

Artículo de investigación

Identificación Molecular de Grupos de Anastomosis de *Rhizoctonia Solani* Kühn Causante de Costra Negra de la Papa En Nariño (Colombia)

Molecular Identification of Anastomosis Groups of *Rhizoctonia Solani* Kühn Causing Potato Black Scab in Nariño (Colombia)

Claudia Milena Quiroz Ojeda ¹ ✉, Claudia Salazar González ², Sofia Aroca Romo ³ y Carlos Betancourth García ⁴

¹Ph. D. en Ciencias Agrarias. Universidad de Nariño. Investigadora y docente catedrática Universidad de Nariño.

²Ph. D. en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Investigadora y docente titular Universidad de Nariño.

³Ingeniera Agrónoma. Universidad de Nariño.

⁴Ph. D. en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Investigador y docente titular Universidad de Nariño.

Recepción: 20-mayo-2024 **Aceptado:** 25-dic-2024 **Publicado:** 20-enero-2025

Cómo citar: Quiroz, C. (2025). Identificación Molecular de Grupos de Anastomosis de *Rhizoctonia Solani* Kühn Causante de Costra Negra de la Papa En Nariño (Colombia). *Ciencia en Desarrollo* 16 (1). doi: 10.19053/uptc.01217488.v16.n1.2025.17646

Resumen

Rhizoctonia solani Kühn causante de costra negra en papa, ha aumentado su incidencia en Nariño, dificultando su manejo. El desconocimiento de los grupos de anastomosis (AG) presentes en sus poblaciones contribuyen a esta situación, pues influyen en el desempeño de las estrategias de control. Por lo tanto, se planteó evaluar la variabilidad genética de *R. solani* en Nariño, a partir de la identificación molecular de sus AG. Se analizaron 287 aislamientos procedentes de papa, de estos, 116 con PCR y cebadores ITS1-ITS4 y toda la colección, con PCR y cebadores específicos para AG-2-1, AG-3 PT y AG-4. El análisis filogenético se hizo con Máxima Verosimilitud, bootstrap de 1000 réplicas y modelo Kimura 2-parámetros. En la caracterización molecular con ITS, el 100 % de las secuencias coincidieron con *R. solani* y se identificó a AG-3 (46), AG-3 PT (69) y AG-2-1 (1). Los cebadores específicos determinaron la presencia de AG-3 PT en 281 y AG-2-1 en seis aislamientos del patógeno. *R. solani* AG-2-1 se reporta por primera vez en Nariño. El análisis filogenético agrupó los aislamientos en siete clados, independientemente de la procedencia, lo que comprueba la existencia de variabilidad genética intraespecífica en las poblaciones de *R. solani* presentes en Nariño.

Palabras Clave: *Solanum tuberosum*, Cancro del tallo, variabilidad genética, PCR, cebadores.

Abstract

Rhizoctonia solani Kühn, which causes black scab on potato, has increased its incidence in Nariño, making its management difficult. The lack of knowledge of the anastomosis groups (AG) present in its populations contributes to this situation, since they influence the performance of control strategies. Therefore, the genetic variability of *R. solani* in Nariño was evaluated by the molecular identification of their AG. A total of 287 isolates obtained of potato were analyzed, 116 of them with PCR and ITS1-ITS4 primers and the entire collection with PCR and specific primers for AG-2-1, AG-3 PT and AG-4. Phylogenetic analysis was done with Maximum Likelihood, bootstrap of 1000 replicates and Kimura 2-parameter model. In the molecular characterization with ITS, 1000 % of the sequences matched with *R. solani* and AG-3 (46), AG-3 PT (69) and AG-2-1 (1) were identified. Specific primers determined the presence of AG-3 PT in 281 and AG-2-1 in six isolates of the pathogen. *R. solani* AG-2-1 is reported for the first time in Nariño. Phylogenetic analysis grouped the isolates into seven clades, independently of local origin, demonstrating the existence of intraspecific genetic variability in the populations of *R. solani* present in Nariño.

Keywords: *Solanum tuberosum*, Stem canker, genetic variability, PCR, primers.

1. Introducción

El género *Rhizoctonia* o complejo *Rhizoctonia* como también se conoce, comprende especies habitantes del suelo, que causan enfermedades en una cantidad considerable de plantas [1]. El complejo incluye los estados asexuales de hongos pertenecientes a los Basidiomycota, que, dependiendo del número de núcleos por hifa, se han clasificado en *Rhizoctonia* uninucleada, binucleada y especies multinucleadas [2, 3], estas últimas, subdivididas en grupos de anastomosis (AG) según las condiciones dadas por su anastomosis hifal [3, 4], que las hacen divergir en características culturales, morfológicas, fisiológicas y patogénicas [5].

Si bien la anastomosis hifal ha sido ampliamente utilizada para identificar los AG, esta no ha sido suficiente para determinar en algunos casos, los AG por sí mismos y sus subgrupos, por lo que, en la actualidad, los enfoques de clasificación basados en técnicas moleculares, especialmente el análisis del espacio interno transcrito (ITS), PCR [1], análisis de los fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLPs), ADN polimórfico amplificado al azar (RAPDs), inter secuencias simples repetidas (ISSR) y la secuenciación directa de secuencias altamente variables como las de los genes *tef-1 α* , β -tubulina y β -actina, están siendo utilizadas para identificar eficientemente las especies de *Rhizoctonia*, sus AG y los subgrupos [1, 5], de la misma manera, los caracteres moleculares también son usados para determinar la variación genética entre las especies de *Rhizoctonia* y los AG [6, 7].

La determinación de los AG y subgrupos al interior de las especies de *Rhizoctonia* es un aspecto importante a tener en cuenta cuando se estudia este complejo, ya que, según Foley *et al.* [8], esta característica es la que les confiere variabilidad genética y se ve reflejada en la preferencia de hospedante, morfología, patogenicidad, virulencia, entre otras características. Además, permite ampliar el entendimiento sobre la interacción hospedante-patógeno y el rol ecológico de *Rhizoctonia* spp. [7].

Del complejo *Rhizoctonia*, *R. solani* es la especie más conocida y estudiada [6, 9] y es el estado asexual de la especie *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk., caracterizada por tener tres o más núcleos por célula e hifas largas, aspectos que la diferencian de las otras especies de este género [6]. Por otra parte, también se ha reportado que al interior de *R. solani* existe variabilidad en cuanto a características patogénicas, morfología del esclerocio y patrón cultural, debido a la presencia de varios grupos intraespecíficos o grupos de anastomosis [5].

La anastomosis hifal, que se da cuando las hifas vegetativas de aislamientos pertenecientes a un mismo AG se fusionan y permite al hongo mantener una comunicación bidireccional para el intercambio de iones, hormonas y nucleótidos [9], no solo ha servido como el criterio más importante para delimitar los aislamientos reconocidos como miembros de la especie [10, 11], sino que, también ha revelado que *R. solani* está conformada por poblaciones, representadas en este caso por los AG, que no se entrecruzan o que están genéticamente aisladas, situación que impide el intercambio genético [9, 12].

El agrupamiento de los aislamientos de *R. solani* en función

de la anastomosis hifal ha permitido determinar 14 AG [10, 13] clasificados como AG-1 a AG-13, más el AG-BI, este último con aislamientos que pueden hacer anastomosis entre ellos mismos y con los de otros grupos [11, 13]. [7, 12] Los AG, a su vez, tienen subgrupos con morfología y rango de hospedantes distintivos, además, de diferir en patología, requerimientos de tiamina y grado de anastomosis [7, 10]. Al respecto, Cubeta & Vilgalys [14] sugieren que la diversidad genética de los AG y sus subgrupos, que es lo que permite que haya diferenciación en las características, se debe a que los grupos evolucionaron independientemente al interior de *R. solani*.

La relación patogénica de *R. solani* con las plantas ha sido establecida por diferentes autores y como patógeno habitante natural del suelo es altamente destructivo sobre un amplio número de cultivos de importancia económica en todo el mundo, relacionado principalmente con las partes subterráneas de las plantas [5, 9, 15, 16]. En el caso de plantas de uso agrícola, varios de los AG se han asociado a estas, por ejemplo, AG-2-1 en canola, guisante y trigo; AG-2-2 en soya, AG-4 en trigo y AG-5 en soya y trigo [17]. Grupos AG-3 PT, AG-2-1, AG-2-2, AG-5 se determinaron en tomate [18], mientras que, AG-1 IA y AG-1 IB, en calabaza y alfalfa, respectivamente [19]. AG-4 HG-I se encontró en espinaca, maní, soya y remolacha [19]; AG-1 IB se identificó en zanahoria [20] y AG-3 PT en papa [21].

Particularmente en papa (*Solanum tuberosum* L.), *R. solani* causa la costra negra o cancro del tallo, considerada por Betancourth *et al.* [22], como una afección multisintomática que puede presentarse en cualquier etapa fisiológica del cultivo. En esta especie, se ha identificado que los aislamientos de *R. solani* responsables de causar afectaciones, generalmente son los miembros del grupo de anastomosis 3 (AG-3) [23, 24]. Sin embargo, varios autores han aislado otros AG de diferentes partes de la planta (tallos, estolones, raíces, esclerocios en tubérculos) o de suelos donde recientemente se cultivó papa [25], entre estos: AG-4 [26, 27], AG-1 y AG-9 [23, 28]; [29], AG-5 [27], AG-2-1 [30]; [31, 32], AG-4 HG-I [33]; AG-3 PT, AG-5 y AG-4 HGI [21, 34] y AG-2-2 IIIB [33, 35].

