

AFLP를 이용한 *Rhizoctonia solani* 균주들의 분자계통학적 특성규명

최혜선¹ · 김경수 · 김희종 · 이윤수*

강원대학교 농업생명과학대학 식물응용과학부, ¹인천대학교 자연과학대학 생물학과

Rhizoctonia solani 분류를 위해 균사의 anastomosis group과 phylogenetic group간의 유전적 차이의 분석을 위해 AFLP를 실시하였다. 그 결과, 각 집단의 유사도는 크게 5집단으로 나뉘어졌다. 균주 9와 균주 20은 0.777를 나타내며 AG-5 group에 속하였고 균주 6은 균주 24와 0.670으로 AG-3 group에 속하였다. 균주 3은 균주 13과 0.844, 균주 10과 0.833의 높은 상동성을 보이며 AG-2-2 group에 속하였다. 균주 2는 균주 11과 0.744, 균주 3은 균주 13과 0.844, 균주 4는 균주 5와 0.870, 균주 5는 균주 16과 0.833을 나타내며 AG-1 group에 속하였다. 균주 7은 균주 8과 0.837의 높은 상동성을 나타내고, 균주 8은 AG-1(I B)와 0.751를 나타냈고, 균주 1과 균주 7, 8은 AG-1(I B)에 속하였다.

Key words □ AFLP, molecular systematics, *Rhizoctonia solani*

*Rhizoctonia*는 전세계적으로 넓은 기주 범위를 가지는 토양식물 병원균이며, 이들 균주들의 형태적, 생리적 특성과 병원성 등이 매우 다양하여 체계적인 분류와 연구가 매우 힘든 균류로 알려져 있다(21). 세포학적으로 *R. solani* Kuhn[teleomorph= *Thanatephorus cucumeris*(Frank) Donk]는 다핵성의 균사에 의해 다른 종과 구별된다(21,26,27). *R. solani* complex는 형태학적 특성과 병원성 등에 대한 연구를 토대로 4종 또는 그 이상의 다소 유연관계가 있는 곰팡이들의 복합체로서 인지되고 있다(19,26,27). 종내 그룹의 분류는 균사 융합(anastomosis group)과 배양형태(culture type)적 특성이 많이 이용되고 있으며, 현재까지 세계적으로 12개의 균사융합군(AG-1, AG-2-1, AG-2-2, AG-3, AG-4, AG-5, AG-6, AG-7, AG-8, AG-B1, AG-9, AG-10)이 보고되어 있으며(3,18,19,22), 이들은 배양형태에 따라 AG-1은 IA, IB 그리고 IC로 AG-2-2는 IIIB, IV의 아그룹(subgroup)으로 나뉘어졌다(1,6,13). AG(anastomosis group)는 또한 teleomorph genera *Ceratobasidium*(5)과 *Waitea*(20)의 종내 변이체의 분류에 유용한 방법으로 이용되고 있다. Sherwood(25)는 AG1~AG4를 연구하여 AG 간에 생리적, 형태적 특성에 상당한 차이가 있음을 밝혔으며 이는 혈청학적 분석(1), 단백질 분석(23), DNA분석(14)에서도 같은 결과를 보였으며 이를 통해 AG 간에는 상당한 유전적 차이가 있음을 제시했다. 분자 생물학의 발달과 더불어 많은 실험 기술 등이 적용됐으며 그중 rRNA 유전자의 sequence는 곰팡이류의 다양한 유전적 특성과 분류학적 관계 및 병원성을 이해하는데 효과적인 방법으로 적용되었다(4,8,15,16,17). 분자생물학적 방법을 이용한 *R. solani* rRNA 유전자의 분석은 분류학, 계통발생학, 그리고 진단방법의 발전을 가져왔으며 *R. solani*의 AG와 subgroup

사이의 유전적 차이는 Southern hybridization(2, 3)과 RAPD방법(9), isozyme(10), rDNA PCR-RFLP(7, 12) 방법 등으로 증명되어져 왔다. 본 연구에서는 *R. solani*를 분자생물학적 방법인 AFLP 기법(11)을 사용하여 유전 특성과 AGs의 간에 동정을 분석하였다.

