



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Tese de Doutorado

**Grupos de anastomose de *Rhizoctonia*: diversidade em
brássicas e tomate no Brasil e utilidade do gene RPB2 para
análise filogenética**

Graziele Santos Lima

**Recife - PE
2020**

GRAZIELE SANTOS LIMA

**GRUPOS DE ANASTOMOSE DE *RHIZOCTONIA*: DIVERSIDADE EM BRÁSSICAS
E TOMATE NO BRASIL E UTILIDADE DO GENE RPB2 PARA ANÁLISE
FILOGENÉTICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de
Pernambuco, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutora em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof. Dr. Sami Jorge Michereff

Coorientador: Prof. Dr. Alexandre Reis Machado

Coorientadora: Prof. Dra. Kamila Câmara Correia

**RECIFE - PE
SETEMBRO - 2020**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

L732g Lima, Grazielle Santos
Grupos de anastomose de *Rhizoctonia*: diversidade em brássicas e tomate no Brasil e utilidade do gene RPB2 para análise filogenética / Grazielle Santos Lima. – 2020.
87 f. : il.

Orientador: Sami Jorge Michereff.
Coorientadores: Alexandre Reis Machado, Kamila Câmara Correia.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, BR-PE, 2020.
Inclui referências.

1. Fitopatologia 2. Teoria bayesiana de decisão estatística
3. Inferência (Lógica) 4. Hortaliça 5. Análise cladística 6. Tomate – Doenças e pragas 7. Anastomose 8. Queima da saia 9. *Rhizoctonia solani* I. Michereff, Sami Jorge, orient. II. Machado, Alexandre Reis, coorient. III. Correia, Kamila Câmara, coorient. IV. Título

CDD 632

**GRUPOS DE ANASTOMOSE DE *RHIZOCTONIA*: DIVERSIDADE EM BRÁSSICAS
E TOMATE NO BRASIL E UTILIDADE DO GENE RPB2 PARA ANÁLISE
FILOGENÉTICA**

GRAZIELE SANTOS LIMA

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 25/09/2020

ORIENTADOR:

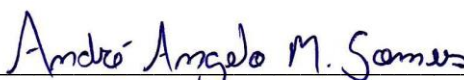


Prof. Sami Jorge Michereff (UFCA)

EXAMINADORES:



Prof. Alexandre Reis Machado (UFPE)



Prof. André Angelo Medeiros Gomes (UFRPE)



Prof. Juan Manuel Tovar Pedraza (CIAD)



Prof. Paulo Cezar Ceresini (UNESP)

**RECIFE - PE
SETEMBRO - 2020**

*Aos meus pais, Marlene Santos Lima e
Paulo Henrique Lima.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida, por ter me dado forças para chegar até aqui, pela sua infinita bondade e proteção constante.

Aos meus pais, Marlene e Paulo, pelo amor, apoio, confiança e ensinamentos de vida.

Ao meu amor, Elthon Diego, pelo incentivo e companheirismo.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela oportunidade para a realização do doutorado.

Ao Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), por ter cedido sua estrutura para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Ao professor Dr. Sami Jorge Michereff, pela orientação, aprendizado, paciência e ensinamentos transmitidos.

Aos meus coorientadores, Prof. Dr. Alexandre Reis Machado e Prof. Dra. Kamila Câmara Correia, pelo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Ailton Reis, pelo fornecimento de parte dos isolados utilizados.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pelos ensinamentos transmitidos.

A toda equipe do laboratório de Epidemiologia, em especial à Kledson, Ellen, Fábio, Lucas, Ana Paula e Tamiris.

Aos meus amigos e colegas, Samara, Aline, Júnior Estrela, Alba, Angélica, Claudeana, Ana Karoline, Roselane, Risoneide, Carmem, Suzi, Isabella, Roberto e Jefferson, pelos momentos compartilhados.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	vii
GENERAL ABSTRACT	viii
CAPÍTULO I	v
INTRODUÇÃO GERAL	10
1. A horticultura no Brasil	10
2. A cultura das brássicas.....	10
3. A cultura do tomateiro	12
4. Doenças das hortaliças.....	14
5. Rizoctoniose das hortaliças	15
6. O gênero <i>Rhizoctonia</i>	16
7. Grupos de anastomose de <i>Rhizoctonia</i> associados a brássicas e tomate	18
8. Identificação molecular de grupos de anastomose de <i>Rhizoctonia</i>	20
Referências Bibliográficas	23
CAPÍTULO II - Diversity of <i>Rhizoctonia</i> anastomosis groups associated with vegetable brassicas and tomato in Brazil	10
Acknowledgments	43
Compliance with Ethical Standards	43
References.....	44
CAPÍTULO III - Usefulness of the RPB2 gene for <i>Rhizoctonia</i> anastomosis groups phylogeny and identification	63
Acknowledgments	71
Compliance with Ethical Standards	71
References.....	71
CONCLUSÕES GERAIS	85

RESUMO GERAL

A rizoctoniose, doença causada por fungos do gênero *Rhizoctonia*, é um dos principais fatores que limita o desenvolvimento de hortaliças, como brássicas e tomate. O critério mais importante para delinear espécies de *Rhizoctonia* é a diferenciação por grupos de anastomose (AGs). O conhecimento dos grupos e subgrupos de anastomose é de grande importância para a compreensão da ecologia e diversidade genética do patógeno e suas possíveis implicações nas medidas de controle da doença. Dentre as técnicas de identificação de AGs de *Rhizoctonia*, o estudo da região ITS-rDNA é o mais utilizado, no entanto regiões gênicas mais conservadas, codificadoras de proteínas, também devem ser consideradas. O presente estudo teve como objetivos: (i) identificar grupos de anastomose de *Rhizoctonia* associados a espécies de brássicas e tomate no Brasil, e (ii) avaliar a utilidade do gene RPB2 para filogenia e identificação de grupos de anastomose de *Rhizoctonia*. Foram utilizados 112 isolados de *Rhizoctonia* obtidos de plantas de brássicas e tomate em oito estados brasileiros. Com base nas análises filogenéticas da região ITS, os isolados foram separados em sete grupos de anastomose, sendo três pertencentes a *R. solani* (AG-1-IB, AG-2-2IIIB e AG-4-HGI) e quatro a *Rhizoctonia* binucleada (AG-A, AG-F, AG-G e AG-R). AG-4-HGI foi o mais prevalente, presente em todos os estados brasileiros avaliados. Este foi o primeiro relato da ocorrência de AG-F associado a tomate e AG-4-HGI, AG-2-2IIIB, AG-A, AG-G e AG-R associados a brássicas no Brasil. Em um segundo momento, foram identificados, por meio de sequenciamento e reconstrução filogenética do gene RPB2, 40 isolados de *R. solani* e *Rhizoctonia* binucleada pertencentes a diferentes grupos de anastomose. Os resultados das análises filogenéticas obtidas corroboram com estudos prévios e confirmam a identidade da maioria dos isolados. A região RPB2 permitiu a separação dos AGs de *Rhizoctonia* em clados distintos, com valores altos de probabilidade posterior. O presente estudo revelou que o gene RPB2 tem um grande potencial para estudos filogenéticos de grupos de anastomose de *Rhizoctonia*, podendo ser usado como marcador alternativo à região ITS.

Palavras-chave: *Ceratobasidium* sp., Hortaliças, Inferência Bayesiana, ITS-rDNA *Thanatephorus cucumeris*

GENERAL ABSTRACT

Rhizoctoniosis, a disease caused by fungi of the genus *Rhizoctonia*, is one of the main factors that limits the development of vegetables, such as brassica and tomato. The most important criterion for delineating *Rhizoctonia* species is differentiation by anastomosis groups (AGs). The knowledge of anastomosis groups and subgroups is of great importance for understanding the ecology and genetic diversity of the pathogen and its possible implications for disease control measures. Among the *Rhizoctonia* AGs identification techniques, the study of the ITS-rDNA region is the most used, however, more conserved gene regions, encoding proteins, should also be considered. The present study aimed: (i) to identify *Rhizoctonia* anastomosis groups associated with brassica and tomato species in Brazil, and (ii) evaluate the usefulness of the RPB2 gene for phylogeny and identification of *Rhizoctonia* anastomosis groups. One hundred and twelve *Rhizoctonia* isolates obtained from vegetable brassicas and tomato in eight Brazilian states were used. Based on phylogenetic analyses of the ITS region, the isolates were separated into seven anastomosis groups; three of *R. solani* (AG-1-IB, AG-2-2IIIB and AG-4-HGI) and four of binucleate *Rhizoctonia* (AG-A, AG-F, AG-G and AG-R). AG-4-HGI was the most prevalent, present in all Brazilian states surveyed. This was the first report of the occurrence of AG-F associated with tomatoes and AG-4-HGI, AG-2-2IIIB, AG-A, AG-G and AG-R associated with brassica plants in Brazil. In a second step, 40 isolates of *R. solani* and binucleate *Rhizoctonia* belonging to different anastomosis groups were identified through sequencing and phylogenetic reconstruction of the RPB2 gene. The results of the phylogenetic analyses corroborate previous studies and confirm the identity of most of the isolates. The RPB2 region allowed to separate the *Rhizoctonia* anastomosis groups into distinct clades with high posterior probability values. The present study revealed that the RPB2 gene has great potential for phylogenetic studies of *Rhizoctonia* anastomosis groups, and can be used as an alternative marker to the ITS region.

Keywords: Bayesian Inference, *Ceratobasidium* sp., ITS-rDNA, *Thanatephorus cucumeris*, Vegetables

CAPÍTULO I

Introdução Geral

GRUPOS DE ANASTOMOSE DE *RHIZOCTONIA*: DIVERSIDADE EM BRÁSSICAS E TOMATE NO BRASIL E UTILIDADE DO GENE RPB2 PARA ANÁLISE FILOGENÉTICA

INTRODUÇÃO GERAL

1. A horticultura no Brasil

Conhecidas popularmente como legumes e verduras, as hortaliças representam o maior grupo de plantas cultivadas no mundo, abrangendo mais de 100 espécies, geralmente herbáceas. (ZÁRATE; VIEIRA; VIEIRA, 2018). São caracterizadas, em sua maioria, por apresentarem consistência não lenhosa; ciclo biológico curto; cultivos em áreas relativamente pequenas; demanda por tratos culturais intensivos durante seu cultivo, além da possibilidade de consumo *in natura* (FILGUEIRA, 2003; PUIATTI, 2019).

As hortaliças são fontes de substâncias consideradas essenciais aos organismos humanos, tais como proteínas, carboidratos, sais minerais, vitaminas e fibras, que auxiliam a digestão e favorecem o funcionamento de diversos órgãos (FILGUEIRA, 2003). Além disso, oferecem efeitos protetivos ao corpo humano contra agentes potencialmente causadores de doenças. Em função dessas características protetivas, as hortaliças são então denominadas de alimentos funcionais (PUIATTI, 2019).

Há uma escassez de dados estatísticos atualizados referentes à produção de hortaliças no Brasil, porém é possível perceber que as culturas hortícolas estão em expansão no país, apresentando aumento considerável na última década. No ano de 2018, o Brasil produziu cerca de 15 milhões de toneladas de hortaliças (FAO, 2020). Essa estimativa, no entanto, não inclui todos os legumes e verduras produzidos no país. Segundo Camargo Filho e Camargo (2017), batata, tomate, cebola, melancia, cenoura, batata doce, alface e repolho são as principais hortaliças produzidos no Brasil, representando aproximadamente 60% da quantidade total.

A exploração de hortaliças no Brasil é fundamentada na agricultura familiar, na qual pequenos e médios produtores respondem por cerca de 60% da produção, principalmente de folhosas como alface e espécies da família Brassicaceae. Estima-se que a atividade de exploração de hortaliças gere quase 3 milhões de empregos diretos no país, com uma média de 2,4 trabalhadores/ha (PUIATTI, 2019).

2. A cultura das brássicas

Brassicaceae constitui a família botânica com o maior número de culturas olerícolas

relatadas. Com provável origem no Mediterrâneo (WARWICK, 2011), são plantas com relevada importância socioeconômica, fundamentais para a saúde e alimentação humana (FILGUEIRA, 2003; MELO; MADEIRA; LIMA, 2016). Apresentam alto valor nutricional, devido a presença de glucosinolatos, substâncias com reconhecidas propriedades anticancerígenas, além de vitaminas A, C, K, ácido fólico, cálcio e fibras (FILGUEIRA, 2003).

A família Brassicaceae apresenta diferenças morfológicas significativas entre as suas espécies, porém, no geral, podem ser classificadas como plantas que apresentam caule ereto, folhas geralmente verdes e grossas, inflorescência do tipo rácimo, constituída por flores pedunculadas e perianto tetrâmero. Os frutos, para a maioria das espécies, são do tipo síliqua cilíndrica, que geralmente, ao se abrirem para liberação das sementes, deixam o pedúnculo aderido à planta mãe (MOREIRA; BRAGANÇA, 2011).

No Brasil, dentre as espécies cultivadas de brássicas destacam-se o repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*.); os brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica*); a couve-flor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*); a couve manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). Também são cultivadas a couve-chinesa (*Brassica rapa* L. var. *pekinensis*); a rúcula (*Eruca sativa* L.); o rabanete (*Raphanus sativus* L.); o agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.); a mostarda (*Brassica juncea* L.); o nabo (*Brassica napus* L.); o chingensai ou pak-choi (*Brassica rapa* L. var. *chinensis*); e a couve-de-bruxelas (*Brassica oleracea* L. var. *gemmifera*) (MELO *et al.*, 2017; MELO *et al.*, 2019).

Entre as variedades botânicas da espécie *B. oleraceae*, o repolho é a de maior importância econômica no Brasil (MELO *et al.* 2019). É uma planta herbácea, bianual, caracterizada pela produção de folhas cerosas, arredondadas, com sobreposição das folhas centrais formando uma “cabeça” compacta (FILGUEIRA, 2003). É um alimento que apresenta teores apreciáveis de β -caroteno, cálcio e vitamina C (FERREIRA; RANAL; FILGUEIRA, 2002). Segundo o IBGE (2020), a produção do repolho no Brasil no ano 2017 foi de 467.622 toneladas, superior à produção de outras brássicas importantes, como couve e brócolis.

Brócolis é uma variedade de *B. oleraceae* que apresenta um grande potencial de mercado. Sua importância vem crescendo devido a apreciação nos diferentes tipos de culinária, suas propriedades nutricionais e o teor de compostos relacionados à saúde (MELO *et al.*, 2015). As inflorescências, de coloração verde escura, com hastes grossas e tenras e botões florais nas extremidades constituem a sua parte comestível (FILGUEIRA, 2003; MELO *et al.*, 2015). É uma hortaliça rica em glucosinolato, β -caroteno, vitamina C, selênio, fibra, luteína, vitamina K, ácido fólico e minerais, que auxiliam no bom funcionamento do organismo (CARVALHO *et al.*, 2006; MELO *et al.*, 2015).

A couve-flor também é uma hortaliça de grande importância no Brasil, cultivada principalmente entre os agricultores familiares (MAY *et al.*, 2007). Caracteriza-se por apresentar folhas alongadas, com limbo elíptico e raízes com profundidade de 20 a 30 cm. Sua parte comestível é uma inflorescência imatura, que constitui uma “cabeça” de coloração branca ou creme desenvolvida sobre um caule curto (FILGUEIRA, 2003). É uma hortaliça rica em potássio e vitaminas importantes para o organismo humano. Além disso, possui 93% de água em sua composição (MAY *et al.*, 2007).

A couve-manteiga, também conhecida como couve de folha ou couve comum, assim como a couve-flor, está entre as brássicas mais cultivadas no Brasil, no entanto, diferencia-se dessa por não formar “cabeça”. Caracteriza-se por apresentar caule reto que suporta a planta e emite novas folhas continuamente (FILGUERA, 2003). Comparativamente a outras hortaliças folhosas, a couve comum destaca-se por apresentar maior conteúdo de proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, ferro, iodo, vitamina A, niacina e vitamina C (TRANI *et al.*, 2015).

3. A cultura do tomateiro

Pertencente à família Solanaceae, o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais importantes no Brasil e no mundo. É originário da América do Sul, na região compreendida entre o Equador e o Chile. No Brasil, a sua introdução ocorreu na época da colonização portuguesa no século XIX, entretanto, sua expansão se deu apenas no século XX, após a recessão econômica mundial em 1929 e a crise do café no estado de São Paulo, em que o tomate e outras solanáceas foram introduzidas com o objetivo de diversificação da agricultura e inserção de novas culturas (CAMARGO FILHO; CAMARGO, 2017).

Nos últimos vinte anos o mercado brasileiro mostrou-se bastante competitivo e dinâmico e, como consequência, o país tornou-se um dos principais produtores de tomate para mesa e para indústria do mundo (CAMARGO FILHO; CAMARGO, 2017; CAMARGO FILHO *et al.*, 1994). Atualmente, o Brasil é o décimo maior produtor mundial de tomate, com uma produção de 3.849.792 toneladas no ano de 2019 (AGRIANUAL, 2020). Segundo o IBGE (2020), os principais produtores são os estados de Goiás, São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro.

O tomateiro é uma planta herbácea, de caule redondo, piloso, tornando-se fibroso, com o passar dos tempos. Apresenta folhas alternadas e pecioladas, compostas por número ímpar de folíolos. As flores são hermafroditas, pequenas e amarelas, com cinco estames livres, cujas anteras soldam-se para formação de um cone que envolve o estigma (GOULD, 1992). Os frutos

do tomateiro são carnosos, do tipo baga, com dois ou mais lóculos (FILGUEIRA, 2008) e apresentam em sua constituição aproximadamente 95% de água e 5% de compostos inorgânicos, ácidos, açúcares, sólidos insolúveis em álcool, dentre outras substâncias (SILVA *et al.*, 2003).

O tomate possui significativa importância nutricional, devido, principalmente, a presença de licopeno, substância responsável pela coloração do fruto. O licopeno é um carotenoide que tem efeito protetor direto contra radicais livres, atuando como um potente antioxidante protetor da camada celular do organismo humano, agindo na prevenção de diversas doenças. Em geral, quanto mais avermelhado o tomate, maior a sua concentração de licopeno (ROSA *et al.*, 2011).

Embora seja uma planta perene, o tomateiro se comporta como uma planta anual, com ciclo que varia de quatro a sete meses. A planta pode apresentar hábitos de crescimento determinado e indeterminado. Nas plantas de hábito de crescimento determinado, há crescimento vegetativo menos vigoroso, com aspecto semelhante a uma moita e formação de um cacho de flores na extremidade das hastas. No hábito indeterminado, por sua vez, ocorre a dominância da gema apical sobre as gemas laterais, característica essa que predomina na maioria das cultivares para mesa (FILGUEIRA, 2008).

A cultura do tomateiro possui duas cadeias produtivas distintas, caracterizadas pelos segmentos de mesa e de indústria. Os tomates de mesa são destinados ao consumo *in natura*, cuja finalidade engloba principalmente o consumo de frutos frescos em salada. Os segmentos de indústria englobam os produtos processados como molho, suco, extrato, purê, sumo, entre outros (NAIKA *et al.*, 2006).

De acordo com as características dos frutos, as cultivares comerciais de tomate de mesa são classificadas em quatro grupos: cereja, santa Cruz, salada e italiano. O grupo cereja caracteriza-se por variedades de frutos pequenos, com elevados teores de sólidos solúveis, muito utilizados na ornamentação de pratos e couvert. As cultivares do grupo santa Cruz apresentam frutos alongados ou arredondados, com peso médio entre 80 a 220 gramas, sendo as cultivares mais conhecidas no mercado, com preço mais baixo e sabor ligeiramente ácido. O grupo salada apresenta frutos de formato globular achatado, grandes, com peso médio de 500g e coloração vermelha a rosada. As cultivares do grupo italiano apresentam frutos compridos, com polpa espessa, coloração vermelha intensa, sabor adocicado, textura e aroma acentuados (ALVARENGA, 2013; DUSI *et al.*, 1993).

4. Doenças das hortaliças

Um dos principais fatores que limita o desenvolvimento das hortaliças é o ataque de fitopatógenos, que causam danos e influenciam de forma direta ou indireta a produção de muitas culturas (BOARI; ISHIDA; SOUZA, 2017). Segundo Capucho; Barroso e Freitas (2017), as hortaliças são as culturas mais afetadas por doenças, por serem altamente suscetíveis a numerosos fitopatógenos e serem cultivadas em ambientes que favorecem o seu desenvolvimento. Dentre as doenças das hortaliças, destacam-se as provocadas por micro-organismos habitantes do solo, caracterizados por apresentarem ampla gama de hospedeiros e por produzirem estruturas de sobrevivência de longa duração. Patógenos importantes do solo incluem espécies de bactérias, nematoides e fungos (SHAFIQUE *et al.*, 2016).

Espécies dos gêneros *Ralstonia* Smith, *Pectobacterium* Hauben, *Agrobacterium* Smith & Townsend e *Streptomyces* Waksman & Henrici se destacam como importantes bactérias habitantes do solo que causam problemas em hortaliças (SHAFIQUE *et al.*, 2016). O gênero *Ralstonia* é responsável por causar a doença conhecida como murcha bacteriana, um fator limitante à produção de hortaliças, em especial o tomateiro, inviabilizando o seu cultivo em áreas infestadas por um longo período (KIM *et al.*, 2016; PLANAS-MARQUÈS *et al.*, 2020). *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causa a podridão mole, um sério problema para as hortaliças, principalmente em final de ciclo (ZACZEK-MOCZYDŁOWSKA, 2019), gerando danos consideráveis em brássicas como couve-chinesa, repolho e nabo (JEONG *et al.*, 2019; MELLO *et al.*, 2011; NAZERIAN *et al.*, 2011; REN; DICKSON; PETZOLDT, 2001).

Entre os nematoides, é de grande importância o gênero *Meloidogyne* Goeldi. Conhecidos como nematoides das galhas, espécies de *Meloidogyne* causam sérios danos econômicos, sendo considerados os patógenos mais importantes de muitas culturas cultivadas em todo o mundo (YOUSSEF; LASHIEN, 2013). Em hortaliças, podem causar perdas de até 80% em campos fortemente infestados (SHAFIQUE *et al.*, 2016).

Entre os fungos, destaque especial para espécies de *Fusarium* Link, *Verticillium* Nees, *Sclerotinia* Fuckel, *Macrophomina* Petr e *Rhizoctonia* DC. Esses gêneros causam perdas na agricultura de bilhões de dólares a cada ano. *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani* são consideradas as espécies mais importantes, pois se desenvolvem em solos cultivados e não cultivados, infectando uma ampla variedade de hospedeiros (SHAFIQUE *et al.*, 2016).

5. Rizoctoniose das hortaliças

A rizoctoniose é uma das doenças mais frequentes e de maior intensidade nos cultivos de hortaliças. A gama de hospedeiros de *Rhizoctonia* é constituída por mais de 500 espécies de plantas, causando importantes doenças na maioria das plantas cultivadas em todo o mundo (AGARWAL, 2010; FARR; ROSSMAN, 2020; OGOSHI, 1996; PATIL; SOLANKI, 2016; YANG; LI, 2012). Em hortaliças, é responsável por perdas de até 80%, causando danos desde o início do plantio (SHAFIQUE *et al.*, 2016). Os sintomas provocados incluem tombamentos de pré e pós emergência, podridão radicular, podridão de colo, além de lesão foliar e podridão de frutos em uma variedade de hospedeiros (KUCHAREK, 2000; KURAMAE *et al.*, 2003; LOPES; ÁVILA, 2005).

