

## Ribosomal DNA의 PCR-RFLP에 의한 국내산 *Rhizoctonia solani* 균주들의 종내그룹의 구분

홍승범\* · 고승주 · 류진창 · 김완규<sup>1</sup> · 김인수<sup>2</sup>  
농업과학기술원 분자유전과, <sup>1</sup>농업과학기술원 병리과, <sup>2</sup>경북대학교 유전공학과

### Differentiation of Intraspecific Groups within Korean isolates of *Rhizoctonia solani* Using PCR-RFLP of Ribosomal DNA

Seung-Beum Hong\*, Seung-Joo Go, Jin-Chang Ryu, Wan-Gyu Kim<sup>1</sup> and In-Soo Kim<sup>2</sup>

Molecular Genetics Division, National Institute of Agricultural Science and Technology,  
Suwon 441-707, Korea

<sup>1</sup>Department of Plant Pathology, National Institute of Agricultural Science and Technology,  
Suwon 441-707, Korea

<sup>2</sup>Department of Genetic Engineering, College of Natural Science, Kyungpook National University,  
Taegu 702-701, Korea

**ABSTRACT:** Genetic diversity among 27 isolates of *Rhizoctonia solani*, which were obtained from diseased crops in Korea and classified into 9 intraspecific groups by anastomosis test and cultural characteristics, was studied by PCR-RFLP. Gene regions of nuclear 17S ribosomal DNA and internal transcribed spacers including 5.8S rDNA of the isolates were amplified with polymerase chain reaction and digested with 12 restriction enzymes. Differences of restriction patterns were not shown among isolates within each intraspecific groups, however, each anastomosis group and cultural type showed unique restriction fragment length polymorphisms by 12 restriction enzymes. Especially, all intraspecific groups were differentiated by restriction patterns using *HaeIII*, *Cfr13I* and *MspI*. The results suggest that PCR-RFLP of rDNA using three restriction enzymes could be used to differentiate intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* in Korea.

**Key words:** *Rhizoctonia solani*, intraspecific groups, ribosomal DNA, PCR-RFLP, differentiation.

*Rhizoctonia solani* Kuhn[완전세대: *Thanatephorus cucumeris*(Frank) Donk]은 세계적으로 널리 분포되어 있고 다양한 기주범위를 가지는 토양서식 병원균이다. 이 균은 종합적인 종(collective species) 또는 종 복합체(species complex)로서 다양한 종내그룹들을 가지는데 종내그룹의 분류에는 균사융합 방법(anastomosis system)과 배양형태(cultural type)가 많이 사용되고 있다(Carling, 1996; Ogoshi, 1987; Sneh et al., 1991a). 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-BI, AG-9, AG-10)이 보고되어 있으며 이들은 배양형태에 따라 다시 AG-1은 1A, 1B, 1C, AG-2-2는 IIIB, IV의 아그룹(subgroup)으로 나누어져 있다(Sneh et al., 1991b). *R. solani*의 균사융합 및 배양형태에 의한 종내그룹의 분류는 혈청학적인 유연관계(serological relationship) 분석(Abe et al., 1969; Adams and Butler, 1979), 단백질

과 isozyme의 전기영동 양상분석(Reynolds et al., 1983; Liu and Sinclair, 1992, 1993), fatty acid 분석(Johnk and Jones, 1993), G+C content 분석(Kuninaga and Yokozawa, 1980), DNA-DNA hybridization 분석(Kuninaga and Yokozawa, 1982a, 1982b, 1983, 1984a, 1984b, 1985a, 1985b), ribosomal DNA의 RFLP 분석(Vilgalys and Gonzalez, 1990b; Liu and Sinclair, 1992, 1993; Liu, 1993) 등의 생화학적인 방법과 분자생물학적인 방법으로 검토되기도 하였다.

국내에서는 김 등(1994)이 68종의 작물에서 *R. solani*를 분리하여 AG-1, AG-2-1, AG-2-2, AG-3, AG-4, AG-5의 6개의 균사융합군(anastomosis group)과 AG-1의 배양형 1A, 1B, 1C와 AG-2-2의 배양형 IIIB, IV를 동정하여 모두 9개의 종내그룹을 보고하였다. 이 후 이들 국내 균주들에 대한 병원성 검토는 이루어졌으나(김, 1996) 이들에 대한 분자생물학적인 분류는 이루어지지 않았다.

Ribosomal DNA는 모든 생물에 존재하고 외부변이에

\*Corresponding author.