재료 및 방법

Rhizoctonia solani 균주배양

본 실험에 사용한 균주는 한국화학연구소와 농업과학기술원에서 분양받은 균주와 각종 작물의 이병 조직에서 직접 분리한 균주들을 사용하였다(Table 1). *R. solani* 균주를 gallic acid 선택배지 상에서 배양하였으며, 선택배지에서 자란 *R. solani*를 PDA 배지상에 옮겨 계대 배양하였다. PDA 배지에서 7일간 자란 균주를 PDB(Potato Dextrose Broth)배지에 cork borer를 이용하여 접종한 후 25°C에서 15일간 120rpm으로 진탕배양 하였다.

Genomic DNA의 분리

*R. solani*의 genomic DNA를 추출하기 위해서 PDB 배지에서 15일간 자란 균사를 사용하였다. 광목천으로 균사를 거른후 균사의 배지 성분을 제거하기 위해 멸균수로 2-3회 세척하여 균사를 동결 건조하였다. 동결 건조된 균사를 액체 질소를 이용하여 마쇄하여 멸균된 50 ml tube에 넣어 -70°C 냉동고에 보관하면서 사용하였다. DNA의 추출은 마쇄된 균사 5 g에 lysis buffer(50 mM Tris-HCl, pH 8.0; 50 mM EDTA, pH 8.0; 3% sodium dodecyl sulfate; 1% 2-mercaptoethanol) 10 ml(W/V)을 넣고 68°C 항온 수조에서 1시간 동안 반응시킨 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리한 후 상등액을 취하여 phenol/chloroform/isoamylalcohol(25:24:1)과 chloroform/isoamyl-alcohol(24:1) 처리과정을 순차적으로 1회씩 처리한 후, 13,000 rpm에서 10분간 원심 분리

*To whom correspondence should be addressed
Tel: 82-361-250-6417, Fax: 82-361-243-3314
E-mail: younslee@cc.kangwon.ac.kr

Table 1. Isolates of *Rhizoctonia solani* used in this study.

Isolate No.	Isolates	Sources
1	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	<i>Zea mays</i> L.
2	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	<i>Oryza sativa</i> L.
3	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	<i>Oryza sativa</i> L.
4	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	<i>Oryza sativa</i> L.
5	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	<i>Oryza sativa</i> L.
6	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	<i>Solanum tuberosum</i> L.
7	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	<i>Lactuca sativa</i> L.
8	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	<i>Capsicum annuum</i> L.
9	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> L.
10	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	<i>Cucurbita</i> spp.
11	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	unknown
12	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	<i>Monochoria vaginalis</i> var. <i>plantaginea</i>
13	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	unknown
14	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-?	unknown
15	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1	unknown
16	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1	unknown
17	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 (IA)	<i>Cyperus exaltatus</i> var. <i>iwasakii</i> T. Koyama (Sheath blight)
18	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 (IB)	<i>Codonopsis lanceolata</i> (S. & Z.) Trautv.
19	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 (IC)	<i>Brassica campestris</i> ssp. <i>pekinensis</i> (Lour.) Olss.
20	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-2-1	unknown
21	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-2-2	unknown
22	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-2-2 (IIIB)	unknown
23	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-2-2 (IV)	<i>Daucus carota</i> var. <i>sativa</i> DC. (Crown rot)
24	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-3	<i>Solanum tuberosum</i> L. (Black scurf, Stem canker)
25	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-3	unknown
26	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-4	<i>Raphanus sativus</i> L. (Damping-off)
27	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-4	unknown
28	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-5	unknown
29	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-5	<i>Allium fistulosum</i> L. (Damping-off)

하여 상층액을 취하였다. 상층액에 동량의 isopropanol을 첨가하여 12시간 이상 -20°C 냉동고에 보관하였다. 보관된 상층액을

13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 DNA를 침전시켰다. 침전된 DNA를 70% ethanol 500 μl 를 넣고 세척한 다음 실온에서 완전히 건조시키고 RNase(50 $\mu\text{l}/\text{ml}$)가 첨가된 TE buffer(10 mM Tris-Cl, 1 mM EDTA, pH7.4) 1 ml 에 충분히 녹인후 37°C 에서 1시간 보관하였다. DNA를 0.8% Agarose gel을 사용하여 0.5X buffer상에서 100V/cm²의 전원으로 60분간 전기 영동 후 UV상자 상에서 이미 농도를 알고 있는 lambda DNA를 기준으로 농도를 확인하였고, 확인된 DNA는 -20°C 냉동고에 보관하여 사용하였다.

AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)

본 실험에서는 genomic DNA 2 μg 에 *EcoRI*(BRL, Germany) 5 unit를 첨가하여 37°C 에서 12시간동안 절단한 후 2.5배의 ethanol을 첨가하여 -70°C 에서 1시간동안 침전시킨 후 14,000 rpm에서 30분동안 원심분리하여 절단된 DNA를 침전시켰다. 침전된 DNA는 실온에서 충분히 말린 후 *MseI*(Gibco, USA)으로 DNA를 다시 절단한 후 위와 같은 방법으로 다시 침전시켰다. 침전된 DNA는 멸균된 3차 증류수에 녹인 뒤 5 unit의 T4 DNA ligase(Promega, USA)와 0.5 μM 의 *EcoRI/MseI* adaptor를 첨가한 후 14°C 에서 12시간 ligation 시켰다(Table 2). Ligation된 DNA는 10배 액으로 희석하여 pre-amplification을 하기 위한 재료로 사용하였다.

Pre-amplification은 adaptor에 상보적인 염기서열을 가진 primer를 이용하여 제한효소로 절단된 DNA중 특정부위의 DNA만 증폭시킨다. PCR 반응조건은 희석된 DNA 5 μl 에 1xbuffer, 200 μM dNTP, 0.5 μM *EcoRI-0/MseI-1* primer, 1 unit *Taq* DNA polymerase(Dynazyme™)를 첨가하여 Perkin-Elmer thermal cycler에서 94°C 30초, 60°C 1분, 72°C 1분을 1 cycle로 최종 20회 반복하고 반응을 종료하였다.

Pre-amplification의 PCR 산물은 50배 액으로 희석하여 2차 PCR 반응을 수행하기 위한 재료로 사용하였다. 2차 PCR 반응의 조건은 pre-amplification으로부터 희석된 DNA 5 μl 에 1x buffer, 200 μM dNTP, 0.5 μM *EcoRI-2/MseI-3* primer, 1 unit *Taq* DNA polymerase(Dynazyme™)를 첨가하여 최초 94°C 에서 30초, 65°C 에서 30초, 72°C 에서 1분을 첫 cycle로 시작하여 다음 cycle 부터는 annealing 온도를 1°C 씩 감소시키면서 11 cycles를 반복한 뒤 마지막으로 94°C 에서 30초, 56°C 에서 30초, 72°C 에서 1분 cycle을 23회 반복하고 반응을 종료하였다.

최종 PCR 반응이 끝난후 PCR산물 6 μl 를 취하여 formamide loading dye(95% formamide, 10 mM EDTA, pH8.0, 0.05% bromo phenol blue, 0.05% xylene cyanol FF) 4 μl 와 혼합한 뒤 95°C 에서 5분간 가열하여 준 다음 그중 6 μl 를 55°C 로 미리 가열된 6% denaturing polyacrylamide gel (acrylamide: bisacrylamide(19:1), 7.5M urea, 1x TBE (0.89M Tris-HCl pH 8.3, 0.89 M boric acid, 0.02 M EDTA pH 8.0))에 loading한 후 1,800 V 80W에서 3시간동안 전기 영동한 다음 silver staining으로 결과를 분석하였다.