Tombamento é considerado o sintoma mais comum causado por *Rhizoctonia* spp. na maioria das plantas afetadas, ocorrendo principalmente em solos frios e úmidos. As mudas mais jovens podem morrer antes ou logo depois da emergência. Após a emergência, o fungo ataca o caule das mudas, tornando-as encharcadas, macias e incapazes de sustentação, ocasionando o tombamento e morte. Em mudas mais velhas, a infecção se concentra nos tecidos corticais externos, que desenvolvem lesões alongadas, de coloração castanho-amarelada a castanho-avermelhada. Em culturas como brássicas, antes da morte da planta o caule pode adquirir a coloração preto-acastanhada, tornando-se dobradiço ou retorcido (AGRIOS, 2005).

Em plantas mais baixas, caso das maiorias das hortaliças, as folhas inferiores entram em contato com o solo, o que facilita o processo de infecção. Das folhas mais baixas, a infecção se espalha para cima até a maioria das folhas e as cabeças serem invadidas e apodrecidas, com a permeação do micélio pelos tecidos. Em frutos que ficam próximos ao solo, como por exemplo o tomate, *Rhizoctonia* spp. causa podridões, que podem aparecer inicialmente no campo, mas se espalhar para outros frutos após a colheita e durante o transporte e armazenamento (AGRIOS, 2005; GONZÁLEZ GARCÍA, 2006).

O controle da rizoctoniose é muito difícil, pois seu agente causal é um fungo habitante do solo que apresenta alta capacidade de sobrevivência na ausência do hospedeiro, possui elevada agressividade, combinada com grande habilidade de competição saprofítica, além de ser transmitido por sementes e apresentar ampla gama de hospedeiros (AGARWAL, 2010). Segundo Park (1970), citado por Kunieda-Alonso, Alfenas e Maffia (2005), escleródios de *R. solani* podem sobreviver por até seis anos em solo seco ao ar. Atualmente não há variedades comerciais de plantas cultivadas com níveis aceitáveis de resistência à doença, a rotação de culturas é pouco eficiente e o controle químico é ineficaz, inviável economicamente e de elevado impacto ambiental (AGARWAL, 2010; WELLER *et al.*, 2002).

6. O gênero *Rhizoctonia*

O gênero *Rhizoctonia* foi descrito inicialmente em 1815 por DeCandolle, de acordo com características que incluíam a habilidade de causar podridões em raízes, ausência de esporos e formação de escleródios (HIETALA; SEM; LILJA, 1994; STALPERS; ANDERSON, 1996). As características morfológicas do gênero compreendem a ramificação em ângulo reto, observada próxima ao septo distal em hifas jovens; presença de um septo na ramificação da hifa, próximo do seu ponto de origem; presença de septos do tipo doliporo; ausência de grampos de conexão e ausência de rizomorfias (OGOSHI, 1987; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991).

A diferenciação de espécies do gênero *Rhizoctonia* pode ser baseada pelo número de núcleos por célula, morfologia do teleomorfo, grupo de anastomose, características bioquímicas e moleculares (GONZÁLEZ-GARCÍA; ONCO; SUSAN, 2006; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991; YANG; LI, 2012).

A determinação do número de núcleos constitui um importante parâmetro taxonômico na identificação de isolados de *Rhizoctonia*. A partir desse parâmetro é possível separar as espécies de *Rhizoctonia* em dois grupos: *Rhizoctonia* binucleada e *Rhizoctonia* multinucleada. As espécies binucleadas, constituídas por isolados com dois núcleos por célula, incluem *R. callae* E. Castell, *R. cerealis* V. D. Hoeven, *R. endophytica* H. K. Saksena & O. Vaartaja, *R. fragariae* S. Husain & W. E. McKeen, *R. fumigata* S. Gunnell & R. K. Webster, *R. ramicola* W.A. Weber & D.A. Roberts, *R. oryzae-sativae* S. Mordue, *R. repens* N. Bernard e *R. anaticula* R. S. Currah. As espécies multinucleadas, com número de núcleos variando entre 3 a 28, compreendem *R. zea* R. K. Voorhees, *R. oryzae* T. C. Ryker e F. S. Gooch e *R. solani* J. G. Kühn, sendo a última considerada a espécie mais importante como fitopatígeno (SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991).

Pertencentes ao filo *Basidiomycota*, os principais teleomorfos de *Rhizoctonia* são os gêneros *Thanatephorus* Donk., *Ceratobasidium* Rogers, *Waitea* Warcup & Talbot e *Tulasnella* Schröter (GONZÁLEZ-GARCÍA; ONCO; SUSAN, 2006). *Thanatephorus cucumeris* Donk constitui a fase teleomórfica da espécie multinucleada *R. solani* e caracteriza-se por possuir hipocnoide, basidiomas gelatinizados e hifas somáticas largas (ROBERTS, 1999). Alguns autores, por sua vez, relataram que possivelmente outras espécies de *Thanatephorus* estejam associadas a *R. solani*, como *T. sasakii* (Shirai) C.C. Tu & Kimbrough, *T. microsclerotius* (G.F. Weber) Boidin, Mugnier & Canales e *T. praticola* (Kotila) Flentje (GONZÁLEZ-GARCÍA; ONCO; SUSAN, 2006; QUEIROZ DAVID *et al.*, 2018). *Waitea circinata* Warcup & Talbot é o teleomorfo de *R. zea* e *R. oryzae*; é considerado um complexo de espécies e divide-se em

três variedades: var. *circinata*, var. *zeae* e var. *oryzae* (LEINER; CARLING, 1994). *Ceratobasidium* é o teleomorfo da maioria das espécies binucleadas, incluindo *R. repens* e *R. oryzae-sativae*. As principais espécies de *Ceratobasidium* descritas na literatura são *C. cornigerum* D.P. Rogers, *C. gramineum* Ikata & T. Matsuura e *C. oryzae-sativae* P.S. Gunnell & R.K. Webster. As características morfológicas associadas a *Ceratobasidium* são a produção de corpos de frutificação efusos, de consistência cerácea, produzidos diretamente a partir de hifas basais; basidiósporos com altas taxas de germinação repetitiva e hifas somáticas mais estreitas, quando comparadas ao gênero *Thanatephorus* (GONZÁLEZ-GARCÍA; ONCO; SUSAN, 2006; KIRK *et al.*, 2001).

O critério mais importante para delinear espécies de *Rhizoctonia* é a diferenciação por grupos de anastomose (GÓNZALEZ *et al.*, 2016). O conceito de grupo de anastomose baseia-se na premissa de que hifas de isolados da mesma espécie (independentemente da capacidade de cruzamento entre si) têm a habilidade de se reconhecer e se fundir (OGOSHI, 1987). Esse conceito tem sido amplamente aceito nos últimos anos para identificação grupos de anastomose de *R. solani* e espécies de *Rhizoctonia* binucleada, associadas a *Ceratobasidium* (CARLING, 1996; GÓNZALEZ *et al.*, 2016).

Quatro possíveis reações de anastomose podem ocorrer quando isolados de *Rhizoctonia* são pareados: C0, C1, C2 e C3. Na interação do tipo C0 não ocorre fusão; os isolados são totalmente não relacionados, sem nenhuma reação entre o isolado desconhecido e o isolado testador. No tipo C1 ocorre fusão de contato; a parede celular das hifas dos isolados entram em contato, mas não ocorre fusão, lise, penetração da parede ou contato entre membranas. A reação do tipo C2 é também denominada de anastomose imperfeita; ocorre quando a conexão da parede celular e o contato da membrana não são vistos claramente; ocorre fusão de parede celular e morte de algumas células em cada hifa envolvida na anastomose. Na reação do tipo C3 ocorre fusão perfeita; a membrana da parede celular dos dois isolados combina e acarreta uma mistura de citoplasmas vivos; essa reação somente ocorre quando os isolados pareados pertencem ao mesmo grupo de anastomose e compatibilidade vegetativa (CARLING, 1996).

Determinados grupos de anastomose têm sido divididos em subgrupos, denominados grupos intraespecíficos (ISGs), com base em evidências de reações de anastomose, patogenicidade, morfologia, testes bioquímicos, temperatura ótima de crescimento, gama de hospedeiros e critérios moleculares (CARLING; KUNINAGA; BRAINARD, 2002; OGOSHI, 1996). A diferenciação de isolados de *Rhizoctonia* em ISGs, por sua vez, não é fácil, principalmente quando baseada apenas em reações de anastomose (GONZÁLEZ-GARCÍA; ONCO; SUSAN, 2006; YANG; LI, 2012).

Até o momento são reconhecidos 13 grupos de anastomose em *R. solani*, denominados AG-1 a AG-13 (AGARWAL, 2010; DONG *et al.*, 2017; GONZÁLEZ-GARCÍA; ONCO; SUSAN, 2006; GÓNZALEZ *et al.*, 2016; INOKUTI *et al.*, 2018; YANG; LI, 2012; ZHAO *et al.*, 2019). São relatados sete ISGs dentro de AG-1 (IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG), oito dentro de AG-2 (1 1-2t, 2 IIIB, 2 IV, 2 LP, 2 WB, 3, 4 e BI), dois dentro de AG-3 (PT e TB), três dentro de AG-4 (HG-I, HG-II e HG-III) e cinco dentro de AG-6 (HG-I, Gv1, Gv2, Gv3 e Gv4) (CARLING, 2000; GODOY-LUTZ *et al.*, 2008; SHARON *et al.*, 2006; YANG; LI, 2012). Apesar da diversidade de AGs, há evidências que somente os grupos AG-1, AG-2, AG-3 e AG-4 tenham distribuição global, prevalentes na maioria dos agroecossistemas (CARLING, 1996; CERESINI, 2014; GONZÁLEZ-GARCÍA; ONCO; SUSAN, 2006).

Em *Rhizoctonia* binucleada foram descritos ao redor do mundo 18 grupos de anastomose com teleomorfo em *Ceratobasidium*, denominados AG-A a AG-W. Destes, é conhecido que AG-J, AG-M e AG-N não pertencem mais ao gênero *Rhizoctonia*, os isolados representativos de AG-M foram perdidos e AG-T e AG-U foram reclassificados como AG-A e AG-P, respectivamente (SHARON *et al.*, 2008). Três ISGs foram relatados dentro de AG-B (Ba, Bb e B(o)), três dentro de AG-D (I, II e III) e dois dentro de AG-F (Fa e Fb) (SHARON *et al.*, 2007; YANG; LI, 2012; YANG *et al.*, 2015). Além dessa classificação por letras descrita na maioria dos países, há ainda a classificação americana, em que isolados binucleados de *Rhizoctonia* foram reunidos em sete grupos de anastomose distintos, denominados de CAG-1 a CAG-7 (BURPEE *et al.*, 1980).

7. Grupos de anastomose de *Rhizoctonia* associados a brássicas e tomate

Diferentes grupos de anastomose de *Rhizoctonia* causam infecção em brássicas e tomate. AG-1-IA, AG1-IB, AG-2-1, AG-4-HGI e AG-A são os AGs mais amplamente distribuídos em diferentes países, causando sintomas de *damping off*, podridão radicular, podridão de colo e podridão foliar em espécies da família Brassicaceae (HUA *et al.*, 2014; IRELAND, 2014; LI *et al.*, 2011; MISAWA; AOKI, 2017; SASAKI *et al.*, 2018; SHIM *et al.*, 2013; TÜRKKAN; KILIÇOĞLU; ERPER, 2020; YANG; CHEN; PU, 2007). Em tomate, isolados AG-2-1, AG-2-2, AG-3-PT, AG-4-HGI e AG-5 têm sido relatados, causando *damping off*, podridão de colo e podridão de frutos, além de lesões foliares (GONDAL, RALF; NAZ., 2019a; GONDAL, RALF; NAZ., 2019b; MISAWA; KUNINAGA, 2010; POURMAHDI; TAHERI, 2015).

No Brasil, estudos de diversidade de grupos de anastomose de *Rhizoctonia* associados a brássicas e tomate são escassos. Entre os AGs descritos, poucos isolados foram identificados. Bolkan e Ribeiro (1985) identificaram dois isolados pertencentes a AG-1 e AG-2 infectando rabanete e repolho, respectivamente; Kuramae *et al.* (2003) identificaram AG-4-HGI em tomate e AG-4-HGIII em brócolis; Kuramae *et al.* (2007) relataram quatro isolados de *Rhizoctonia* binucleada relacionados a CAG-7 causando infecção em couve; e Gaino *et al.* (2010) identificaram um isolado AG-1-IB em repolho.

A tabela 1 apresenta AGs de isolados de *R. solani* e *Rhizoctonia* binucleada associados a brássicas relatados no Brasil e no mundo.

Tabela 1. Grupos de anastomose de isolados de *Rhizoctonia* associados a brássicas em diferentes países.

Hospedeiro	AG	País	Referência
Acelga chinesa	AG1-IA, AG1-IB, AG4-HGI, AG-A, AG-F	Vietnam	Hua <i>et al.</i> , 2014
Brócolis	AG-4-HGIII	Brasil	Kuramae <i>et al.</i> , 2003
	AG-1-IB	Vietnam	Hua <i>et al.</i> , 2014
	AG-2-2IV	Japão	Misawa <i>et al.</i> , 2015
	AG2-1	Japão	Misawa <i>et al.</i> , 2018
Brócolis chinês	AG-4-HGI	Lao PDR	Ireland, 2014
Canola	AG-2-1, AG-4, AG-2-2	Canadá	Verma, 1996
	AG-9	Canadá	Yang <i>et al.</i> , 1996
Couve chinesa	AG-A	China	Li <i>et al.</i> , 2011
	AG1-IB, AG1-IC	China	Shim <i>et al.</i> , 2013
Couve-manteiga	CAG-7	Brasil	Kuramae <i>et al.</i> , 2007
	AG-4-HGI	Japão	Sasaki <i>et al.</i> , 2018
	AG-2-I, AG-4-HGI, AG-5, AG-A, AG-Fb, AG-E, AG-K	Turquia	Türkkan; Kılıçoğlu; Erper, 2020
Couve-flor	AG1-IB, AG1-IC, AG2-I, AG2-2IIIB, AG4-HGII, AG-3, AG-5, AG-K	Bélgica	Pannecouque; Van Beneden; Höfte, 2008
	AG-1-IB	China	Yang <i>et al.</i> , 2005
Mostarda	AG-A	China	Li <i>et al.</i> , 2011
	AG-1-IA, AG1-ID, AG4-HGI	Vietnam	Hua <i>et al.</i> , 2014
	AG-4	China	Jiang <i>et al.</i> , 2016
	AG2-1	Japão	Misawa <i>et al.</i> , 2018
	AG-1	Brasil	Bolkan; Ribeiro, 1985
Rabanete	AG-2-1	Japão	Misawa; Kurose, 2019
	AG-2	Brasil	Bolkan; Ribeiro, 1985

	AG2-1, AG-4	EUA	Rollins; Keinath; Farnham, 1999
	AG-4-HGI	China	Yang; Chen; Pu, 2007
	AG-2-I	China	Zhang <i>et al.</i> , 2009
	AG 2-1, AG4-HGII	Reino Unido	Budge <i>et al.</i> , 2009
	AG-1, AG-2-1	EUA	Ohkura <i>et al.</i> , 2009
	AG-1-IB	Brasil	Gaino <i>et al.</i> , 2010
	AG1-IA, AG1-IB, AG4-HGI, AG-A	Vietnam	Hua <i>et al.</i> , 2014
	AG1-IC	Japão	Misawa; Aoki, 2017
	AG1-IA, AG-4-HGI	Japão	Misawa; Kurose, 2019
Repolho chinês	AG-1-IA, AG1-IB, AG1-ID, AG1-IG, AG2-2, AG4-HGI	Vietnam	Hua <i>et al.</i> , 2014
Rúcula	AG4-HGIII	Japão	Takeuchi; Horie, 2006
Nabo	AG1-IA, AG2-2, AG4-HGI	Vietnam	Hua <i>et al.</i> , 2014
	AG-2-1	Japão	Misawa <i>et al.</i> , 2018

A tabela 2 reuniu os trabalhos desenvolvidos identificando AGs de *R. solani* e *Rhizoctonia* binucleada associados a tomate no Brasil e no mundo. Até o momento, poucos trabalhos foram publicados.

Tabela 2. Grupos de anastomose de isolados de *Rhizoctonia* associados a tomate em diferentes países.

Hospedeiro	AG	País	Referência
Tomate	AG-F, AG-R	EUA	Burpee <i>et al.</i> , 1980
	AG-4	Turquia	Yildiz; Doken, 2002
	AG-4-HGI	Brasil	Kuramae <i>et al.</i> , 2003
	AG3-PT, AG2-Nt	Japão	Misawa; Kuninaga, 2010
	AG-3	EUA	Bartz <i>et al.</i> , 2010
	AG-3-PT, AG-2-1, AG-2-2, AG-4-HGI, AG-5	Paquistão	Gondal; Rauf; Naz, 2019a; 2019b

8. Identificação molecular de grupos de anastomose de *Rhizoctonia*

A determinação dos AGs de *Rhizoctonia* foi realizada durante muitos anos somente pelo pareamento de hifas com isolados testadores (CARLING, 1996; KUNINAGA, 2002; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991). Contudo, alguns problemas foram constatados com a utilização desse método clássico (CARLING, 1996; SHARON *et al.*, 2006; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991). O pareamento permite, muitas vezes, variação frequente na fusão de hifas, levando a

erros de identificação, além de exigir grande demanda de tempo e experiência (SHARON *et al.*, 2006; SNEH; BURPEE; OGOSHI, 1991). Além do mais, a maioria dos laboratórios não tem isolados testadores dos diferentes AGs para a realização dos pareamentos, o que dificulta ainda mais o uso dessa metodologia. Diante disso, técnicas moleculares vêm sendo utilizadas para a identificação precisa e alocação dos isolados de *Rhizoctonia* nos diferentes AGs descritos.

Os AGs de *Rhizoctonia* podem ser definidos por reação da cadeia em polimerase (PCR) da região espaçadora interna transcrita (ITS) do DNA ribossômico (rDNA) e posterior sequenciamento; hibridização DNA/DNA; gel de eletroforese em campo pulsado; polimorfismo do DNA amplificado ao acaso (RAPD); polimorfismo do comprimento dos fragmentos restringidos (RFLP) e polimorfismo do comprimento dos fragmentos amplificados (AFLP) (AGARWAL, 2010; BOYSEN *et al.*, 1996; GONZÁLEZ-GARCÍA; ONCO; SUSAN, 2006; KUNINAGA *et al.*, 1997). Dentre essas técnicas, a análise da região ITS rDNA é a mais utilizada, por oferecer suporte filogenético molecular para a maioria dos grupos de anastomose (AGARWAL, 2010; AIELLO *et al.*, 2017; INOKUTI *et al.*, 2018; MISAWUA; KUROSE 2019; YANG *et al.*, 2017).

O rDNA nuclear em fungos é organizado como uma unidade repetitiva, na qual se encontram os genes 18S, 5.8S e 28S (ELDER JR; TURNER, 1995). A região ITS está localizada entre os genes 18S e 28S, e inclui as regiões ITS1 e ITS2, separadas pelo gene 5.8S (SCHOCH *et al.*, 2012). Em fungos, é uma região que contém aproximadamente 600 pares de bases (BUEE *et al.*, 2009). É o marcador fúngico mais abundante nos bancos de dados; apresenta natureza multicópia, que facilita a amplificação de regiões de baixa qualidade; possui primers universais que distinguem suficientemente muitas espécies de fungos. A região ITS-rDNA é, ainda, considerada o DNA *barcoding* para a maioria das espécies fúngicas (SCHOCH *et al.*, 2012).

Apesar do uso frequente da região ITS-rDNA para identificação molecular de fungos, o uso individual dessa região nem sempre distingue suficientemente espécies fúngicas de níveis taxonômicos mais elevados, devido a limitações, como dificuldades no alinhamento de sequências, por efeito de características relacionadas ao acúmulo de indel ou heterogeneidade de cópias, além da presença de variabilidade intragenômica, que pode afetar estimativas de diversidade (AVIS; DICKIE; MUELLER, 2006; KISS, 2012; LINDNER *et al.*, 2013). Dessa forma, regiões gênicas mais conservadas, codificadoras de proteínas, também devem ser consideradas (GLASS *et al.*, 2013).

A RNA polimerase II é uma enzima encontrada em células eucarióticas, que catalisa a transcrição de DNA para síntese de precursores de RNAm, RNAsn e RNAmicro. É uma enzima importante, sendo a mais estudada dentre as RNA polimerases. É composta de dez a doze subunidades proteicas (RPB1-RPB12), com genes codificadores espalhados por todo o genoma (KORNBERG, 1999; SIMS; MANDAL; REINBERG, 2004; YOUNG, 1991). O gene que codifica a segunda maior subunidade proteica da RNA polimerase II (RPB2) é considerado um marcador alternativo adequado para estudos filogenéticos de fungos que apresentam níveis taxonômicos mais elevados. É um gene bastante conservado, apresenta cópia única em fungos, fragmentos de tamanho grande, sequências de nucleotídeos facilmente alinháveis e taxa de evolução conveniente para estudos filogenéticos mais aprofundados (MATHENY, 2005; VĚTROVSKÝ *et al.*, 2016).

A região RPB2 foi incluída em estudos filogenéticos do gênero *Rhizoctonia* em trabalhos que realizaram análises multilocus para identificação do patógeno, gerando sequências RPB2 depositadas no GenBank (CHAVARRO-MESA *et al.*, 2020; GÓNZALEZ *et al.*, 20016; NAKATANI, 2006; RENTERÍA-MARTÍNEZ *et al.*, 2018). O uso dessa região em estudos de diversidade, por sua vez, é dificultado, pois não há sequências de isolados padrões suficientes nos bancos de dados para comparação, como ocorre com a região ITS-rDNA, apresentando dessa forma, uso limitado (VĚTROVSKÝ *et al.*, 2016).

O conhecimento dos AGs e ISGs de *Rhizoctonia* é de suma importância para a compreensão da diversidade ecológica do patógeno, estudos epidemiológicos e suas possíveis implicações no manejo da doença nas diferentes culturas (AGARWAL, 2010; GODOY-LUTZ *et al.*, 2008; SHARMA-POUDYAL *et al.*, 2015). Os diferentes AGs de *Rhizoctonia* podem responder de maneiras diferentes às medidas de controle, uma vez que uma medida pode ser mais eficiente para determinado grupo. Sendo assim, é extremamente importante uma identificação adequada e precisa dos isolados dentro dos diferentes AGs existentes e, conseqüentemente, a definição de estratégias de manejo (CAMPION *et al.*, 2003; ÖZER; BAYRAKTAR, 2015; PATIL; SOLANKI, 2016).

