



Doctoral Thesis

Studio sulla resistenza della *Botrytis cinerea* all'MBC

Author(s):

Gessler, Cesare

Publication Date:

1977

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000102826> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

16. Mai 1977

Diss. ETH no 5943

STUDIO SULLA RESISTENZA DELLA BOTRYTIS CINEREA ALL'MBC

Dissertazione presentata alla
SCUOLA POLITECNICA FEDERALE DI ZURIGO

per il conseguimento del titolo di
dottore in Scienze Tecniche

da

C E S A R E G E S S L E R

Dipl. ing. agr. ETH

nato l'8 aprile 1949

di Basilea (Ct. Basilea)

accettata su proposta dei

Prof. Dr. H. Kern, Relatore

Prof. Dr. V. Delucchi, Correlatore

1977

ABSTRACT

Single conidia cultures were performed for 6 following generations from 2 field-isolated strains of Botrytis cinerea Pers. ex Fr., one strain being sensible and the other one completely resistant to the fungicide MBC. From the sensible strain a resistant mutant was artificially produced. The 3 strains had conidia of different size, the sensitive one having the smallest conidia. The adsorption of C^{14} -MBC by the conidia was equal for all 3 strains, whereas the absorption of C^{14} -MBC was significantly higher in conidia of the sensible strain. Living mycelium of the sensible strain adsorbed more C^{14} -MBC than that of the resistant strains. The absorbed C^{14} -MBC by the sensible strain was bound to a protein, which constitutes about 0,05 to 0,1 % of the total weight of the mycelium. The protein-MBC complex is unstable. The MBC has no influence on the permeability of the cell membrane. It is not transported in the hyphae.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit sind einige Unterschiede zwischen gegenüber dem systemischen Fungizid MBC resistenten und sensiblen Botrytis cinerea-Stämmen aufgezeigt.

1. Von einem resistenten und einem sensiblen B. cinerea-Stamm wurden 6 aufeinanderfolgende Einspor-Isolationen gemacht und so homokaryontische Stämme erhalten.
2. Eine resistente Mutante vom sensiblen Stamm wurde durch chemische Mutagene induziert.
3. Die 3 Stämme hatten die gleiche Keimungsrate, unabhängig von der beigefügten MBC-Konzentration. Die Keimschläuche des sensiblen Stammes blieben aber unter dem Einfluss von MBC kurz.
4. Das Wachstum des sensiblen Stammes auf Agar und in Flüssigmedium wurde durch 0.05 ppm MBC um 50 % gehemmt. Die Entwicklung der resistenten Stämme wurde auf Agar erst bei 500 ppm um 25 % gehemmt.
5. Die 3 Stämme unterschieden sich durch die Länge der Konidien; sie war beim natürlich resistenten Stamm 9.7 μm , bei der Mutante 8.3. μm und beim sensiblen Stamm 7.6 μm .
6. Konidien der Stämme 150 und 371 adsorbierten die gleiche Quantität von C^{14} -MBC: die Adsorption verlief sehr rasch. Mehr als 90 % des aus dem Medium verschwundenen Fungizids wurde in den ersten 2 Minuten adsorbiert.
Die Adsorption war, berechnet in % der anfangs beigegebenen MBC-Menge, direkt und linear abhängig von der Konidien-Konzentration (1×10^7 bis 70×10^7 Konidien/ml). Die Adsorptionswerte blieben, unabhängig von der Lösung, konstant (Phosphat-Puffer, physiologische Salzlösung und dest. Wasser). Wurden die Konidien sterilisiert, verminderte sich die Adsorption um ca. 20 %.

7. Die Konidien der Stämme 150 und 371 unterschieden sich in der Adsorption.

8. Die 3 Stämme unterschieden sich durch verschiedene Adsorptionsleistung des Myzels, sowohl während des Wachstums als auch in der Ruhepause. Der sensible Stamm adsorbierte lebend mehr C^{14} -MBC in für ihn subletaler Konzentration als die resistenten Stämme. Bei letaler Konzentration oder nach Hitzebehandlung war die Adsorption aber wieder gleich wie die der resistenten Stämme.

9. Das Fungizid wurde nicht in den Hyphen transportiert.

10. Das adsorbierte MBC wurde aus dem Myzel extrahiert. Ein Teil davon war an ein Molekül mit einem Molekulargewicht über 100.000 gebunden. Dieser Teil war klein für die resistenten Stämme (3-4 %), größer für den sensiblen Stamm (12 %).

Der Komplex "MBC - unbekannte Substanz" war labil und konnte durch Proteinfällungstechniken zerstört werden. Der Komplex konnte mittels DC nicht identifiziert werden.

11. Extrakte vom sensiblen Stamm, ohne MBC gewachsen, banden 4 Mal mehr C^{14} -MBC als Extrakte vom resistenten Stamm. Die gebundene Menge, ausgedrückt in ng C^{14} -MBC/mg Myzel, war abhängig von der C^{14} -Konzentration; in % der beigefügten MBC-Menge berechnet, blieb sie aber konstant. Myzelextrakte vom sensiblen Stamm, der in MBC gewachsen war oder 450 Minuten vor der Messung in MBC-Lösung gelegt wurde, banden noch immer C^{14} -MBC, aber nur in kleineren Mengen.

12. Das Fungizid hatte keinen Einfluss auf die Permeabilität der Zellmembranen der 3 Stämme. Die Proteinmenge, welche von Myzelmatten des sensiblen B. cinerea-Stammes in das Medium entlassen wurde, erhöhte sich leicht nach 4 Stunden in 5 ppm MBC.

13. Die erhaltenen Resultate wurden mit schon publizierten Arbeiten verglichen. Man kommt zum Schluss, dass der Wirkungsmechanismus von MBC höchstwahrscheinlich auf der Komplexbildung mit einer Proteinuntereinheit der Mikrotubuli basiert. Diese werden dadurch in ihrer Funktion gestört.

Die grössere Adsorption (20 %) beim sensiblen Stamm von B. cinerea unter lebenden Bedingungen gegenüber den resistenten Stämmen kann der gebundenen C^{14} -MBC Quantität entsprechen.

Die Resistenz von B. cinerea-Stämmen kann auf der Unfähigkeit der Komplexbildung der tubulären Proteine von diesen Stämmen beruhen, wie bei Aspergillus nidulans.