각 균주의 primer에 의한 증폭 pattern의 비교는 동일한 크기의 band 존재 여부로 행하였고 같은 크기의 band는 동일한 것으

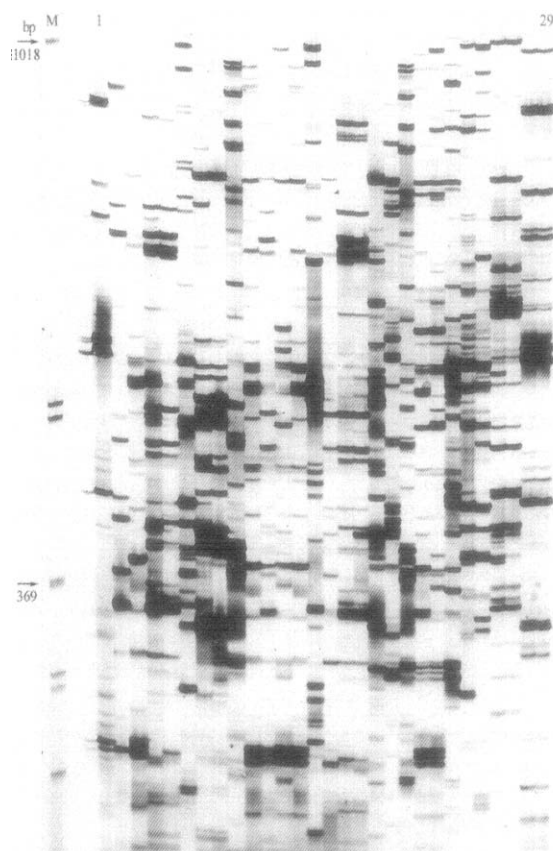
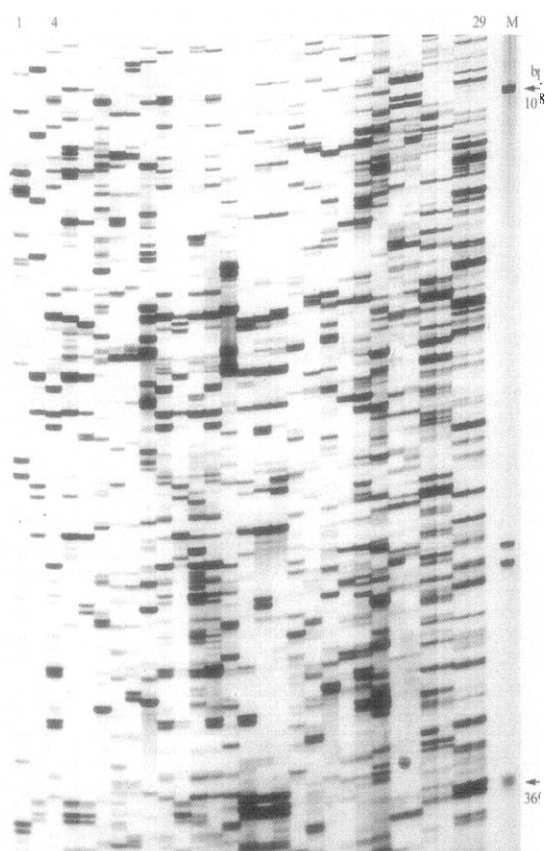
Table 2. Oligonucleotide adaptors and primers used for AFLP analysis.

<i>Eco</i> RI-adaptor ^{a/} CTCGTAGACTGCGTACC	
CATCTGACGCATGGTTAA	
<i>Mse</i> I-adaptor ^{a/} GACGATGAGTCCTGAG	
TACTCAGGACTCAT	
AFLP primer ^{b/}	
<i>Eco</i> RI+0: GACTGCGTACCAATTC	<i>Mse</i> I+0: GATGAGTCCTGAGTAA
<i>Eco</i> RI+2	<i>Mse</i> I+3
E1 GACTGCGTACCAATTC+AT	M1 GATGAGTCCTGAGTAA+CAG
E2 GACTGCGTACCAATTC+AC	M2 GATGAGTCCTGAGTAA+CAC
E3 GACTGCGTACCAATTC+TA	M3 GATGAGTCCTGAGTAA+CTA
E4 GACTGCGTACCAATTC+TG	M4 GATGAGTCCTGAGTAA+CTT
Primer combinations analyzed in this experiment	
E1/M1 E1/M2 E1/M3	
E2/M1 E2/M2 E2/M3	
E4/M2 E4/M2 E4/M3	

^{a/}*Eco*RI and *Mse*I adaptors were ligated onto the ends of restriction fragments of template genomic DNAs.

^{b/}*Eco*RI+0 and *Mse*I+0 primers were used in the preamplification of template DNA.

The AFLP fingerprint was generated using pairs *Eco*RI+2 and *Mse*I+3 primers.