Diante disso, os objetivos desta tese foram: (i) identificar grupos de anastomose de *Rhizoctonia* associados a espécies de brássicas e tomate em diferentes regiões do Brasil; (ii) caracterizar os isolados em termos de patogenicidade e agressividade; (iii) avaliar a utilidade do gene RPB2 para filogenia e identificação de grupos de anastomose de *Rhizoctonia*; (iv) gerar um banco de sequências RPB2 de *Rhizocotonia solani* e *Rhizoctonia* binucleada. Estas informações serão importantes para a definição de estratégias de manejo da rizoctoniose em hortaliças, bem como para futuras identificações de grupos de anastomose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, D. K. *Rhizoctonia* D. C.: taxonomy, ecology and management. In: MUKERJI, K. G.; MANOHARACHARY, C. (Eds.). **Taxonomy and ecology of Indian fungi**. New Delhi: I. K. International Publishing House, 2010. p. 19-49.
- AGRIANUAL 2020: **Anuário da agricultura brasileira**. 25. ed. São Paulo: FNP Consultoria & Agroinformativos, 2020. 416 p.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5th ed. New York: Academic Press, 2005. 922 p.
- AIELLO, D.; GUARNACCIA, V.; FORMICA, P. T.; HYAKUMACHI, M.; POLIZZI, G. Occurrence and characterisation of *Rhizoctonia* species causing diseases of ornamental plants in Italy. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 148, n. 4, p. 967-982, 2017.
- ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. 2 ed. Lavras: Ed. UFLA, 2013. 455 p.
- AVIS, P.G.; DICKIE, I. A.; MUELLER, G. M. A 'dirty' business: testing the limitations of terminal restriction fragment length polymorphism (TRFLP) analysis of soil fungi. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 15, n. 3, p. 873-882, 2006.
- BARTZ, F. E.; CUBETA, M. A.; TODA, T.; NAITO, S.; IVORS, K. L. An in planta method for assessing the role of basidiospores in *Rhizoctonia* foliar disease of tomato. **Plant Disease**, S. Paul, v. 94, n. 5, p. 515-520, 2010.
- BOARI, A. de J.; ISHIDA, A. K. N.; de SOUZA, M. B. **Doenças nas hortaliças cultivadas em Altamira, PA e região**. Brasília: Embrapa, 2017. 57 p. (Embrapa Amazônia Oriental-Fôlder/Folheto/Cartilha INFOTECA-E).
- BOLKAN, H. A.; RIBEIRO, W. R. C. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates from Brazil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 69, n. 7, p. 599-601, 1985.
- BOYSEN, M.; BORJA, M.; DEL MORAL, C.; SALAZAR, O.; RUBIO, V. Identification at strain level of *Rhizoctonia solani* AG4 isolates by direct sequence of asymmetric PCR products of the ITS regions. **Current Genetics**, Berlin, v. 29, n. 2, p. 174-181, 1996.
- BUDGE, G. E.; SHAW, M. W.; LAMBOURNE, C.; JENNINGS, P.; CLAYBURN, R.; BOONHAM, N.; MCPHERSON, M. Characterization and origin of infection of *Rhizoctonia solani* associated with *Brassica oleracea* crops in the UK. **Plant Pathology**, Oxford, v. 58, n. 6, p. 1059-1070, 2009.
- BUEE, M.; REICH, M.; MURAT, C.; MORIN, E.; NILSSON, R. H.; UROZ, S.; MARTIN, F. 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. **New Phytologist**, London, v. 184, n. 2, p. 449-456, 2009.
- BURPEE, L. L.; SANDERS, P. L.; COLE, J. R. H.; SHERWOOD, R. T. Anastomosis groups among isolates of *Ceratobasidium cornigerum* and related fungi. **Mycologia**, Lancaster, v. 72, n. 4, p. 689-701, 1980.

- CAMARGO FILHO, W. P.; CAMARGO, F. P. A quick review of the production and commercialization of the main vegetables in Brazil and the world from 1970 to 2015. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 2, p. 160-166, 2017.
- CAMARGO FILHO, W. P.; DONADELLI, A.; SUEYOSHI, M. D. L. S.; CAMARGO, A. M. M. P. Evolução da produção de tomate no Brasil. **Agricultura em São Paulo**, São Paulo, v. 41, p. 41-69, 1994.
- CAMPION, C.; CHATOT, C.; PERRATON, B.; ANDRIVON, D. Anastomosis groups, pathogenicity and sensitivity to fungicides of *Rhizoctonia solani* isolates collected on potato crops in France. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 109, n. 9, p. 983-992, 2003.
- CAPUCHO, A. S.; BARROSO, K. A.; FREITAS, H. R. Levantamento de doenças foliares em hortas urbanas de Petrolina-PE. **EXTRAMUROS-Revista de Extensão da Univasf**, Petrolina, v. 5, n. 2, p. 164-181, 2017.
- CARLING, D. E. Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Eds.). **Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer, 1996. p. 37-47.
- CARLING, D. E.; KUNINAGA, S.; BRAINARD, K. A. 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**, St. Paul, v. 92, n. 1, p. 43-50, 2002.
- CARLING, D. E. **Anastomosis groups and subsets of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani***. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RHIZOCTONIA, 3., 2000. **Abstracts ...** Taichung: International Symposium on Rhizoctonia, 2000. 14 p.
- CARVALHO, P. G.; MACHADO, C. M. M.; MORETTI, C. L.; FONSECA, M. E. D. N. Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 397-404, 2006.
- CERESINI, P. C. *Rhizoctonia* como fitopatógeno: biologia e diversidade de *Rhizoctonia solani* em agroecossistemas tropicais e perspectivas do manejo da rizoctoniose usando resistência de plantas. In: FREITAS, A. S.; DORNELAS, G. A.; SILVA, J. C. P.; SALUM, L. A. (Eds.). **Sanidade de raízes**. São Carlos: Suprema, 2014. p. 177-190.
- CHAVARRO-MESA, E.; CERESINI, P.; PEREIRA, D.; VICENTINI, S.; SILVA, T.; RAMOS-MOLINA, L.; NEGRISOLI, M.; SCHURT, D.; VIEIRA JÚNIOR, J. R. A broad diversity survey of *Rhizoctonia* species from the Brazilian Amazon reveals the prevalence of *R. solani* AG-1 IA on signal grass and the new record of AG-1 IF on cowpea and soybeans. **Plant Pathology**, Oxford, v. 69, n. 3, p. 455-466, 2020.
- DONG, W.; LI, Y.; DUAN, C.; LI, X.; NAITO, S.; CONNER, R. L.; YANG, G.; LI, C. Identification of AG-V, a new anastomosis group of binucleate *Rhizoctonia* spp. from taro and ginger in Yunnan province. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 148, n. 4, p. 895-906, 2017.

DUSI, A. P.; LOPES, C. A.; OLIVEIRA, C. A. S.; MOREIRA, H. M.; de MIRANDA, J. E. C.; CHARCHAR, J. M.; SILVA, J. L. O.; MAGALHÃES, J. R.; BRANCO, M. C.; REIS, N. V. B.; MAKISHIMA, N.; FONTES, R. R.; PEREIRA, W.; HORINO, Y. **A cultura do tomateiro (para mesa)**. Brasília: Embrapa - CNPH, 1993. 92 p.

ELDER JR, J. F.; TURNER, B. J. Concerted evolution of repetitive DNA sequences in eukaryotes. **The Quarterly Review of Biology**, Chicago, v. 70, n. 3, p. 297-320, 1995.

FAO - Food and Agriculture Organization. **Faostat**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 10 jun. 2020.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungal databases**. Beltsville: National Fungus Collections, ARS, USDA. Disponível em: <<https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>>. Acesso em: 15 jun. 2020.

FERREIRA, W. R.; RANAL, M. A.; FILGUEIRA, F. A. R. Fertilizantes e espaçamento entre plantas na produtividade da couve-da-Malásia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 635-640, 2002.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2008. 421 p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2003. 412 p.

GAINO, A. P. S. C.; BASSETO, M. A.; GASPAROTTO, L.; POLTRONIERI, L. S.; CERESINI, P. C. Inferência filogenética revela a complexa etiologia das manchas areolada e foliar em seringueira e em outras espécies cultivadas na Amazônia. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 385-395, 2010.

GLASS, D. J.; TAKEBAYASHI, N.; OLSON, L. E.; TAYLOR, D. L. Evaluation of the authenticity of a highly novel environmental sequence from boreal forest soil using ribosomal RNA secondary structure modeling. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 67, n. 1, p. 234-245, 2013.

GODOY-LUTZ, G.; KUNINAGA, S.; STEADMAN, J. R.; POWERS, K. Phylogenetic analysis of *Rhizoctonia solani* subgroups associated with web blight symptoms on common bean based on ITS-5.8S rDNA. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 74, n. 1, p. 32-40, 2008.

GONDAL, A. S.; RAUF, A.; NAZ, F. Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* associated with tomato foot rot in Potohar Region of Pakistan. **Scientific Reports**, London, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2019a.

GONDAL, A. S.; RAUF, A.; NAZ, F. The first report of tomato foot rot caused by *Rhizoctonia solani* AG-3 PT from Pakistan. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 101, n. 2, p. 425-425, 2019b.

GÓNZALEZ, D.; RODRIGUEZ-CARRES, M.; BOEKHOUT, T.; STALPERS, J.; KURAMAE, E. E.; NAKATANI, A. K.; VILGALYS, R.; CUBETA, M. A. Phylogenetic relationships of *Rhizoctonia* fungi within the Cantharellales. **Fungal Biology**, Oxford, v. 120, n. 4, p. 603-619, 2016.

GONZÁLEZ-GARCÍA, V. G.; ONCO, M. A. P.; SUSAN, V. B. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, v. 4, p. 55-79, 2006.

GOULD, W. A. **Tomato production, processing & technology**. 3. ed. Baltimore: CTI Publications Inc., 1992. 500 p.

HIETALA, A, M.; SEN, R.; LILJA, A. Anamorphic and teleomorphic characteristics of a uninucleate *Rhizoctonia* sp. isolated from the roots of nursery grown conifer seedlings. **Mycological Research**, Cambridge, v. 98, n. 9, p. 1044-1050, 1994.

HUA, G. K. H.; BERTIER, L.; SOLTANINEJAD, S.; HÖFTE, M. Cropping systems and cultural practices determine the *Rhizoctonia* anastomosis groups associated with *Brassica* spp. in Vietnam. **PloS One**, San Francisco, v. 9, n. 11, p. 1-15, 2014.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **SIDRA - Sistema IBGE de recuperação automática [online]**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2020. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6953#resultado>. Acesso em: 01 jun. 2020.

INOKUTI, E. M.; REIS, A.; CERESINI, P. C.; CÂMARA, M. P.; MICHEREFF, S. J. Diversity and pathogenicity of anastomosis groups of *Rhizoctonia* associated with potato stem canker and black scurf diseases in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 153, n. 4, p. 1333-1339, 2018.

IRELAND, K. B.; WEIR, B. S.; PHANTAVONG, S.; PHITSANOUKANE, P.; VONGVICHID, K.; VILAVONG, S.; TESORIERO, L. A.; BURGESS, L. W. First report of *Rhizoctonia solani* anastomosis group AG-4 HG-I in the Lao PDR. **Australasian Plant Disease Notes**, Collingwood, v. 10, n. 1, p. 1, 2014.

JEONG, S. G.; LEE, J. Y.; YOON, S. R.; MOON, E. W.; HA, J. H. A quantitative PCR based method using propidium monoazide for specific and sensitive detection of *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* in kimchi cabbage (*Brassica rapa* L. subsp. *pekinensis*). **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 113, p. 108327, 2019.

JIANG, J. H.; TAM, S. L.; TODA, T.; CHEN, L. C. Controlling *Rhizoctonia* damping-off of Chinese mustard by using endomycorrhizal *Rhizoctonia* spp. isolated from orchid mycorrhizae. **Plant Disease**, St. Paul, v. 100, n. 1, p. 85-91, 2016.

KIM, S. G.; HUR, O. S.; RO, N. Y.; KO, H. C.; RHEE, J. H.; SUNG, J. S.; RYU, K. Y.; LEE, S. Y.; BAEK, H. J. Evaluation of resistance to *Ralstonia solanacearum* in tomato genetic resources at seedling stage. **The Plant Pathology Journal**, Suwon, v.32, n. 1, p.58, 2016.

KIRK P. M.; CANNON P. F.; DAVID, J. C.; STALPERS, J. A. **Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi**. 9. ed. Wallingford: International Mycological Institute, CAB International, 2001. 655 p.

KISS, L. Limits of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences as species barcodes for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Allahabad, v. 109, n. 27, p. E1811-E1811, 2012.

KORNBERG, R. D. Eukaryotic transcriptional control. **Trends in Biochemical Sciences**, Amsterdam, v. 24, n. 12, p. M46-M49, 1999.

KUCHAREK, T. **Rhizoctonia diseases in aboveground plant parts of agronomic and vegetable crops**. Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 1990. 41 p.

KUNIEDA-ALONSO, S.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A. Sobrevivência de micélio e escleródios de *Rhizoctonia solani* tratados com *Trichoderma* spp., em restos de cultura de *Eucalyptus* sp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 164-168, 2005.

KUNINAGA, S. Current situation of the taxonomy of the genus *Rhizoctonia* and the *Rhizoctonia* species complex. **Japan Journal of Phytopathology**, Tokyo, v. 68, n. 1, p. 3-20, 2002.

KUNINAGA, S.; NATSUAKI, T.; TAKEUCHI, T.; YOKOSAWA, R. Sequence variation of the rDNA ITS regions within and between anastomosis groups in *Rhizoctonia solani*. **Current Genetics**, New York, v. 32, n. 3, p. 237-243, 1997.

KURAMAE, E. E.; BUZETO, A. L.; CIAMPI, M. B.; SOUZA, N. L. Identification of *Rhizoctonia solani* AG 1-IB in lettuce, AG 4 HG-I in tomato and melon, and AG 4 HG-III in broccoli and spinach, in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 109, n. 4, p. 391-395, 2003.

KURAMAE, E. E.; BUZETO, A. L.; NAKATANI, A. K.; SOUZA, N. L. rDNA-based characterization of a new binucleate *Rhizoctonia* spp. causing root rot on kale in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 119, n. 4, p. 469-475, 2007.

LEINER, R. H.; CARLING, D. E. Characterization of *Waitea circinata* (*Rhizoctonia*) isolated from agricultural soils in Alaska. **Plant Disease**, St. Paul, v. 78, n. 4, p. 385-388, 1994.

LI, Y. Q.; LEI, L. P.; DONG, W. H.; WANG, S. M.; NAITO, S. YANG, G. H. Molecular diversity of binucleate *Rhizoctonia* AG-A in China. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 39, n. 5, p. 461, 2011.

LINDNER, D. L.; CARLSEN, T.; HENRIK NILSSON, R.; DAVEY, M.; SCHUMACHER, T.; KAUSERUD, H. Employing 454 amplicon pyrosequencing to reveal intragenomic divergence in the internal transcribed spacer rDNA region in fungi. **Ecology and Evolution**, Oxford, v. 3, n. 6, p. 1751-1764, 2013.

LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005. 151 p.

MATHENY, P. B. Improving phylogenetic inference of mushrooms with RPB1 and RPB2 nucleotide sequences (Inocybe; Agaricales). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 35, n. 1, p. 1-20, 2005.

MAY, A.; TIVELLI, S.W.; VARGAS, P. F.; SAMRA, A.G.; SACCONI, L. V.; PINHEIRO, M.Q. **A cultura da couve-flor**. Campinas: Instituto Agrônômico-IAC, 2007. 36 p.

- MELLO, M. R. F.; SILVEIRA, E. B.; VIANA, I. O.; GUERRA, M. L.; MARIANO, R. L. R. Uso de antibióticos e leveduras para controle da podridão-mole em couve-chinesa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n.1, p. 78-83, 2011.
- MELO, R. A. C.; SCHIAVON, A.; BLIND, A. D.; ECKSTEIN, B.; PINHEIRO, J. B.; VENDRAME, L. P. C.; HANASHIRO, M. M.; JORGE, M, H. M.; VIDAL, M. C.; MICHEREFF FILHO, M. BOTREL, N.; MADEIRA, N. R. **A cultura dos brócolis**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2015. 153 p.
- MELO, R. A. C.; MADEIRA, N. R.; LIMA, C. E. P. **Produção de brássicas em sistema plantio direto**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2016. 16 p.
- MELO, R. A. C.; VENDRAME, L. P. C.; MADEIRA, N. R.; BLIND, A. D.; VILELA, N. J. **Caracterização e diagnóstico de cadeia produtiva de brássicas nas principais regiões produtoras brasileiras**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2017. 104 p.
- MELO, R. A. C.; VENDRAME, L. P. C.; MADEIRA, N.R.; BLIND, A. D.; VILELA, N. J. Characterization of the Brazilian vegetable brassicas production chain. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 366-372, 2019.
- MISAWA, T.; AOKI, M. First report of *Rhizoctonia solani* AG-1 IC causing head rot of cabbage in Japan. **New Disease Reports**, York, v. 36, p. 12, 2017.
- MISAWA, T.; KUNINAGA, S. The first report of tomato foot rot caused by *Rhizoctonia solani* AG-3 PT and AG-2-Nt and its host range and molecular characterization. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 76, n. 5, p. 310-319, 2010.
- MISAWA, T.; KUROSE, D. Anastomosis group and subgroup identification of *Rhizoctonia solani* strains deposited in NARO Genebank, Japan. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 85, n. 4, p. 282-294, 2019.
- MISAWA, T.; KUROSE, D.; MORI, M.; TODA, T. Characterization of japanese *Rhizoctonia solani* AG-2-1 isolates using rDNA-ITS sequences, culture morphology, and growth temperature. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 84, n. 6, p. 387-394, 2018.
- MISAWA, T.; MASAHARU, K.; SASAKI, J.; KUNINAGA, S. First report of broccoli foot rot caused by *Rhizoctonia solani* AG-2-2 IV and pathogenicity comparison of the pathogen with related pathogens. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 81, n. 1, p. 15-23, 2015.
- MOREIRA, H. J. C.; BRAGANÇA, H. B. N. S. **Manual de identificação de plantas infestantes**. Campinas: FMC Agricultural Products, 2011. 1017 p.
- NAIKA, S.; JEUDE, J. V. L. de.; GOFFAU, M. de.; HILMI, M.; DAM, B. V. **A cultura do tomate: produção, processamento e comercialização**. Wageningen: Agrodok 17. Fundação Agromisa e CTA, 2006. 104 p.
- NAKATANI, A. K. **Diversidade genética de *Rhizoctonia* spp. e análise de sequências multilocus**. 2006. 98 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, Botucatu.

NAZERIAN, E.; SIJAM, K.; MIOR AHMAD, Z. A.; VADAMALAI, G. First report of cabbage soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Malaysia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 95, n. 4, p. 491, 2011.

OGOSHI, A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 25, n. 1, p. 125-143, 1987.

OGOSHI, A. Introduction - the genus *Rhizoctonia*. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Eds.). ***Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer, 1996. p. 1-9.

OHKURA, M.; ABAWI, G. S.; SMART, C. D.; HODGE, K. T. Diversity and aggressiveness of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia*-like fungi on vegetables in New York. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 93, n. 6, p. 615-624, 2009.

ÖZER, G.; BAYRAKTAR, H. Characterization and sensitivity to fungicides of *Rhizoctonia* spp. recovered from potato plants in Bolu, Turkey. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 163, n. 1, p. 11-18, 2015.

PANNECOUCQUE, J.; VAN BENEDEN, S.; HÖFTE, M. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* isolates associated with cauliflower in Belgium. **Plant Pathology**, Oxford, v. 57, n. 4, p. 737-746, 2008.

PATIL, H. J.; SOLANKI, M. K. Molecular prospecting: advancement in diagnosis and control of *Rhizoctonia solani* diseases in plants. In: KUMAR, P.; GUPTA, V. K.; TIWARI, A. J.; KAMLE, M. (Eds.). **Current trends in plant disease diagnostics and management practices**. Berna: Springer International, 2016. p. 165-185.

PLANAS-MARQUÈS, M.; KRESSIN, J. P.; KASHYAP, A.; PANTHEE, D. R.; LOUWS, F. J.; COLL, N. S.; VALLS, M. Four bottlenecks restrict colonization and invasion by the pathogen *Ralstonia solanacearum* in resistant tomato. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 71, n. 6, p. 2157-2171, 2020.

POURMAHDI, A.; TAHERI, P. Genetic Diversity of *Thanatephorus cucumeris* infecting tomato in Iran. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 163, n. 1, p. 19-32, 2015.

PUIATTI, M. **A arte de cultivar hortaliças**. Viçosa: UFV, CEAD, 2019. 183 p.

QUEIROZ DAVID, G.; CHAVARRO-MESA, E.; SCHURT, D. A.; CERESINI, P. C. *Rhizoctonia* como fitopatógeno no agroecossistema brasileiro. In: LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. (Eds.). **Desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos**. Recife: EDUFRPE, 2018. p.35-55.

REN, J.; PETZOLDT, R.; DICKSON, M. H. Screening and identification of resistance to bacterial soft rot in *Brassica rapa*. **Euphytica**, Dordrecht, v. 118, n. 3, p. 271-280, 2001.

RENTERÍA-MARTÍNEZ, M. E.; GUERRA-CAMACHO, M. A.; OCHOA-MEZA, A.; MORENO-SALAZAR, S. F.; VARELA-ROMERO, A.; GUTIÉRREZ-MILLÁN, L. E.; MEZA-MOLLER, A. D. C. Multilocus phylogenetic analysis of fungal complex associated

with root rot watermelon in Sonora, Mexico. **Mexican Journal of Phytopathology**, Chapingo, v. 36, n. 2, p. 233-255, 2018.

ROBERTS, P. ***Rhizoctonia-forming fungi***: a taxonomic guide. United Kingdom: Royal Botanical Gardens, Kew, 1999. 239 p.

ROSA, C. L. S.; SOARES, A. G.; FREITAS, D. F. G. C.; ROCHA, M. C.; FERREIRA, J. C. S.; GODOY, R. L. O. Caracterização físico-química, nutricional e instrumental de quatro acessos de tomate italiano (*Lycopersicon esculentum* Mill) do tipo 'Heirloom' produzido sob manejo orgânico para elaboração de polpa concentrada. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 22, n. 4, p. 649-656, 2011.

ROLLINS, P. A.; KEINATH, A. P.; FARNHAM, M. W. Effect of inoculum type and anastomosis group of *Rhizoctonia solani* causing wirestem of cabbage seedlings in a controlled environment. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 21, n. 2, p. 119-124, 1999.

SASAKI, D.; HAGA, H.; MATSUDA, K.; MISAWA, T. Damping-off of kale caused by *Rhizoctonia solani* AG-4 HG-I. **Japanese Journal of Phytopathology**, Tokyo, v. 84, n. 3, p. 158-160, 2018.

SCHOCH, C. L.; SEIFERT, K. A.; HUHDORF, S.; ROBERT, V.; SPOUGE, J. L.; LEVESQUE, C. A.; CHEN, W.; CONSORTION, F. B. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Allahabad, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.

SHAFIQUE, H. A.; SULTANA, V.; EHTESHAMUL-HAQUE, S.; ATHAR, M. Management of soil-borne diseases of organic vegetables. **Journal of Plant Protection Research**, Poznań, v. 56, n. 3, p. 221-230, 2016.

SHARMA-POUDYAL, D.; PAULITZ, T. C.; PORTER, L. D.; DU TOIT, L. J. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* and *Rhizoctonia*-like spp. from pea crops in the Columbia Basin of Oregon and Washington. **Plant Disease**, St. Paul, v. 99, n. 5, p. 604-613, 2015.

SHARON, M.; FREEMAN, S.; KUNINAGA, S.; SNEH, B. Genetic diversity, anastomosis groups and virulence of *Rhizoctonia* spp. from strawberry. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 117, n. 3, p. 247-265, 2007.

SHARON, M.; KUNINAGA, S.; HYAKUMACHI, M.; NAITO, S.; SNEH, B. Classification of *Rhizoctonia* spp. using rDNA-ITS sequence analysis supports the genetic basis of the classical anastomosis grouping. **Mycoscience**, Tokyo, v. 49, n. 1, p. 93-114, 2008.

SHARON, M.; KUNINAGA, S.; HYAKUMACHI, M.; SNEH, B. The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. **Mycoscience**, Tokyo, v. 47, n. 6, p. 299-316, 2006.

SHIM, C. K.; KIM, M. J.; KIM, Y. K.; JEE, H. J.; HONG, S. J.; PARK, J. H.; EUN-JANG, H.; YUN, J. C. Leaf rot and leaf ring spot caused by *Rhizoctonia solani* in chinese cabbage. **Research in Plant Disease**, Suwon, v. 19, n. 4, p. 300-307, 2013.

SILVA, J. B. C.; GIORDANO, L. B.; FURUMOTO, O.; BOITEUX, L. S.; FRANÇA, F. H.; VILLAS BÔAS, G. L.; BRANCO, M. C.; MEDEIROS, M. A.; MAROUELLI, W.; SILVA, W. L. C.; LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C.; NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, W. **Cultivo de tomate para industrialização**. Sistemas de produção, Embrapa Hortaliças. Versão eletrônica, 2003. Disponível em:

<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/index.htm>. Acesso em: 10 jun. 2020.

