

# *Rhizoctonia solani* AG 1 IB, parassita di due nuovi ospiti in Italia: *Lavandula officinalis* e *Origanum vulgare*

Domenico Bertetti\* - Pietro Pensa\*\* - Anna Poli\* - Maria Lodovica Gullino\*\*\* - Angelo Garibaldi\*

\*Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale (AGROINNOVA)  
Università di Torino. Grugliasco (TO)

\*\* DISAFA, Università degli Studi di Torino. Grugliasco (TO)

## Riassunto

La presenza di *Rhizoctonia solani* AG-1 IB è stata riscontrata su *Lavandula officinalis* e *Origanum vulgare*, durante l'estate 2012 sul primo ospite, nell'autunno dello stesso anno sul secondo, entrambi coltivati in Liguria, in una azienda situata nei pressi di Albenga (SV). Sono descritti i sintomi riscontrati su entrambe le specie. Il parassita veniva identificato come *Rhizoctonia solani* in base all'osservazione delle caratteristiche morfologiche microscopiche dei ceppi isolati da piante infette e con la successiva analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer). La caratterizzazione degli isolati stabiliva l'appartenenza di entrambi al gruppo di anastomosi AG-1, mentre l'osservazione delle loro caratteristiche macroscopiche *in vitro* attribuiva entrambi al sottogruppo AG-1 IB ("Type 1" di Sherwood). Infine, sono fornite alcune indicazioni utili per prevenire e contenere la diffusione di *R. solani* su *L. officinalis* e *O. vulgare*, su cui la presenza del parassita viene segnalata per la prima volta in Italia.

**Parole chiave:** piante aromatiche; origano comune; rizottoniosi; gruppi di anastomosi.

## Summary

### **Presence of *Rhizoctonia solani* AG-1 IB on *Lavandula officinalis* and *Origanum vulgare* cultivated in Italy**

*Rhizoctonia solani* has been isolated from several young plants of *Lavandula officinalis* and *Origanum vulgare*, both growing in the same farm located near Albenga (Savona province, northern Italy). Symptoms on the hosts are described. The microorganisms isolated from both the hosts were identified as *Rhizoctonia solani* observing the features of mycelium grown *in vitro*. The identification was confirmed by the ITS (Internal Transcribed Spacer) analysis. The characterization of both the isolates permitted to include them to the anastomosis group AG-1. The description of mycelium and sclerotia grown *in vitro* were typical of *R. solani* AG-1 IB (Type 1 of Sherwood). Finally, some strategies are given to prevent and to control *R. solani* on *L. officinalis* and *O. vulgare*. *R. solani* is reported on *L. officinalis* and on *O. vulgare* for the first time in Italy.



Figura 1 – Giovani piante di *Lavandula officinalis* allevate in alveolo colpite da *Rhizoctonia solani*.

Figure 1 – Young plants of *Lavandula officinalis* infected by *Rhizoctonia solani*.



Figura 2 – Fusti e foglie di *Lavandula officinalis* colpite da *Rhizoctonia solani*: particolare.

Figure 2 – Leaves and stems of *Lavandula officinalis* infected by *Rhizoctonia solani*: detail.

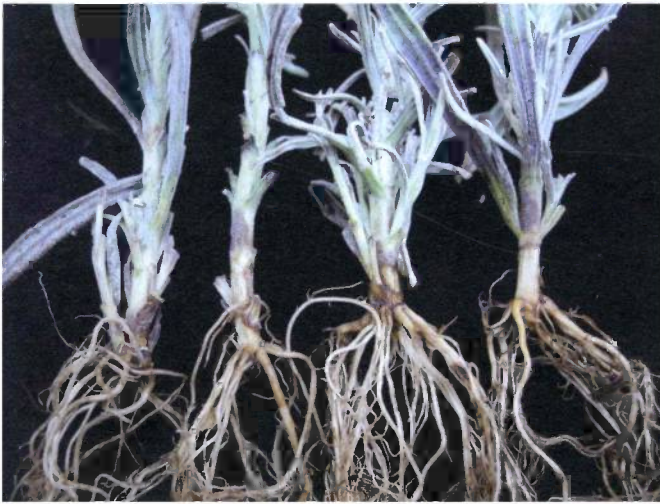


Figure 3 – Lesioni al colletto di giovani piante di *Lavandula officinalis* colpite da *Rhizoctonia solani*.  
 Figure 3 – Crown lesions on young plants of *Lavandula officinalis* infected by *Rhizoctonia solani*.