**Fig. 1.** AFLP profiles with *Rhizoctonia solani* using primer combination E1/M1.**Fig. 2.** AFLP profiles with *Rhizoctonia solani* using primer combination E4/M3.

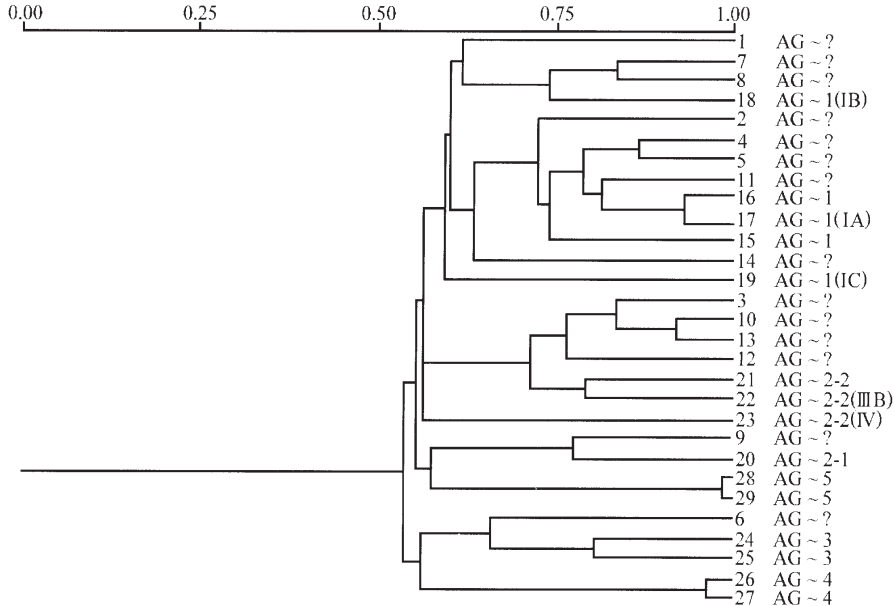


Fig. 3. UPGMA dendrogram among the twenty-nine *R. solani* isolates based on the bands on 6% acrylamide gel in AFLP analysis.

로 취급하였다. 균주간의 유사도(similarity coefficient)는 다음의 공식으로 계산하였다.

$$F = 2N_{XY} / (N_X + N_Y)$$

F: Similarity coefficient.

N_{XY} : The number of PCR products shared by isolates X and Y

$N_X + N_Y$: Total number of PCR products in isolates X and Y, respectively.

Dendrogram은 위의 유사도 값을 근거로 UPGMA(Unweighted Paired Group Methods with Arithmetic Average)법으로 작성하였으며 유사도와 dendrogram의 작성은 NTSYS-pc program Ver. 1.70을 이용하였다(24).

결과 및 고찰

R. solani genomic DNA의 AFLP 분석을 위해서 9개의 primer 조합(Table 2)을 (E1/M1, E1/M2, E1/M3, E2/M1, E2/M2, E2/M3, E4/M1, E4/M2, E4/M3)을 사용하였으며 분석된 9개 primer 조합당 평균 70개 정도의 band가 증폭되었으며, 300-1,000 bp 사이에 위치하였다(Fig. 1, 2).

9개의 primer를 사용해서 증폭된 bands를 가지고 dendrogram을 작성한 결과 약 60% 수준에서 크게 5집단으로 나뉘어졌고(Fig. 3), 5개 group은 AG group의 subgroup과 동일하게 나뉘어졌다. AG-5 group인 균주 28, 균주 29은 0.988로 높은 상동성을 보였으며, 균주 9와 균주 20은 0.777을 나타내며 AG-5 group에 속하는 것으로 나타났다. AG-4 group인 균주 26, 27은 0.966으로 높은 상동성을 나타냈다. AG-3 group인 균주 24과 25는 0.807로 높은 상동성을 보였고, 균주 6은 0.670으로 AG-3 group

에 속하였다. Subgroup AG-2-2(IIIB)는 AG-2-2와 0.796를 나타냈다. 균주 3은 균주 13과 0.844, 균주 10과는 0.833의 높은 상동성을 보이며 AG-2-2 group과 약 0.70에서 그룹을 형성함을 보였다. AG-1 group은 subgroup들과 같은 group에 속하였고, 균주 2는 균주 11과 0.744, 균주 3은 균주 13과 0.844, 균주 4는 균주 5와 0.870, 균주 5는 균주 16과 0.833을 나타내며 AG-1 group에 속하였다(matrix data not shown). 균주 7은 균주 8과 0.837의 높은 상동성을 나타내고, 균주 8은 AG-1(I B)와 0.751를 나타냈으며, 균주 1과 7, 8은 AG-1(I B)에 속하였다.