SIMS, R. J.; MANDAL, S. S.; REINBERG, D. Recent highlights of RNA-polymerase-II-mediated transcription. **Current Opinion in Cell Biology**, Philadelphia, v. 16, n. 3, p. 263-271, 2004.

SNEH, B.; BURPEE, L.; OGOSHI, A. **Identification of *Rhizoctonia* species**. St. Paul: APS Press, 1991. 133 p.

STALPERS, J. A.; ANDERSEN, T. F. A synopsis of the taxonomy of teleomorphs connected with *Rhizoctonia* sl. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S. M.; DIJST, G. (Eds.). ***Rhizoctonia* species: Taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. p. 49-63.

TAKEUCHI, J.; HORIE, H. Ocorrência de uma nova doença causada por *Rhizoctonia solani*, murcha de rúcula e podridão foliar de orégano. **Boletim de Pesquisa sobre Doenças e Pragas de Kanto Higashiyama**, Kyoto, n. 53, p. 65-67, 2006.

TRANI, P. E.; TIVELLI, S. W.; BLAT, S. F.; PRELA-PANTANO, A.; TEIXEIRA, E. P.; ARAÚJO, H. S.; FELTRAN, J. C.; PASSOS, F. A.; FIGUEIREDO, G. J. B.; NOVO, M. C. S. S. **Couve de folha: do plantio à pós colheita**. Campinas: Instituto Agronômico, 2015. 36 p.

TÜRKKAN, M.; KILIÇOĞLU, M. Ç.; ERPER, I. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* isolates collected from *Brassica oleracea* var. *acephala* in Ordu, Turkey. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 48, p. 273-286, 2020.

VERMA, P. R. Oilseed rape and canola diseases incited by *Rhizoctonia* species. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Eds.) ***Rhizoctonia* species: Taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Springer, 1996. p. 249-258.

VĚTROVSKÝ, T.; KOLAŘÍK, M.; ŽIFČÁKOVÁ, L.; ZELENKA, T.; BALDRIAN, P. The *rpb2* gene represents a viable alternative molecular marker for the analysis of environmental fungal communities. **Molecular Ecology Resources**, Oxford, v. 16, n. 2, p. 388-401, 2016.

WARWICK, S.I. Brassicaceae in Agriculture. In: SCHMIDT, R.; BANCROFT, I. (Eds.). **Genetics and Genomics of the Brassicaceae**. New York: Springer New York, 2011. p.33-65.

WELLER, D. M.; RAAIJMAKERS, J. M.; GARDENER, B. B. M.; THOMASHOW, L. S. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, n. 1, p. 309-348, 2002.

- YANG, G. H.; CHEN, H. R.; NAITO, S.; WU, J. Y.; HE, X. H.; DUAN, C. F. Occurrence of foliar rot of pak choy and chinese mustard caused by *Rhizoctonia solani* AG1-IB in China. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 71, n. 5, p. 377-379, 2005.
- YANG, G. H.; CHEN, J. Y.; PU, W. Q. First report of head rot of cabbage and web-blight of snap bean caused by *Rhizoctonia solani* AG 4 HG-I. **New Disease Reports**, York, v. 14, p. 20-20, 2007.
- YANG, G.; LI, C. General description of *Rhizoctonia* species complex. In: CUMAGUN, C. J. R. (Ed.). **Plant Pathology**, Rijeka: Intech, 2012. p. 41-52.
- YANG, J.; KARBANDA, P. D.; WANG, H.; MCANDREW, D. W. Characterization, virulence, and genetic variation of *Rhizoctonia solani* AG-9 in Alberta. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, p. 513-518, 1996.
- YANG, S.; MIN, F.; WANG, W.; WEI, Q.; GUO, M.; GAO, Y.; DONG, X.; LU, D. Anastomosis group and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* associated with stem canker and black scurf of potato in Heilongjiang Province of China. **American Journal of Potato Research**, Orono, v. 94, n. 2, p. 95-104, 2017.
- YANG, Y. G.; ZHAO, C.; GUO, Z. J.; WU, X. H. Characterization of a new anastomosis group (AG-W) of binucleate *Rhizoctonia*, causal agent for potato stem canker. **Plant Disease**, St. Paul, v. 99, n. 12, p. 1757-1763, 2015.
- YILDIZ, A.; DÖKEN, M. T. Anastomosis group determination of *Rhizoctonia solani* Kühn (telemorph: *Thanatephorus cucumeris*) isolates from tomatoes grown in Aydin, Turkey and their disease reaction on various tomato cultivars. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 150, n. 10, p. 526-528, 2002.
- YOUNG, R. A. Rna polymerase II. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 60, n. 1, p. 689-715, 1991.
- YOUSSEF, M. M. A.; LASHEIN, A. M. S. Effect of cabbage (*Brassica oleracea*) leaf residue as a biofumigant, on root knot nematode, *Meloidogyne incognita* infecting tomato. **Journal of Plant Protection Research**, Poznań, v. 53, n. 3, p. 271-274, 2013.
- ZACZEK-MOCZYDŁOWSKA, M. A.; FLEMING, C. C.; YOUNG, G. K.; CAMPBELL, K.; O'HANLON, R. *Pectobacterium* and *Dickeya* species detected in vegetables in Northern Ireland. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 154, n. 3, p. 635-647, 2019.
- ZÁRATE, N. A. H.; VIEIRA, M. C.; VIEIRA, D. A. H. Produção de hortaliças. In: ZÁRATE, N. A. H.; VIEIRA, M. C. (Eds.). **Hortas: conhecimentos básicos**. Dourados: Seriema, 2018. p. 33-48.
- ZHANG, L.; ZHENG, L.; HSIANG, T.; LV, R.; HUANG, J. An outbreak of head rot of cabbage caused by *Rhizoctonia solani* AG2-1 in Central China. **Plant Disease**, St. Paul, v. 93, n. 1, p. 109, 2009.

ZHAO, C.; LI, Y.; WU, S.; WANG, P.; HAN, C.; WU, X. Anastomosis group and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. associated with seedling damping-off of sugar beet in China. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 153, n. 3, p. 869-878, 2019.

CAPÍTULO II

Diversity of *Rhizoctonia* anastomosis groups associated with vegetable brassicas and tomato in Brazil

Submissão: **European Journal of Plant Pathology**
Short Communication
Dordrech, Holanda
JCR = 1,582

1 **Diversity of *Rhizoctonia* anastomosis groups associated with vegetable brassicas and**
2 **tomato in Brazil**

3

4 **Graziele S. Lima • Kledson M. Santos • Ana P. O. Barros • Ailton Reis • Alexandre R.**
5 **Machado • Cristina M. Souza-Motta • Kamila C. Correia • Sami J. Michereff**

6

7 G. S. Lima • K. M. Santos • A. P. O. Barros

8 Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
9 52171-900, Recife, PE, Brazil

10

11 A. R. Machado • C. M. de Souza-Motta

12 Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-600, Recife, PE,
13 Brazil

14

15 K. C. Correia • S. J. Michereff

16 Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade, Universidade Federal do Cariri, 63133-610,
17 Crato, CE, Brazil

18

19 A. Reis

20 Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, 70359-970, Brazil

21

22 S. J. Michereff (✉) e-mail: sami.michereff@ufca.edu.br

23 ORCID <http://orcid.org/0000-0002-2156-3502>

24

25 A. R. Machado

26 ORCID <https://orcid.org/0000-0001-7440-3097>

27 **Abstract** One hundred and twelve *Rhizoctonia* isolates were collected from tomato and
28 vegetable brassicas presenting typical *Rhizoctonia* symptoms in Brazil. The isolates were
29 identified by phylogenetic analysis of the internal transcribed spacer (ITS) region of ribosomal
30 DNA and tested for pathogenicity and aggressiveness. Ninety-nine isolates were identified as
31 *R. solani* and 13 isolates as binucleate *Rhizoctonia*. Six AGs were found in vegetable brassicas
32 (AG-1 IB, AG-2-2-IIIB, AG-4 HGI, AG-A, AG-G and AG-R) and two in tomato (AG-4 HGI
33 and AG-Fa). The most prevalent AG was AG-4-HGI (85.7% of isolates), followed by AG-A
34 (5.4%), AG-F (2.7%), AG-G (1.8%), AG-R (1.8%), AG-1-IB (1.8%) and AG-2-2IIIB (0.9%).
35 The AG-4-HGI was found in all regions of tomato and brassicas collection in Brazil.
36 Pathogenicity tests revealed that isolates from all AGs, except AG-A, induced symptoms on
37 detached kale leaves and tomato fruits. This study was the first report of the occurrence of AG-
38 F infecting tomatoes and AG-4-HGI, AG-2-2IIIB, AG-A, AG-G and AG-R infecting brassica
39 plants in Brazil. The knowledge of these anastomosis groups is extremely important for
40 understanding the epidemiology of the disease and forward development of management
41 strategies.

42

43 **Keywords** Bayesian Inference • *Ceratobasidium* sp. • ITS sequences • *Rhizoctonia solani* •
44 Vegetables

45

46 The vegetables crops have great economic and nutritional importance, indicated by the
47 considerable increasing in cultivation in cropped areas all throughout Brazil (Camargo Filho
48 and Camargo 2017). In Brazil, fresh vegetables had an increase in their production in more than
49 100.000 tons (FAO 2020). Due the intensive cultivation, the vegetables are frequently attacked
50 by several soilborne pathogens including fungi belonging to the genus *Rhizoctonia* (Driscoll
51 2020).

52 *Rhizoctonia* spp. infects seeds, roots, leaves, stems and fruits, causing considerable yield
53 and quality losses of vegetables such as tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.), broccoli
54 (*Brassica oleracea* L. var. *italica*), cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*), kale (*Brassica*
55 *oleracea* L. var. *acephala*) and arugula (*Eruca sativa* L.) (Kuramae et al. 2003; Yang et al.
56 2007; Türkkan et al. 2020). Controlling *Rhizoctonia* diseases is very difficult once the
57 pathogens are soilborne, with a high capacity for saprophytic competition and a wide range of
58 hosts (Agarwal 2010; González et al. 2011; Tenório et al. 2019).

59 The genus *Rhizoctonia* is composed of an important multinucleate species complex
60 represented by *R. solani* (teleomorph: *Thanatephorus cucumeris*) and by binucleate *Rhizoctonia*
61 (teleomorph: *Ceratobasidium* sp.) (Carling 1996; Kuramae et al. 2007; Dong et al. 2017).
62 Considering the recognition of hyphae fusion, *Rhizoctonia* spp. have been categorized into
63 different anastomosis groups (AGs) (Ogoshi 1987; González-García et al. 2006). Until the
64 present date, thirteen groups in *R. solani* (AG-1 to AG-13) and eighteen groups in binucleate
65 *Rhizoctonia* (AG-A to AG-W) (González et al. 2016; Dong et al. 2017; Inokuti et al. 2018;
66 Zhao et al. 2019), besides seven American groups (CAG-1 to CAG-7) of binucleate *Rhizoctonia*
67 have been described (Burpee et al. 1980; Kuramae et al. 2007).

68 For many years, the determination of *Rhizoctonia* AGs was performed only by pairing
69 hyphae with test isolates. However, some problems were found throughout the use of this
70 classic methodology, such to difficulties in implementing the pairing, the reproducibility of the
71 reactions, the tediousness of the methodology, the non-availability of the testers to all labs
72 especially due to quarantine restrictions (Hyakumachi and Ui 1987; Sneh et al. 1991; Carling
73 1996; Sharon et al. 2006). Thus, molecular approaches, including sequencing of the internal
74 transcribed spacer (ITS) region of ribosomal DNA (rDNA), have been confirmed as reliable
75 tools to differentiate isolates of *Rhizoctonia* into distinct clades corresponding to different AGs
76 and subgroups (Fang et al. 2013; Gondal et al. 2019a).

77 Several AGs of *Rhizoctonia* spp. can cause disease on vegetable brassicas and tomatoes.
78 The AG-1-IA, AG1-IB, AG-2-1, AG-4-HGI and AG-A are the most widely distributed as
79 pathogens in different countries causing damping off, root rot, collar rot and leaf rot on brassicas
80 (Yang et al. 2007; Li et al. 2011; Shim et al. 2013; Hua et al. 2014; Ireland 2014; Misawa 2018;
81 Sasaki et al. 2018; Türkkan et al. 2020). On tomatoes, AG-2-1, AG-2-2, AG-3-PT, AG-4-HGI
82 and AG-5 isolates have been reported as important pathogens worldwide (Misawa and
83 Kuninaga 2010; Pourmahdi and Taheri 2015; Gondal et al. 2019b). In Brazil, there are just few
84 studies about *Rhizoctonia* pathogens associated with vegetable brassicas and tomatoes. Bolkan
85 and Ribeiro (1985) identified two isolates belonging to AG-1 and AG-2 infecting radish and
86 cabbage, respectively; Kuramae et al. (2003) identified AG-4-HGI on tomatoes and AG-4-
87 HGIII on broccoli; Kuramae et al. (2007) reported four isolates of *Ceratobasidium* sp. CAG-7
88 causing kale infection; and Gaino et al. (2010) identified one AG-1-IB isolate on cabbage.

89 The knowledge of *Rhizoctonia* AGs associated with vegetables crops is of relative
90 importance for to determine the etiology of the disease, the ecological distribution of the
91 pathogen and the possible epidemiological implications for developing specific control
92 strategies (Agarwal 2010; Taheri and Tarighi 2012; Patil and Solanki 2016). Therefore, the aim
93 of this study was to identify AGs of *Rhizoctonia* isolates associated with tomato and vegetables
94 brassicas in Brazil and to characterize AGs according to pathogenicity and aggressiveness.

95 The isolates were obtained by sampling from diseased vegetable brassicas and tomato
96 presenting typical *Rhizoctonia* symptoms from eight States cropping regions in Brazil (Figure
97 1; Supplementary Table 1). Infected roots, stems, leaves and fruits tissues were washed in water
98 running out of tap, superficially disinfected in alcohol (70%) for 30 seconds, 1% sodium
99 hypochlorite solution for one minute and followed by two consecutive washes in sterile distilled
100 water and subsequent drying on sterile filter paper. Then, the tissue samples were transferred to
101 Petri dishes containing potato-dextrose-agar (BDA) culture medium, and incubated at ambient
102 temperature. Subsequently, pure and hyphal tips cultures were obtained of each isolate. The

103 isolates were preserved and deposited in the Culture Collection of Phytopathogenic Fungi of
104 Cariri (CFC) at the Universidade Federal do Cariri (Crato, Ceará, Brazil).

105 The genomic DNA of each isolate was obtained using the Wizard® Genomic DNA
106 Purification Kit (Promega Corporation, Madison, USA). The ITS-rDNA region was amplified
107 using the primers ITS1 (5' TTCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') and ITS4 (5'
108 TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') (White et al. 1990). The PCR mixture reaction was
109 prepared by adding 6.25 µL GoTaq® Green Master Mix (2X) (Promega Corporation, Madison,
110 USA), 0.5 µL of each forward and reverse primer, 4.25 µL of nuclease-free water and 1 µL of
111 DNA sample in a final volume of 12.5 µL. A negative control (without DNA template) was
112 also included in PCR reactions. The amplifications were performed using the following
113 program: initial denaturation at 94 °C for 5 min, followed by 35 cycles of denaturing at 94 °C
114 for 1 min, annealing at 57 °C for 1 min, extension at 72 °C for 1 min, one final cycle of extension
115 at 72 °C for 10 min and final incubation at 4°C. PCR products were purified and sequenced in
116 both directions with the same primers used for amplification.

117 The consensus sequences were assembled using the Staden Package software v. 2.0
118 (Staden et al. 1998) and aligned with GenBank database sequences (Supplementary Table 2)
119 through MAFFT v.7 online interface (Katoch et al. 2002; Katoch and Standley 2013) with the
120 interactive refinement method G-INS-i and manually corrected in MEGA7 (Kumar et al. 2016).

121 Phylogenetic reconstruction was performed by Bayesian Inference using MRBayes v.
122 3.2.6 (Ronquist and Huelsenbeck 2003) implemented on the CIPRES Science Gateway portal
123 (Miller et al. 2010), selecting the evolution model according to the Akaike Information
124 Criterion (AIC). Initially, an analysis was performed for all obtained sequences and ITS
125 sequences of the AGs available in the databases, in order to obtain a preliminary result.
126 Subsequently, analyses were performed for *R. solani* and *Rhizoctonia* binucleate isolates
127 separately. The GTR + I + G and HKY + G models were used to *Rhizoctonia* multinucleate
128 and binucleate isolates analysis, respectively. Four simultaneous Markov chains have been run

129 for 10000000 generations. The first 25% trees were discarded as the burn-in phase of each
130 analysis. Posterior probabilities were determined from a consensus tree with 75% of the
131 remaining trees. The trees obtained were visualized in the program FigTree v.1.4.2 (Rambaut
132 2014) and exported to graphics programs. The *Athelia rolfsii* ITS sequence (GenBank
133 Accession N° AY684917) was used as outgroup. The sequences generated from this study were
134 deposited in GenBank (Supplementary Table 1) and the alignments in TreeBASE (S26187).

135 The pathogenicity and aggressiveness of the different *Rhizoctonia* AGs identified in this
136 study were tested on detached leaves of kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*; cv. Manteiga
137 da Georgia) and tomato fruits (*Solanum lycopersicum*; cv. IPA 6), using rice grains as an
138 inoculum source. The fungus inoculum was produced in glass flasks containing 50 g of husked
139 parboiled rice and 20 mL of distilled water. Three disks of 5 mm diameter of the fungus culture
140 previously grown in potato-dextrose-agar (PDA) culture were added to each flask, after their
141 sterilization (120°C, 60 minutes, two consecutive days) and cooling (Barbosa et al. 1995). The
142 flasks containing the substrate were incubated in a growth chamber BOD type at 25 °C in the
143 dark for 15 days and daily shaken to achieve uniform distribution of the fungus propagules on
144 the substrate.

145 Isolates obtained from vegetable brassicas were inoculated in detached kale leaves and
146 isolates obtained from tomato were inoculated in tomato fruits. The fruits and leaves were
147 washed on running water, superficially disinfected in 1% NaOCl solution for 1 minute and
148 rinsed in sterile distilled water. On each one surface, was made an injury using a 1 mm sterile
149 needle and then a grain of rice colonized with fungus was deposited. The plant material was
150 placed in plastic trays lined with moistened paper towels with distilled water and kept in a
151 humid chamber at room temperature for 4 days. After this period, the lesions diameters were
152 measured in two perpendicular directions using a digital pachymeter. The experimental design
153 was completely randomized with four replicates per isolate. In the control samples, not
154 colonized rice grains were deposited. The inoculations were performed twice. The lesion

155 diameter data induced by the AGs isolates in each host were subjected to an analysis of variance
156 (ANOVA), and the means of were compared using Fisher's least significant difference (LSD)
157 test ($P = 0.05$).

158 One hundred and twelve *Rhizoctonia* isolates were obtained from vegetable brassicas
159 (78 isolates) and tomato (34 isolates) in eight Brazilian states, represented by 33 cities (Figure
160 1; Supplementary Table 1). Based on phylogenetic analyses of ITS region, the isolates were
161 separated into seven AGs; being three of *R. solani* (AG-1-IB, AG-2-2IIIB and AG-4-HGI) and
162 four of binucleate *Rhizoctonia* associated with a *Ceratobasidium* teleomorph (AG-A, AG-Fa,
163 AG-G and AG-R). Six AGs were found in vegetable brassicas (AG-1 IB, AG-2-2-IIIB, AG-4
164 HGI, AG-A, AG-G and AG-R) and two in tomato (AG-4 HGI and AG-Fa) (Figures 2 and 3;
165 Supplementary Table 1). AG-4-HGI was the most frequent (96 isolates), followed by AG-A (6
166 isolates), AG-Fa (3 isolates), AG-G (2 isolates), AG-R (2 isolates), AG-1-IB (2 isolates) and
167 AG-2-2IIIB (1 isolate).

168 AG-4-HGI was predominant in eight Brazilian states in tomato plants and in all
169 vegetable brassicas collected, associated with symptoms of damping-off, leaf blight, root rot,
170 stem and fruit. AG-1-IB and AG-2-2IIIB were collected in kale and cabbage, respectively, in
171 the state of the Distrito Federal, causing symptoms leaf blight. Binucleate *Rhizoctonia* was
172 found in tomato plants and different brassica species in Distrito Federal and Goiás states; AG-
173 A was detected in broccoli, arugula, purple cabbage and chinese cabbage presenting damping
174 off and leaf blight symptoms; AG-G and AG-R in broccoli and cabbage presenting stem rot and
175 the AG-Fa group was found only in tomato plants presenting fruit and root rot symptoms
176 (Figure 1).

177 AG-4-HGI predominance in tomato was previously reported in Brazil by Kuramae et
178 al. (2003). In brassicas, the occurrence of *Rhizoctonia solani* AG-4-HGI is well known due to
179 previous studies in China, Vietnam, Lao PDR, Japan and Turkey (Yang et al. 2007; Hua et al.
180 2014; Ireland et al. 2014; Sasaki et al. 2018; Türkkan et al. 2020). However, it is the first report

181 of this anastomosis group infecting brassicas in Brazil. The AG4-HGI group is very important
182 because its wide range of hosts due to the ability to adapt to different cultivation and
183 temperature situations, becoming prevalent in many crops (Harikrishnan and Yang 2004). In
184 Brazil, AG4-HGI has been reported in several cultures, including pumpkin, Brachiaria grass,
185 annatto, peanut, bean, potato, melon, soybean, in addition to weeds (Ceresini and Souza 1996;
186 Fenille et al. 2002; Rosa et al. 2005; Gaino et al. 2010; Silva-Barreto et al. 2010; Inokuti et al.
187 2018), which highlights the importance of this anastomosis group in the country.

188 AG-1-IB and AG-2-2IIIB isolates have been reported to be associated with vegetable
189 brassicas in other countries (Yang et al. 2005; Pannecouque et al. 2008; Pannecouque and
190 Hofte 2009; Shim et al. 2013; Hua et al. 2014). In Brazil, Bolkan and Ribeiro (1985) reported
191 the presence of the AG-1 and AG-2 groups causing leaf rot in radish and cabbage, respectively,
192 by pairing hyphae and tester isolates. However, it is not known which subgroups these isolates
193 belonged to. The advent of molecular biology provided an accurate *Rhizoctonia* spp.
194 identification, at the level of the anastomosis subgroups precisely, in later works. Thus, through
195 the phylogenetic analysis of the ITS-rDNA region, Gaino et al. (2010) reported the presence of
196 AG1-1B in cabbage associated with leaf spot in Brazil.

197 Thirteen isolates of binucleate *Rhizoctonia* infecting tomato and vegetable brassicas
198 were identified by this study. It seems to be the first detection of AG-F isolates associated with
199 tomato and AG-A, AG-G and AG-R associated with different vegetable brassicas in Brazil.
200 AG-F associated with tomato was previously described in the United States, causing damping-
201 off symptoms (Burpee et al. 1980), while AG-A was reported infecting *Brassica* spp. in China,
202 Vietnam and Turkey (Li et al. 2011; Hua et al. 2014; Türkkan et al. 2020). There are no records
203 of disease in vegetable brassicas related to AG-G and AG-R isolates groups.

204 Most of characterized isolates (74 isolates) are originally from Distrito Federal which is
205 a potential vegetable producer in Brazil with significant national and international niche
206 markets expansion (Almeida et al. 2017). Consequently, Distrito Federal was the state that

207 presented the greater diversity of AGs, in nine cultivation areas, with more than one AG by
208 area.