대하여 안정적이며 일반적으로 보존된 영역(conserved region)과 변이가 많은 영역(variable region)이 잘 섞여 있어 생물의 종간 및 종내그룹의 계통분류에 많이 이용되고 있다(Bruns et al., 1991). 그리고 PCR-RFLP 방법은 기존의 RFLP분석처럼 Southern blotting을 실시하지 않고 간편하게 해당 유전자에 대한 정보를 얻을 수 있어 현재 생물의 간이 분류에 많이 이용되는 방법이다(Bruns et al., 1991).

본 연구에서는 rDNA의 PCR-RFLP를 실시하여 국내 작물에서 분리된 *R. solani* 균주들의 유전적 특성을 구명하고 그 결과가 국내 *R. solani* 균주들의 균사융합군 및 배양형의 구분에 이용될수 있는지를 검토하였다.

### 재료 및 방법

**사용균주.** 김 등(1994)이 1988년부터 1994년까지 전국의 68종의 작물에서 분리하여 균사융합 및 배양형태에 따라 분류한 9개 종내그룹의 2,276 균주의 *R. solani* 중에서 그룹별로 각 3균주씩, 총 27개 균주를 선발하여 사용하였다. 각 균주들의 분리기주와 지역은 Table 1에 나타나 있는 바와 같다.

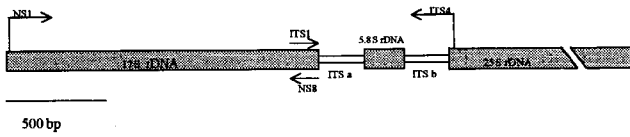
**균주배양 및 DNA의 분리.** DNA분리는 Lee와 Tay-

lor(1990)가 사용한 방법을 변형하여 사용하였다. PDA (Potato Dextrose Agar)배지에서 자란 활력이 양호한 균총의 가장자리의 균사를 긁어 1 ml의 PDB(Potato Dextrose Broth)가 들어있는 1.5 ml microtube에 접종한 후 분당 120회 속도로 진탕배양 하였다. 배양 2일 후에 균사가 자라있는 microtube를 원심분리(13000×g, 5분)하여 배지를 버리고 균사만을 수확하였다. 수확한 균사에 400 μl의 DNA 추출용액[3% SDS, 50 mM EDTA, 50 mM Tris-Hcl(pH 7.2), 1% 2-mercaptoethanol]을 넣고 유리막대를 이용하여 잘게 마쇄한 후 65 °C에 1시간 동안 처리하였다. 여기에 동량의 phenol:chloroform(1:1)을 넣고 13000×g로 10분간 원심분리하여 상등액을 모은 후 0.54배 분량의 isopropanol을 첨가하여 핵산을 침전시켰다. 원심분리(12000×g, 5분) 후 상층액을 버리고 70%의 에탄올로 세척하여 진공건조기에서 5분간 건조시킨 다음 100 μl의 TE buffer[10 mM Tris-Cl(pH 8.0), 1 mM EDTA]에 녹였다. 이어서 RNase를 넣고 37°C에서 30분 처리하여 RNA를 제거한 후 1 μl를 취하여 PCR 반응용액의 주형 DNA로 사용하였다.

**Polymerase chain reaction에 의한 rDNA 단편의 증폭.** rDNA의 각 영역을 증폭하기 위하여 White 등(1990)에 의한 primer[ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-

**Table 1.** A list of *Rhizoctonia solani* isolates used in this study

Isolate No.	Anastomosis group	Host	Isolated part of plants	Location
K1	AG-1 (IA)	<i>Oryza sativa</i>	leaf sheath	Suwon
K2	"	<i>Zea mays</i>	stem	Yeongweol
K3	"	<i>Arachis hypogaea</i>	leaf	Suwon
K4	AG-1 (IB)	<i>Codonopsis lanceolata</i>	stem	Yeoncheon
K5	"	<i>Lactuca sativa</i>	leaf	Pyeongtaek
K6	"	<i>Cucurbita moschata</i>	stem	Nonsan
K7	AG-1 (IC)	<i>Brassica campestris</i> ssp. <i>pekinensis</i>	leaf	Gimhae
K8	"	<i>Brassica campestris</i> ssp. <i>pekinensis</i>	root	Daejon
K9	"	<i>Chaenomeles sinensis</i>	root	Euseong
K10	AG-2-1	<i>Brassica campestris</i>	leaf	Pusan
K11	"	<i>Lactuca sativa</i>	leaf	Mikeum
K12	"	<i>Tulipa gesneriana</i>	leaf	Anyang
K13	AG-2-2 (IIIB)	<i>Platycodon grandiflorum</i>	stem	Daejon
K14	"	<i>Angelica jaluana</i>	stem	Jangheung
K15	"	<i>Citrullus lanatus</i>	stem	Yeongdong
K16	AG-2-2 (IV)	<i>Daucus carota</i>	petiole	Pyeongchang
K17	"	<i>Zoysia japonica</i>	stem	Suwon
K18	"	<i>Gypsophila elegans</i>	stem	Namwon
K19	AG-3	<i>Solanum tuberosum</i>	root	Pyeongchang
K20	"	<i>Solanum tuberosum</i>	tuber	Pyeongchang
K21	"	<i>Solanum tuberosum</i>	tuber	Geumreung
K22	AG-4	<i>Raphanus sativus</i>	root	Hwaseong
K23	"	<i>Cucumis sativus</i>	stem	Jungweon
K24	"	<i>Capsicum annuum</i>	seedling	Suwon
K25	AG-5	<i>Allium fistulosum</i>	leaf sheath	Gangreung
K26	"	<i>Panax ginseng</i>	stem	Jinan
K27	"	<i>Iris nerpschinskia</i>	bulb	Jeju