AFLP는 유전자 지도작성에 유용하고, 생물다양성 분석에 매우 효과적이며 genome의 근연관계 및 계통발생 과정 조사 또는 도입염색체의 확인 및 동정에 적합한 기술로 알려져 있는 바와 같이, 본 실험을 통하여 AFLP를 이용한 *R. solani*의 유전특성 연구 결과는 최근 수행된 RAPD(9)나 PCR-RFLP(7)를 이용한 방법보다 종래에 사용되어 구분되던 AG grouping과 더욱 정확하게 일치하였고 재현성이 높았으며, 각 반응마다 생성되는 단편들의 수는 50~100개 정도로 각 개체간 변이가 아주 심하여 marker 개발에 매우 유용하다는 점이 확인 되었다.

감사의 말

본 연구수행을 위해 균주를 분양해준 농진청과 한국화학연구소 관계자 여러분께 감사의 말을 드립니다.

참고문헌

- Adams, G.S., Jr. and E.E. Butler. 1979. Serological relationships among anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*

- 69, 629-633.
2. Anderson, N.A. 1982. The genetics and pathology of *Rhizoctonia diseases* and their occurrence. In *Rhizoctonia solani*: Biology and Pathology, p. 125-148. Parmeter J.R.Fr. (ed.), Univ. of California Press, Berkeley.
3. Anderson, N.A. 1982. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. *Annu. Rev. Phytopathol* 20, 329-347.
4. Bruns, T.D., R. Vilgalys, S.M. Barns, D. Gonzalez, D.S. Hibbett, D.J. Lane, L. Simon, S. Stickel, T.M. Szaro, W.G. Weisburg, and M.L. Sogin, 1992. Evolutionary relationships within fungi: Analysis of nuclear small subunit rRNA sequences. *Mol. Physiology* 1, 231-241.
5. Burpee, L.L., P.L. Sanders, and H. Cole, Jr. 1980. Anastomosis groups among isolates of *Ceratobasidium cornigerum* and related fungi. *Mycologia* 72, 689-701.
6. Carling, D.E., R.H. Leiner, and K.M. Kebler, 1987. Characterization of a new anastomosis group (AG 9) of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 77, 1609-1612.
7. Choi, H.S., S.J. Woo, W.S. Shin, H.J. Kim, K.S. Kim, and Y.S. Lee, 1999. Molecular systematics of *Rhizoctonia solani* isolates from various crops with RFLP and PCR-RFLP. *Korean J. Microbiology* 35, 173-179.
8. Cubeta, M.A., E. Echandi, T. Abernethy, and R. Vilgalys, 1991. Characterization of anastomosis groups of binucleate *Rhizoctonia* spp. using restriction analysis of an amplified ribosomal RNA gene. *Phytopathology* 81, 1395-1400.
9. Lee, Y.S., H.S. Choi, S.J. Woo, K.S. Kim, M.J. Kim, J.O. Shim, and M.W. Lee, 1998. Analyses of genetic relationships of *R. solani* isolates from various crop species and rapid identification of AGs of *R. solani* with RAPD method. *Korean J. Mycology* 26, 373-379.
10. Liu, Z.L., D.L. Nicksrent, and J.B. Sinclair, 1990. Genetic relationships among isolates of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-2 based on isozyme analysis. *Can. J. Plant Pathol.* 12, 376-382.
11. Muller, U.G., S.E. Lipari, and M.G. Milgroom, 1996. Amplified fragment length polymorphism(AFLP) fingerprinting of symbiotic fungi cultured by the fungus-growing ant *Cyphomyrmex minutus*. *Mol. Ecol.* 5, 119-122.
12. Jabaji-Hare, S.H., Y. Meller, S. Gill, and P.M. Charest, 1990. Investigation of genetic relatedness among anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* using cloned DNA probes. *Can. J. Plant Pathology* 12, 393-404.
13. Kuninaga, S., R. Yokosawa, and A. Ogoshi, 1979. Some properties of anastomosis group 6 and BI in *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 45, 207-217.
14. Kuninaga, S. and R. Yokosawa, 1980. A comparison of DNA compositions among anastomosis groups in *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 46, 150-158.
15. Kuninaga, S. and R. Yokosawa, 1982. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn. I. Genetic relatedness within anastomosis group 1. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 48, 659-667.