209 Different factors may be related to *Rhizoctonia* anastomosis groups diversity and
210 distribution, such as climatic conditions, cultivation patterns, genetic flexibility and degree of
211 adaptation (Godoy-Lutz et al. 2008). *Rhizoctonia* is a fungus that survives in hot and cold soils,
212 it remains active in a variety of temperatures and it is adapted to different environments (Olsen
213 and Young 2011). The tropical climate in Distrito Federal is characterized by strong seasonality;
214 cold and dry season lasts from late March to late September and hot and humid season in the
215 remaining months (Lorz et al. 2012). This climatic condition is probably favorable to the
216 adaptation of the different anastomosis groups identified.

217 All isolates obtained from tomatoes were pathogenic, causing rot in tomato fruit.
218 However, there was no significant difference ($P > 0.005$) in aggressiveness between the two
219 identified anastomosis groups (AG-4-HGI and AG-F), once both caused lesions with a diameter
220 of 20.9 and 18.3 mm, respectively. In turn, not all brassica isolates were pathogenic to detached
221 kale leaves. The six isolates of AG-A identified in this study did not cause disease in kale leaves,
222 as well as two AG-4-HGI isolates (CFC-0935 and CFC-0955), one AG-G isolate (CFC-0961)
223 and one AG-R isolate (CFC-0967). This result was possibly due to the host specificity, once
224 the isolates that did not cause symptoms came from broccoli, arugula, Chinese cabbage and
225 purple cabbage, as well as the intrinsic characteristics of the anastomosis groups. A similar
226 result was reported by Hua et al. (2014), in which AG-A isolates were not pathogenic to
227 detached cabbage leaves.

228 AG isolates of *Rhizoctonia* obtained from vegetable brassicas differed in aggressiveness
229 ($P < 0.005$). AG-4 HGI and AG-2-2IIB isolates were significantly more aggressive to kale
230 leaves (17.6 and 10.3 mm, respectively), while AG-G, AG-R and AG-1-IB caused the smallest
231 lesions diameters (5.1, 4.9 and 2.0 mm, respectively) (Table 1). Severe symptoms caused by
232 AG-4-HGI and AG-2 in vegetable brassica plants have been reported in different studies

233 (Pannecoucq et al. 2008; Hua et al. 2014; Ireland et al. 2014; Türkkan et al. 2020), reinforcing
234 the result obtained in this study.

235 The present study represented the first report in Brazil of the occurrence of AG-Fa
236 infecting tomatoes and AG-4-HGI, AG-2-2IIIB, AG-A, AG-G and AG-R infecting vegetable
237 brassicas. The knowledge of these anastomosis groups is extremely important to understand the
238 ecology of the pathogen, epidemiology of the disease and to further development of
239 management strategies.

240

241 **Acknowledgments**

242

243 The first author thanks the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
244 Superior (CAPES, Brazil) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
245 Tecnológico (CNPq, Brazil) for a doctorate scholarship. A. Reis and S. J. Michereff also
246 acknowledge the CNPq research fellowship.

247

248 **Compliance with Ethical Standards**

249

250 All principles of ethical and professional conduct have been followed during this research and
251 elaboration of this manuscript.

252 - Conflict of interest - The authors declare that they have no conflict of interest.

253 - Research involving Human Participants and/or Animals - Not applicable

254 - Informed consent - All authors have reviewed the manuscript and approved its submission to
255 the European Journal of Plant Pathology

256

257

258

259 **References**

260

- 261 Agarwal, D. K. (2010). *Rhizoctonia* D.C.: taxonomy, ecology and management. In K. G.
262 Mukerji, & C. Manoharachary (Eds.), *Taxonomy and Ecology of Indian Fungi* (pp. 19-
263 50). New Delhi: I. K. International Publishing House.
- 264 Almeida, I. L., Junqueira, A. M. R., & Dias, C. N. (2017). Caracterização de consumidores,
265 atributos de mercado e estratégias para o crescimento da cadeia produtiva de hortaliças
266 orgânicas no Distrito Federal. Brasília: CODEPLAN.
- 267 Barbosa, M. A. G., Michereff, S. J., Mariano, R. L. R., & Maranhão, E. (1995). Biocontrole de
268 *Rhizoctonia solani* em caupi pelo tratamento de sementes com *Pseudomonas* spp.
269 fluorescens. *Summa Phytopathologica*, 21,151-157.
- 270 Bolkan, H. A., & Ribeiro, W. R. C. (1985). Anastomosis groups and pathogenicity of
271 *Rhizoctonia solani* isolates from Brazil. *Plant Disease*, 69, 599-601.
- 272 Burpee, L. L., Sanders, P. L., Cole Jr, H., & Sherwood, R. T. (1980). Anastomosis groups
273 among isolates of *Ceratobasidium cornigerum* and related fungi. *Mycologia*, 72, 689-
274 701.
- 275 Camargo Filho, W. P., & Camargo, F. P. (2017). A quick review of the production and
276 commercialization of the main vegetables in Brazil and the world from 1970 to 2015.
277 *Horticultura Brasileira*, 35, 160-166.
- 278 Carling, D. E. (1996). Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction. In B.
279 Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate & G. Dijst (Eds.), *Rhizoctonia species: taxonomy,*
280 *molecular biology, ecology, pathology and disease control* (pp. 35-47). Dordrecht:
281 Academic Publishers.
- 282 Ceresini, P. C., & Souza, N. L. (1996). Caracterização cultural e fisiológica de *Rhizoctonia*
283 *solani* GA-4 HGI associado a vagens de amendoineiro. *Fitopatologia Brasileira*, 21,
284 443-454.

- 285 Dong, W., Li, Y., Duan, C., Li, X., Naito, S., Conner, R. L., Yang, G., & Li, C. (2017).
286 Identification of AG-V, a new anastomosis group of binucleate *Rhizoctonia* spp. from
287 taro and ginger in Yunnan province. *European Journal of Plant Pathology*, *148*, 895-906.
- 288 Driscoll, A. O. (2020). *Diseases of vegetable brassicas*. Kenilworth: AHDB Horticulture.
- 289 Fang, X., Finnegan, P. M., & Barbetti, M. J. (2013). Wide variation in virulence and genetic
290 diversity of binucleate *Rhizoctonia* isolates associated with root rot of strawberry in
291 Western Australia. *PloS One*, *8*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055877>
- 292 FAO (2020) Food and Agriculture Organization. <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>.
- 293 Fenille, R. C., De Souza, N. L., & Kuramae, E. E. (2002). Characterization of *Rhizoctonia*
294 *solani* associated with soybean in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, *108*, 783-
295 792.
- 296 Gaino, A. P. S. C., Basseto, M. A., Gasparotto, L., Poltronieri, L. S., & Ceresini, P. C. (2010).
297 Inferência filogenética revela a complexa etiologia das manchas areolada e foliar em
298 seringueira e em outras espécies cultivadas na Amazônia. *Acta Scientiarum. Agronomy*,
299 *32*, 385-395.
- 300 Godoy-Lutz, G., Kuninaga, S., Steadman, J. R., & Powers, K. (2008). Phylogenetic analysis of
301 *Rhizoctonia solani* subgroups associated with web blight symptoms on common bean
302 based on ITS-5.8 S rDNA. *Journal of General Plant Pathology*, *74*, 32-40.
- 303 Gondal, A. S., Rauf, A., & Naz, F. (2019a). Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani*
304 associated with tomato foot rot in Pothohar Region of Pakistan. *Scientific Reports*, *9*, 1-
305 12.
- 306 Gondal, A. S., Rauf, A., & Naz, F. (2019b). The first report of tomato foot rot caused by
307 *Rhizoctonia solani* AG-3 PT from Pakistan. *Journal of Plant Pathology*, *101*, 425.
- 308 González, D., Rodríguez-Carres, M., Boekhout, T., Stalpers, J., Kuramae, E. E., Nakatani, A.
309 K., Vilgalys, R., & Cubeta, M. A. (2016). Phylogenetic relationships of *Rhizoctonia* fungi
310 within the Cantharellales. *Fungal Biology*, *120*, 603-619.

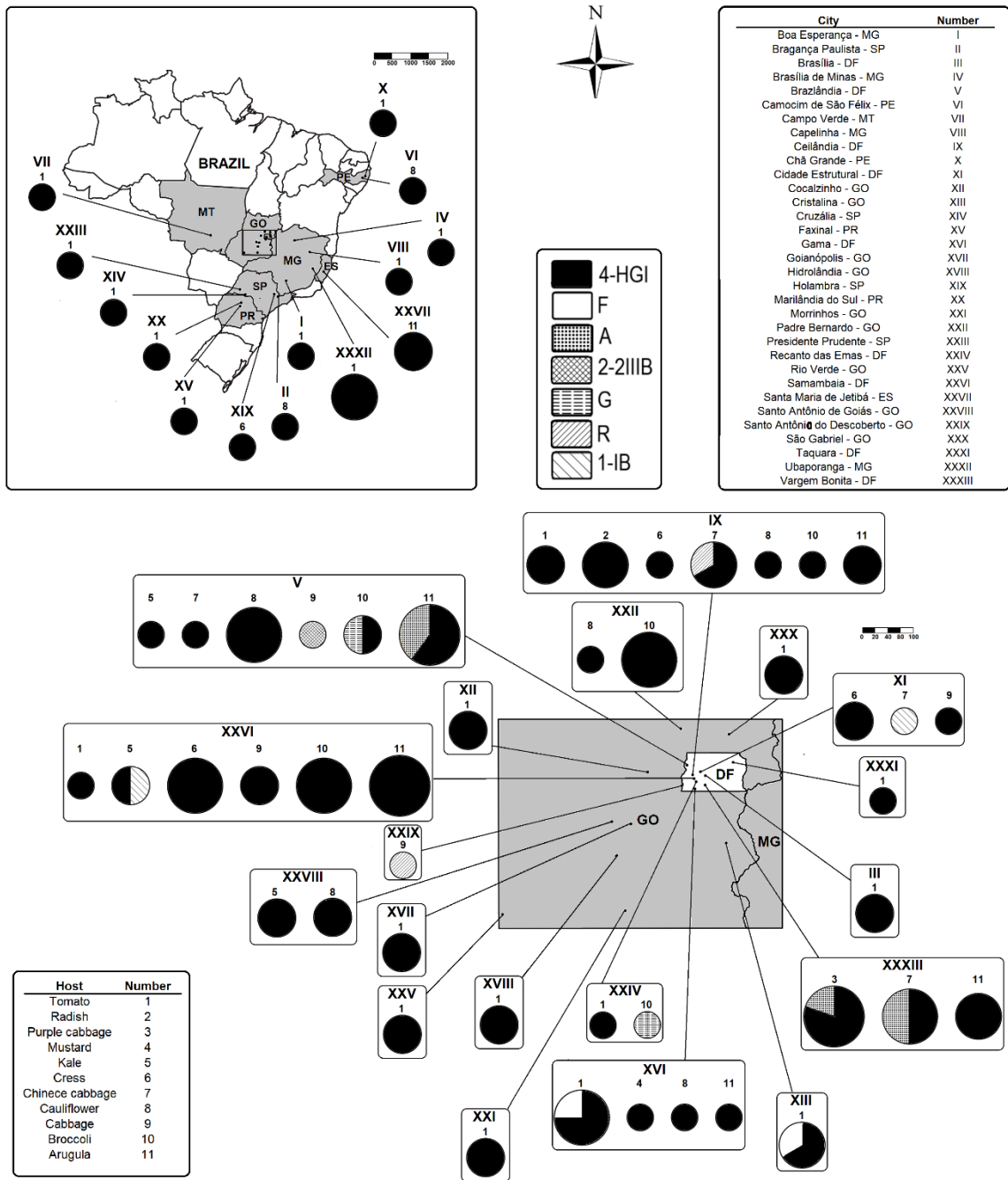
- 311 González-García, V. G., Onco, M. P., & Susan, V. R. (2006). Biology and systematics of the
312 form genus *Rhizoctonia*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 4, 55-79.
- 313 González, M., Pujol, M., Metraux, J., González-García, V., Bolton, M. D., & Borrás-Hidalgo,
314 O (2011). Tobacco leaf spot and root rot caused by *Rhizoctonia solani* Kühn. *Molecular*
315 *Plant Pathology*, 12, 209-216.
- 316 Harikrishnan, R., & Yang, X. B. (2004). Recovery of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani*
317 from different latitudinal positions and influence of temperatures on their growth and
318 survival. *Plant Disease*, 88, 817-823.
- 319 Hua, G. K. H., Bertier, L., Soltaninejad, S., & Höfte, M. (2014). Cropping systems and cultural
320 practices determine the *Rhizoctonia* anastomosis groups associated with *Brassica* spp. in
321 Vietnam. *PloS One*, 9, e111750. doi:10.1371/journal.pone.0111750.
- 322 Hyakumachi, M., & Ui, T. (1987). Non-self-anastomosing isolates of *Rhizoctonia solani*
323 obtained from fields of sugarbeet monoculture. *Transactions of the British Mycological*
324 *Society*, 89, 155-159.
- 325 Inokuti, E. M., Reis, A., Ceresini, P. C., Câmara, M. P., & Michereff, S. J. (2018). Diversity
326 and pathogenicity of anastomosis groups of *Rhizoctonia* associated with potato stem
327 canker and black scurf diseases in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 153,
328 1333-1339.
- 329 Ireland, K. B., Weir, B. S., Phantavong, S., Phitsanoukane, P., Vongvichid, K., Vilavong, S.,
330 Tesoriero, L. A., & Burgess, L. W. (2014). First report of *Rhizoctonia solani* anastomosis
331 group AG-4 HG-I in the Lao PDR. *Australasian Plant Disease Notes*,
332 10, doi:10.1007/s13314-014-0152-z.
- 333 Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version
334 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30,
335 772-780.

- 336 Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. I., & Miyata, T. (2002). MAFFT: a novel method for rapid
337 multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*,
338 *30*, 3059-3066.
- 339 Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics
340 analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, *33*, 1870-1874.
- 341 Kuramae, E. E., Buzeto, A. L., Ciampi, M. B., & Souza, N. L. (2003). Identification of
342 *Rhizoctonia solani* AG 1-IB in lettuce, AG 4 HG-I in tomato and melon, and AG 4 HG-
343 III in broccoli and spinach, in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, *109*, 391-
344 395.
- 345 Kuramae, E. E., Buzeto, A. L., Nakatani, A. K., & Souza, N. L. (2007). rDNA-based
346 characterization of a new binucleate *Rhizoctonia* spp. causing root rot on kale in
347 Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, *119*, 469-475.
- 348 Li, Y. Q., Lei, L. P., Dong, W. H., Wang, S. M., Naito, S., & Yang, G. H. (2011). Molecular
349 diversity of binucleate *Rhizoctonia* AG-A in China. *Phytoparasitica*, *39*, 461.
- 350 Lorz, C., Abbt-Braun, G., Bakker, F., Borges, P., Börnick, H., Fortes, L., ... & Makeschin, F.
351 (2012). Challenges of an integrated water resource management for the Distrito Federal,
352 Western Central Brazil: climate, land-use and water resources. *Environmental Earth*
353 *Sciences*, *65*, 1575-1586.
- 354 Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for
355 inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing*
356 *Environments Workshop (GCE)*, [https://doi.org/ 10.1109/GCE.2010.5676129](https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129).
- 357 Misawa, T., & Kuninaga, S. (2010). The first report of tomato foot rot caused by *Rhizoctonia*
358 *solani* AG-3 PT and AG-2-Nt and its host range and molecular characterization. *Journal*
359 *of General Plant Pathology*, *76*, 310-319.

- 360 Misawa, T., Kurose, D., Mori, M., & Toda, T. (2018). Characterization of Japanese *Rhizoctonia*
361 *solani* AG-2-1 isolates using rDNA-ITS sequences, culture morphology, and growth
362 temperature. *Journal of General Plant Pathology*, *84*, 387-394.
- 363 Ogoshi, A. (1987). Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of
364 *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Annual Review of Phytopathology*, *25*, 125-143.
- 365 Olsen, M. W. & Young, G. J. (2011). *Damping Off*. Cooperative Extension, College of
366 Agriculture, The University of Arizona.
- 367 Pannecoucq, J., & Höfte, M. (2009). Interactions between cauliflower and *Rhizoctonia*
368 anastomosis groups with different levels of aggressiveness. *BMC Plant Biology*, *9*, 95.
- 369 Pannecoucq, J., Van Beneden, S., & Höfte, M. (2008). Characterization and pathogenicity of
370 *Rhizoctonia* isolates associated with cauliflower in Belgium. *Plant Pathology*, *57*, 737-
371 746.
- 372 Patil, H. J., & Solanki, M. K. (2016). Molecular prospecting: Advancement in diagnosis and
373 control of *Rhizoctonia solani* diseases in plants. In P. Kumar, V. K. Gupta, A. J. Tiwari,
374 & M. Kamle (Eds.), *Current trends in plant disease diagnostics and management*
375 *practices* (pp. 165-185). Berna: Springer International.
- 376 Pourmahdi, A., & Taheri, P. (2015). Genetic diversity of *Thanatephorus cucumeris* infecting
377 tomato in Iran. *Journal of Phytopathology*, *163*, 19-32.
- 378 Rambaut, A (2014) *Figtree, a graphical viewer of phylogenetic trees*. 1.4.2 ed. Edinburgh: The
379 author, Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh.
- 380 Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under
381 mixed models. *Bioinformatics*, *19*, 1572-1574.
- 382 Rosa, D. D., Fenille, R. C., De Souza, N. L., & Kuramae, E. E. (2005). Caracterização
383 citomorfológica, molecular e patogênica de isolados de *Rhizoctonia solani* de batata.
384 *Summa Phytopatologica*, *31*, 133-141.

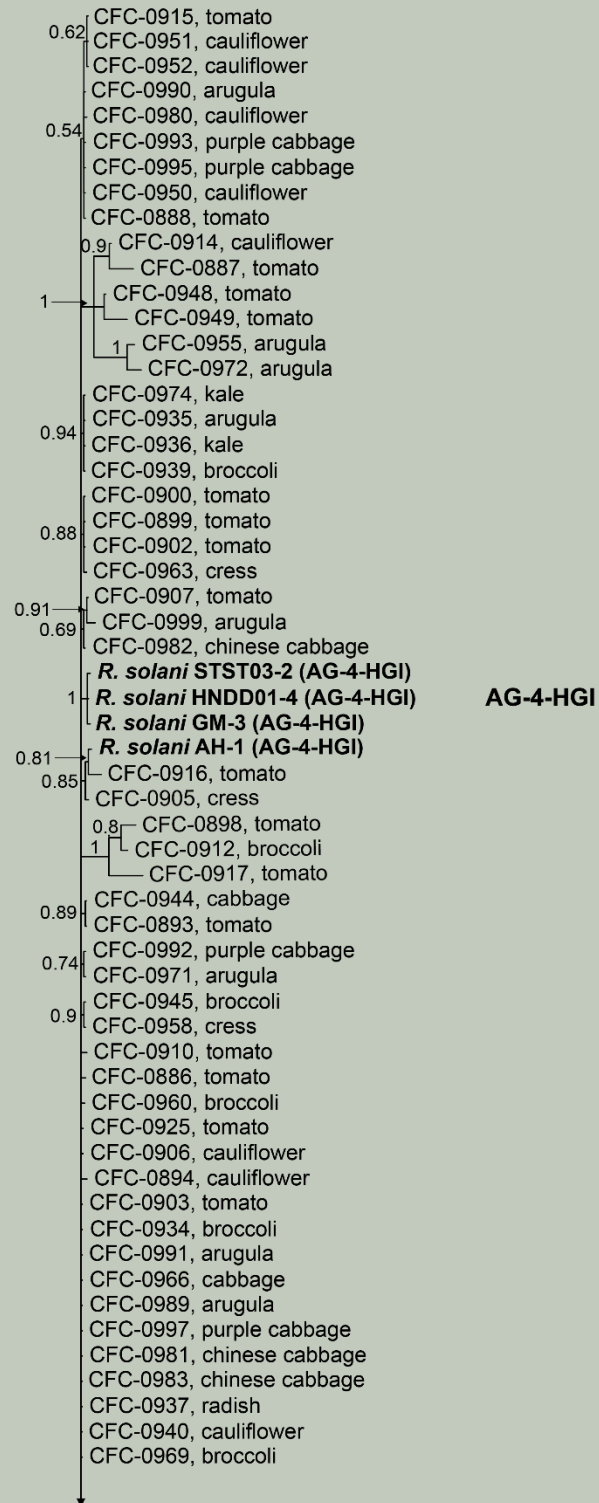
- 385 Sasaki, D., Haga, H., Matsuda, K., & Misawa, T. (2018). Damping-off of kale caused by
386 *Rhizoctonia solani* AG-4 HG-I. *Japanese Journal of Phytopathology*, *84*, 158-160.
- 387 Sharon, M., Kuninaga, S., Hyakumachi, M., & Sneh, B. (2006). The advancing identification
388 and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods
389 compared with the classical anastomosis grouping. *Mycoscience*, *47*, 299-316.
- 390 Shim, C. K., Kim, M. J., Kim, Y. K., Jee, H. J., Hong, S. J., Park, J. H., Eun-Jang, H., & Yun,
391 J. C. (2013). Leaf rot and leaf ring spot caused by *Rhizoctonia solani* in chinese
392 cabbage. *Research in Plant Disease*, *19*, 300-307.
- 393 Silva-Barreto, F. A. D., Pereira, W. V., Ciampi, M. B., Câmara, M. P. S., & Ceresini, P. C.
394 (2010). Associação de *Rhizoctonia solani* Grupo de Anastomose 4 (AG-4 HGI e HGIII)
395 à espécies de plantas invasoras de área de cultivo de batata. *Summa Phytopathologica*,
396 *36*, 145-154.
- 397 Sneh, B., Burpee, L., & Ogoshi, A. (1991). *Identification of Rhizoctonia species*. Saint Paul:
398 APS press.
- 399 Staden, R., Beal, K. F., & Bonfield, J. K. (1998). The staden package. In: S. Misener, & S. A.
400 Krawetz (Eds.), *Bioinformatics methods and protocols* (pp. 115-130). Totowa: Humana
401 Press.
- 402 Taheri, P., & Tarighi, S. (2012). Genetic and virulence analysis of *Rhizoctonia* spp. associated
403 with sugar beet root and crown rot in the northeast region of Iran. *Plant Disease*, *96*, 398-
404 408.
- 405 Tenório, D. A., Medeiros, E. V., Lima, C. S., Silva, J. M., Barros, J. A., Neves, R. P., &
406 Laranjeira, D. (2019). Biological control of *Rhizoctonia solani* in cowpea plants using
407 yeast. *Tropical Plant Pathology*, *44*, 113-119.
- 408 Türkkän, M., Kılıçoğlu, M. Ç., & Erper, I. (2020). Characterization and pathogenicity of
409 *Rhizoctonia* isolates collected from *Brassica oleracea* var. *acephala* in Ordu, Turkey.
410 *Phytoparasitica*, *48*, 273-286.