**Fig. 1.** Location of primers, NS1 and ITS4, used for amplifying 17SrDNA and ITS region of *Rhizoctonia solani*.

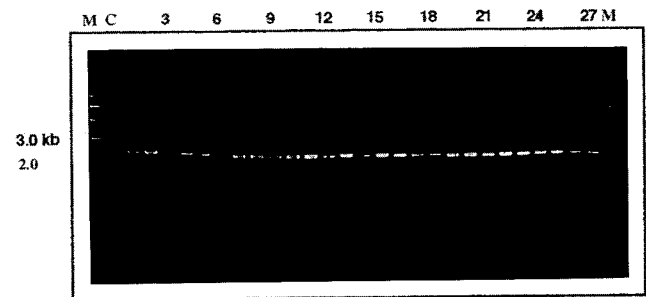
3', ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3', NS1: 5'-GTAGTCATATGCTTGTCTC-3', NS8: 5'-TCCGCAGGTTACCTACGGA-3'(Fig. 1)]들을 한국 생공에 주문 제작하여 사용하였다. PCR 반응액은 1X buffer[50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl(pH 9.0), 0.1% triton X-100], dNTP 각각 0.1 mM, primer 각각 1 pM, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM에 template DNA 100 ng, Taq Polymerase 2 unit(Promega)를 첨가하고 전체량을 100 μl로 하였다. PCR 반응의 조건은 denaturation(95°C, 1분), annealing(58°C, 1분) extention(72°C, 2분)으로서 첫번째 denaturation은 4분을, 마지막 extention은 8분을 연장하였으며 총 35 cycle을 실시하였다. PCR 증폭 여부는 PCR 반응이 끝난 반응용액 중에서 4 μl를 취하여 1% agarose gel에서 전기영동으로 확인하였다.

**제한효소절단분석.** PCR증폭이 확인된 rDNA를 ethanol로 침전시킨 후 50 μl의 TE에 녹이고 약 1 μg 되게 정량한 후, 12가지 제한효소(4 cut: *AccII*, *AhaI*, *HaeIII*, *HhaI*, *HinI*, *MspI*, *RsaI*, *Sau3AI*, *TaqI*, 5 cut: *AvaII*, *Cfr13I*, 6 cut: *EcoRI*)를 이용하여 절단하였으며 절단 반응은 제조회사(Takara, Japan)의 권장조건에 따라 수행하였다. 절단된 단편들은 1.8% agarose에서 전기영동하여 다형성을 관찰하고 그룹간 정확한 분석을 위해 3% MetaPhor™ agarose(FMC Bioproducts), TBE buffer

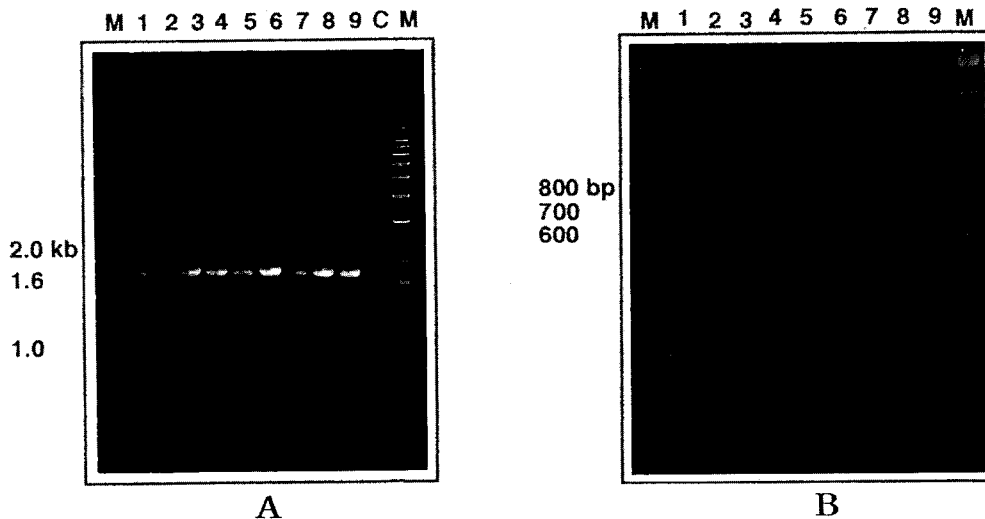
에서 전기영동을 실시하였다.

