

# Attacchi di *Rhizoctonia solani* AG-1 IB su *Lychnis coronaria* in Italia

Domenico Bertetti\* - Giuseppe Ortu\* - Maria Lodovica Gullino\*\*\*  
- Angelo Garibaldi\*

\*Centro di Competenza per l'Innovazione in Campo Agroambientale (AGROINNOVA), Università di Torino, Largo Paolo Braccini 2 (già via Leonardo Da Vinci, 44) - 10095 Grugliasco (TO).

\*\*DiSAFA - Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2 (già via Leonardo Da Vinci, 44), Grugliasco (TO).

## Riassunto

Nel corso della stagione estiva 2014, su numerose piante di *Lychnis coronaria* coltivate in un giardino di una località piemontese, erano osservati i sintomi descritti in questa nota che, in seguito agli isolamenti effettuati e alle osservazioni morfologiche degli isolati, sono stati attribuiti ad attacchi di *Rhizoctonia solani*. L'analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer) ha confermato l'identificazione. Inoltre, la caratterizzazione dei ceppi di *R. solani* isolati da *L. coronaria* ha stabilito la loro appartenenza al gruppo di anastomosi AG-1, sottogruppo AG-1 IB. Vengono, infine, forniti alcuni suggerimenti per prevenire e contenere la diffusione di *R. solani*, qui riportato su *L. coronaria*, per la prima volta in Italia e nel mondo.

**Parole chiave:** piante ornamentali; cotonaria; rizottoniosi; gruppi di anastomosi.

## Summary

### **Web blight caused by *Rhizoctonia solani* AG-1 IB on *Lychnis coronaria* cultivated in Italy**

During the summer 2014, several plants of *Lychnis coronaria* growing in mix borders in a private garden in the north of Piedmont, showed symptoms of web blight on leaves and stems that turned brown, withered and died. The causal agent of the disease was isolated from affected plants and identified as *Rhizoctonia solani* by the features of mycelium observed on the microscope from pure colonies cultivated in vitro. The ITS (Internal Transcribed Spacer) analysis confirmed the identification. Then, *R. solani* from *L. coronaria* was characterized and included into the anastomosis group AG-1. Features of mycelium and sclerotia produced by pure cultures were typical of *R. solani* AG-1 IB. Finally, some strategies to prevent and to control *R. solani* on *L. coronaria* are discussed. This is the first report of *R. solani* on *L. coronaria* in Italy, as well as in the world.

**Key words:** ornamental plants; rose campion; web blight; anastomosis groups (AGs).

## Introduzione

*Lychnis coronaria* (sin. *Silene coronaria*), famiglia Caryophyllaceae, è una pianta erbacea perennante, adatta per costituire bordure soprattutto in aree soleggiate, dove produce



Figura 1 – Sintomi causati da *Rhizoctonia solani* AG-1 IB su fusto e foglie di *Lychnis coronaria*.

Figure 1 – Symptoms caused by *Rhizoctonia solani* AG-1 IB on leaves and stems of *Lychnis coronaria*.

copiose fioriture primaverili-estive. In questa nota, sono descritte le alterazioni osservate su numerose piante di *L. coronaria* coltivate in un giardino privato piemontese.

## Sintomi riscontrati ed identificazione del parassita

Nel luglio 2014, circa il 40% di un centinaio di piante di *L. coronaria* coltivate in bordure miste presso un giardino privato nei pressi di Biella (BI) presentavano i sintomi di seguito descritti. Le piante colpite recavano alterazioni cromatiche di steli e foglie che assumevano colorazione marrone con andamento acropeto (Figura 1). Gli organi colpiti perdevano la consueta turgidità, avvizzivano, marcivano e, in presenza di maggiore umidità ambientale, determinata dalle frequenti piogge estive, presentavano una sottile efflorescenza biancastra diffusa soprattutto lungo le pieghe dei tessuti (Figura 2). Alcune volte si notava anche la comparsa di sclerozi scuri, di forma sferoidale, aventi le dimensioni di 2-5 × 1-4 (media: 4 × 2) mm (Figura 3). Le piante gravemente colpite disseccavano (Figura 4). Alcuni campioni di foglie e fusti prelevati da piante infette erano preventivamente disinfettati in una soluzione di ipoclorito di sodio (1%) e, in seguito, abbondantemente lavati in acqua sterile. Quindi, dal margine delle alterazioni erano



Figura 2 – Micelio di *Rhizoctonia solani* AG-1 IB su foglia di *Lychnis coronaria* colpita dal parassita.  
 Figure 2 – Mycelium belonging to *Rhizoctonia solani* AG-1 IB on an infected leaf of *Lychnis coronaria*.