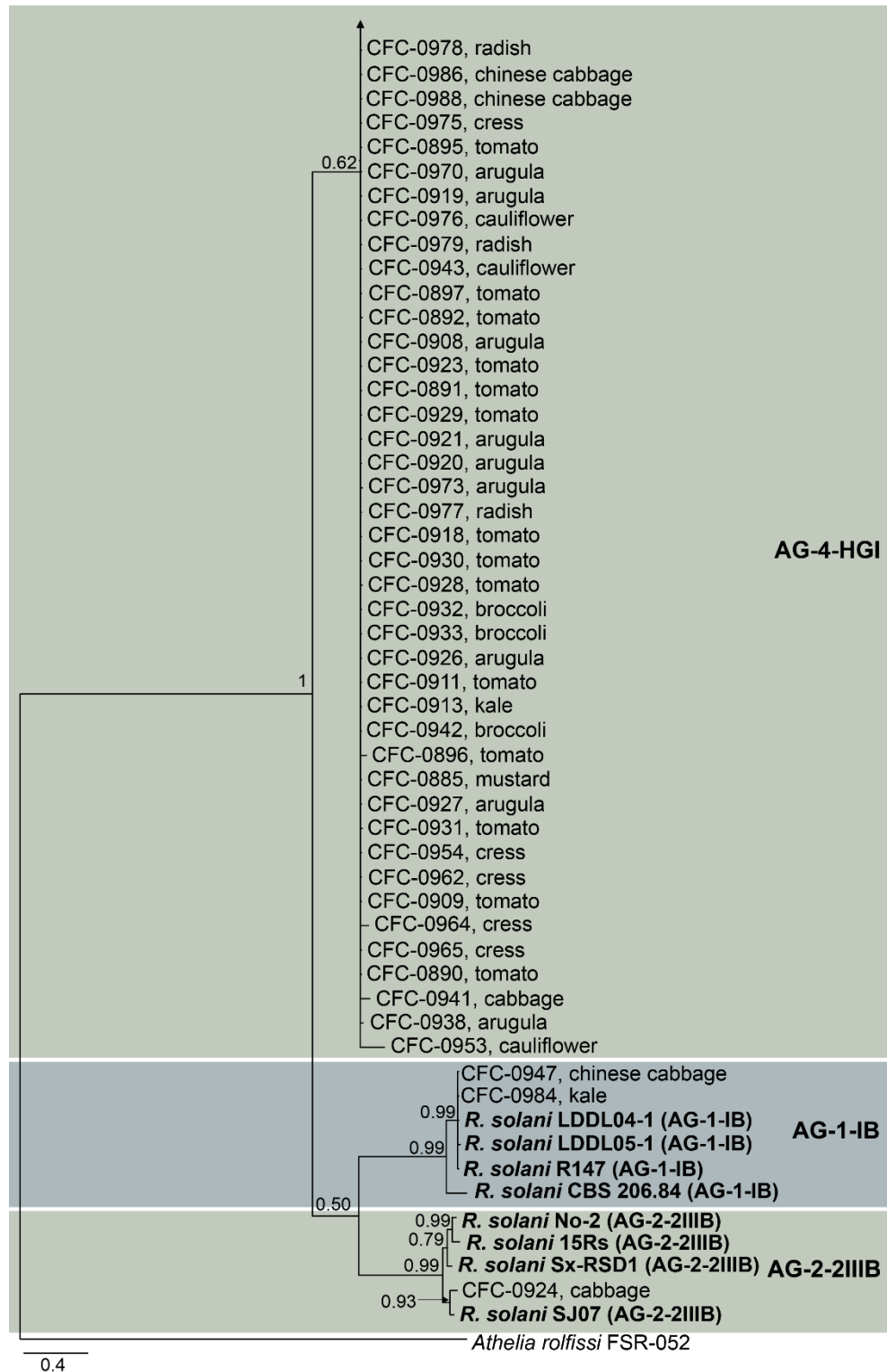
- 411 White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of
412 fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J.
413 Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications* (pp.
414 315–322). New York: Academic Press.
- 415 Yang, G. H., Chen, H. R., Naito, S., Wu, J. Y., He, X. H., & Duan, C. F. (2005). Occurrence of
416 foliar rot of pak choy and Chinese mustard caused by *Rhizoctonia solani* AG1-IB in
417 China. *Journal of General Plant Pathology*, *71*, 377-379.
- 418 Yang, G. H., Chen, J. Y., & Pu, W. Q. (2007). First report of head rot of cabbage and web-
419 blight of snap bean caused by *Rhizoctonia solani* AG 4 HG-I. *New Disease Reports*, *14*,
420 20.
- 421 Zhao, C., Li, Y., Wu, S., Wang, P., Han, C., & Wu, X. (2019). Anastomosis group and
422 pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. associated with seedling damping-off of sugar beet in
423 China. *European Journal of Plant Pathology*, *153*, 869-878.
- 424



425

426 **Figure 1** Collection location of *Rhizoctonia* anastomosis groups (AGs) isolates associated with
 427 brassica and tomato in Brazil. Circles represent association frequency of each AG with plants
 428 exhibiting symptoms in each site sampled. Numbers above the circles (1–11) represents the
 429 hosts identification. Roman numbers (I-XXXIII) represent the sites identification in
 430 Supplementary Table 1. ES, Espírito Santo; DF, Distrito Federal; GO, Goiás; MG, Minas
 431 Gerais; MT, Mato Grosso; PE, Pernambuco; PR, Paraná; SP, São Paulo.

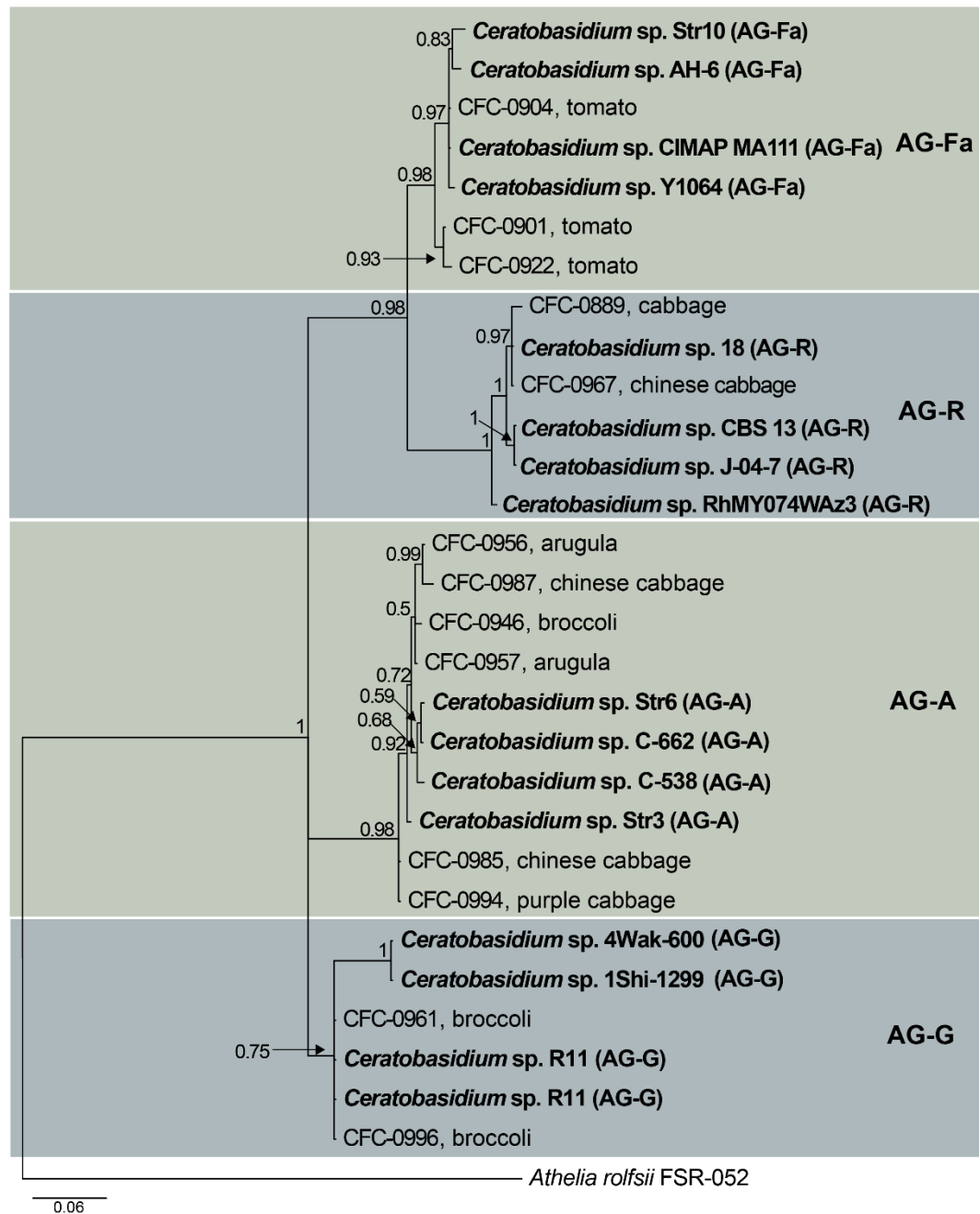




432

0.4

433 **Figure 2** Phylogenetic tree constructed by the Bayesian Inference obtained from the alignment
 434 of the sequences of the ITS-rDNA region of the *Rhizoctonia solani* isolates. Numbers at nodes
 435 indicate posterior probabilities values. The bar represents the number of changes in the
 436 nucleotide sequence of each 100 bp. The reference sequences retrieved from GenBank are
 437 shown in bold type



438

439 **Figure 3** Phylogenetic tree constructed by the Bayesian Inference obtained from the alignment
 440 of the sequences of the ITS-rDNA region of the binucleate *Rhizoctonia* isolates (associated with
 441 a *Ceratobasidium* teleomorph). Numbers at nodes indicate posterior probabilities values. The
 442 bar represents the number of changes in the nucleotide sequence of each 100 bp. The reference
 443 sequences retrieved from GenBank are shown in bold type.

444

445

446 **Table 1** Comparison of lesion diameter on kale leaves caused by different anastomosis groups
 447 of *Rhizoctonia* associated to vegetable brassicas in this study.

448

Anastomosis group	Number of isolates	Lesion diameter (mm) (Mean \pm SE)
AG-1 IB	2	2.0 \pm 1.1 cd
AG-2-2-IIIB	1	10.3 \pm 1.1 ab
AG-4 HGI	65	17.6 \pm 1.3 a
AG-A	6	0.0 \pm 0.0 d
AG-G	2	5.1 \pm 1.4 bc
AG-R	2	4.9 \pm 1.2 bc

449

450 Lesion diameter followed by different letters are significant different ($P < 0.05$) based on
 451 Fisher's LSD test.

452 **Supplementary Table 1** *Rhizoctonia* isolates collected from Brazilian vegetables fields and characterized in this study and GenBank accession codes
 453 for the sequences obtained in this study.

Isolate code ^a	Collection location ^b	Host	AG ^c	GenBank accession no.
CFC-0908	Gama - DF	Arugula	4-HGI	MT216875
CFC-0919	Brazlândia - DF	Arugula	4-HGI	MT216879
CFC-0920	Brazlândia - DF	Arugula	4-HGI	MT216880
CFC-0921	Brazlândia - DF	Arugula	4-HGI	MT216881
CFC-0926	Santa Maria de Jetibá - ES	Arugula	4-HGI	MT216883
CFC-0927	Santa Maria de Jetibá - ES	Arugula	4-HGI	MT216884
CFC-0935	Samambaia - DF	Arugula	4-HGI	MT216888
CFC-0938	Samambaia - DF	Arugula	4-HGI	MT216891
CFC-0955	Samambaia - DF	Arugula	4-HGI	MT216906
CFC-0970	Ceilândia - DF	Arugula	4-HGI	MT216919
CFC-0971	Ceilândia - DF	Arugula	4-HGI	MT216920
CFC-0972	Samambaia - DF	Arugula	4-HGI	MT216921
CFC-0973	Samambaia - DF	Arugula	4-HGI	MT216922
CFC-0989	Vargem Bonita - DF	Arugula	4-HGI	MT216938
CFC-0990	Vargem Bonita - DF	Arugula	4-HGI	MT216939
CFC-0991	Vargem Bonita - DF	Arugula	4-HGI	MT216940
CFC-0999	Chã Grande - PE	Arugula	4-HGI	MT216947
CFC-0956	Brazlândia - DF	Arugula	A	MT216907

CFC-0957	Brazlândia - DF	Arugula	A	MT216908
CFC-0912	Samambaia - DF	Broccoli	4-HGI	MT216876
CFC-0932	Padre Bernardo - GO	Broccoli	4-HGI	MT216885
CFC-0933	Padre Bernardo - GO	Broccoli	4-HGI	MT216886
CFC-0934	Padre Bernardo - GO	Broccoli	4-HGI	MT216887
CFC-0939	Samambaia - DF	Broccoli	4-HGI	MT216892
CFC-0942	Padre Bernardo - GO	Broccoli	4-HGI	MT216895
CFC-0945	Samambaia - DF	Broccoli	4-HGI	MT216898
CFC-0960	Brazlândia - DF	Broccoli	4-HGI	MT216910
CFC-0969	Samambaia - DF	Broccoli	4-HGI	MT216918
CFC-0946	Ceilândia - DF	Broccoli	A	MT216899
CFC-0961	Brazlândia - DF	Broccoli	G	MT216911
CFC-0996	Recanto das Emas - DF	Broccoli	G	MT216945
CFC-0924	Brazlândia - DF	Cabbage	2-2IIIB	MT216882
CFC-0941	Samambaia - DF	Cabbage	4-HGI	MT216894
CFC-0944	Samambaia - DF	Cabbage	4-HGI	MT216897
CFC-0966	Cidade Estrutural - DF	Cabbage	4-HGI	MT216916
CFC-0889	Santo Antônio do Descoberto - GO	Cabbage	R	MT216871
CFC-0894	Camocim de São Félix - PE	Cauliflower	4-HGI	MT216872
CFC-0906	Bragança Paulista - SP	Cauliflower	4-HGI	MT216874
CFC-0914	Santo Antônio de Goiás - GO	Cauliflower	4-HGI	MT216878
CFC-0940	Padre Bernardo - GO	Cauliflower	4-HGI	MT216893

CFC-0943	Ceilândia - DF	Cauliflower	4-HGI	MT216896
CFC-0950	Brazlândia - DF	Cauliflower	4-HGI	MT216901
CFC-0951	Brazlândia - DF	Cauliflower	4-HGI	MT216902
CFC-0952	Brazlândia - DF	Cauliflower	4-HGI	MT216903
CFC-0953	Brazlândia - DF	Cauliflower	4-HGI	MT216904
CFC-0976	Gama - DF	Cauliflower	4-HGI	MT216925
CFC-0980	Recanto das Emas - DF	Cauliflower	4-HGI	MT216929
CFC-0947	Cidade Estrutural - DF	Chinese cabbage	1-IB	MT216900
CFC-0981	Brazlândia - DF	Chinese cabbage	4-HGI	MT216930
CFC-0982	Ceilândia - DF	Chinese cabbage	4-HGI	MT216931
CFC-0983	Ceilândia - DF	Chinese cabbage	4-HGI	MT216932
CFC-0986	Vargem Bonita - DF	Chinese cabbage	4-HGI	MT216935
CFC-0988	Vargem Bonita - DF	Chinese cabbage	4-HGI	MT216937
CFC-0985	Vargem Bonita - DF	Chinese cabbage	A	MT216934
CFC-0987	Vargem Bonita - DF	Chinese cabbage	A	MT216936
CFC-0967	Ceilândia - DF	Chinese cabbage	R	MT216917
CFC-0905	Holambra - SP	Cress	4-HGI	MT216873
CFC-0954	Samambaia - DF	Cress	4-HGI	MT216905
CFC-0958	Samambaia - DF	Cress	4-HGI	MT216909
CFC-0962	Cidade Estrutural - DF	Cress	4-HGI	MT216912
CFC-0963	Cidade Estrutural - DF	Cress	4-HGI	MT216913
CFC-0964	Samambaia - DF	Cress	4-HGI	MT216914

CFC-0965	Samambaia - DF	Cress	4-HGI	MT216915
CFC-0975	Ceilândia - DF	Cress	4-HGI	MT216924
CFC-0984	Samambaia - DF	Kale	1-IB	MT216933
CFC-0913	Santo Antônio de Goiás - GO	Kale	4-HGI	MT216877
CFC-0936	Samambaia - DF	Kale	4-HGI	MT216889
CFC-0974	Brazlândia - DF	Kale	4-HGI	MT216923
CFC-0885	Gama - DF	Mustard	4-HGI	MT216870
CFC-0992	Vargem Bonita - DF	Purple cabbage	4-HGI	MT216941
CFC-0993	Vargem Bonita - DF	Purple cabbage	4-HGI	MT216942
CFC-0995	Vargem Bonita - DF	Purple cabbage	4-HGI	MT216944
CFC-0997	Vargem Bonita - DF	Purple cabbage	4-HGI	MT216946
CFC-0994	Vargem Bonita - DF	Purple cabbage	A	MT216943
CFC-0937	Samambaia - DF	Radish	4-HGI	MT216890
CFC-0977	Ceilândia - DF	Radish	4-HGI	MT216926
CFC-0978	Ceilândia - DF	Radish	4-HGI	MT216927
CFC-0979	Ceilândia - DF	Radish	4-HGI	MT216928
CFC-0886	Gama - DF	Tomato	4-HGI	MT159528
CFC-0887	Presidente Prudente - SP	Tomato	4-HGI	MT159529
CFC-0888	Capelinha - MG	Tomato	4-HGI	MT159530
CFC-0890	Morrinhos - GO	Tomato	4-HGI	MT159531
CFC-0891	Morrinhos - GO	Tomato	4-HGI	MT159532
CFC-0892	Brasília de Minas - MG	Tomato	4-HGI	MT159533

CFC-0893	Santo Antônio da Fortuna - MT	Tomato	4-HGI	MT159534
CFC-0895	Faxinal - PR	Tomato	4-HGI	MT159535
CFC-0896	Marilândia do Sul - PR	Tomato	4-HGI	MT159536
CFC-0897	Gama - DF	Tomato	4-HGI	MT159537
CFC-0898	Cristalina - GO	Tomato	4-HGI	MT159538
CFC-0899	Boa Esperança - MG	Tomato	4-HGI	MT159539
CFC-0900	Gama - DF	Tomato	4-HGI	MT159540
CFC-0902	Cristalina - GO	Tomato	4-HGI	MT159542
CFC-0903	Rio Verde - GO	Tomato	4-HGI	MT159543
CFC-0907	Cruzália - SP	Tomato	4-HGI	MT159545
CFC-0909	Hidrolândia - GO	Tomato	4-HGI	MT159546
CFC-0910	Brasília - DF	Tomato	4-HGI	MT159547
CFC-0911	Brasília - DF	Tomato	4-HGI	MT159548
CFC-0915	Goianópolis - GO	Tomato	4-HGI	MT159549
CFC-0916	Cocalzinho - GO	Tomato	4-HGI	MT159550
CFC-0917	Cocalzinho - GO	Tomato	4-HGI	MT159551
CFC-0918	Cocalzinho - GO	Tomato	4-HGI	MT159552
CFC-0923	Ceilândia - DF	Tomato	4-HGI	MT159554
CFC-0925	Taquara - DF	Tomato	4-HGI	MT159555
CFC-0928	Ubaporanga - MG	Tomato	4-HGI	MT159556
CFC-0929	Ubaporanga - MG	Tomato	4-HGI	MT159557
CFC-0930	Ubaporanga - MG	Tomato	4-HGI	MT159558

CFC-0931	Ceilândia - DF	Tomato	4-HGI	MT159559
CFC-0948	São Gabriel - GO	Tomato	4-HGI	MT159560
CFC-0949	São Gabriel - GO	Tomato	4-HGI	MT159561
CFC-0901	Cristalina - GO	Tomato	Fa	MT159541
CFC-0904	Taquara - DF	Tomato	Fa	MT159544
CFC-0922	Gama - DF	Tomato	Fa	MT159553

454

455 ^aCFC = Culture Collection of Phytopathogenic Fungi of Cariri, Universidade Federal do Cariri, Crato, Ceará, Brazil456 ^bES, Espírito Santo; DF, Distrito Federal; GO, Goiás; MG, Minas Gerais; MT, Mato Grosso; PE, Pernambuco; PR, Paraná; SP, São Paulo States457 ^cAnastomosis group.

458

Supplementary Table 2 *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* isolates derived from GenBank included in the phylogenetic analyses.

Isolate code	AG ^a	Host plant or substrate	Geographic origin	GenBank accession no.
LDDL04-1	1-IB	White cabbage	Vietnam	KF907717
LDDL05-1	1-IB	White cabbage	Vietnam	KF907718
R147	1-IB	White clover	Japan	AB122139
CBS 206.84	1-IB	Bean	Japan	DQ279038
No-2	2-2IIIB	Maize	Japan	AJ238166
15Rs	2-2IIIB	Junk	Japan	AF354116
SX-RSD1	2-2IIIB	Sugar beet	China	KC413984
SJ07	2-2IIIB	Soybean	Brazil	AY270015
STST03-2	4-HGI	Chinese cabbage	Vietnam	KF907732
HNDD01-4	4 HGI	Turnip cabbage	Vietnam	KF907733
GM-3	4 HGI	Soybean	Japan	AB000018
AH-1	4 HGI	Peanut	Japan	AY154307
Str6	A	Strawberry	Israel	DQ102407
C-662	A	Soil	Japan	AF354092
C-538	A	Potato	Japan	AB196640
Str3	A	Strawberry	Israel	DQ102421
Str10	Fa	Strawberry	Israel	DQ102434
AH-6	Fa	Peanut	Japan	DQ279014
CIMAP MA111	Fa	Mexican marigold	India	KC193238
Y1064	Fa	Yam	South Korea	JX913821
4Wak-600	G	Rose	Japan	AB196658
1Shi-1299	G	Rose	Japan	AB196657
R11	G	Strawberry	Italy	AY927319
AH-9	G	Peanut	Japan	AB196646
18	R	Orchid	China	KY880973
CBS 136.82	R	Taxus	United States	DQ278933
J-04-7	R	Ginger	China	DQ885781
RhMY074WAz3	R	Azalea	United States	HQ269823

^a Anastomosis group

CAPÍTULO III

Usefulness of the RPB2 gene for *Rhizoctonia* anastomosis groups phylogeny and identification

Submissão: **European Journal of Plant Pathology**
Short Communication
Dordrech, Holanda
JCR = 1,582

1 **Usefulness of the RPB2 gene for *Rhizoctonia* anastomosis groups phylogeny and**
2 **identification.**

3

4 Grazielle S. Lima • Lucas C. S. Amancio • Kledson M. Santos • Ana P. O. Barros • Alexandre
5 R. Machado • Cristina M. Souza-Motta • Kamila C. Correia • Sami J. Michereff

6

7 G. S. Lima • L. C. S. Amancio • K. M. Santos • A. P. O. Barros

8 Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
9 52171-900, Recife, PE, Brazil

10

11 A. R. Machado • C. M. de Souza-Motta

12 Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-600, Recife, PE,
13 Brazil

14

15 K. C. Correia • S. J. Michereff

16 Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade, Universidade Federal do Cariri, 63133-610,
17 Crato, CE, Brazil

18

19 S. J. Michereff (✉)

20 e-mail: sami.michereff@ufca.edu.br

21 ORCID <http://orcid.org/0000-0002-2156-3502>

22

23 A. R. Machado

24 ORCID <https://orcid.org/0000-0001-7440-3097>

25

26

27 **Abstract** The concept of anastomosis group (AG) has been widely used to *Rhizoctonia*
28 genus and it is based on the premise that hyphae of isolates of the same species have the ability
29 to recognize and to fuse within each other. Among *Rhizoctonia* AGs identification techniques,
30 the study of the ITS region is the most used. However, the variation between its copies and low
31 conservation of this region in the genome, besides the difficulty of aligning sequences, makes
32 it unsuitable for use in phylogenetic studies of this group of fungi. Thus, protein coding regions,
33 single copy in the genome, easy to align and with better species resolution power should be
34 evaluated. The aim of this study was to evaluate the usefulness of the RPB2 gene to *Rhizoctonia*
35 anastomosis groups phylogeny and identification. Forty isolates of *R. solani* and binucleate
36 *Rhizoctonia* belonging to different anastomosis groups were used in this study. Genomic DNA
37 was extracted and used to amplify the RPB2 region using RPB2-980F and fRPB2-7cR primers.
38 The PCR amplification products were purified and sequenced in both directions with the same
39 primers used for amplification. The results of the phylogenetic analyses obtained corroborates
40 previous studies and they also confirm the identity of most of the isolates identified by the ITS
41 region. The present study showed that the RPB2 gene has great potential for phylogenetic
42 studies of *Rhizoctonia* anastomosis groups. Besides that, a reference sequences database was
43 generated and it will serve as a standard for comparison in forward studies.