## 결 과

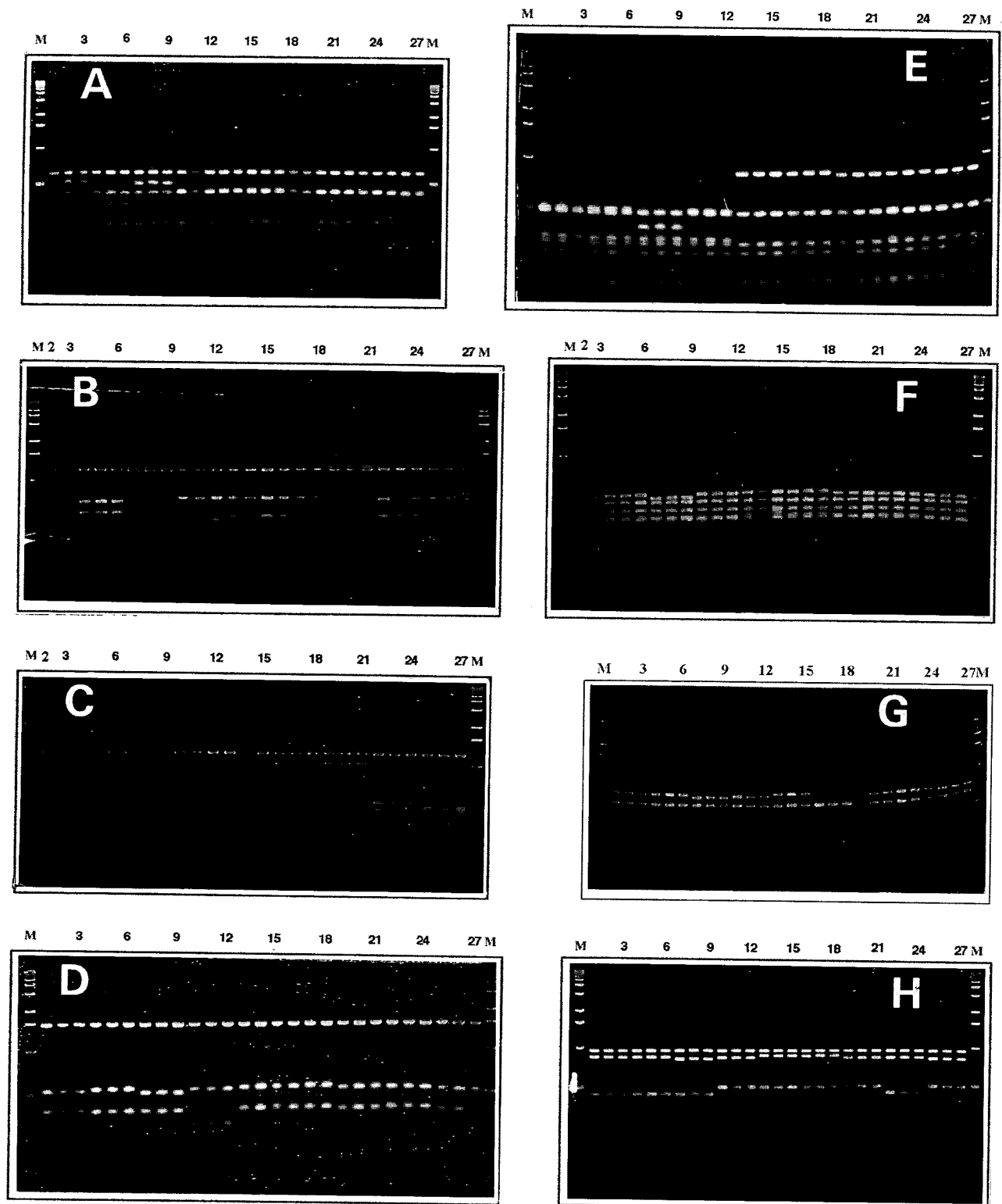
Primer NS1과 ITS4를 사용하여 공시한 *R. solani* 균주들의 17S rDNA와 ITS영역 모두를 증폭시킨 결과 27균주 모두 2.5 kb 부근에서 증폭이 되었다(Fig. 2). 이 영역의 크기는 그룹내 또는 그룹간 서로 구분이 되지 않았다. 이들중 각 종내그룹별로 1균주씩을 17S rDNA (primer NS1, NS8)와 ITS영역(primer ITS1, ITS4)으로 나누어 증폭한 결과, 17S rDNA에서는 그룹간 밴드크기가 서로 구분이 되지 않았으나 ITS영역에서는 700 bp~750 bp로 그룹간 밴드크기가 서로 다르게 나타났다(Fig. 3). 특히 AG-1(IC)는 AG-1(IA), AG-1(IB)에 비하여 약 30 bp 작았으며, AG-2-1는 AG-2-2(IIIB), AG-2-2(IV)에 비하여 약 40 bp 작았다. 따라서 같은 균사용