En Colombia, el cultivo de la papa representa un renglón importante en la economía del país, y debido a esto, es que la costra negra y cancro del tallo han ganado relevancia, ya que, de no manejarse pueden generar pérdidas económicas al agricultor, como lo han registrado Carling *et al.* [25], quienes precisaron que la enfermedad puede disminuir los rendimientos totales del cultivo entre 19.2 % y 35.1 %, además de causar retraso en la emergencia de las plantas del 23.9 % y lesiones en los tallos subterráneos superior al 90 %. De la misma forma, Alban [36] indicó que, en zonas productoras de papa, en este caso de Ecuador, la *rizoctoniasis* redujo el número de plantas por hectárea, disminuyó la cantidad de tubérculos y causó la muerte del 70 % de plantas. Asimismo, autores como Carling *et al.* [25]; ICA [37] y Betancourth *et al.* [22] describen que, en ataques severos *R. solani* induce la formación de tubérculos aéreos, produce deformación de tubérculos y forma costras sobre la superficie de los tubérculos que afectan la cantidad y calidad de estos, y disminuye los rendimientos totales del cultivo.

Con el fin de establecer con exactitud la etiología de la costra negra de la papa o cancro del tallo y especialmente, determinar de forma precisa los AG que están presentes en la población de *R. solani*, en Colombia, varios estudios se han direccionado al respecto, como son los de Chavarro [38], Ferrucho *et al.* [39] y Chavarro-Mesa *et al.* [40], puesto que, la amplia variabilidad genética que exhibe este patógeno y que está representada en sus AG, ha conducido a que se considere las anteriores enfermedades como de difícil manejo, debido entre otros, a la falta de efectividad de las medidas de control que se aplican, porque los AG hacen que el patógeno las supere sin lograr su disminución y los efectos de las enfermedades en los cultivos donde estas se presentan [41, 42]. Al respecto, Ariza *et al.* [43], Chavarro [38], Ferrucho [44] y más recientemente Chavarro *et al.* [40], han adelantado estudios de variabilidad genética basada en la determinación de AG en poblaciones de *R. solani* procedentes de diferentes departamentos de Colombia, incluido Nariño.

Para la identificación molecular y evaluación de la variabilidad genética de *R. solani*, Ariza *et al.* [43] usó PCR para el análisis de la región ITS del ADN_r, junto con los marcadores ITS1, ITS2, ITS3 e ITS4, más el gen 5.8S y marcadores moleculares RAPD, respectivamente. Las pruebas determinaron la concordancia de los aislamientos evaluados con *R. solani*, así como, la existencia de alta variabilidad genética entre ellos, que confiere más polimorfismo entre los aislamientos procedentes de Cundinamarca, en comparación con el grupo correspondiente a Nariño.

Aunque la costra negra y el cancro del tallo son enfermedades de distribución mundial, la etiología de estas enfermedades en una localidad dada es variable y depende de los AG de *R. solani* predominantes [42]. De ahí la importancia de determinar la distribución de estos en las zonas donde se cultiva papa. Sobre esto, Ferrucho *et al.* [42], luego de hacer un muestreo de *R. solani* procedente de diferentes departamentos de Colombia y de caracterizar los aislamientos con PCR para el análisis del ITS del ADN_r, además de PCR con cebadores específicos para AG-3 PT, determinaron que *R. solani* AG-3 PT es el principal agente causal del cancro del tallo y la sarna negra de la papa, como también se nombra la enfermedad en Colombia.

Si bien, Nariño se ha incluido en algunos de los estudios realizados, las muestras no han sido lo suficientemente representativas para determinar todas las poblaciones presentes en el departamento, por lo que, en la actualidad, se desconoce la diversidad genética de las poblaciones de *R. solani*. Por consiguiente, esta investigación tuvo como objetivo identificar por medio de herramientas moleculares los AG de *R. solani* presentes en aislamientos de Túquerres, Pasto, Ospina e Ipiales, cuatro de los municipios que mayormente aportan a la producción de papa en Nariño, así mismo, determinar la variabilidad genética entre los aislamientos para generar información de base que conduzca a la formulación focalizada de un plan de manejo de la costra negra en la región.

2. Materiales y métodos

El estudio se efectuó en el laboratorio de biología molecular del grupo de investigación de Sanidad Vegetal GRISAV, de la Universidad de Nariño, ubicada en el municipio de Pasto (N), Colombia. Para la evaluación se utilizaron 287 aislamientos de *R. solani* pertenecientes a la colección de trabajo del grupo de investigación de Sanidad Vegetal GRISAV, que se obtuvieron de regiones productoras de papa de las localidades de Túquerres, Pasto, Ipiales y Ospina.

Multiplicación de los aislamientos. Cultivos monohifales fueron multiplicados en PDA (Papa Dextrosa Agar) enmendado con Rifampicina 1 ml. por litro, a partir de puntas de hifa de cada aislamiento, que se incubaron por 10 días a 25 °C [45].

Extracción de ADN. La extracción de ADN de cada aislamiento se hizo utilizando el método de Griffith y Shawn [46] modificado, donde el micelio de cada cultivo fue desprendido del medio de cultivo, se transfirió a tubo eppendorf y se congeló a menos 3 °C; posteriormente se maceró y a cada muestra se le agregó 800 µl. del buffer CTAB (NaCl 3 M, EDTA pH 8,0 0.5 M, Tris HCl pH 8.0 1M, CTAB 2 %), se homogenizó, se realizó vortex durante 10 segundos y se incubó en baño maría durante una hora a 65 °C, mezclando por inversión cada 10 minutos. Pasado el periodo de incubación, a cada tubo se le agregaron 600 µl. de cloroformo, se mezcló por inversión y se centrifugó a 13,000 rpm por 10 minutos. Después de centrifugar se extrajo el sobrenadante, aproximadamente 600 µl., se trasvasó a un tubo eppendorf nuevo, se agregaron 360 µl., 0.6 volúmenes de isopropanol, nuevamente se mezcló por inversión hasta la formación de la madeja de ADN, se dejó reposar en posición vertical durante cinco minutos, seguidamente se centrifugó a 13,000 rpm durante 10 minutos, se eliminó el sobrenadante del precipitado y se agregó 1 ml. de etanol al 70 % frío (-20 °C). A continuación, se centrifugó a 12,000 rpm por 10 minutos, se retiró el etanol, se adicionó 1 ml. de alcohol absoluto frío (-20°C), se centrifugó a 12,000 rpm por 8 minutos y se eliminó el alcohol, quedando al fondo del tubo el precipitado y se dejó secar a 37 °C durante 30 minutos para eliminar las trazas de alcohol. El ADN se suspendió en 50 µl. de agua miliQ y se verificó la concentración y calidad de cada muestra en espectrofotómetro. A partir de la concentración inicial de ADN, por medio de la fórmula de balance de masas, se prepararon alícuotas de 100 ng/µl. para adelantar las PCR.

PCR para amplificar la región ITS del ADN_r. Del total de la colección, una muestra de 116 de sus ADN_s (70 procedentes de aislamientos de Túquerres y 46 originarios de Pasto) fueron caracterizados por medio de PCR para la amplificación de la región rDNA-ITS, usando los cebadores ITS1-F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTATTGATATGC-3') que amplifican a 700 pb, lo correspondiente a *R. solani* [33, 47, 48]. Para la PCR se prepararon 25 µl. de reacción final, cada reacción de PCR estuvo compuesta por 3.0 µl. de ADN, 12.5 µl. de buffer (Quick-Load master mix: OneTaq DNA Polimerasa, dNTPs, MgCl₂, componentes tampón y estabilizadores, dos colorantes de seguimiento para geles de ADN, de BioLabs), 1 µl. de BSA (Albúmina de Suero Bovino de BioLabs), 1 µl. de cada

cebador y 6.5 μ l. de agua miliQ. En cuanto a las condiciones de amplificación, se siguió las reportadas por Chavarro [38] para *R. solani*: desnaturalización inicial a 94 °C por 120 s, desnaturalización a 94 °C por 60 s, hibridación a 57 °C por 60 s, elongación a 72 °C por 60 s, elongamiento final (después de 30 ciclos) a 72 °C por 600 s. Una vez realizada la PCR, los productos de amplificación fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 1 % y corridos en Tris-Borato-EDTA (TBE) a 0.5X, a 80 V por 60 min. El gel de agarosa se preparó con 0.5 g. de agarosa en 50 ml. de TBE y como intercalante se utilizó el colorante de ADN Midori Green Advance de Nippon Genetics y marcador de peso molecular de 100 pb DNA Ladder fue utilizado para determinar el tamaño de los fragmentos amplificados, aplicándose en el pozo inicial una mezcla de 1 μ l. del marcador y 1 μ l. del buffer de carga, y en el resto de los pozos, 4 μ l. del producto de PCR. La amplificación se verificó con un transiluminador de luz ultravioleta, donde se observó la presencia de fragmentos de 700 pb.

Secuenciación. Posterior a la amplificación, los productos de PCR fueron enviados a MACROGEN Corea para ser secuenciados mediante el método de Sanger. Las secuencias, una vez recibidas, fueron identificadas a nivel de especie, usando el programa BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) del NCBI (National Center for Biotechnology Information), en el que, por complementariedad de secuencias con las consignadas en la base de datos del GenBank, se extrajo el nombre del microorganismo, porcentaje de identidad y el código de la accesión de referencia.

PCR para la amplificación de grupos de anastomosis específicos de *R. solani* en papa. La identificación específica de los AG de *R. solani* que afectan a *Solanum tuberosum*, se hizo a todos los aislamientos objeto de evaluación, teniendo en cuenta los AG más comúnmente asociados a costra negra y cancro del tallo, por lo que se utilizaron cebadores específicos para los grupos AG-2-1, AG-3 PT y AG-4. Las características de los cebadores y las condiciones de amplificación se describen en la tabla 1. Para la reacción final de PCR, en cada caso, se prepararon de 25 μ l. de reacción, que estuvo compuesta por 3.0 μ l. de ADN, 12.5 μ l. de buffer (Quick-Load master mix: OneTaq DNA Polimerasa, dNTPs, MgCl₂, componentes tampón y estabilizadores, dos colorantes de seguimiento para geles de ADN, de BioLabs), 1 μ l. de cada marcador y 7.5 μ l. de agua miliQ. Posteriormente, los productos de amplificación fueron separados por electroforesis, bajo las mismas condiciones utilizadas para los productos de PCR con ITS.