16. Kuninaga, S. and R. Yokosawa, 1982. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn. II. Genetic relatedness within anastomosis group 2. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 48, 668-673.
17. Kuninaga, S. and R. Yokosawa, 1984. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn. IV. Genetic relatedness within AG 4. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 50, 322-330.
18. Neate, S.M. and J.H. Warcup, 1985. Anastomosis grouping of some isolates of *Thanatephorus cucumeris* from agricultural soils in south Australia. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 85, 615-620.
19. Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Annu. Rev. Phytopathol* 25, 125-143.
20. Oniki, M., A. Ogoshi, T. Araki, R. Sakai, and S. Takana, 1985. The perfect state of *Rhizoctonia oryzae* and *R. zeae* and the anastomosis groups of *Waitea circinata*. *Trans. Mycol. Soc. Jpn.* 26, 189-198.
21. Parmeter, J.R. Jr. and H.S. Whitney, 1970. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state, p. 7-19 in *Rhizoctonia solani*: Biology and Pathology. J. R. Parmeter, ed. University of California Press, Berkeley.
22. Parmeter, J.R., Jr. R.T. Sherwood, and W.D. Platt, 1969. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology* 59, 1270-1278.
23. Reynold, M., A.R. Weinhold, and T.J. Morris, 1983. Comparison of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* by polyacrylamide gel electrophoresis of soluble proteins. *Phytopathology* 73, 903-906.
24. Rohlf, F.J. 1988. *NTSYS-pc*: Numerical taxonomy and multivariate analysis system. version 1.70. Exeter Software, Setanket, NY.
25. Sherwood, R.T. 1969. Morphology and physiology in four anastomosis groups of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology* 59, 1924-1929.
26. Tu, C.C. and J.W. Kimbrough, 1975. Morphology, development, and cytochemistry of the hyphae and sclerotino of species in the *Rhizoctonia* complex. *Can. J. Bot.* 53, 2282-2296.
27. Tu, C. C. and J.W. Kimbrough, 1978. Systematic and phylogeny of fungi in the *Rhizoctonia* complex. *Bot. Gaz.* 139, 454-466.

(Received September 13, 1999/Accepted March 2, 2000)

ABSTRACT: Molecular Systematics of *Rhizoctonia solani* Isolates from Various Crops with AFLP

Hea Sun Choi¹, Kyoung Su Kim, Hee Jong Kim, and Youn Su Lee* (Division of Applied Plant Sciences, Kangwon National University, Chuncheon, ¹Department of Biology, Incheon University)

Rhizoctonia solani Kuhn [*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk] is a destructive soil-borne plant pathogen affecting many agricultural crops worldwide. *R. solani* is divided into anastomosis groups based on the ability of the hyphae to fuse, and into subgroups based on morphological, physiological characteristics. AG classifications are convenient and useful in identifying primary causal agents of *Rhizoctonia* diseases, although the mechanism of anastomosis is not fully understood. Because of the difficulties, we sought to develop a more direct method for genetic identification and characterization of *R. solani*. Twenty nine isolates of *R. solani* were used for the analysis of genetic relationships among themselves and for rapid anastomosis grouping with AFLP method. All isolates studied were divided into five groups. Isolate 6 was included in AG-3 with 67% genetic similarity. When isolate 3 was compared with 13 and 10 each, they showed more than 84% and 83% similarity, respectively. Isolates 3, 4, 5, 13, and 16 were included in AG-1 with 83% genetic similarity. Isolates 1, 7, and 8 were included in AG-1(IB).