44

45 **Keywords** Bayesian Inference • *Ceratobasidium* sp. • ITS-rDNA • *Thanatephorus cucumeris*

46

47 The genus *Rhizoctonia* was first described in 1815 by DeCandolle, based on the ability
48 of fungi that attack roots, do not produce spores and form sclerotia (Hietala et al. 1994; Stalpers
49 and Anderson 1996). It is a genus composed of species that have a great capacity for saprophytic
50 competition in the soil and cause important diseases in most plants cultivated worldwide,
51 presenting a range of hosts consisting of over 500 species of plants (Ogoshi 1996; Agarwal
52 2010; Yang and Li 2012; Patil and Solanki 2016).

53 The concept of anastomosis group (AG) has been used extensively in the genus
54 *Rhizoctonia* and is based on the premise that hyphae of isolates of the same species have the
55 ability to recognize and fuse with each other (Ogoshi 1987). Currently, 13 anastomosis groups
56 are recognized in *Rhizoctonia solani* (with a teleomorph on *Thanatephorus*), designated AG-1
57 to AG-13. In binucleate *Rhizoctonia* are recognized around the world 18 AGs with teleomorph
58 in *Ceratobasidium*, designated AG-A to AG-W (Yang et al. 2015; Aiello et al. 2017) and seven
59 American AGs, named CAG-1 to CAG-7 (Kuramae et al. 2007). In addition to AG, there is
60 also the differentiation of *Rhizoctonia* spp. in intraspecific groups (ISGs), based on biochemical
61 tests, host association, hyphae cell nuclear condition and molecular criteria (Carling et al. 2002).

62 The identification of *Rhizoctonia* spp. AGs or ISGs is very important to understand
63 pathogen genetic diversity, epidemiological and ecological studies, providing an appropriate
64 disease management (Ogoshi 1987). The different *Rhizoctonia* AGs can respond in different
65 ways to control measures, thus demonstrating the need for adequate and accurate identification
66 of isolates (Campion et al. 2003; Özer and Bayraktar 2015; Patil and Solanki 2016).

67 Molecular techniques have been used for an accurate identification and allocation of
68 *Rhizoctonia* isolates in many described AGs. Among these techniques, the analysis of the
69 internal transcribed spacer (ITS) of ribosomal DNA (rDNA) is the most used (Agarwal 2010;
70 Aiello et al. 2017; Yang et al. 2017; Inokuti et al. 2018; Misawua and Kurose 2019). The ITS
71 rDNA region has universal primers that sufficiently distinguish many species of fungi; presents
72 multicopy nature, which facilitates the amplification of low-quality regions and is also the most
73 abundant fungal marker in the databases (Nilsson et al. 2008; Herrera et al. 2009; Schoch et al.
74 2012). However, genome variation among copies of this region, in addition to the difficulty of
75 sequence alignment, due to indel accumulation, population level differences in alleles or
76 heterogeneity of copies, makes it unsuitable for phylogenetic studies on higher taxonomic ranks
77 (Álvarez and Wendel 2003; Avis et al. 2006; Kiss 2012; Větrovský et al. 2016). Thus, the

78 protein coding regions of single genome copy, easy alignment and better species resolution
79 should be evaluated (Glass et al. 2013).

80 The second largest RNA polymerase II (RPB2) subunit is a protein-coding region of
81 single copy in fungi and very conserved (Malkus et al. 2006). It is considered a suitable
82 alternative for marker for phylogenetic studies at higher taxonomic levels, once that it has
83 greater informativeness and ease sequences aligning (Matheny 2005; Větrovský et al. 2016).
84 This region has been used in phylogenetic analyses of important genus, such as *Botrytis* (Staats
85 et al. 2005), *Fusarium* (O'Donnell et al. 2013; Lombard et al. 2019), *Alternaria* (Al Ghafri et
86 al. 2019) and *Stagonosporopsis* (Jayasiri et al. 2019). Considering all the informations
87 presented above, the aim of this study was to evaluate the usefulness of RPB2 gene for
88 *Rhizoctonia* anastomosis groups phylogeny and identification.

89 Forty isolates of *Rhizoctonia* belonging to twenty-one anastomosis groups previously
90 identified by sequencing the ITS rDNA region in previous work (Amancio 2018; Palácio 2020;
91 Lima 2020 “in prep.”) were used in this study (Supplementary Table 1). Many of these isolates
92 are reference for different anastomosis groups and they were provided by the researchers. The
93 isolates were deposited in the Culture Collection of Phytopathogenic Fungi of Cariri (CFC) at
94 the Universidade Federal do Cariri (Crato, Ceará, Brazil).

95 The genomic DNA of each isolate was obtained using the Wizard® Genomic DNA
96 Purification Kit (Promega Corporation, Madison, USA). The primers sensitivity was evaluated
97 with 25 ng/μL of genomic DNA. The RPB2 region was amplified using RPB2-980F (5'-TGY
98 CCI GCI GAR ACI CCH GAR GG-3') and fRPB2-7cR (5'- CCC ATR GCT TGY TTR CCC
99 AT-3') primers (Liu et al. 1999; Matheny 2005; Reeb et al. 2004). The polymerase chain
100 reaction (PCR) was carried out in a mixture of 12.5 μL containing 6.25 μL de GoTaq® Green
101 Master Mix (2X) (Promega Corporation, Madison, WI), 0.5 μL of each primer, 4.25 μL of
102 nuclease free water and 1 μL of DNA. A negative control (without DNA samples) was included
103 in all PCR reactions. Amplifications were performed using the following program: initial

104 denaturation at 94 °C for 5 min, followed by 30 cycles of denaturing at 94 °C for 0.45 min,
105 annealing at 52 °C for 1 min, extension at 72 °C for 2 min, one final extension cycle at 72 °C
106 for 5 min and final incubation at 4°C.

107 The PCR amplification products were separated by electrophoresis on 1% agarose gel
108 in Tris-acetate 1.0 x EDTA acid (TAE), they were stained with GelRed™ (Biotium Inc.,
109 Hayward, CA, USA) and photographed under UV light. PCR products were purified using the
110 ExoProStar 1-step purification kit (GE Healthcare Life Sciences), following the manufacturer's
111 instructions and they were sequenced in both directions with the same primers used for
112 amplification.

113 The consensus sequences were assembled using the Staden Package software v. 2.0
114 (Staden et al. 1998) and aligned with sequences from the GenBank database through the online
115 interface MAFFT v.7 (Katoh et al. 2002; Katoh and Standley 2013) with the interactive
116 refinement method G-INS-i and manually corrected in MEGA7 (Kumar et al. 2016).

117 The RPB2 and ITS sequences of the 40 isolates in this study were submitted to
118 phylogenetic analyses with additional isolates sequences of *Thanatephorus* sp. and
119 *Ceratobasidium* sp. recovered from Genbank. Bayesian Inference (BI) analyses applying a
120 Monte Carlo Markov chain (MCMC) method were performed with all sequences using
121 MRBayes v. 3.2.6 (Ronquist and Huelsenbeck 2003) implemented on the CIPRES Science
122 Gateway (Miller et al. 2010). The evolution models were selected according to the Akaike
123 Information Criterion (AIC). The SYM+I+G and GTR+I+G models of evolution were used for
124 RPB2 in the analyses of multinucleate and binucleate *Rhizoctonia*, respectively. The HKY+G
125 model was used for ITS analyses of multinucleate and binucleate isolates. Four simultaneous
126 Markov chains have been run for 10000000 generations. The first 25% trees were discarded as
127 the burn-in phase of each analysis. Posterior probabilities were determined from a consensus
128 tree with 75% of the remaining trees. The trees obtained were visualized in the program FigTree
129 v.1.4.2 (Rambaut 2014). The RPB2 and ITS sequences of *Tulasnella pruinosa* (GenBank

130 Accession N° DQ381839 and DQ457642) were used as outgroup. RPB2 sequences generated
131 in this study were deposited in GenBank (Supplementary Table 1).

132 The results of the phylogenetic analyses obtained affirm previous studies and they also
133 confirm the identity of most of the isolates identified by the ITS region (Amancio 2018; Palácio
134 2020; Lima 2020 “in prep.”). The RPB2 region allowed the separation of *Rhizoctonia*
135 anastomosis groups into distinct clades with satisfactory posterior probability values (Figures
136 1 and 2). The isolates groups sequences AG 2-BI, AG-11 and AG-L do not group up with any
137 other sequence and it was expected, once that there are no reference RPB2 sequences for these
138 anastomosis groups in the databases for comparison.

139 Unlike the others ones, the isolates of the anastomosis groups AG-5 and AG-Bb were
140 not grouped up with the RPB2 sequences available in the GenBank database. The only RPB2
141 sequence of AG-5 (GM10 isolate) available in the database for comparison was grouped up
142 with AG-7 isolates sequences (Figure 1). A similar result was observed by González et al.
143 (2016) which the same isolate AG-5 evaluated in this study was grouped up with the isolate
144 76Rs of the group AG-7. Regarding to AG-Bb, the sequence of the isolate evaluated in this
145 study (MMBF25/11) was close to the available sequence from GenBank (CBS 569.83), in the
146 phylogenetic tree, but it had no defined clustering (Figure 2). However, comparing to another
147 isolate ITS sequence available in the database (C-350) (Figure 4), there was the grouping and
148 confirmation of its identity. These results are possibly due to errors in the identification of the
149 isolates available in the database or genetic variations within these anastomosis groups.

150 Although the databases present a considerable amount of sequences of the ITS rDNA
151 region for *Rhizoctonia* spp. from a wide range of anastomosis groups, the use of only this region
152 for analyses of *Rhizoctonia* genus is not suitable. ITS rDNA region presents intragenomic
153 variability that limits fungi study, affecting diversity estimates (Kiss 2012; Lindner et al. 2013).
154 As demonstrated by Nilsson et al. (2008), species of *Thanatephorus cucumeris* (*Rhizoctonia*

155 *solani* teleomorph) have significant intraspecific variability, above the average in representative
156 species of the Fungi kingdom.

157 RPB2 is a protein-coding gene, from orthologous nature, which has high phylogenetic
158 informativeness. Its characteristics represents an important advantage for fungi taxonomic
159 identification (Větrovský et al. 2016). This gene region was included in phylogenetic studies of
160 *Rhizoctonia* genus by González et al. (2016), evaluating phylogenetic relationships of
161 *Rhizoctonia* fungi within Cantharellales order, through multilocus analysis. Rentería-Martínez
162 et al. (2018) included it in a multilocus phylogenetic analysis of fungal complex associated with
163 watermelon root rot. Also, through a multilocus analysis, Chavarro-Mesa et al. (2020) used the
164 RPB2 region to identify *Rhizoctonia* isolates associated with signal grass, cowpea and
165 soybeans.

166 Beyond the use of a single gene region in the phylogenetic analyses, the use of different
167 isolates as reference in several works has been a factor that complicates an accurate
168 identification of *Rhizoctonia*, once that there are no isolates type defined to different
169 anastomosis groups. Thus, there is a need to set reference isolates of *Rhizoctonia* anastomosis
170 groups to be used as standards in phylogenetic analyses, and provide sequences of these to the
171 databases.

172 The present study showed that RPB2 gene has great potential for phylogenetic studies
173 of *Rhizoctonia* anastomosis groups. Some anastomosis groups do not have RPB2 sequences
174 deposited in the databases and it hinders the current use of this region in studies of genetic
175 diversity. Thereby, we contribute to the increase of a reliable database of sequences which will
176 work as a standard for comparing isolates in forward studies.

177

178

179

180 **Acknowledgments**

181

182 The first author thanks the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
183 (CAPES, Brazil) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq,
184 Brazil) for a doctorate scholarship. S. J. Michereff also acknowledge the CNPq research
185 fellowship.

186

187 **Compliance with Ethical Standards**

188

189 All principles of ethical and professional conduct have been followed during this research and
190 elaboration of this manuscript.

191 - Conflict of interest - The authors declare that they have no conflict of interest.

192 - Research involving Human Participants and/or Animals - Not applicable

193 - Informed consent - All authors have reviewed the manuscript and approved its submission to
194 the European Journal of Plant Pathology

195

196 **References**

197

198 Agarwal, D. K. (2010). *Rhizoctonia* D.C.: taxonomy, ecology and management. In K. G.
199 Mukerji, & C. Manoharachary (Eds.), *Taxonomy and ecology of Indian fungi* (pp. 19-50).
200 New Delhi: I. K. International Publishing House.

201 Aiello, D., Guarnaccia, V., Formica, P. T., Hyakumachi, M., & Polizzi, G. (2017). Occurrence
202 and characterisation of *Rhizoctonia* species causing diseases of ornamental plants in
203 Italy. *European Journal of Plant Pathology*, 148, 967-982.

- 204 Al Ghafri, A. A., Maharachchikumbura, S. S., Hyde, K. D., Al-Saady, N. A., & Al-Sadi, A. M.
205 (2019). A new section and a new species of *Alternaria* from Oman. *Phytotaxa*, 405, 279-
206 289.
- 207 Álvarez, I. J. F. W., & Wendel, J. F. (2003). Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic
208 inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29, 417-434.
- 209 Amancio, L. C. S. (2018) Avaliação de iniciadores específicos para detecção de grupos de
210 anastomose de *Rhizoctonia solani*. Thesis (doctorate degree) – Universidade Federal
211 Rural de Pernambuco. Recife, Pernambuco, Brazil.
- 212 Avis, P. G., Dickie, I. A., & Mueller, G. M. (2006). A ‘dirty’ business: testing the limitations of
213 terminal restriction fragment length polymorphism (TRFLP) analysis of soil fungi.
214 *Molecular Ecology*, 15, 873-882.
- 215 Campion, C., Chatot, C., Perraton, B., & Andrivon, D. (2003). Anastomosis groups,
216 pathogenicity and sensitivity to fungicides of *Rhizoctonia solani* isolates collected on
217 potato crops in France. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 983-992.
- 218 Carling, D. E., Kuninaga, S., & Brainard, K. A. (2002). Hyphal anastomosis reactions, rDNA-
219 internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia*
220 *solani* anastomosis group-2 (AG-2) and AG-BI. *Phytopathology*, 92, 43-50.
- 221 Chavarro-Mesa, E., Ceresini, P., Pereira, D., Vicentini, S., Silva, T., Ramos-Molina, L.,
222 Negrisoni, M., Schurt, D., & Vieira Júnior, J. R. (2020). A broad diversity survey of
223 *Rhizoctonia* species from the Brazilian Amazon reveals the prevalence of *R. solani* AG-
224 1 IA on signal grass and the new record of AG-1 IF on cowpea and soybeans. *Plant*
225 *Pathology*, 69, 455-466.
- 226 Glass, D. J., Takebayashi, N., Olson, L. E., & Taylor, D. L. (2013). Evaluation of the
227 authenticity of a highly novel environmental sequence from boreal forest soil using
228 ribosomal RNA secondary structure modeling. *Molecular Phylogenetics and Evolution*,
229 67, 234-245.

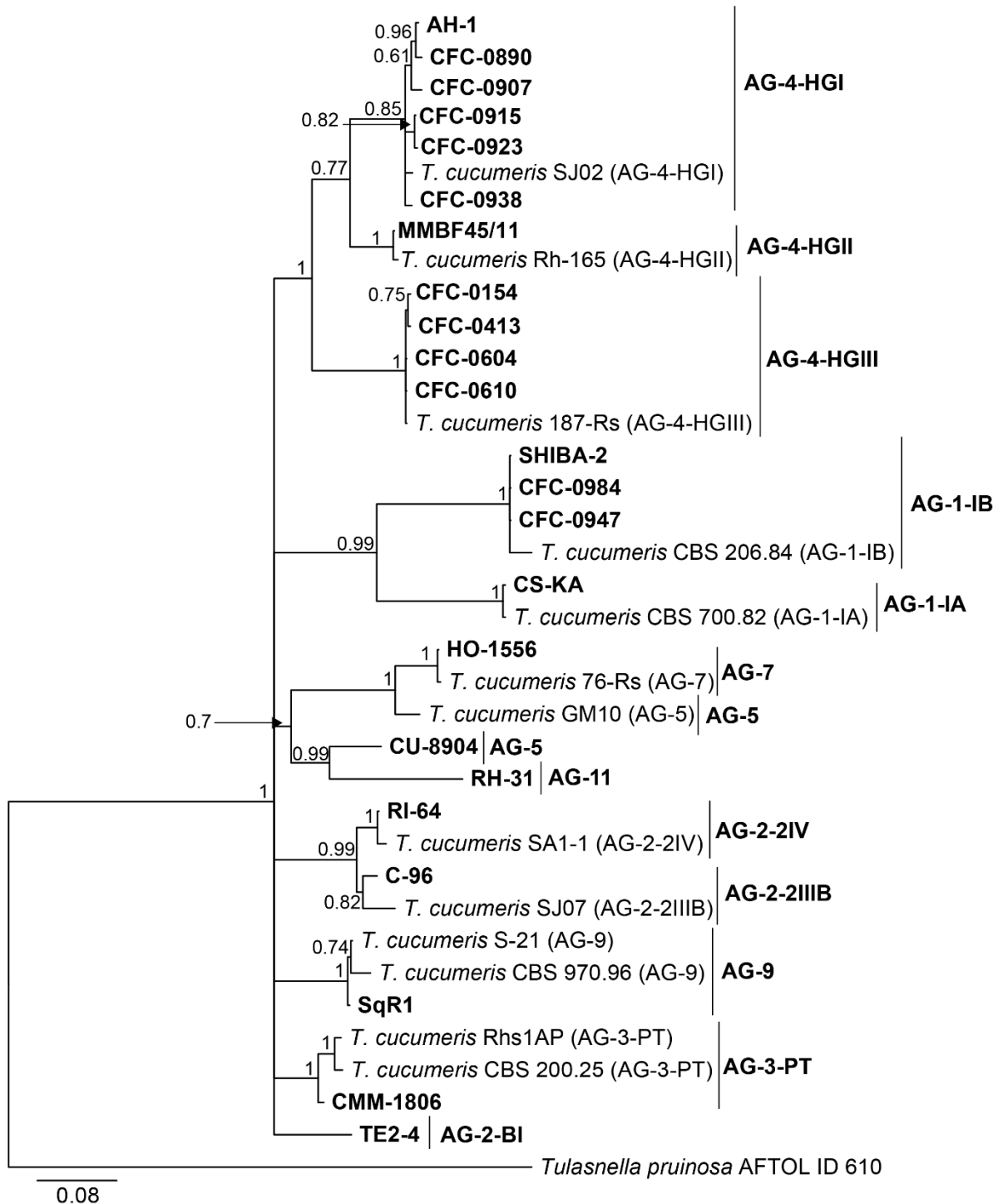
- 230 González, D., Rodríguez-Carres, M., Boekhout, T., Stalpers, J., Kuramae, E. E., Nakatani, A.
231 K., Vilgalys, R., & Cubeta, M. A. (2016). Phylogenetic relationships of *Rhizoctonia* fungi
232 within the Cantharellales. *Fungal Biology*, *120*, 603-619.
- 233 Herrera, M. L., Vallor, A. C., Gelfond, J. A., Patterson, T. F., & Wickes, B. L. (2009). Strain-
234 dependent variation in 18S ribosomal DNA copy numbers in *Aspergillus fumigatus*.
235 *Journal of Clinical Microbiology*, *47*, 1325-1332.
- 236 Hietala, A. M., Sen, R., & Lilja, A. (1994). Anamorphic and teleomorphic characteristics of a
237 uninucleate *Rhizoctonia* sp. isolated from the roots of nursery grown conifer seedlings.
238 *Mycological Research*, *98*, 1044-1050.
- 239 Inokuti, E. M., Reis, A., Ceresini, P. C., Câmara, M. P., & Michereff, S. J. (2018). Diversity
240 and pathogenicity of anastomosis groups of *Rhizoctonia* associated with potato stem
241 canker and black scurf diseases in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, *153*,
242 1333-1339.
- 243 Jayasiri, S. C., Hyde, K. D., Jones, E. B. G., McKenzie, E. H. C., Jeewon, R., Phillips, A. J. L.,
244 Bhat, D. J., Wanasinghe, D. N., Liu, J. K., Lu, Y. Z., Kang, J. C., Xu, J., & Karunarathna,
245 S. C. (2019). Diversity, morphology and molecular phylogeny of Dothideomycetes on
246 decaying wild seed pods and fruits. *Mycosphere*, *10*, 1-186.
- 247 Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version
248 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, *30*,
249 772-780.
- 250 Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. I., & Miyata, T. (2002). MAFFT: a novel method for rapid
251 multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*,
252 *30*, 3059-3066.
- 253 Kiss, L. (2012). Limits of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences
254 as species barcodes for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*,
255 E1811-E1811.

- 256 Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics
257 analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, *33*, 1870-1874.
- 258 Kuramae, E. E., Buzeto, A. L., Nakatani, A. K., & Souza, N. L. (2007). rDNA-based
259 characterization of a new binucleate *Rhizoctonia* spp. causing root rot on kale in
260 Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, *119*, 469-475.
- 261 Lindner, D. L., Carlsen, T., Henrik Nilsson, R., Davey, M., Schumacher, T., & Kauserud, H.
262 (2013). Employing 454 amplicon pyrosequencing to reveal intragenomic divergence in
263 the internal transcribed spacer rDNA region in fungi. *Ecology and Evolution*, *3*, 1751-
264 1764.
- 265 Liu, Y. J., Whelen, S., & Hall, B. D. (1999). Phylogenetic relationships among ascomycetes:
266 evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution*, *16*,
267 1799-1808.
- 268 Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Lamprecht, S. C., & Crous, P. W. (2019). Epitypification of
269 *Fusarium oxysporum*—clearing the taxonomic chaos. *Persoonia*, *43*, 1-47.
- 270 Malkus, A., Chang, P. F. L., Zuzga, S. M., Chung, K. R., Shao, J., Cunfer, B. M., Arseniuk, E.,
271 & Ueng, P. P. (2006). RNA polymerase II gene (RPB2) encoding the second largest
272 protein subunit in *Phaeosphaeria nodorum* and *P. avenaria*. *Mycological Research*, *110*,
273 1152-1164.
- 274 Matheny, P. B. (2005). Improving phylogenetic inference of mushrooms with RPB1 and RPB2
275 nucleotide sequences (Inocybe; Agaricales). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *35*,
276 1-20.
- 277 Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for
278 inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing*
279 *Environments Workshop (GCE)*, [https://doi.org/ 10.1109/GCE.2010.5676129](https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129).