Análisis filogenético de la población de *R. solani*. El análisis se hizo en concreto para los aislamientos amplificados con ITS. Para esto, inicialmente, las secuencias se editaron con el software Sequencher 5.4.6. y se alinearon con el programa MEGA-X (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) por ClustalW. En el alineamiento se incluyó un control positivo (secuencia correspondiente a *R. solani* AG-3 PT/ KX631247.1) y un grupo externo (secuencia correspondiente a *R. zeae* MF737106.1) [38, 49]. Con el resultado del alineamiento se efectuó el análisis filogenético en el programa MEGA-X, bajo el modelo de inferencia filogenética Máxima Verosimilitud, el test de filogenia Bootstrap con 1,000 replicaciones y el modelo Kimura 2-parámetros [50].

3. Resultados y discusión

Extracción de ADN. El método de extracción permitió obtener concentraciones considerables de ADN de 287 aislamientos de *R. solani*, que fluctuaron entre 1,000 y 6,000 ng/ μ l. Además, de buena calidad, porque, en la relación de absorbancias A260/280 y A260/230, que evalúan la pureza de las muestras por espectrofotometría, los valores estuvieron entre 1.8-2.1 y 1.7-2.2 respectivamente, lo que se considera un ADN de pureza óptima [51, 52]. Resultados similares fueron reportados por Huanca *et al.* [53], quienes al extraer ADN de hongos filamentosos habitantes del suelo utilizando buffer CTAB e isopropanol, obtuvieron ADN con valores de 1.9 para la relación de absorbancia A260/280 y 1.7 para la A260/230, considerado de buena calidad y que posteriormente fue utilizado para análisis de PCR, similar a lo realizado en esta investigación.

Amplificación por PCR de la región ITS del ADNr. La PCR para la amplificación de la región ITS del ADNr, con los cebadores universales ITS1-F e ITS4 permitió establecer la identidad de los 116 aislamientos y su correspondencia con *R. solani*, al amplificar a 700 pb (figura 1), que es lo reportado por diferentes autores para este patógeno, entre estos Muzhinji *et al.* [33].

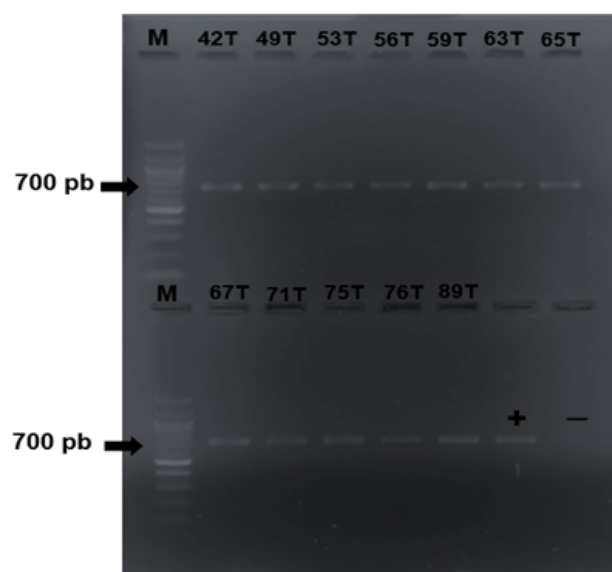


Figura 1: Amplificación de banda a 700 pb con los cebadores ITS1-F/ITS4, correspondiente a *R. solani*, en gel de agarosa al 1 % en TBE 0.5X. Marcador de peso molecular 100 pb ADN ladder, Thermo scientific®. (M).

Al respecto, las técnicas de biología molecular basada en el análisis del espacio interno transcripto ITS del rADN, junto con la secuenciación de genes por PCR, entre otras, se han convertido en herramientas certeras de diagnóstico de hongos fitopatógenos. Según Lakshman *et al.* [54], el estudio de las regiones ITS (ITS1 e ITS2) permite la caracterización molecular de los hongos a nivel de especie, por lo que su análisis es un método efectivo para determinar el parentesco genético de *R. solani* y la identificación de los AG y sus

Tabla 1: Cebadores para la amplificación de AGs de *R. solani* asociados a *Solanum tuberosum* L

GA Nombre Cebador	Secuencia del primer	Tamaño del producto	Condiciones de amplificación	Referencia
AG-2-1 Forward Reverse	5'-CAAAGGCAAT(A/G)GGTTATTGGAC-3' 5'-CCTGATTGAGATCAGATCATAAAG-3'	480	Desnaturalización a 94 °C por 120 s. 30 ciclos a 94 °C por 40 s. Alineamiento a 60 °C por 60 s. Extensión a 72 °C por 60 s. Extensión final a 72 °C por 300 s.	Carling <i>et al.</i> (2002).
AG-3 PT Rs1F2 AG3PR2	5'-TTGGTTGTAGCTGGTCTATT- 3' 5'-ACACTGAGATCCAGCTAATA- 3'	474	Desnaturalización a 95 °C por 120 s. 35 ciclos a 95 °C por 45 s. Alineamiento a 65 °C por 60 s. Extensión a 72 °C por 90 s. Extensión final de 72 °C por 300 s.	Lees <i>et al.</i> (2002) Woodhall <i>et al.</i> (2007)
AG-4 RsAG4F1 RsAG4R1	5'-TCCTTGGAGCATGCCTGTTT-3' 5'-TACCTTGGCCACCCCTTTT-3'	214	Desnaturalización a 95 °C por 120 s. 35 ciclos a 95 °C por 45 s. Alineamiento a 68 °C por 60 s. Extensión a 72 °C por 90 s. Extensión final de 72 °C por 300 s.	Fernández (2011).

subgrupos.

En estudios similares, Takooree *et al.* [55], Murdock *et al.* [56] e Inokuti *et al.* [34], también utilizaron la amplificación del espacio interno transcripto ITS del rADN para la identificación de aislamientos de *R. solani* y sus AG, procedentes de papa. Así mismo, los marcadores universales ITS1-F e ITS4, que amplifican a 700 pb para *R. solani* fueron utilizados por Tjimune *et al.* [57] y Al-Abedy *et al.* [58], para comprobar molecularmente la identidad de aislamientos que por sus características morfológicas se identificaban con *R. solani*, confirmando su pertenencia a esta especie.

Secuenciación. Los resultados de la secuenciación para la región ITS del ADN_r, corroboraron la identidad de *R. solani* en todos los aislamientos evaluados. Encontrándose porcentajes de similitud entre 98.08 % y 100 %. La homología de secuencias también determinó la presencia de los grupos de anastomosis AG-3, AG-3 PT y AG-2-1 en la población (tabla 2).

Tabla 2: Identificación de 116 aislamientos de *R. solani* procedentes de las localidades de Túquerres y Pasto (Nariño), por secuenciación con marcadores ITS (Espacio Interno Transcripto), número de accesión y porcentaje de similitud (según GenBank).*

N°	Aislamiento	ITS	Accesión (%)
1	Rh20T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631333.1 (99.53)
2	Rh36T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	MT523021.1 (100)
3	Rh42T	<i>R. solani</i> AG-3	MN258594.1 (100)
4	Rh48T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631277.1 (100)
5	Rh49T	<i>R. solani</i> AG-3	MN258600.1 (99.84)
6	Rh52T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631247.1 (99.84)
7	Rh53T	<i>R. solani</i> AG-3	KT583290.1 (99.84)
8	Rh54T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631236.1 (99.84)
9	Rh55T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234140.1 (99.69)
10	Rh56T	<i>R. solani</i> AG-3	KF234144.1 (100)

*La tabla completa se presenta como anexo.

Se destaca la identificación del grupo de anastomosis AG-2-1 en estas secuencias, puesto que, para el departamento de Nariño, es el primer reporte de la presencia de este AG en poblaciones de *R. solani* procedente de papa. De los aislamientos caracterizados, *R. solani* AG-3 correspondió al 39.6 % de estos (30 de Túquerres y 16 de Pasto), *R. solani* AG-3 PT al 59.4 % de los aislamientos (39 y 30, de Túquerres y Pasto, respectivamente) y *R. solani* AG-2-1 (secuencia de referencia en GenBank MW462187.1) que se identificó en un aislamiento, el 322T oriundo de Túquerres, correspondió al 1 %.

Entre los grupos de anastomosis de *R. solani* que causan afectaciones en papa, están, AG-1 IA, AG-2-1, AG-3, AG-3 PT, AG-4, AG-5, AG-7, AG-9 [23]; [26]; [3]; [27]; [30]; [29]. Y como resultado de la interacción hospedante-patógeno, estos AG causan síntomas como, costra negra, cancro del tallo y estolón, mal del talluelo, pudrición de raíces y debilitamiento de la planta [42]; [3]; [28]; [59].

De los AG relacionados con la papa, *R. solani* AG-3 y su subgrupo AG-3 PT, es el que se identifica mayormente en las poblaciones de *R. solani* que habitan suelos donde se cultiva papa. Al respecto, *R. solani* AG-3 es un habitante común del ecosistema edáfico y tiene distribución mundial. Es también, un patógeno de importancia económica que afecta la mayoría de cultivos de plantas de la familia *Solanaceae*, donde se incluye a la papa. AG-3 PT (The potato type) es un subgrupo del AG-3 y es el principal agente causal del cancro del tallo y estolón, así como, de la costra negra de la papa a nivel mundial [60]. Se reportan casos de AG-3 PT afectando a papa en Namibia [57], isla Mauricio [55], Irán [61], Mongolia [62], China [21] entre otros.