Figura 4 – Alterazioni causate da *Rhizoctonia solani* sui fusti di giovani piante di *Origanum vulgare*.  
 Figure 4 – Stem necrosis on young plants of *Origanum vulgare* infected by *Rhizoctonia solani*.

**Key words:** aromatic plants; lavender; oregano; web blight; anastomosis groups (AGs).

### Introduzione

*Lavandula officinalis* e *Origanum vulgare*, sono specie aromatiche appartenenti alla famiglia delle Labiatae, coltivate con diverse destinazioni d'uso. Nella zona di Albenga (SV), vengono prodotte principalmente in vaso: la produzione di lavanda è rivolta quasi esclusivamente al mercato delle piante ornamentali, con rare eccezioni per uso alimentare, mentre, l'origano è destinato al mercato delle erbe fresche. Di entrambe le specie vengono coltivati numerosi ecotipi, con caratteristiche morfologiche e organolettiche differenti. In questa nota, sono descritte le alterazioni comparse sui fusti e sulle foglie di numerose giovani piante di *L. officinalis* e *O. vulgare*, coltivate in una azienda agricola di Albenga (SV).

### Sintomi riscontrati ed identificazione degli isolati

*Lavandula officinalis*. Durante l'estate 2012, in una azienda agricola localizzata ad Albenga (SV), circa 100.000 piante di una varietà di *L. officinalis* di circa 3 mesi di età, erano allevate in contenitori alveolari, in un substrato colturale costituito da torba e perlite (pH ~ 6 ed E.C. ~ 300 µS). Le piante erano sistemate in serra di ferro e vetro, sotto una copertura ombreggiante (riduzione reale della luce del 60% circa) e venivano irrigate tramite aspersione sopra chioma. I sintomi di seguito descritti comparivano su gruppi di piante distribuite a macchia d'olio, determinando la necessità di eliminare per intero i contenitori compromessi (Fig. 1). La malattia causava la perdita di circa 3000 piante, pari al 3% circa della produzione totale. Le foglie, a partire da quelle poste alla base della talea radicata, assumevano colorazione marrone che diveniva più scura con il procedere della malattia ed apparivano marcescenti (Fig. 2); la base delle piante era lievemente alterata al livello del colletto (Fig. 3). Infine, le piante colpite morivano e disseccavano. Gli isolamenti venivano effettuati prelevando numerosi



Figura 5 – Giovani piante di *Origanum vulgare* allevate in alveolo colpite da *Rhizoctonia solani*.  
 Figure 5 – Web blight on young plants of *Origanum vulgare* infected by *Rhizoctonia solani*.

frammenti al margine dei tessuti imbruniti di fusti e foglie, disinfettando preventivamente i campioni con ipoclorito di sodio (1%). I pezzetti erano distribuiti su substrato PDA (Potato Dextrose Agar) e mantenuti in alternanza di luce/buio. Dagli isolamenti si sviluppavano costantemente le colonie di un fungo, le cui ife, osservate al microscopio ottico, presentavano le caratteristiche di *Rhizoctonia solani* (Sneh *et al.*, 1991).

*Origanum vulgare*. Durante l'autunno 2012, nella medesima azienda in cui erano comparsi i sintomi descritti su lavanda, 30.000 piante di *O. vulgare* di 50 giorni di età, erano allevate in alveolo, in un terriccio costituito da torba e perlite (pH ~ 6 ed E.C. ~ 300 µS). I contenitori alveolari erano posizionati a circa 4 cm dal terreno, su un telo pacciamante nero, di plastica semimpermeabile. Le piante erano coltivate in serra di ferro e vetro, sotto una copertura ombreggiante (riduzione reale della luce del 70 % circa) e venivano irrigate tramite aspersione sopra chioma. I fusti delle giovani piante

colpite apparivano brunastri, marcescenti e sovente erosi, soprattutto nella parte centrale e basale (Fig. 4). Anche alcune foglie presentavano necrosi ad andamento irregolare che potevano interessare gran parte del lembo. Un sottile e rado micelio biancastro si diffondeva sul terriccio negli alveoli, coinvolgendo soprattutto la base delle piante alterate che, infine, si ripiegavano e morivano (Fig. 5). Anche in questo caso, la comparsa della malattia determinava l'eliminazione dell'intero contenitore contenente le piante colpite, causando la perdita complessiva del 6% circa delle piante coltivate. Gli isolamenti erano effettuati seguendo lo stesso procedimento descritto per *L. officinalis* e, anche in questo caso, determinavano la comparsa di numerose colonie fungine, facilmente riconducibili a *R. solani*, in base alle caratteristiche morfologiche microscopiche osservate (Sneh *et al.*, 1991).