Figura 3 – Sclerozio di *Rhizoctonia solani* AG-1 IB su foglia di *Lychnis coronaria* colpita dal parassita.  
 Figure 3 – Sclerotium produced by *Rhizoctonia solani* AG-1 IB on an infected leaf of *Lychnis coronaria*.

prelevati numerosi frammenti, distribuiti su substrato PDA (Potato Dextrose Agar). Le piastre con gli isolamenti erano mantenute in alternanza di luce/buio, alla temperatura di  $23^{\circ}\text{C} \pm 1$ . Le colonie del fungo che si sviluppavano costantemente dagli isolamenti erano costituite da ife che, osservate al microscopio ottico, mostravano le caratteristiche di *Rhizoctonia solani* (Sneh *et al.*, 1991). Dagli isolamenti erano ottenute le colture in purezza degli isolati, costituite da un micelio con tessitura grossolana e raggiata che, a maturità, assumeva colorazione bruna rossastra, di intensità media. Nelle colonie, dopo 5 giorni di accrescimento a  $23^{\circ}\text{C} \pm 1$ , iniziavano a osservarsi numerosi sclerozi, sovente aggregati, che, a maturità, apparivano sferoidali, bruno scuri, con diametro variabile da 0,2 a 1,6 (media: 0,6) mm. Per confermare l'identificazione con l'analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer), il DNA del ceppo DB14LUG01 isolato da *L. coronaria* veniva estratto da una coltura del fungo ottenuta in purezza, su PDA. Per l'estrazione veniva utilizzato il Nucleospin Plant kit (Macherey Nagel). Una successiva reazione di PCR con i primer ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) amplificava la regione intergenica tra le sequenze codificanti per gli RNA ribosomali 28S e 18S, comprendente la sequenza del rRNA 5S. Sequenziando il prodotto dell'amplificazione, si otteneva una sequenza di 609 paia di basi (Gene Bank accession number KM596899) che, analizzata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) ( $E = 0$ ), identificava come *R. solani* l'isolato fungino ottenuto da *L. coronaria*, confermando l'identificazione morfologica.

#### Inoculazione artificiale e riproduzione dei sintomi

Per soddisfare i postulati di Koch, la patogenicità dell'isolato di *R. solani* DB14LUG01 ottenuto da *L. coronaria* era dimostrata inoculando il ceppo su piante apparentemente sane dello stesso ospite, allevate in esterno. L'inoculo del fungo consisteva in una coltura allevata in purezza per 10 giorni, su piastre contenenti PDA. L'inoculazione avveniva

applicando dischetti di micelio (diam. 8 mm) sulle foglie e sui fusti di 4 piante di *L. coronaria* di sei mesi di età. Le piante inoculate erano chiuse in camera umida. Quattro piante testimone, allevate nelle stesse condizioni, erano trattate con dischetti di PDA privi di inoculo. La temperatura dell'ambiente in cui avveniva il test di patogenicità variava tra 15 e  $28^{\circ}\text{C}$  circa. I primi sintomi comparivano 4 giorni dopo l'inoculazione artificiale e dalle foglie alterate era possibile reisolare *R. solani*. Trascorsi 15 giorni, tutte le piante inoculate apparivano morte, mentre, invece, le piante testimone restavano sane. Da queste i reisolamenti non producevano alcuna colonia.

#### Caratterizzazione degli isolati

Per stabilire il gruppo di anastomosi di appartenenza, tre isolati di *R. solani* ottenuti da *L. coronaria* erano messi a confronto con ceppi di *R. solani* di gruppi noti. I dischetti dell'isolato da caratterizzare e del ceppo di confronto (3 replicazioni) erano disposti in piastre Petri (2 per piastra) contenenti agar-acqua (2%). Il punto di contatto delle ife generate dalle due colonie in accrescimento era colorato con blu di anilina (0,01%) per le successive osservazioni al microscopio ottico (Parmeter *et al.*, 1969). *R. solani* isolata da *L. coronaria* generava anastomosi (bassa frequenza di fusione: Fusion Frequency < 30%) solo con il ceppo di *R. solani* ATCC N° 58946, afferente al gruppo AG-1 (Sneh *et al.*, 1991). Le caratteristiche del micelio e degli sclerozi precedentemente riportate nella descrizione degli isolati, consentivano di attribuire la *R. solani* proveniente da *L. coronaria* al sottogruppo AG 1-IB (Tipo 1 di Sherwood) (Sherwood, 1969).