Por otra parte, *R. solani* AG-2-1 también se determina con regularidad en aislamientos procedentes de papa, aunque con menos frecuencia y menor porcentaje que al AG-3. Al respecto, en Mérida (Venezuela), en la evaluación de una

colección de aislamientos con morfología similar al complejo *Rhizoctonia*, obtenidos de diferentes tejidos de la papa y especialmente de esclerocios formados sobre la superficie de los tubérculos, se identificó 173 aislamientos pertenecientes a *R. solani*, determinándose al interior de esta población la presencia de AG-3 y AG-2-1, donde el de mayor proporción fue el grupo AG-3 [30], resultados similares a los encontrados en esta investigación.

En Colombia, específicamente en la zona productora de papa de Nariño, un departamento reconocido por su aporte considerable a la producción nacional de este cultivo, es la primera vez que se identifica a *R. solani* AG-2-1 en los muestreos efectuados para este patógeno, por lo que se considera un aporte importante al conocimiento del estado de las poblaciones de *R. solani* en el contexto regional y nacional, en miras de desarrollar planes de manejo de la costra negra y cancro del tallo más acordes al nivel de virulencia del grupo de anastomosis que esté presente en las localidades productoras, por lo que, el diagnóstico certero de los AG es una herramienta primordial para lograr este propósito.

Tjimeune *et al.* [57] y Murdock *et al.* [56], quienes identificaron por medio de la secuenciación del espacio interno transcrita (ITS) del rADN a *R. solani* AG-3 PT y *R. solani* AG-2-1 en aislamientos de este patógeno procedentes de papa (*S. tuberosum*) y más recientemente, con los resultados de obtenidos en este estudio, se ha comprobado la relación directa de AG-3 PT y AG-2-1 con la enfermedad denominada como cancro del tallo o costra negra.

La identidad de 41 aislamientos de *R. solani* procedente de cultivos de papa de Boyacá, Antioquia y Cundinamarca, departamentos de Colombia, también se efectuó por medio de caracterización molecular al amplificar por PCR la región ITS B del rADN, determinándose la correspondencia de los aislamientos con este patógeno y la presencia de los grupos de anastomosis AG-3 y AG-2-1, este último en menor proporción [38]. Lo que comprueba que estos AG son los más recurrentes en la evaluación de las poblaciones de *R. solani* presentes en los departamentos productores de papa, incluido Nariño, como lo verifica esta investigación.

Por otra parte, Misawa *et al.* [63] también utilizaron ITS1 e ITS4 para la caracterización molecular de *R. solani* AG-2-1, corroborando la identidad de los aislamientos con este grupo. Marcadores que también fueron utilizados en análisis molecular de las poblaciones *R. solani* presentes en las localidades de Pasto y Túquerres, departamento de Nariño (Colombia), obteniéndose igualdad en los resultados.

El análisis del ITS del rADN para caracterizar molecularmente aislamientos de *R. solani* procedentes de papa y determinar sus AG, también ha sido utilizado por Takooree *et al.* [55], Esfahani [61], Kotba *et al.* [64], Inokuti *et al.* [34] y Abdel-Sattar *et al.* [65], quienes confirmaron en cada caso, la identidad de los aislamientos con este patógeno y su relación con el AG-3, AG-3 PT, AG-4, AG-2-1, AG-1HGI.

PCR para la amplificación de grupos de anastomosis específicos de *R. solani* en papa. La PCR con cebadores específicos para los grupos de anastomosis AG-2-1, AG-3 PT y AG-4, identificó únicamente a AG-2-1 y AG-3 PT en la población de

R. solani analizada (figura 2). *R. solani* AG-3 PT se presentó en el 98.3 % de los aislamientos, que correspondió a 281 de ellos. *R. solani* AG-2-1 se determinó únicamente en el 1.7 % de los aislamientos, los seis restantes del total evaluado, sin embargo, independientemente de su baja presencia en la población, su identificación es importante puesto que, se corrobora los resultados encontrados en la caracterización con ITS, que este grupo de anastomosis hace parte de los AG de *R. solani* que afectan a los cultivos de papa en Nariño. *R. solani* AG-3 PT se identificó en Túquerres, Pasto, Ospina e Ipiales en 77, 94, 52 y 58 aislamientos, respectivamente. AG-2-1 se encontró en dos aislamientos de Túquerres (321T y 322T), dos de Pasto (404P y 405P) y dos de Ospina (386Os y 488Os). En la localidad de Ipiales no se encontró este AG.

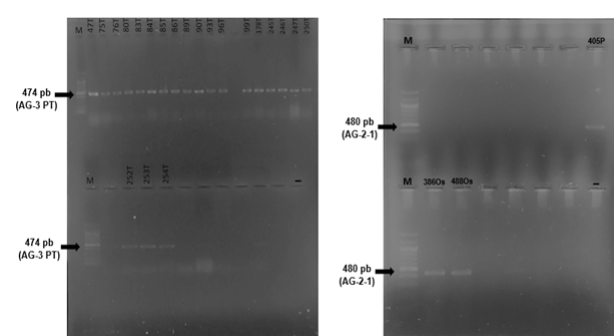


Figura 2: Amplificación de banda de *R. solani* AG-3 PT a 474 pb y *R. solani* AG-2-1 a 480 pb, procedentes de papa (*S. tuberosum*), en gel de agarosa al 1 % en TBE 0.5X. Marcador de peso molecular 100pb ADN ladder, Thermo scientific®.

Los marcadores específicos para PCR dirigidos a regiones del rADN-ITS o regiones espaciadoras intergénicas, se han convertido en un instrumento importante para la identificación de las especies de *Rhizoctonia*, entre estas *Thanatephorus cucumeris*, sus AG y los subgrupos y, por lo tanto, para el diagnóstico certero de las enfermedades causadas por este patógeno [66, 67].

Marcadores moleculares para determinados AG fueron utilizados por Chavarro-Mesa *et al.* [40] para caracterizar aislamientos de *R. solani* procedente de zonas productoras de papa de Antioquia, Boyacá y Cundinamarca, lo que permitió identificar a los grupos AG-3 PT y AG-2-1, este último en menor proporción, similar a los resultados encontrados en esta investigación y a los de Ferrucho *et al.* [42].

Iradukunda *et al.* [68], diseñaron marcadores específicos para la detección del grupo de anastomosis AG-3 PT en aislamientos de *R. solani* obtenidos de tubérculos semilla de papa y suelo, aplicando para la amplificación Múltiple PCR. Los marcadores utilizados fueron muy sensibles en el momento de identificar a *R. solani* AG-3 PT en los aislamientos y en pequeñas concentraciones de ADN, con lo que demostraron la alta sensibilidad y especificidad de estos.

En referencia a *R. solani* AG-2-1, Carling *et al.* [69] reportó un par de marcadores distintivos para la detección de este AG, en su estudio para diferenciar los subgrupos del grupo de anastomosis AG-2, que para este caso amplifican fragmentos

de 480 pb. Estos mismos marcadores fueron utilizados por Misawa & Kurose [19] al evaluar una colección de aislamientos de *R. solani* procedentes de diferentes cultivos, en la que efectivamente se identificó a *R. solani* AG-2-1. El AG-2-1 determinado en los aislamientos de *R. solani* originarios de las localidades de Túquerres, Pasto y Ospina, también fue identificado con el uso de dichos marcadores.

La identidad de aislamientos de *R. solani* asociados a cancro del tallo y costra negra, inicialmente caracterizados por la secuenciación de la región ITS del rADN, fue confirmada por el uso de marcadores específicos (Rs1F2/AG-3PR2) para el grupo de anastomosis AG-3 PT, mediante amplificación por PCR, obteniéndose fragmentos de 474 pb [61]. Estos marcadores también permitieron identificar la identidad de los aislamientos evaluados en esta investigación.

Análisis filogenético de la población de *R. solani*. La reconstrucción filogenética de los 116 aislamientos de *R. solani* caracterizados con marcadores ITS, mostró variabilidad genética entre ellos, independientemente de la localidad de origen de los mismos. Como resultado de esto, y teniendo en cuenta las raíces principales, se obtuvieron agrupamientos de secuencias similares u homólogas principalmente en siete cladogramas que incluyeron todos los aislamientos (figura 3). Los cladogramas enumerados de I al VI incorporaron tanto a *R. solani* AG-3, como a *R. solani* AG-3 PT, procedentes de Túquerres y Pasto. *R. solani* AG-2-1 conformó un solo cladograma, el VII, correspondiente al aislamiento 322T oriundo de la localidad de Túquerres. La secuencia utilizada como control interno, *R. solani* AG-3 PT (accesión KX631247.1) se agrupó junto con los aislamientos objeto de estudio, en este caso, en el cladograma III. Y la secuencia identificada como *Rhizoctonia zeae* (accesión MF737106.1) utilizada como grupo externo, se configuró como un único clado (figura 3).

La distribución de los aislamientos de *R. solani* en cada uno de los clados se puede observar en la tabla 3. Al respecto, el clado cinco, es el que agrupó la mayor cantidad de los aislamientos, 35 en total, tanto de Túquerres como de Pasto, con mayor presencia de los pertenecientes a este último y siendo el AG-3 PT el grupo predominante. A este, le siguieron los clados I y III, con la diferencia que en el clado I, hubo mayor frecuencia del grupo de anastomosis AG-3, en cambio, en el clado III, se presentó en mayor cantidad el AG-3 PT. Los agrupamientos son sinónimo de uniformidad genética, de ahí, que se puede inferir que, en aquellos clados con mayor número de aislamientos, la variabilidad genética entre estos es menor y por lo tanto están más relacionados. Contrario a lo que sucede en el clado VI, que únicamente agrupó a ocho aislamientos, lo que indica que, si bien hay similitud genética al interior del clado, hay mayor variabilidad genética al compararse estos con la población en general.