**Fig. 2.** PCR amplified portions of 17S rDNA and ITS region in *Rhizoctonia solani*. M, 1 kb ladder; 1-3, AG-1 (1A); 4-6, AG-1 (1B); 7-9, AG-1 (1C); 10-12, AG-2-1; 13-15, AG-2-2 (IIIB); 16-18, AG-2-2 (IV); 19-21, AG-3; 22-24, AG-4; 25-27, AG-5.



**Fig. 3.** PCR amplified portions of 17S rDNA(A) and ITS region(B) in *Rhizoctonia solani*. M of panel A, 1kb ladder; M of panel B, 100 bp ladder; 1, K1[AG-1 (1A)]; 2, K4[AG-1 (1B)]; 3, K7[AG-1 (1C)]; 4, K10 (AG-2-1); 5, K13[AG-2-2 (IIIB)]; 6, K16[AG-2-2 (IV)]; 7, K19 (AG-3); 8, K22 (AG-4); 9, K25 (AG-5).



**Fig. 4.** Restriction patterns of 17S rDNA and ITS region in *Rhizoctonia solani* by A, *AluI*; B, *AvaII*; C, *Cfr13I*; D, *EcoRI*; E, *HaeIII*; F, *HinfI*; G, *MspI*; H, *RsaI*. M, 1 kb ladder; 1-3, AG-1 (1A); 4-6, AG-1 (1B); 7-9, AG-1 (1C); 10-12, AG-2-1; 13-15, AG-2-2 (IIIB); 16-18, AG-2-2 (IV); 19-21, AG-3; 22-24, AG-4; 25-27, AG-5. Note, Lane 1, K1, was missed in panels of B, C and F, but the patterns of the data were same to lane 2 and lane 3 of the panels. Restriction enzyme digest products are separated on 1.8% agarose gel with TAE buffer.

합군내에도 아그룹 또는 배양형간에 염기서열의 삽입 또는 결실이 많은 것으로 나타났다.

17S rDNA와 ITS영역 모두를 포함하는 2.5kb 단편을 12개의 제한효소(4 cut: *AccII*, *AluI*, *HaeIII*, *HhaI*, *HinI*, *MspI*, *RsaI*, *Sau3AI*, *TaqI*, 5 cut: *AvaII*, *Cfr13I*, 6 cut: *EcoRI*)를 사용하여 절단하였을 때 모든 제한효소에 걸쳐 그룹내 균주들간 밴드형태가 완전히 일치하였다 (Fig. 4). 그러나 그룹간 밴드형태는 제한효소에 따라 다양하였는데 제한효소 *EcoRI*, *HinI*, *RsaI*의 밴드형태에서는 밴드수는 일치하였으나 밴드크기가 서로 달라서 그룹간에 염기서열의 삽입 또는 결실이 많은 것으로 나타났다. 반면 제한효소 *AluI*, *AvaII*, *Cfr13I*, *HaeIII*, *MspI*에 의한 밴드형태에서는 밴드수가 서로 달라서 그룹간에 염기서열의 치환이 많은 것으로 나타났다. 제한효소 *AvaII*, *Cfr13I*, *HaeIII*, *RsaI*에 의한 밴드형태는 특히 다양하였는데, 제한효소 *AluI*는 AG1-IB, 제한효소 *HaeIII*는 AG-1-IC, 제한효소 *EcoRI*는 AG-2-1, 제한효소 *MspI*는 AG-2-2(IV)의 각 그룹에 대한 유일한 밴드형태를 보였다.

