp. using rDNA-ITS sequence analysis supports the genetic basis of the classical anastomosis grouping. *Mycoscience* 49: 93–114.
- Stalpers, J.A. and Andersen, T.F. (1996). A synopsis of the taxonomy of teleomorphs connected with *Rhizoctonia* SL. In *Rhizoctonia*

- Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control (Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate, S. and Dijst, G., eds). pp. 49–63, Kluwer, Dordrecht.
- Stukenbrock, E.H. and McDonald, B.A. (2008). The origins of plant pathogens in agro-ecosystems. *Annu. Rev. Phytopathol.* 46: 75–100.
- Toda, T., Mghalu, J., Hayakawa, T. and Hyakumachi, M. (2004). Development of specific primers for each variety of *Rhizoctonia circinata*. *Inoculum* 55: 36–37.
- Zala, M., McDonald, B., Bernardes de Assis, J., Ciampi, M., Storari, M., Peyer, P. and Ceresini, P. (2008). Highly polymorphic microsatellite loci in the rice-and maize-infecting fungal pathogen *Rhizoctonia solani* anastomosis group 1 IA. *Mol. Ecol. Res.* 8: 686–689.
- Zheng, A., Lin, R., Zhang, D., Qin, P., Xu, L., Ai, P., Ding, L., Wang, Y., Chen, Y., Liu, Y., Sun, Z., Feng, H., Liang, X., Fu, R., Tang, C., Li, Q., Zhang, J., Xie, Z., Deng, Q., Li, S., Wang, S., Zhu, J., Wang, L., Liu, H. and Li, P. (2013). The evolution and pathogenic mechanisms of the rice sheath blight pathogen. *Nat. Commun.* 4: 1424.