En estudios similares, el análisis filogenético de la región ITS del rADN de 131 aislamientos de *Rhizoctonia sp.* obtenidos de papa, determinó variabilidad genética intraespecífica en esta población, identificándose tanto a *Rhizoctonia binucleada*, como a *R. solani*. En el grupo de *R. solani*, la reconstrucción filogenética inferida por Máxima Verosimilitud agrupó los diferentes grupos de anastomosis identificados (AG-3 PT, AG 2-IIIB, AG-4 HG-I, AG-4 HG-III y AG-5) en diferentes

clados, siendo el clado correspondiente al AG-3 PT el que agrupó la mayoría de los aislamientos evaluados [33].

La diversidad genética al interior del grupo de anastomosis AG-3 fue reportada por Kuninaga *et al.* [70], quienes al evaluar las secuencias de la región ITS del rADN de 51 aislamientos de *R. solani* AG-3 que representaban poblaciones procedentes de papa y tabaco, encontraron divergencia entre las secuencias, de entre 12 y 23 nucleótidos, en las regiones ITS 1 e ITS 2, lo que supone variabilidad genética al interior de estas poblaciones. A partir de estas diferencias, se desarrollaron pares de marcadores específicos que fueron capaces de diferenciar los aislamientos procedentes de papa, de los aislamientos obtenidos de tabaco y viceversa, además, de no amplificar para otros AG. Estableciéndose así, los subgrupos al interior de *R. solani* AG-3, que son AG-3 PT y AG-3 TB. Conjuntamente, en el árbol filogenético, inferido por el Vecino más cercano, los aislamientos de papa se agruparon en un clúster distinto y bien separado de los aislamientos de tabaco.

Tabla 3: Distribución de secuencias homólogas de aislamiento de *R. solani* en los cladogramas que conforman la reconstrucción filogenética, inferida con el coeficiente de Máxima Verosimilitud, bootstrap de 1.000 réplicas y el modelo Kimura 2-parámetros.

Nº de cladograma	Aislamientos de <i>R. solani</i>
I AG-3 AG-3 PT	Túquerres: 309T, 307T, 282T, 264T, 308T, 275T, 250T, 263T, 75T, 327T, 251T, 247T, 53T, 42T, 257T, 48T, 63T, 178T, 246T, 267T Pasto: 406P, 101P, 420P
II AG-3 AG-3 PT	Túquerres: 78T, 253T, 259T, 270T, 76T, 56T, 269T, 55T, 59T, 66T Pasto: 124P, 199P, 134P, 181P, 211P
III AG-3 AG-3 PT	Túquerres: 266T, 271T, 71T, 93T, 90T, 36T, 67T, 273T, 302T, 330T, 331T, 326T Pasto: 122P, 141P, 125P, 182P, 202P, 207P, 210P, 217P, 421P Control positivo: <i>R. solani</i> AG-3 PT KX631247.1
IV AG-3 AG-3 PT	Túquerres: 52T, 54T, 58T, 83T, 245T, 272T, 276T, 278T, 280T Pasto: 136P, 170P, 174P, 243P, 417P
V AG-3 AG-3 PT	Túquerres: 258T, 260T, 310T, 20T, 89T, 86T, 318T, 96T, 97T, 99T, 85T, 311T, 313T, 314T, 316T Pasto: 143P, 234P, 165P, 414P, 238P, 158P, 230P, 104P, 206P, 385P, 389P, 410P, 176P, 194P, 391P, 393P, 395P, 411P, 412P
VI AG-3 AG-3 PT	Túquerres: 49T, 65T, 80T Pasto: 127P, 209P, 161P, 200P, 216P
VII AG-2-1	Túquerres: 322T

Ferrucho *et al.* [39], en evaluaciones hechas a poblaciones de *R. solani* AG-3 PT procedentes de diferentes regiones paperas de Colombia, entre ellas de Nariño, encontraron en general, un nivel muy bajo de diferenciación poblacional, moldeada por el flujo de genes y posterior multiplicación clonal, con mediación del ser humano. Sin embargo, las poblaciones locales, geográficamente aisladas, como la de Nariño, mostraron mayor diversidad genética, en comparación con

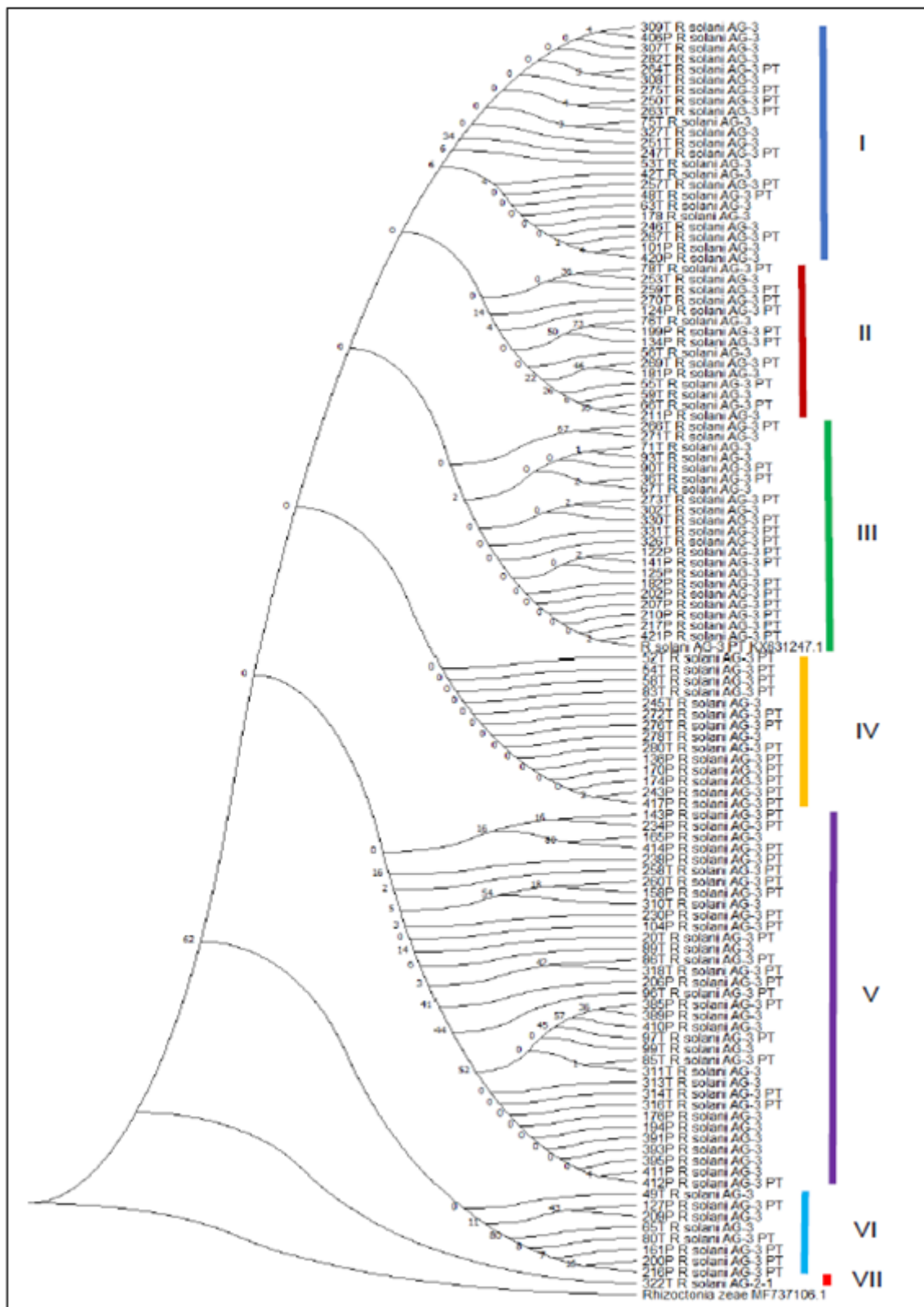


Figura 3: Árbol filogenético de las secuencias de *R. solani* caracterizadas con marcadores ITS1-ITS4 (Espacio Interno Transcrito) inferido con el estimador de Máxima Verosimilitud (Maximum Likelihood), test de filogenia Bootstrap con 1000 replicaciones y el modelo Kimura 2-parámetros. Análisis evolutivo conducido en MEGA X [50, 73]

las otras poblaciones analizadas. La diversidad genética en AG-3 PT registrada por Ferrucho *et al.* [39], ratifica la diversidad determinada en este estudio, para Nariño, donde los aislamientos de *R. solani* AG-3/AG-3 PT obtenidos de diferentes localidades, se agruparon en varios clados, indicando distanciamiento genético entre estos.

En estudios relacionados, Esfahani [61] reportó variabilidad genética entre aislamientos de *R. solani* asociados a cancro del tallo y costra negra en papa, donde los aislamientos se agruparon en tres clados principales, que incluían aislamientos identificados como AG-3, así mismo, al interior de los clados, los aislamientos se dividieron en subgrupos distintos con miembros pertenecientes a *R. solani* AG-3 PT. Además, no se encontró correlación con la región geográfica de origen entre estos. Resultados que coinciden con los encontrados en este estudio, en el que el análisis filogenético también mostró variabilidad genética entre la población de *R. solani* procedente de papa y de diferentes localidades.

Chavarro-Mesa *et al.* [40], analizaron la variabilidad genética de *R. solani* AG-3 PT, donde se destaca la observación de agrupamientos al interior de *R. solani* AG-3 PT, a los que los autores denominaron AG-3PT (A) y AG-3PT (B), con los que concluyeron que al interior de *R. solani* AG-3 PT existe una alta diversidad genética.