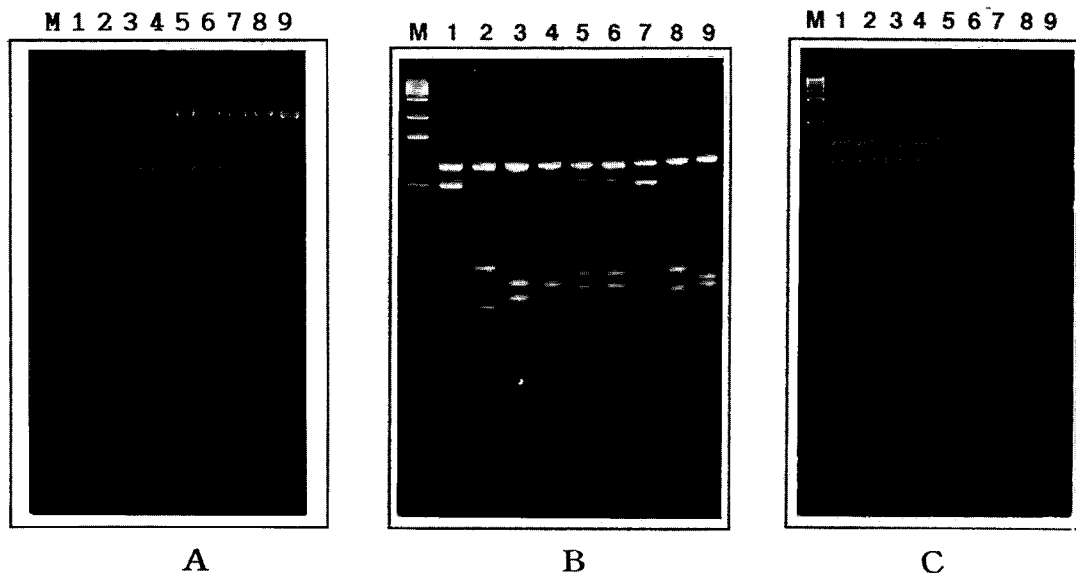
제한효소 *HaeIII*, *Cfr13I*, *MspI*의 절단양상을 서로 비교함으로써 *R. solani*의 9개 종내그룹의 구분이 가능하였다 (Fig. 5). 먼저 제한효소 *HaeIII*의 밴드형태 (Fig. 5A)에서는 900여 bp의 밴드의 유무로 AG-1(1A), AG-1(1B), AG-1(1C), AG-2-1과 AG-2-2(IIIB), AG-2-2(IV), AG-3, AG-4, AG-5로 대별되었고, *Cfr13I*의 밴드형태 (Fig. 5B)에서 *HaeIII*에서 900여 bp의 밴드가 없었던 AG-1-IA, AG-1-IB, AG-1-IC, AG-2-1은 1kb 밴드가 존재하는 것은 AG-1(IA)로, 500 bp 상하의 두 밴드의 간

격에 따라 AG-1-IB, AG-1-IC, AG-2-1로 구분되었다. 반면 *HaeIII*에서 900여 bp에 밴드가 존재하였던 AG-2-2(IIIB), AG-2-2(IV), AG-3, AG-4, AG-5는 *Cfr13I*의 밴드형태에서 1 kb 밴드가 존재하는 것은 AG-3로, 500 bp 근처의 두 밴드의 간격에 따라 AG-2-2의 IIIB, IV와 AG-4, AG-5로 구분이 가능하였다. AG-2-2의 IIIB와 IV의 두 개의 배양형(cultural type)만을 제외하고는 제한효소 *HaeIII*, *Cfr13I*의 밴드형태로 모든 그룹이 구분되었는데, AG-2-2의 IIIB와 IV는 *MspI*의 제한효소양상 (Fig. 5C)에서 약 800 bp의 밴드유무로 구분되었다.

## 고 찰

국내 작물에서 분리되어 군사융합 및 배양형태에 따라 분류된 *R. solani*의 9개 종내그룹 27균주는 12개 제한효소에 의한 rDNA의 17S와 ITS영역의 PCR-RFLP 분석 결과, 그룹내 균주들은 밴드형태가 완전히 일치하였고 그룹 상호간에는 서로 다른 밴드양상을 보였다. 특히 제한효소 *HaeIII*, *Cfr13I*, *MspI*의 절단양상을 서로 비교하므로써 9개 그룹은 서로 구분될 수 있었다.

rDNA를 이용한 *R. solani*의 종내 그룹의 분류는 Vilgalys와 Gonzalez(1990b), Liu와 Sinclair(1992, 1993), Liu(1993)에 의하여 실시된 바 있다. Vilgalys와 Gonzalez는 *R. solani*의 AG-4의 전체 rDNA cluster를 포함하는 8.8 kb 단편(Vilgalys and Gonzalez, 1990a)을 probe로 하여 *EcoRI*과 *BamHI*으로 절단된 genomic DNA에 Southern blotting을 실시하였으며 Liu와 Sinclair 그



**Fig. 5.** Differentiation of 9 intraspecific groups in *Rhizoctonia solani* by comparing rDNA restriction patterns by A, *HaeIII*; B, *Cfr13I*; C, *MspI*. M of panel A, 100 bp ladder; M of panel B and C, 1 kb ladder; 1, K1[AG-1 (1A)]; 2, K4[AG-1 (1B)]; 3, K7[AG-1 (1C)]; 4, K10 (AG-2-1); 5, K13[AG-2-2 (IIIB)]; 6, K16[AG-2-2 (IV)]; 7, K19 (AG-3); 8, K22 (AG-4); 9, K25 (AG-5). Note, Restriction enzyme digestion products were separated on 3% of MetaPhor™ agarose gel.