L'identificazione morfologica degli isolati di *R. solani* ottenuti da *L. officinalis* ed *O. vulgare* veniva confermata dall'analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer). Un isolato ottenuto da ciascun ospite era coltivato *in vitro*, su PDA. Dal micelio di ciascuno di essi veniva estratto il DNA del fungo, utilizzando il Nucleospin Plant kit (Macherey Nagel). Sul DNA estratto era condotta una reazione di PCR con i primer ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) che amplificano la regione intergenica tra le sequenze codificanti per gli RNA ribosomali 28S e 18S che comprende al suo interno la sequenza del rRNA 5S. Il prodotto delle amplificazioni veniva sequenziato direttamente, ottenendo una sequenza di 661 paia di basi (Gene Bank accession number KC493639) per l'isolato da *L. officinalis* ed una sequenza di 538 paia di basi (Gene Bank accession number KC493638) per il ceppo ottenuto da *O. vulgare*. L'analisi delle due sequenze, effettuata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) (E = 0), identificava come *Thanatephorus cucumeris* (teleomorfo di *R. solani*) l'isolato da lavanda e come *R. solani* quello da origano, confermando quanto desunto dalle osservazioni morfologiche.

### Inoculazioni artificiali e riproduzione dei sintomi

Per riprodurre i sintomi descritti e dimostrare la patogenicità degli isolati, venivano preparate delle colture in purezza su PDA, utilizzando un ceppo di *R. solani* ottenuto da *L. officinalis* ed uno da *O. vulgare*. Venivano scelti gli stessi isolati utilizzati per l'identificazione molecolare. Su entrambi gli ospiti, il test di patogenicità veniva effettuato applicando dei dischetti di micelio (diam. 9 mm) prelevati dalle colture *in vitro*, sulle foglie di piante apparentemente sane. Queste, al momento della prova, erano trapiantate in una vaschetta contenente terriccio costituito da torba di sfagno, pomice, corteccia di pino e argilla (50:20:20:10), disinfestato a vapore. Le piante impiegate in qualità di testimoni erano trattate in identico modo, utilizzando però dei dischetti di PDA privi di inoculo. Le vaschette, subito dopo l'inoculazione erano chiuse in camere umide e sistemate in una cella climatica alla temperatura di 25°C ± 1. Per *L. officinalis*, venivano inoculate 42 piante. Circa 2 giorni dopo l'inoculazione artificiale, numerose necrosi comparivano attorno ai dischetti collocati sulle foglie inoculate; trascorsi

6 giorni, circa il 60% delle piante appariva distrutta, mentre invece i testimoni non manifestavano alcun sintomo. Per *O. vulgare*, erano inoculate 35 piante. Dopo 3 giorni, i primi sintomi comparivano su alcune foglie inoculate, mentre, dopo 9 giorni, il 50% circa delle piante moriva in seguito agli attacchi del parassita. Anche in questo caso, i testimoni rimanevano privi di sintomi. In entrambi i casi, *R. solani* veniva costantemente reisolata dalle piante colpite, soddisfacendo i postulati di Koch.