Estudios que reportan variabilidad genética en *R. solani* AG-3 PT, indican que se puede estar presentando evolución de este patógeno, debida probablemente a flujo genético, mutación o recombinación, donde las fuentes de inóculo como tubérculos semilla infectados o el presente en el suelo contribuyen a originar y mantener la diversidad genética, especialmente cuando el flujo genético es mínimo [71, 72].

4. Conclusiones

Los aislamientos procedentes de Túquerres y Pasto caracterizados molecularmente mediante la amplificación por PCR de la región ITS del ADNr y su posterior secuenciación, identificó por medio de homología de secuencias, la pertenencia de estos a la especie *Rhizoctonia solani*, así mismo, la presencia de los grupos de anastomosis AG-3 PT y AG-2-1, con mayor abundancia del grupo de anastomosis AG-3 PT y siendo el grupo de anastomosis AG-2-1 el primer reporte en Nariño. La evaluación con cebadores específicos para los AG que afectan a papa, permitió establecer que los grupos de anastomosis AG-3 PT y AG-2-1 hacen parte de las poblaciones de *R. solani* que habitan en las localidades de Túquerres, Pasto, Ospina e Ipiales, identificándose al AG-3 PT como el grupo de anastomosis dominante. La construcción filogenética de aislamientos de *R. solani* originarios de zonas productoras de papa de Túquerres y Pasto, comprobó la existencia de variabilidad genética intraespecífica en las poblaciones de *R. solani* presentes en Nariño, independientemente de la localidad de origen.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación y Vicerrectoría de Investigación e Interacción

Social de la Universidad de Nariño por la financiación del presente trabajo. Al Grupo de investigación de Sanidad Vegetal de la Universidad de Nariño, por los aportes y contribuciones para la finalización del mismo.

Referencias

- [1] O. Rashed, S. N. A. Abdullah, W. Alsultan, T. Misawa, K. Ahmad and A. B. Kutawa, "Characterization of inter and intra anastomosis group of *Rhizoctonia* spp. isolated from different crops in Peninsular Malaysia," *Trop Plant Pathol*, no. June, 2021. DOI: 10.1007/s40858-021-00433-5.
- [2] M. Sharon, S. Kuninaga, M. Hyakumachi and B. Sneh, "The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping", *Mycoscience*, vol. 47, no. 6, pp. 299-316, dic. 2006. DOI: 10.1007/s10267-006-0320-x
- [3] B. Sneh, L. Burpee and A. Ogoshi, Identification of *Rhizoctonia* species, American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, 1991.
- [4] A. Ogoshi, "Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn," *The Annual Review of Phytopathology*, 25, 125-143, 1987.
- [5] C. Nandeesha, K. Nandeesha and C. Bhaliya, "Evolutionary biology and interaction among the anastomosis groups of *Rhizoctonia* spp.," *J Pharmacogn Phytochem*, vol. 10, no. 2, pp. 461-466, Mar. 2021. DOI:10.22271/phyto.2021.v10.i2f.13840.
- [6] O. O. Ajayi-Oyetunde & C. A. Bradley, "Identification and Characterization of *Rhizoctonia* Species Associated with Soybean Seedling Disease," *Plant Dis*, vol. 104, no. 4, pp. 520-533, 2017. DOI: 10.1094/PDIS-06-16-0810-RE.
- [7] A. Kaushik, D. P. Roberts, A. ramaprasad, S. Mfarrej, M. Nair, D. Lakshman and A. Pain, "Pangenome Analysis of the Soilborne Fungal Phytopathogen *Rhizoctonia solani* and Development of a Comprehensive Web Resource: RsolaniDB," *Front Microbiol*, vol. 13, no. March, 2022. DOI: 10.3389/fmicb.2022.839524.
- [8] R. C. Foley, C. A. Gleason, J. P. Anderson, T. Hamann and K. B. Singh, "Genetic and genomic analysis of *Rhizoctonia solani* interactions with Arabidopsis: Evidence of resistance mediated through NADPH Oxidases", *PLoS One* 8, no 2: e56814, february, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0056814.
- [9] T. Chosdon, K. A. Das, R. Nawale, B. R. Kailash, S. B. Koder and S. Srivastava, "Anastomosis groups of multinucleate and binucleate *Rhizoctonia*," *Current Advances in Agricultural Sciences (An International Journal)*, vol. 13, no. 2, pp. 71-77, 2021. DOI: 10.5958/2394-4471.2021.00016.2.
- [10] D. González, "Estado Actual de la Taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn," *Rev. Mexicana de Fitopatología*, vol. 20, no. 2, pp. 200-205, 2002, Accessed: nov. 29, 2020. DOI: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61220211>
- [11] D. E. Carling, "Grouping in *Rhizoctonia solani* / by hyphal anastomosis reaction. Group proposed," B. Sneh

- et al.* (eds.), *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control, pp. 37–47, 1996.
- [12] M. González García, “Aspectos de sistemática y biología del complejo *Rhizoctonia*,” 2008.
 - [13] D. E. Carling, R. E. Baird, R. D. Gitaitis, K. A. Brainerd and S. Kuninaga, “Characterization of AG-13, a newly reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani*,” *Phytopathology*, vol. 92, no. 8, pp. 893–899, 2002. DOI: 10.1094/PHYTO.2002.92.8.893.
 - [14] M. A. Cubeta & R. Vilgalys, “Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex,” in *Phytopathology*, American Phytopathological Society, Feb. 1997, pp. 480–483. DOI: 10.1094/phyto.1997.87.4.480.
 - [15] J. Kiptoo *et al.*, “*Rhizoctonia solani* of potato and its management: a review,” *Plant Protection*, vol. 5, no. 3, pp. 157–169, Dec. 2021. DOI: 10.33804/pp.005.03.3925.
 - [16] B. Sneh, S. Jabaji and S. M. Neate, *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Springer Netherlands, 1998. DOI: 10.1007/978-94-017-2901-7.
 - [17] M. S. Melzer, H. Yu, T. Labun, A. Dickson and G. J. Boland, “Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. from field crops in Canada,” *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2016. DOI: 10.1080/07060661.2016.1199596.
 - [18] A. S. Gondal, A. Rauf and F. Naz, “Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* associated with tomato foot rot in Pothohar Region of Pakistan,” *Scientific Reports*, vol. 9, pp. 1–12, 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-40043-5.
 - [19] T. Misawa & D. Kurose, “Anastomosis group and subgroup identification of *Rhizoctonia solani* strains deposited in NARO Genebank, Japan,” *Journal of General Plant Pathology*, vol. 85, pp. 282–294, jul. 2019. DOI: 10.1007/s10327-019-00848-8.
 - [20] M. Mori, T. Bannai and T. Misawa, “First report of leaf blight and petiole rot of carrot caused by *Rhizoctonia solani* AG-1 IB,” *Journal of General Plant Pathology*, 2020. DOI: 10.1007/s10327-020-00966-8.
 - [21] Y. Yang, C. Zhao, Z. Guo and X. Wu, “Anastomosis group and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* associated with stem canker and black scurf of potato in China,” *Eur J Plant Pathol*, 2015. DOI: 10.1007/s10658-015-0668-x.
 - [22] C. Betancourth, B. Sañudo, C. Flórez, B. Castro, F. Arteaga y C. Salazar, “Vulneración del cultivo de papa ante problemas sanitarios emergentes en Nariño”. 1 ed. Editorial Universidad de Nariño, 2020, 26 p.
 - [23] D.E. Carling & R.H. Leiner, “Isolation and characterization of *Rhizoctonia solani* and binucleate *R. solani*-like fungi from aerial stems and subterranean organs of potato plants,” *Phytopathology*, 76, 725–729, 1986.
 - [24] B. Bandy, S. Leach and S. Tavantzis, “Anastomosis group 3 is the major cause of *Rhizoctonia* disease of potato in Maine,” *Plant Disease*, 72, 596–598, 1988.
 - [25] D. E. Carling, R. H. Leiner and P. C. “Westphale Symptoms, signs and yield reduction associated with *Rhizoctonia* disease of potato induced by tuberborne inoculum of *Rhizoctonia solani* AG-3”, *American Potato Journal*, 66(11), 693–701, 1989. DOI: 10.1007/BF02896825.
 - [26] R. Anguiz & C. Martin, “Anastomosis groups, pathogenicity, and other characteristics of *Rhizoctonia solani* isolated from potatoes in Perú”, *Plant Disease*, 73, 199–201, 1989.
 - [27] G. Balali, S. Neate, E. Scott, D. Whisson and T. Wicks, “Anastomosis group and pathogenicity of isolates of *Rhizoctonia solani* from potato crops in South Australia”, *Plant Pathology*, 44, 1050–1057, 1995.
 - [28] T. Chand & C. Logan, “Cultural and pathogenic variation in potato isolates of *Rhizoctonia solani* in Northern Ireland”, *Tran. of British Mycological Society*, 81, 585–589, 1983.
 - [29] A. El Bakali, A. Lilja, J. Hantula and M. Martin, “Identification of spanish isolates of *Rhizoctonia solani* from potato by anastomosis grouping, ITS-RFLP and RAMS-fingerprinting”, *Phytopathol. Mediterr.*, vol.42, no. 2, 167–176, 2003.
 - [30] L. Cedeño, C. Carrero, K. Quintero, Y. Araujo, H. Pino y R. García, “Identificación y virulencia de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn Asociados con papa en Mérida, Venezuela,” *Interciencia*, vol. 26, no. 7, pp. 296–300, 2001.
 - [31] J. Woodhall, A. Lees, S. Edwards and P. Jenkinson, “Characterization of *Rhizoctonia solani* from potato in Great Britain”, *Plant pathology*, 56, 286–295, 2007.
 - [32] M. J. Lehtonen, P. Ahvenniemi, P. Wilson and M. German-Kinnari, “Biological diversity of *Rhizoctonia solani* (AG-3) in a northern potato-cultivation environment in Finland”, *Plant Pathology*, 57, 1, 141–151, 2008.
 - [33] N. Muzhinji, M. Truter, J. W. Woodhall and J. E. van der Waals, “Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* from potato in South Africa,” *Plant Dis*, vol. 99, no. 12, pp. 1790–1802, Dec. 2015. DOI: 10.1094/PDIS-02-15-0236-RE.
 - [34] E. M. Inokuti, A. Reis, P. C. Ceresini, M. P. S. Câmara and S. J. Michereff “Diversity and pathogenicity of anastomosis groups of *Rhizoctonia* associated with potato stem canker and black scurf diseases in Brazil”, *Eur. Journal of Plant Pathology*, 153, 4, 1333–1339, 2018. DOI: 10.1007/s10658-018-01627-5.
 - [35] S. Gush, N. Muzhinji, M. Truter and J. E. Van der Waals, “First report of *Rhizoctonia solani* AG 2-IIIB causing elephant hide on potato tubers in South Africa”, *Plant Disease*, vol. 103, no. 7, pp. 1–2, 2019. DOI: 10.1094/PDIS-10-18-1850-PDN.
 - [36] A. Albán, “Identificación, aislamiento, caracterización y evaluación de la capacidad de infección en tubérculos de *Rhizoctonia solani* de suelos paperos de la provincia de Carchi”, (tesis de grado), Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, Ecuador, 97 p, 2015.
 - [37] Instituto Colombiano Agropecuario ICA, “Manejo fitosanitario del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* subsp. andigena y *S. phureja*), medidas para la temporada invernal”, ICA, Bogotá, Colombia, 35 p, 2011.