- 280 Misawa, T., & Kurose, D. (2019). Anastomosis group and subgroup identification of
281 *Rhizoctonia solani* strains deposited in NARO Genebank, Japan. *Journal of General*
282 *Plant Pathology*, 85, 282-294.
- 283 Nilsson, R. H., Kristiansson, E., Ryberg, M., Hallenberg, N., & Larsson, K. H. (2008).
284 Intraspecific ITS variability in the kingdom Fungi as expressed in the international
285 sequence databases and its implications for molecular species identification. *Evolutionary*
286 *Bioinformatics*, 4, 193-201.
- 287 O'Donnell, K., Rooney, A. P., Proctor, R. H., Brown, D. W., McCormick, S. P., Ward, T. J.,
288 Frandson, R. J., Lysoe, E., Rehner, S. A., Aoki, T., & Robert, V. A. (2013). Phylogenetic
289 analyses of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising
290 all agriculturally and medically important fusaria. *Fungal Genetics and Biology*, 52, 20-
291 31.
- 292 Ogoshi, A. (1987). Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of
293 *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Annual Review of Phytopathology*, 25, 125-143.
- 294 Ogoshi, A. (1996). Introduction – the genus *Rhizoctonia*. In: B. Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate,
295 G. Dijst (Eds.), *Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology*
296 *and disease control* (pp. 1-9). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- 297 Özer, G., & Bayraktar, H. (2015). Characterization and sensitivity to fungicides of *Rhizoctonia*
298 spp. recovered from potato plants in Bolu, Turkey. *Journal of Phytopathology*, 163, 11-
299 18.
- 300 Palácio, P. B. (2020). Diversidade e patogenicidade de grupos de anastomose de *Rhizoctonia*
301 associados com feijão-caupi no cariri cearense. Thesis (master's degree) – Universidade
302 Federal do Cariri. Crato, Ceará, Brazil.
- 303 Patil, H. J., & Solanki, M. K. (2016). Molecular prospecting: Advancement in diagnosis and
304 control of *Rhizoctonia solani* diseases in plants. In P. Kumar, V. K. Gupta, A. J. Tiwari,

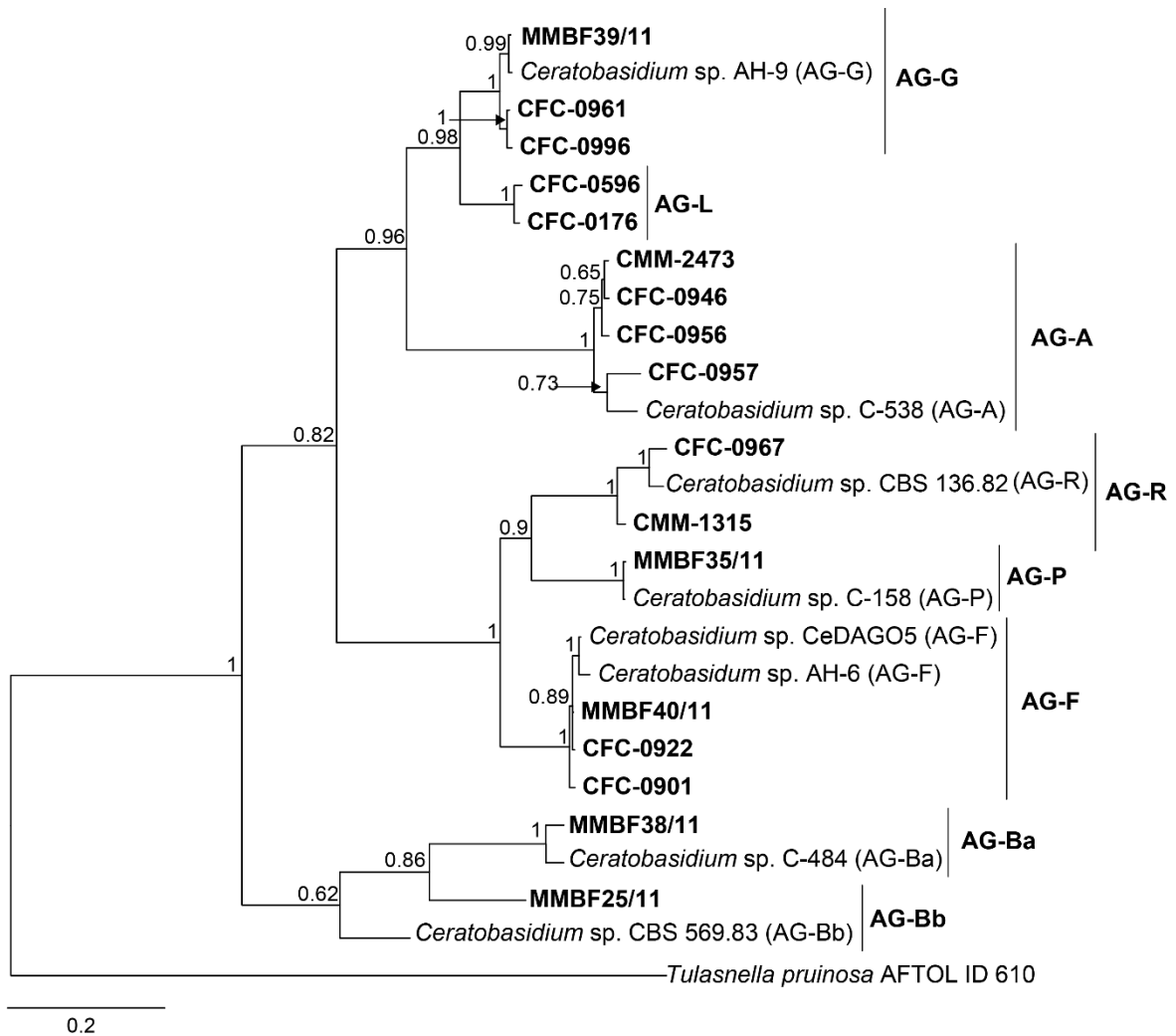
- 305 & M. Kamle (Eds.), *Current trends in plant disease diagnostics and management*
306 *practices* (pp. 165-185). Berna: Springer International.
- 307 Rambaut, A. (2014) *Figtree, a graphical viewer of phylogenetic trees*. 1.4.2 ed. Edinburgh: The
308 author, Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh.
- 309 Reeb, V., Lutzoni, F., & Roux, C. (2004). Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic
310 studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with special emphasis on the
311 lichen-forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. *Molecular Phylogenetics*
312 *and Evolution*, 32(3), 1036-1060.
- 313 Rentería-Martínez, M. E., Guerra-Camacho, M. A., Ochoa-Meza, A., Moreno-Salazar, S. F.,
314 Varela-Romero, A., Gutiérrez-Millán, L. E., & Meza-Moller, A. D. C. (2018). Multilocus
315 phylogenetic analysis of fungal complex associated with root rot watermelon in Sonora,
316 Mexico. *Mexican Journal of Phytopathology*, 36, 233-255.
- 317 Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under
318 mixed models. *Bioinformatics*, 19, 1572-1574.
- 319 Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen,
320 W. & Fungal Barcoding Consortium. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed
321 spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the*
322 *National Academy of Sciences*, 109, 6241-6246.
- 323 Staats, M., van Baarlen, P., & van Kan, J. A. (2005). Molecular phylogeny of the plant
324 pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. *Molecular Biology and*
325 *Evolution*, 22, 333-346.
- 326 Staden, R., Beal, K. F., & Bonfield, J. K. (1998). The staden package. In: S. Misener, & S. A.
327 Krawetz (Eds.), *Bioinformatics Methods and Protocols* (pp. 115-130). Totowa: Humana
328 Press.
- 329 Stalpers, J. A., & Andersen, T. F. (1996). A synopsis of the taxonomy of teleomorphs connected
330 with *Rhizoctonia* s.l. In: B. Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate, G. Dijist (Eds.), *Rhizoctonia*

- 331 *species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control* (pp. 49-
332 63). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- 333 Větrovský, T., Kolařík, M., Žifčáková, L., Zelenka, T., & Baldrian, P. (2016). The RPB2 gene
334 represents a viable alternative molecular marker for the analysis of environmental fungal
335 communities. *Molecular Ecology Resources*, 16, 388-401.
- 336 Yang, G., & Li, C. (2012). General description of *Rhizoctonia* species complex. In C. J. R.
337 Cumagun (Ed.), *Plant Pathology* (pp. 41-52). Rijeka: Intech.
- 338 Yang, S., Min, F., Wang, W., Wei, Q., Guo, M., Gao, Y., Dong, X., & Lu, D. (2017).
339 Anastomosis group and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* associated with stem canker
340 and black scurf of potato in Heilongjiang Province of China. *American Journal of Potato*
341 *Research*, 94, 95-104.
- 342 Yang, Y. G., Zhao, C., Guo, Z. J., & Wu, X. H. (2015). Characterization of a new anastomosis
343 group (AG-W) of binucleate *Rhizoctonia*, causal agent for potato stem canker. *Plant*
344 *Disease*, 99, 1757-1763.



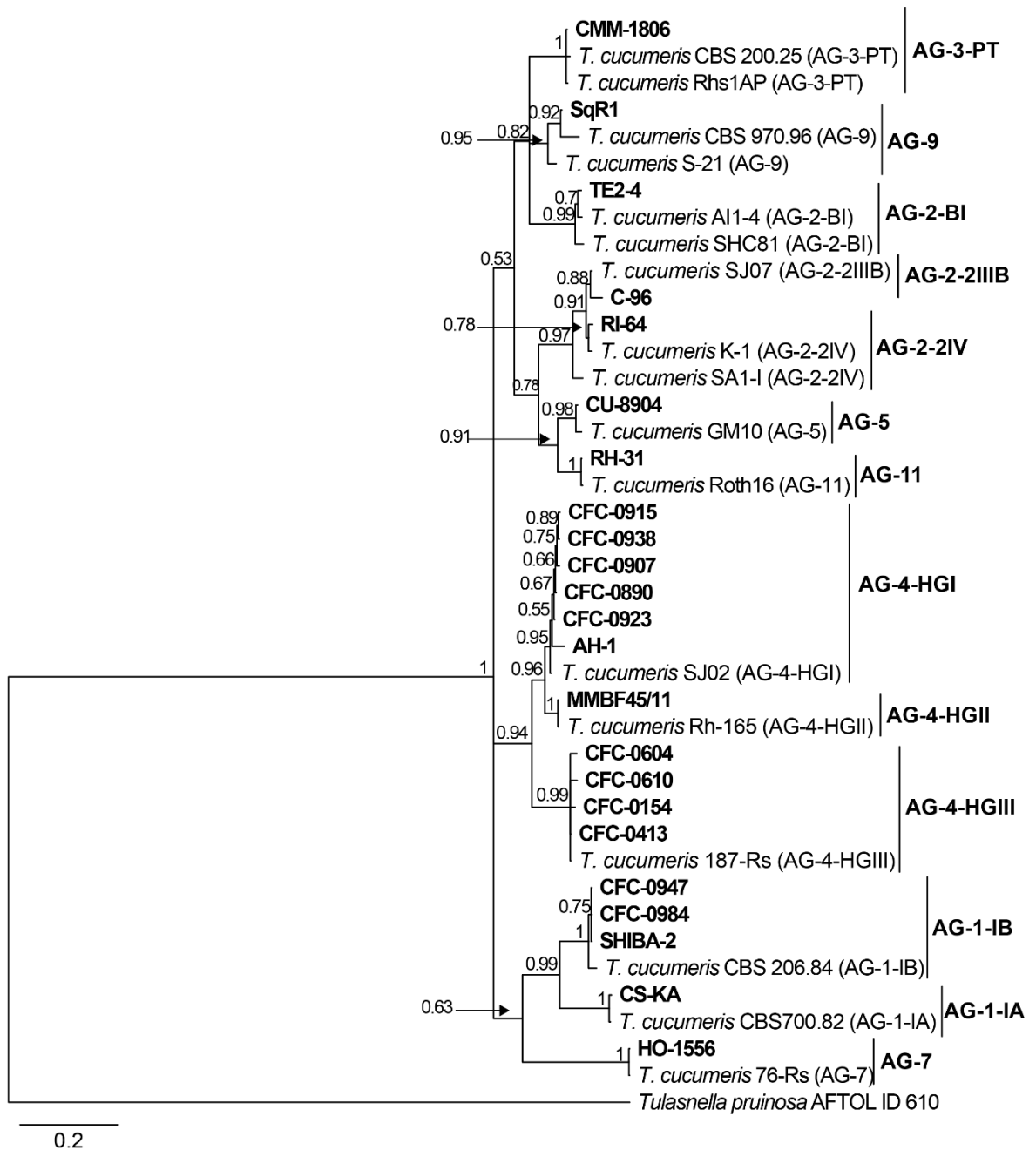
345

346 **Figure 1** Phylogenetic tree constructed by the Bayesian Inference obtained from the alignment
 347 of the sequences of the RPB2 region of the *Rhizoctonia solani* isolates. Numbers at nodes
 348 indicate posterior probabilities values. The bar represents the number of changes in the
 349 nucleotide sequence of each 100 bp. The isolates of this study are highlighted in bold.



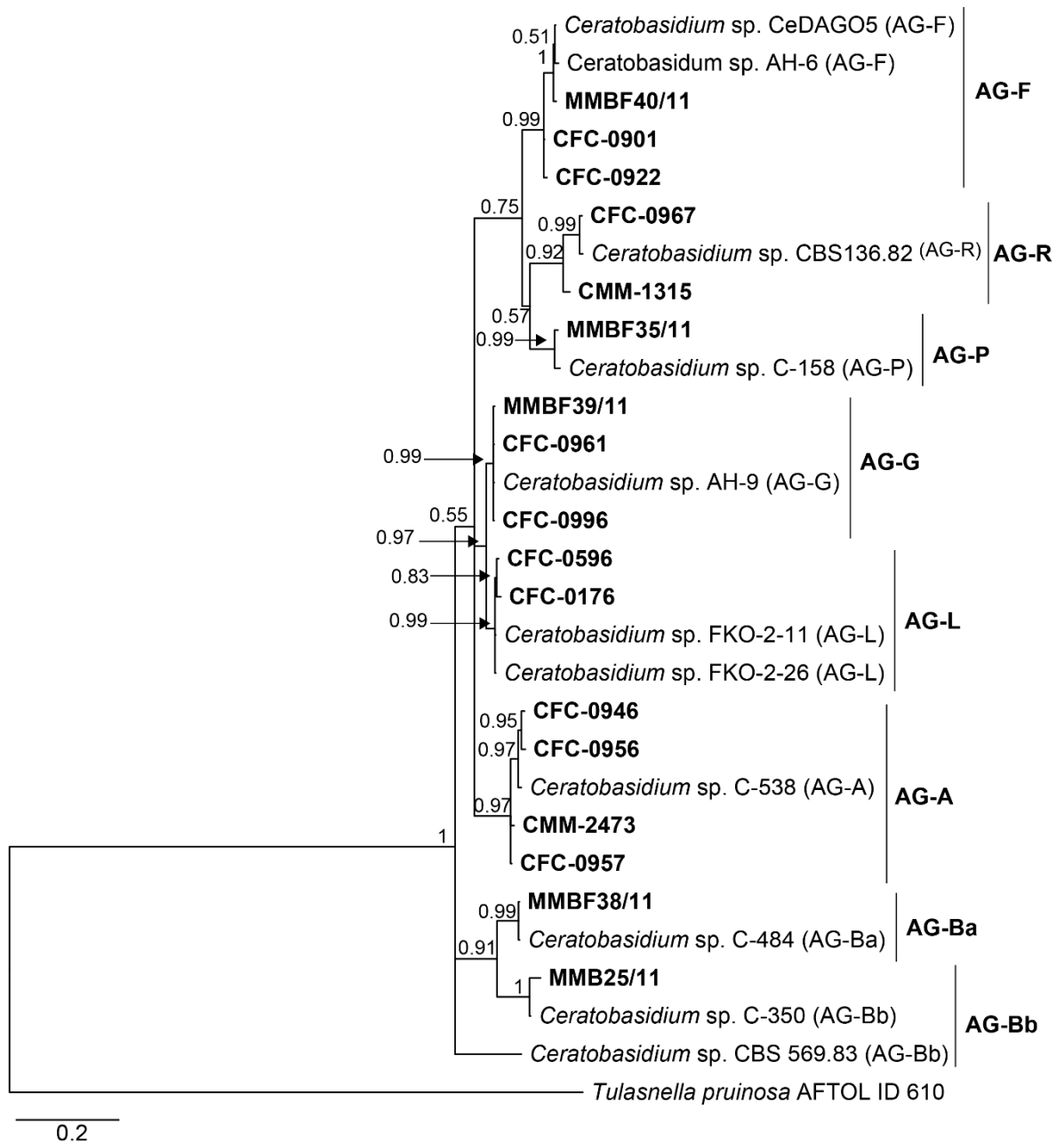
350

351 **Figure 2** Phylogenetic tree constructed by the Bayesian Inference obtained from the alignment
 352 of the sequences of the RPB2 region of the binucleate *Rhizoctonia* isolates. Numbers at nodes
 353 indicate posterior probabilities values. The bar represents the number of changes in the
 354 nucleotide sequence of each 100 bp. The isolates of this study are highlighted in bold.



355

356 **Figure 3** Phylogenetic tree constructed by the Bayesian Inference obtained from the alignment
 357 of the sequences of the ITS-rDNA region of the *Rhizoctonia solani* isolates. Numbers at nodes
 358 indicate posterior probabilities values. The bar represents the number of changes in the
 359 nucleotide sequence of each 100 bp. The isolates of this study are highlighted in bold.



360

361 **Figure 4** Phylogenetic tree constructed by the Bayesian Inference obtained from the alignment
 362 of the sequences of the ITS-rDNA region of the binucleate *Rhizoctonia* isolates. Numbers at
 363 nodes indicate posterior probabilities values. The bar represents the number of changes in the
 364 nucleotide sequence of each 100 bp. The isolates of this study are highlighted in bold.

365 **Supplementary Table 1** *Rhizoctonia* isolates used in evaluation of RPB2 gene to detect of
 366 anastomosis groups (AGs) and GenBank accession codes for the sequences obtained in this
 367 study.

Isolate code	AG ^a	Host plant or substrate	Geographic origin	GenBank accession no.	
				ITS	RPB2
CS-KA	I-IA	Rice	Japan	MT591306	under deposit
CFC-0947	I-IB	Chinese cabbage	Brazil	MT216900	under deposit
CFC-0984	I-IB	Kale	Brazil	MT216933	under deposit
SHIBA-2	I-IB	Potato	Japan	MT591307	under deposit
TE2-4	2-BI	Soil	Japan	MT591310	under deposit
C-96	2-2IIB	Mat rush	Japan	MT591308	under deposit
RI-64	2-2IV	Beet	Japan	MT591309	under deposit
CMM-1806	3-PT	Potato	Brazil	MT591311	under deposit
AH-1	4-HGI	Peanut	Japan	MT591312	under deposit
CFC-0890	4-HGI	Tomato	Brazil	MT159531	under deposit
CFC-0907	4-HGI	Tomato	Brazil	MT159545	under deposit
CFC-0915	4-HGI	Tomato	Brazil	MT159549	under deposit
CFC-0923	4-HGI	Tomato	Brazil	MT159554	under deposit
CFC-0938	4-HGI	Arugula	Brazil	MT216891	under deposit
MMBF45/11	4-HGII	Beet	United States	MT591313	under deposit
CFC-0154	4-HGIII	Cowpea	Brazil	MW148740	under deposit
CFC-0413	4-HGIII	Cowpea	Brazil	MW148746	under deposit
CFC-0604	4-HGIII	Cowpea	Brazil	MW148752	under deposit
CFC-0610	4-HGIII	Cowpea	Brazil	MW148753	under deposit
CU-8904	5	Squash	China	MT591315	under deposit
HO-1556	7	Soil	Japan	MT591316	under deposit
SqR1	9	Soil	United States	MT591317	under deposit
RH-31	11	Soybean	United States	MT591318	under deposit
CFC-0946	A	Broccoli	Brazil	MT216899	under deposit
CFC-0956	A	Arugula	Brazil	MT216907	under deposit
CFC-0957	A	Arugula	Brazil	MT216908	under deposit
CMM-2473	A	Potato	Brazil	MT591319	under deposit
MMBF38/11	Ba	Soybean	Brazil	MT591320	under deposit
MMBF25/11	Bb	Soybean	United States	MT591321	under deposit

CFC-0901	F	Tomato	Brazil	MT159541	under deposit
CFC-0922	F	Tomato	Brazil	MT159553	under deposit
MMBF40/11	F	Soybean	Brazil	MT591322	under deposit
CFC-0961	G	Broccoli	Brazil	MT216911	under deposit
CFC-0996	G	Broccoli	Brazil	MT216945	under deposit
MMBF39/11	G	Soybean	Brazil	MT591323	under deposit
CFC-0176	L	Cowpea	Brazil	MW182420	under deposit
CFC-0596	L	Cowpea	Brazil	MW182424	under deposit
MMBF35/11	P	Soybean	Brazil	MT591324	under deposit
CFC-0967	R	Chinese cabbage	Brazil	MT216917	under deposit
CMM-1315	R	Potato	Brazil	MT591325	under deposit

368

369 ^a Anastomosis group

370 **Supplementary Table 2** *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* isolates derived from
 371 GenBank included in the phylogenetic analyses

Isolate code	AG ^a	Host plant or substrate	Geographic origin	GenBank accession no.	
				ITS	RPB2
CBS 700.82	1-IA	Water hyacinth	Panama	KP171634	DQ301727
CBS 206.84	1-IB	Bean	Japan	DQ279038	DQ301747
AI1-4	2-BI	Soil	Japan	AB054874	-
SHC81	2-BI	Soil	Japan	AB054877	-
SJ07	2-IIIB	Soybean	Brazil	AY270015	DQ401755
SA1-1	2-2IV	Soybean	Japan	KP171635	DQ301734
Rhs1AP	3-PT	Potato	United States	KP171636	DQ301735
CBS 200.25	3-PT	Potato	NA	DQ278994	DQ301746
SJ02	4-HGI	Soybean	Japan	AY270003	DQ301754
Rh-165	4-HGII	Beet	United States	AB000033	DQ301737
187-Rs	4-HGIII	Peanut	United States	AY154309	DQ301738
GM10	5	Soybean	Japan	KP171637	DQ301739
76-Rs	7	Soil	Japan	AF354096	DQ301741
S-21	9	Soil	United States	KP171638	DQ301742
CBS 970.96	9	Potato	United States	DQ279005	DQ301752
Roth16	11	Soybean	United States	AF354114	-
C-538	A	Potato	Japan	DQ279052	DQ301695
C-484	Ba	Rice	Japan	AB196641	DQ301696
CBS 569.83	Bb	Orchid	Australia	DQ278942	DQ301723
C-350	Bb	Rice	Japan	AB122144	-
AH-6	F	Peanut	Japan	DQ279014	DQ301700
CeDAGO5	F	Watermelon	Mexico	KX583256	KY637074
AH-9	G	Peanut	Japan	AB196646	DQ301701
FKO-2-11	L	Soil	Japan	AB286934	-
FKO-2-26	L	Soil	Japan	AB196653	-
C-158	P	Green tea	Japan	DQ279015	DQ301705
CBS 136.82	R	Yew tree	United States	DQ278933	DQ301710

^a Anastomosis group

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

1. A rizoctoniose das brássicas e do tomateiro no Brasil é causada por isolados binucleados e multinucleados de *Rhizoctonia*.
2. AG-1-IB, AG-2-2IIIB, AG-4-HGI, AG-A, AG-G e AG-R estão associados a brássicas e AG-4-HGI e AG-F estão associados ao tomate no Brasil.
3. AG-4-HGI é o grupo de anastomose predominante, amplamente distribuído em todas as áreas de produção de brássicas e tomate.
4. Este foi o primeiro relato da ocorrência de AG-F associado ao tomate e AG-4-HGI, AG-2-2IIIB, AG-A, AG-G e AG-R associados a brássicas no Brasil.
5. Todos os isolados de tomate foram patogênicos, causando podridão em frutos, não havendo diferença significativa entre os AGs obtidos.
6. Isolados AG-A não foram patogênicos às folhas de couve destacadas. AGs dos isolados obtidos em brássicas diferiram quanto à agressividade. AG-4-HGI e AG-2-2IIIB foram significativamente mais agressivos às folhas destacadas de couve.
7. O gene RPB2 tem um grande potencial para o estudo filogenético de AGs de *Rhizoctonia*.
8. O presente estudo gerou um banco de sequências RPB2 de AGs de *Rhizoctonia* que servirá como padrão para comparação em estudos futuros.