### Caratterizzazione degli isolati

Tre isolati ottenuti da lavanda e tre ottenuti da origano venivano posti a confronto con ceppi di *R. solani* appartenenti a gruppi di anastomosi noti: AG-1, AG-2, AG-3, AG-4, AG-6, AG-7, AG-11. I confronti avvenivano *in vitro*, su substrato costituito da agar-acqua (2%). In ogni piastra Petri utilizzata, venivano collocati un dischetto dell'isolato da caratterizzare ed uno di un ceppo di confronto. Quando le ife generate dalle diverse colonie venivano a contatto, venivano colorate con blu di anilina (0,01%) e osservate al microscopio ottico (Parmeter *et al.*, 1969). Gli isolati di *R. solani* ottenuti da *L. officinalis* e da *O. vulgare* generavano anastomosi (bassa frequenza di fusione: Fusion Frequency < 30%) solo con il ceppo di *R. solani* ATCC N° 58946, appartenente al gruppo AG-1 (Sneh *et al.*, 1991). Gli isolati da lavanda e origano, allevati in purezza su PDA, producevano micelio a tessitura grossolana, raggiata, di colore bruno rossastro a maturità che, entro circa 10 giorni, produceva numerosi sclerozi sferoidali, aventi diametri variabili da 0,3 a 1,0 mm, sovente aggregati, prima biancastri, bruno scuri a maturità. L'osservazione di queste caratteristiche macroscopiche consentiva di attribuire gli isolati da entrambi gli ospiti al sottogruppo AG 1-IB (Tipo 1 di Sherwood) (Sherwood, 1969).

### Conclusioni

La presenza di *R. solani* è stata segnalata negli Stati Uniti su *Lavandula angustifolia* (French, 1989), in Grecia su *L. officinalis* (Holevas *et al.*, 2000) ed in Brasile, su *Lavandula* sp.. In quest'ultimo caso, l'isolato era attribuito al gruppo AG1-IB (Mafia *et al.*, 2005). Su *O. vulgare*, *R. solani*, in questo caso appartenente al gruppo AG1-IB, è stata segnalata su semenzali allevati in Giappone (Sato *et al.*, 2010); lo stesso parassita è stato osservato su *O. vulgare* coltivato in Grecia (Holevas *et al.*, 2000). Pertanto, questa è la prima segnalazione di *R. solani* su *L. officinalis* e su *O. vulgare* in Italia.

La comparsa di attacchi di *R. solani* attribuibili al gruppo AG-1 su giovani piante di *L. officinalis* e *O. vulgare*, ripropone un problema registrato di recente su altre due Labiatae, anch'esse coltivate in Liguria: *Satureja montana* "Repandens" (Garibaldi *et al.*, 2012) e *Rosmarinus officinalis* (Garibaldi *et al.*, 2013). Queste si sommano a quella avvenuta su *Salvia nemorosa* coltivata in un vivaio municipale della città di Torino (Garibaldi *et al.*, 2010). Come già accaduto per il rosmarino, anche nel caso di lavanda e origano, gli attacchi del parassita si sono verificati durante la fase di radicazione, in cui la densità

colturale delle piante e l'umidità dell'ambiente sono elevati ed i tessuti dell'ospite più teneri e, dunque, maggiormente suscettibili agli attacchi di parassiti di fusti e foglie, come *R. solani* del gruppo AG-1. Pertanto, è soprattutto nelle prime fasi di coltivazione in cui occorre prestare maggiore attenzione, attuando misure che attenuino le condizioni più predisponenti gli attacchi. A tal fine, l'adozione di un sistema di irrigazione che eviti la bagnatura del filloplano durante le ore notturne può contenere il rischio di infezione. Nel caso di attacchi, le piante colpite e quelle limitrofe vanno allontanate alla comparsa dei primi sintomi, eliminando con esse il substrato di coltivazione. Sebbene *R. solani* sia un parassita polifago, prove condotte in Giappone su diverse specie, sottospecie e cultivar di *Origanum* sp., hanno dimostrato diversità di comportamento nei confronti del parassita ed anche una relativa resistenza (Sato *et al.*, 2010); pertanto, sarebbe opportuno saggiare la suscettibilità ai nuovi ceppi di *R. solani* isolati da Labiatae di tutte le specie e varietà di *L. officinalis* e *Origanum* sp. commercializzati nel nostro Paese.

Inoltre, occorrerebbe fare chiarezza sulla registrazione dei formulati commerciali contenenti i principi attivi potenzialmente efficaci nei confronti di *R. solani* sulle colture oggetto di studio, anche a seconda del luogo di coltivazione e saggiarne l'efficacia in prove di lotta preventiva.