- [38] E. Chavarro, "Caracterización molecular y análisis de la variabilidad genética de *Rhizoctonia solani*", CORPOICA-Manual técnico, pp. 16–30, 2004.
- [39] R. L. Ferrucho, P. C. Ceresini, U. M. Ramirez-Escobar, B. A. McDonald, M. A. Cubeta and C. García-Domínguez, "The population genetic structure of *Rhizoctonia solani* AG-3PT from potato in the Colombian Andes," *Phytopathology*, vol. 103, no. 8, pp. 862–869, 2013. DOI: 10.1094/PHYTO-11-12-0278-R.
- [40] E. Chavarro-Mesa, N. A. Herrera-Blanco, C. R. Beltrán-Acosta, A. M. Cotes-Prado and J. E. Ángel-Díaz, "Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* AG-3PT, the etiological cause of stem canker and black scurf in Colombian potatoes," *Ciencia Tec. Agropecuaria*, vol. 22, no. 3, Sep. 2021. DOI: 10.21930/RCTA.VOL22_NUM3_ART:1888.
- [41] L. Tsror, "Biology, epidemiology and management of *Rhizoctonia solani* on Potato", *Journal of Phytopathology*, 158, 649–658, 2010.
- [42] R. Ferrucho, M. Cifuentes, P. Ceresini and C. García-Domínguez, "*Rhizoctonia solani* aG-3PT is the major pathogen associated with potato stem canker and black scurf in Colombia," *Agron Colomb*, 30, 2, 204–213, 2012.
- [43] N. Ariza, J. Ángel y J. Giraldo, "Caracterización molecular y análisis de la variabilidad genética de aislamientos de *Rhizoctonia solani* Kuhn, en cultivos de papa de Cundinamarca y Nariño", *Universidad INCCA de Colombia*, Bogotá, 2003, 121 p.
- [44] R. L. Ferrucho, "Construction of pathogenic, biologic and genetic bases of the Colombian populations of *Rhizoctonia solani* AG-3 necessary for the development of management strategies of stem canker and black scurf diseases of potato", *Tesis doctoral*, Fac. Agronomía, Univ. Nacional de Colombia, 114 p, 2011.
- [45] H. Navarro-Barranco, "Tipificación genotípica del hongo *Metarhizium anisopliae* aislado de mosca pinta de los pastos (Homoptera: Cercopidae) en México", en *Memorias del XXIX Congreso Nacional de Control Biológico*, Manzanillo, Colima, pp. 541-544, 2006.
- [46] G. Griffith & D. Shaw, "Polymorphisms in *Phytophthora infestans*: Four mitochondrial haplotypes are detected after PCR amplification of ADN from pure cultures or from host lesions", *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 10, pp. 4007-4014, 1998.
- [47] T. White *et al.*, "Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics," *PCR Protocols and Applications - A Laboratory Manual*, Academic Press, pp. 315-322, 1990.
- [48] M. Gardes & T. D. Bruns, "ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts", *Mol Ecol*, vol. 2, pp. 113-118, 1993. DOI: 10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x.
- [49] R. Fenille, M. Ciampi, E. Kuramae and N. Souza, "Identification of *Rhizoctonia solani* Associated with Soybean in Brazil by rDNA-ITS Sequences", *Fitopatologia Brasileira*, 28, 413-419, 2003.
- [50] M. Kimura, "A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences", *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111-120, 1980.
- [51] Red Biobancos e Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), "Protocolo de extracción de ADN", Madrid, p 30, 2011.
- [52] Universidad de Salamanca, "Programa de control de calidad de ácidos nucleicos. Banco Nacional de ADN Carlos III", p.10, 2020.
- [53] W. Huanca, R. Salvatierra and G. Sepúlveda, "A fast and efficient method for total DNA extraction from soil filamentous fungi", *IDESIA*, vol. 32, no. 2, 2014.
- [54] D. Lakshman, P. Prakash, V. Singh, P. Sharma and A. Mitra, "Molecular identification, genetic diversity, population genetics and genomics of *Rhizoctonia solani*," 2016. DOI: <https://www.researchgate.net/publication/299487816>
- [55] S. D. Takooree, H. Neetoo, V. M. Ranghoo-Sanmukhiya, S. Hardowar, J. E. van der Waals, V. Vally, A. Gungoosingh Bunwaree, M. Vojvodie and A. Bulajié, "First report of black scurf caused by *Rhizoctonia solani* AG-3 on potato tubers in Mauritius," *Plant Disease*, vol. 105, no. 1. American Phytopathological Society, p. 213, Jan. 01, 2021. DOI: 10.1094/PDIS-06-20-1183-PDN.
- [56] M. R. Murdock, J. W. Woodhall, R. Maggard, S. Keith, M. Harrington, A. Oropeza, B. Stokes and K. M. Duellman, "First Report of *Rhizoctonia solani* AG 2-1 Causing Stem Canker of Potato *Solanum tuberosum* in Idaho," *Plant Disease*, 2019.
- [57] R. Tjimune, E. Mangwende, M. Lekota and N. Muzhinji, "First Report of *Rhizoctonia solani* AG 3-PT causing black scurf on potato tubers in Namibia," *New Dis Rep*, vol. 45, no. 1, Jan. 2022. DOI: 10.1002/ndr2.12066.
- [58] A. N. Al-Abedy, F. A. Al-Fadhal, M. H. Karem, Z. Al-Masoudi and S. A. AL-Mamoori, "Genetic variability of different isolates of *Rhizoctonia solani* Kühn isolated from Iranian imported potato tubers (*Solanum tuberosum* L.)," *Inter. Jour. of Agricultural and Statistical Sciences*, vol. 14, no. 2, pp. 587–598, 2018.
- [59] D. E. Carling *et al.*, "Characterization of anastomosis group 11 (AG-11) of *Rhizoctonia solani*", *Phytopathology*, vol. 84, pp. 1387-1393, 1994.
- [60] V. U. Patil, V. Girimalla, V. Sagar, V. Bhardwaj and S. K. Chakrabarti, "Draft Genome Sequencing of *Rhizoctonia solani* Anastomosis Group 3 (AG3- PT) Causing Stem Canker and Black Scurf of Potato", *American Journal of Potato Research*, vol. 95, no. 1, pp. 87–91, Feb. 2018. DOI: 10.1007/s12230-017-9606-0.
- [61] M. N. Esfahani, "Genetic variability and virulence of some Iranian *Rhizoctonia solani* isolates associated with stem canker and black scurf of potato (*Solanum tuberosum* L.)," *J Plant Prot Res*, vol. 60, no. 1, pp. 21–30, 2020. DOI: 10.24425/jppr.2020.132201.
- [62] C. Chunmei, W. Xiaojiao, X. Fei and L. Chunxing, "Anastomosis Grup and pathogenicity of *Rhizoctonia*", *Plant Diseases and Pests*, vol. 10, no. 1, pp. 18–23, 2019.
- [63] T. Misawa, D. Kurose, M. Mori and T. Toda, "Characterization of Japanese *Rhizoctonia solani* AG-2-1 isolates using rDNA-ITS sequences, culture morphology,