리고 Liu는 rDNA의 ITS영역의 PCR-RFLP를 실시하였다. 이들의 결과는 *R. solani*의 종내그룹내 균주들간에도 서로 다양한 밴드양상을 보여 그룹내 균주간에서도 다양한 진화단위(evolutionary unit)가 존재함을 시사하였다. 그러나 국내 작물에서 분리된 *R. solani*는 그룹내 균주들이 동일한 밴드형태를 보였다. 이는 전 연구자들이 세계 여러지역에서 수집한 균주들에 비하여 국내작물에서 분리된 *R. solani*의 종내그룹 균주들이 단일 진화단위를 가지는 것으로 추정되나 이후 더 많은 균주에 대한 검토가 필요하겠다. 국내에서 분리된 *R. solani* AG-1(1A)는 Liu와 Sinclair(1992, 1993) 그리고 Liu(1993)의 ISG 1A, AG-1(1B)는 ISG 1B, AG-1(1C)는 ISG 1C, AG-2-1는 ISG 2A, AG-2-2(IIIB)는 ISG 2B, AG-2-2(IV)는 ISG 2C에 각각 해당하였다.

*R. solani*의 9개의 종내그룹간은 제한효소에 따라 밴드 형태가 서로 다르게 나타났다. Liu(1993)의 결과에서는 AG-3, AG-4, AG-5간 밴드형태가 서로 구분이 되지 않았는데 본 실험결과에서 제한효소 *Ava*II, *Cfr*13I, *Rsa*I에 의한 밴드양상에서 서로 구분되었다. 이는 전 연구자들이 rDNA의 ITS 영역만을 사용하는데 비해 본 실험에서는 17S rDNA를 첨가하였기 때문인 것으로 여겨진다. 따라서 17S rDNA 영역이 ITS영역에 비하여 보존적이라 할 지라도 종내그룹간에 차이가 있다는 것을 알 수 있다.

본 연구에서 제한효소 *Hae*III, *Cfr*13I, *Msp*I의 절단양상은 9개 종내그룹간에 특히 다양하였는데 이들 제한효소만의 절단양상의 조합으로 9개 종내그룹 모두가 구분되었다. 이는 이들 제한효소에 의한 17S rDNA와 ITS영역의 PCR-RFLP 분석으로 국내작물에서 분리되는 *R. solani*의 균사융합군 및 배양형의 동정이 가능하다는 것을 보여준다. 기존의 방법에 의한 *R. solani*의 균사융합군 및 배양형 동정은 많은 시간이 소요될 뿐만 아니라 그 결과가 애매하여 판별하는데 숙달되지 않으면 정확도가 떨어질 수도 있다(Kim et al., 1994). 이에 비하여 rDNA의 PCR-RFLP 방법에 의한 종내그룹의 동정은 genomic DNA의 추출, PCR 증폭, 제한효소 절단 반응과 전기영동만으로 결과를 좀 더 빨리 얻을 수 있을 뿐만 아니라 기존의 방법과는 달리 명확한 결과를 얻을 수 있다.

제한효소 *Hae*III, *Cfr*13I, *Msp*I의 절단양상에 의한 *R. solani*의 균사융합군 및 배양형 동정은 본 실험에서 사용한 균주가 적은 관계로 이후 더 많은 균주에 대한 검증이 필요하겠지만 이 방법은 *R. solani* 균주들의 유전적 특성 검정과 식물체 병반 또는 토양에서 분리된 *R. solani*의 간 이동정에 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

## 요 약

국내 작물에서 분리하여 균사융합 및 배양형태에 따라

종내그룹을 분류한 *Rhizoctonia solani* 9개 종내그룹의 27개 균주의 유전적 특성을 구명하고자 17S rDNA와 ITS영역의 PCR-RFLP를 실시하였다. 12개 제한효소에 의한 PCR-RFLP 결과 종내그룹내 균주간은 밴드양상이 완전히 일치하였고 종내그룹간에는 제한효소에 따라 서로 다른 밴드양상을 보였다. 특히 제한효소 *Hae*III, *Cfr*13I 그리고 *Msp*I의 밴드양상을 서로 비교하였을 때 9개의 종내그룹이 확연히 구분되었다. 이 결과는 국내 작물에서 분리되는 *R. solani*의 균사융합군 및 배양형에 따른 종내그룹의 간이 동정에 사용될 수 있으리라 생각된다.