#### Conclusioni

*R. solani* non è mai stata riportata su *L. coronaria*, né in Italia, né altrove. Pertanto, questa è la prima segnalazione al mondo di *R. solani* su questo ospite.

Per prevenire gli attacchi di *R. solani* su *L. coronaria*,

occorre evitare o attenuare le condizioni che favoriscono l'aumento di umidità, sia nel terreno, sia nell'ambiente in cui le piante sono coltivate. Nelle coltivazioni professionali, l'utilizzo dei sistemi di irrigazione a pioggia andrebbe evitato, soprattutto durante la notte, e sostituito, se possibile sotto il profilo economico, con un sistema di irrigazione per microportata a goccia. L'aumento della spaziatura tra le piante in coltivazione, evitando il contatto tra fusti e, soprattutto, tra foglie, attenua il rischio di trasmissione del parassita, rischio elevato nel caso di *R. solani* del gruppo AG-1. Gli stessi accorgimenti valgono per le piante messe a dimora in giardino, dove l'uso dell'irrigazione a pioggia, se impossibile da evitare, andrebbe limitato alle prime ore mattutine. Particolare attenzione va posta alle aree soggette a ombra parziale, dove l'umidità persistente favorisce il parassita. Riguardo alla trasmissibilità del microrganismo, occorrerebbe indagare, con opportuni saggi *in vitro*, la possibilità che *R. solani* si trasmetta tramite seme infetto di *L. coronaria*. Per quanto concerne la lotta genetica, nonostante *R. solani* sia assai polifaga, occorrerebbe saggiare in prove di suscettibilità l'eventuale esistenza di cultivar resistenti, almeno in parte, al patogeno fungino. Nel caso di attacchi in coltivazioni professionali, le piante infette vanno eliminate quanto prima, allontanando anche il terreno contenuto nei vasi di coltivazione. Inoltre, è consigliabile tenere sotto controllo soprattutto i contenitori limitrofi. Infine, l'efficacia e l'eventuale comparsa di effetti collaterali di alcuni principi attivi come tolclofos metile, iprodione e tiofanate metile (quest'ultimo non impiegabile in ambiente protetto) e del microrganismo *Trichoderma harzianum* andrebbe saggiata in prove di lotta preventiva nei confronti di *R. solani* AG-1 isolata da *L. coronaria*, tenendo presente che la sensibilità di *R. solani* ai fungicidi può variare a seconda del gruppo (e sottogruppo) di anastomosi di appartenenza (Kataria *et al.*, 1991; Blazier e Conway, 2004).

#### Ringraziamenti

Lavoro finanziato nell'ambito del Settimo Programma Quadro Europeo per la Ricerca (FP7/2007-2013) "PLANTFOODSEC - Plant and Food Biosecurity", contratto n° 261752.

#### Lavori citati

Altschul S. F., Madden T. L., Schaffer A. A., Zhang Z., Miller W., Lipman D. J. (1997) – Gapped BLAST and



Figura 4 – Piante di *Lychnis coronaria* allevate in bordura, colpite da *Rhizoctonia solani* AG-1 IB.

Figura 4 – Web blight caused by *Rhizoctonia solani* AG-1 IB on plants of *Lychnis coronaria* growing in a mixed border.

PSI-BLAST: a new generation of protein database search programme. *Nucleic Acids Research*, 25, 3389-3402.

Blazier S. R., Conway K. E. (2004) – Characterization of *Rhizoctonia solani* isolates associated with patch disease on turfgrass. *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*, 84, 41-51.

Kataria H. R., Verma P. R., Gisi U. (1991) – Variability in the sensitivity of *Rhizoctonia solani* anastomosis groups to fungicides. *Journal of Phytopathology*, 133, 121-133.

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

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.