- and growth temperature" *Journal of General Plant Pathology*, vol. 84, no. 6, pp. 387–394, nov. 2018. DOI: 10.1007/s10327-018-0808-1.
- [64] I. Kotba1, M. Achouri1, A. Benbouazza, El H. Achbani, A. Ouazzani Touhami and A. Douira, "Morphological, pathogenic and molecular characterisation of *Rhizoctonia solani* strains isolated from potato" *Annual Research & Review in Biology*, vol. 29, no. 4, 1-16, 2018. DOI: 10.9734/arrb/2018/44926.
- [65] M. Abdel-Sattar, H. El-Marzouky and U. Ibrahim, "Pathogenicity Test and Anastomosis Group of *Rhizoctonia solani* the Causal Organism of Stem Canker and Black Scurf Disease of Potato in Egypt", *Journal of Applied Plant Protection*, vol. 6, no. 1, pp. 1-8, 2017. DOI: 10.21608/japp.2017.7494.
- [66] M. Arakawa & K. Inagaki, "Molecular markers for genotyping anastomosis groups and understanding the population biology of *Rhizoctonia* species", *Journal of General Plant Pathology*, vol. 80, no. 5, pp. 401–407, 2014. DOI: 10.1007/s10327-014-0536-0.
- [67] M. Matsumoto, "Trials of direct detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG-1 and AG-2 subgroups using specifically primed PCR analysis", *Mycoscience*, 43, 185-189, 2002.
- [68] L. Iradukunda, Y.-P. Wang, O. Nkurikiyimfura, T. Wang, L.-N. Yang and J. Zhan, "Establishment and Application of a Multiplex PCR Assay for the Rapid Detection of *Rhizoctonia solani* Anastomosis Group (AG)-3PT, the Pathogen Causing Potato Black Scurf and Stem Canker", *Pathogens*, vol. 11, p. 627, May 2022. DOI: 10.3390/pathogens11060627.
- [69] D. Carling, S. Kuniyaga and K. Brainard, "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*, vol. 92, no. 1, pp. 43–50, 2002. DOI: 10.1094/PHTO.2002.92.1.43.
- [70] S. Kuniyaga, D. Carling, T. Takeuchi and T. Yokosawa, "Comparison of rDNA-ITS Sequences between Potato and Tobacco Strains in *Rhizoctonia solani* AG-3", *J. Gen. Plant Pathol*, vol. 66, pp. 2–11, 2000.
- [71] N. Muzhinji, W. Woodhall, M. Truter and J. Van der Waals, "Population genetic structure of *Rhizoctonia solani* AG 3-PT from potatoes in South Africa", *Fungal Biology*, vol. 120, no. 5, pp. 701–710, 2016. DOI: 10.1016/j.funbio.2016.02.009.
- [72] N. Muzhinji, J. Woodhall, M. Truter and J. Van der Waals, "Relative contribution of seed tuber- and soil-borne inoculum to potato disease development and changes in the population genetic structure of *Rhizoctonia solani* AG 3-PT under field conditions in South Africa", *Plant Disease*, vol. 102, no. 1, pp. 60–66, 2018. DOI: 10.1094/PDIS-03-17-0329-RE.
- [73] S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz and K. Tamura, "MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms", *Molecular Biology and Evolution*, vol. 35, pp. 1547-1549, 2018.

Tabla 2 - continuación: Identificación de 116 aislamientos de *R. solani* procedentes de las localidades de Túquerres y Pasto (Nariño), por secuenciación con marcadores ITS (Espacio Interno Transcripto), número de accesión y porcentaje de similitud (según GenBank)*.

Nº	Aislamiento	ITS	Accesión	%
1	Rh20T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631333.1	99.53
2	Rh36T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	MT523021.1	100
3	Rh42T	<i>R. solani</i> AG-3	MN258594.1	100
4	Rh48T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631277.1	100
5	Rh49T	<i>R. solani</i> AG-3	MN258600.1	99.84
6	Rh52T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631247.1	99.84
7	Rh53T	<i>R. solani</i> AG-3	KT583290.1	99.84
8	Rh54T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631236.1	99.84
9	Rh55T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234140.1	99.69
10	Rh56T	<i>R. solani</i> AG-3	KF234144.1	100
11	Rh58T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234140.1	99.84
12	Rh59T	<i>R. solani</i> AG-3	MF070635.1	100
13	Rh63T	<i>R. solani</i> AG-3	MN258602.1	100
14	Rh65T	<i>R. solani</i> AG-3	KF234143.1	99.68
15	Rh66T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	MW999192.1	99.37
16	Rh67T	<i>R. solani</i> AG-3	KF234144.1	100
17	Rh71T	<i>R. solani</i> AG-3	KF234144.1	100
18	Rh75T	<i>R. solani</i> AG-3	MW999192.1	99.53
19	Rh76T	<i>R. solani</i> AG-3	JQ219355.1	99.54
20	Rh78T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX468082.1	100
21	Rh80T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631277.1	99.53
22	Rh83T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234140.1	99.69
23	Rh85T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX650631.1	99.84
24	Rh86T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	MW999201.1	99.53
25	Rh89T	<i>R. solani</i> AG-3	KF234144.1	98.75
26	Rh90T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631314.1	100
27	Rh93T	<i>R. solani</i> AG-3	MW999200.1	100
28	Rh96T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX650633.1	99.69
29	Rh97T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	DQ913059.1	98.08
30	Rh99T	<i>R. solani</i> AG-3	JX161982.1	99.84
31	Rh178T	<i>R. solani</i> AG-3	MW999194.1	100
32	Rh245T	<i>R. solani</i> AG-3	KF234140.1	99.69
33	Rh246T	<i>R. solani</i> AG-3	MW999194.1	100
34	Rh247T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KP013070.1	100
35	Rh250T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234144.1	99.69
36	Rh251T	<i>R. solani</i> AG-3	JX161954.1	99.68
37	Rh253T	<i>R. solani</i> AG-3	KF234143.1	99.22
38	Rh257T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	MW999194.1	99.84
39	Rh258T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	MW999192.1	99.53
40	Rh259T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	MH113809.1	99.84
41	Rh260T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	MF070646.1	99.69
42	Rh263T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	EF370442.1	100
43	Rh264T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KP013070.1	99.69
44	Rh266T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234143.1	99.66
45	Rh267T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	MW999192.1	99.69
46	Rh269T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234140.1	98.91
47	Rh270T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234140.1	99.37
48	Rh271T	<i>R. solani</i> AG-3	MT523021.1	99.84
49	Rh272T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	MW999200.1	99.84
50	Rh273T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234140.1	100
51	Rh275T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KP013070.1	100
52	Rh276T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631242.1	99.84
53	Rh278T	<i>R. solani</i> AG-3	KF234143.1	99.68
54	Rh280T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234144.1	99.84
55	Rh282T	<i>R. solani</i> AG-3	MW999192.1	99.53
56	Rh302T	<i>R. solani</i> AG-3	KF234143.1	99.69
57	Rh307T	<i>R. solani</i> AG-3	EF370442.1	100
58	Rh308T	<i>R. solani</i> AG-3	KF234144.1	99.38
59	Rh309T	<i>R. solani</i> AG-3	MW999192.1	99.69
60	Rh310T	<i>R. solani</i> AG-3	JX161898.1	99.68
61	Rh311T	<i>R. solani</i> AG-3	MN816748.1	99.68
62	Rh313T	<i>R. solani</i> AG-3	MN816748.1	100
63	Rh314T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX650633.1	99.84
64	Rh316T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX650633.1	99.69
65	Rh318T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631377.1	99.53
66	Rh322T	<i>R. solani</i> AG-2-1	JF792354.1	98.90

Tabla 2 - continuación: Identificación de 116 aislamientos de *R. solani* procedentes de las localidades de Túquerres y Pasto (Nariño), por secuenciación con marcadores ITS (Espacio Interno Transcripto), número de accesión y porcentaje de similitud (según GenBank).*

N°	Aislamiento	ITS	AAccesión	%
67	Rh326T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631247.1	100
68	Rh327T	<i>R. solani</i> AG-3	MN258606.1	99.84
69	Rh330T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631333.1	100
70	Rh331T	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631277.1	100
71	Rh101P	<i>R. solani</i> AG-3	MW999194.1	100
72	Rh104P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	EF370434.1	99.84
73	Rh122P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234144.1	99.84
74	Rh124P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631332.1	99.69
75	Rh125P	<i>R. solani</i> AG-3	HM037686.1	100
76	Rh127P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631333.1	100
77	Rh134P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234144.1	99.37
78	Rh136P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631277.1	99.69
79	Rh141P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234144.1	99.84
80	Rh143P	<i>R. solani</i> AG-3	DQ913026.1	98.64
81	Rh158P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631247.1	99.69
82	Rh161P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631246.1	99.84
83	Rh165P	<i>R. solani</i> AG-3	DQ913072.1	92.92
84	Rh170P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631333.1	99.84
85	Rh174P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234144.1	99.53
86	Rh176P	<i>R. solani</i> AG-3	MW999190.1	100
87	Rh181P	<i>R. solani</i> AG-3	DQ913026.1	98.64
88	Rh182P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631333.1	100
89	Rh194P	<i>R. solani</i> AG-3	MW999201.1	100
90	Rh199P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234140.1	99.37
91	Rh200P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631333.1	99.84
92	Rh202P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234144.1	99.84
93	Rh206P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX650633.1	99.53
94	Rh207P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631277.1	99.84
95	Rh209P	<i>R. solani</i> AG-3	MT523021.1	99.68
96	Rh210P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234140.1	100
97	Rh211P	<i>R. solani</i> AG-3	MW999156.1	99.06
98	Rh216P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631333.1	99.68
99	Rh217P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631333.1	99.69
100	Rh230P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631333.1	99.69
101	Rh234P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631236.1	99.59
102	Rh238P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631314.1	99.21
103	Rh243P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KF234144.1	99.69
104	Rh385P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX650633.1	99.53
105	Rh389P	<i>R. solani</i> AG-3	MW999201.1	99.69
106	Rh391P	<i>R. solani</i> AG-3	JX161899.1	99.37
107	Rh393P	<i>R. solani</i> AG-3	MW999201.1	100
108	Rh395P	<i>R. solani</i> AG-3	KX650633.1	99.84
109	Rh406P	<i>R. solani</i> AG-3	MW999194.1	99.84
110	Rh410P	<i>R. solani</i> AG-3	KX650632.1	98.44
111	Rh411P	<i>R. solani</i> AG-3	MW999201.1	100
112	Rh412P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX468079.1	99.69
113	Rh414P	<i>R. solani</i> AG-3	MW999196.1	99.60
114	Rh417P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631332.1	99.69
115	Rh420P	<i>R. solani</i> AG-3	KF234140.1	99.84
116	Rh421P	<i>R. solani</i> AG-3 PT	KX631333.1	100