È opportuno considerare che questi principi attivi potranno subire revoche conseguenti alla continua revisione a cui essi sono soggetti: al momento, citiamo su specie ornamentali: tolclofos metile, iprodione, *Trichoderma harzianum*, tiofanate metile (divieto di impiego in serra e dubbia registrazione nei confronti del parassita), prodotti rameici (dubbia registrazione nei confronti del parassita); sulle erbe fresche: iprodione, *Trichoderma harzianum*, prodotti rameici (dubbia registrazione nei confronti del parassita). In riferimento a quanto precedentemente affermato, lo studio di queste due nuove malattie evidenzia ancora una volta la difficoltà che si presenta ad impostare una corretta difesa delle colture suscettibili. Oltre alla problematica delle colture minori, anche su specie diffuse emergono, in molti casi, limitazioni riportate sulle etichette dei prodotti fitosanitari (applicazione al terreno e non alla coltura, autorizzato sulla coltura ma non per il parassita d'interesse, ecc). Sicuramente questa forma cautelativa adottata dal legislatore, evita impieghi avventati di agrofarmaci ma, potenzialmente, aumenta la possibilità di diffusione del nuovo parassita mentre, se curato tempestivamente, desterebbe meno problemi per il futuro o comunque sarebbe contenuto più facilmente.

### Ringraziamenti

Lavoro svolto con un contributo della Regione Piemonte (Fondo Europeo per lo Sviluppo POR FESR 2007/2013, Asse I – Linea di attività I.1.1 “Piattaforme innovative”) nell'ambito del progetto piattaforma agroalimentare SAFEFOODCONTROL.

### Lavori citati

Altschul S. F., Madden T. L., Schaffer A. A., Zhang Z.,

Miller W., Lipman D. J. (1997) – Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programme. *Nucleic Acids Research*, 25, 3389-3402.

French A. M. (1989) - California Plant Disease Host Index. California Department of Food and Agriculture, Sacramento, 394 pp.

Garibaldi A., Gilardi G., Bertetti D., Gullino M. L. (2010) - First Report of Leaf Blight on Woodland Sage Caused by *Rhizoctonia solani* AG 1 in Italy. *Plant Disease*, 94, 1071.

Garibaldi A., Bertetti D., Pensa P., Amatulli M. T., Gullino M. L. (2012) - First Report of Web Blight on Winter Savory (*Satureja montana* “Repandens”) Caused by *Rhizoctonia solani* AG-1-IA in Italy. *Plant Disease*, 96, 585.

Garibaldi A., Bertetti D., Pensa P., Poli A., Gullino M. L. (2013) - First Report of Web Blight on Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) caused by *Rhizoctonia solani* AG-1-IA in Italy. *Plant Disease*, 97, 844.

Holevas C. D., Chitzanidis A., Pappas A. C., Tzamos E. C., Elena K., Psallidas P. G., Alivizatos A. S., Panagopoulos C. G., Kyriakopoulou P. E., Bem F., Lascaridis D. N., Velissariou D. E., Vloutoglou I., Analytis S. C., Paplomatas E. J., Asproumougos J. S., Varveri C. (2000) - Disease agents of cultivated plants observed in Greece from 1981 to 1990. *Annales Benaki Phytopathology Institute, Kiphissia, Athens*, 19, 1- 96.

Mafia R. G., Alfenas A. C., Maffia L. A., Ventura G. M., Ferreira E. M., Neves I. F., Vanetti C. A., Silva C. (2005) – Leaf blight and seedling damping-off of medicinal plants caused by *Rhizoctonia solani* AG1-1B. *Fitopatologia Brasileira*, 30 (3), 302-306.

Parmeter J. R. Jr., Sherwood R. T., Platt W. D. (1969) - Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology*, 59, 1270-1278.

Sato T., Kubota M., Tomioka K. (2010) - Pathogenicity of the leaf blight pathogen of oregano, *Rhizoctonia solani* AG-1 IB, to some horticultural plants of the genus *Origanum*. *Annual Report of the Kanto-Tosan Plant Protection Society*, 57, 51-53.

Sherwood R. T. (1969) - Morphology and physiology in four anastomosis groups of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology*, 59, 1924-1929.

Sneh B., Burpee L., Ogoshi A. (1991) - Identification of *Rhizoctonia* species. APS Press, St Paul, MN, 133 pp.

White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. W. (1990) - Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a guide to methods and applications (Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., White T. J. coord.). Academic Press, San Diego, California, USA, 315–322.