## 참고문헌

1. Abe, H., Baba, T. and Takakuwa, T. 1969. Serological reaction of root rot pathogen (*Rhizoctonia solani*) of sugar beets. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 35: 374.
2. Adams, G. C. Jr. and Butler, E. E. 1979. Serological relationships among anastomosis groups of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 69: 629-33.
3. Bruns, T. D., White, T. J. and Taylor, J. W. 1991. Fungal molecular systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 22: 525-564.
4. Johnk, J. S. and Jones, R. K. 1992. Determination of whole-cell fatty acids in isolates of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA. *Phytopathology* 82: 68-72.
5. Kim, W. G., Cho, W. D. and Lee, Y. H. 1994. Anastomosis groups and cultural characteristics of *Rhizoctonia solani* isolates from crops in Korea. *Korean J. Mycology* 22: 309-324.
6. Kim, W. G. 1996. Pathogenicity of anastomosis groups and cultural types of *Rhizoctonia solani* on crops. *Korean J. Plant Pathol.* 12: 21-32.
7. Kuninaga, S. and Yokosawa, R. 1980. A comparison of DNA base compositions among anastomosis groups in *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 46: 150-58.
8. Kuninaga, S. and Yokosawa, R. 1982a. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn I. Genetic relatedness within anastomosis group 1. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 48: 659-67.
9. Kuninaga, S. and Yokosawa, R. 1982b. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn II. Genetic relatedness within anastomosis group 2. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 48: 668-73.
10. Kuninaga, S. and Yokosawa, R. 1983. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn III. Genetic relatedness within AG-3, AG-5, AG-7 and AG-BI. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 49: 648-52.
11. Kuninaga, S. and Yokosawa, R. 1984a. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn IV. Genetic relatedness within AG-4. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 50: 322-30.
12. Kuninaga, S. and Yokosawa, R. 1984b. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn V. Genetic relatedness within AG-6. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 50:

- 346-52.
13. Kunitaga, S. and Yokosawa, R. 1985. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn VI. Genetic relatedness among seven anastomosis groups. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 51:127-32.
  14. Kunitaga, S. and Yokosawa, R. 1985. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn VII. Genetic relatedness between AG-BI and other anastomosis groups. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 51:133-38.
  15. Lee, S. B. and Taylor, J. W. 1990. Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. Pp. 282-287. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky and T. J. White Eds. PCR protocols: A guide to methods and applications. Academic Press, San Diego.
  16. Liu, Z. L. and Sinclair, J. B. 1992. Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 2. *Phytopathology* 82:778-87.
  17. Liu, Z. L. and Sinclair, J. B. 1993. Differentiation of intraspecific groups within anastomosis group 1 of *Rhizoctonia solani* using ribosomal DNA internal transcribed spacer and isozyme comparisons. *Can. J. Plant Pathol.* 15:272-80.
  18. Liu, Z. L. 1993. ISG-specific ribosomal DNA polymorphism of the *Rhizoctonia solani* species complex. *Mycologia* 85:795-800.
  19. Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Annu. Rev. Phytopathol.* 25:125-43.
  20. Reynolds, M., Weinhold, A. R. and Moris, T. J. 1983. Comparison of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* by polyacrylamide gel electrophoresis of soluble proteins. *Phytopathology* 73:903-06.
  21. Sneh, B., Burpee, L. and Ogoshi, A. 1991a. Introduction Pp 1-5. In: B. Sneh, L. Burpee and A. Ogoshi. Eds. Identification of *Rhizoctonia* species. APS press Inc., St. Paul.
  22. Sneh, B., Burpee, L. and Ogoshi, A. 1991b. Anastomosis groups of multinucleate *Rhizoctonia* spp. pp. 67-75. In: B. Sneh, L. Burpee and A. Ogoshi. Eds. Identification of *Rhizoctonia* species. APS press Inc., St. Paul.
  23. Vilgalys, R. and Gonzalez, D. 1990a. Organization of ribosomal DNA in the basidiomycete *Thanatephorus praticola*. *Curr. Genet.* 18:277-80.
  24. Vilgalys, R. and Gonzalez, D. 1990b. Ribosomal DNA restriction fragment length polymorphisms in *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 80:151-58.
  25. White, J. J., Bruns, J., Lee, S. B. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungus ribosomal RNA genes for phylogenetics. pp. 315-322. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky and T. J. White. Eds. PCR protocols, A guide to methods and applications. Academic press, San Diego.

(Received April 1, 1998)