

Comportamento biologico di *Botrytis cinerea* su bacca d'uva

*Nicola Bellone

RIASSUNTO

L'utilizzo del SEM su epidermide di bacche d'uva infettate **naturalmente** da *Botrytis cinerea* ha condotto alle conclusioni che il patogeno, per il suo sviluppo, può avvalersi di diverse forme di penetrazione .

SUMMARY

The use of the SEM on the grapes' skin **naturally** infected by *Botrytis cinerea*, has taken to the conclusion that the pathogen, for its development, is able to use different forms of penetrations.

Introduzione

I processi , interessati alla penetrazione dell'ospite da parte di *Botrytis cinerea* , sono stati studiati da tempo e diversi ricercatori hanno proposto una propria interpretazione; alcuni sono stati fautori di penetrazione meccanica (Brown e colleghi 1934, 1936, 1948, 1955); altri sostengono che la stessa fosse mediata da enzimi (McKeen 1974, Linsken e Haage 1963, Verhoeff 1973) ; e, non per ultimi, si aggiungono gli assertori di penetrazioni dovute a lesioni sulla cuticola (Bessis 1972).

Lo scopo di questo studio è la verifica del decorso patologico della infezione naturale di *Botrytis cinerea* in bacca d' uva.

Materiali e metodi

I grappoli appartenenti ad ambedue le varietà coltivate (Trebbiano e Montepulciano) sono stati prelevati nella seconda decade di Settembre, in prossimità della vedemmia in un vigneto sito a Controguerra (TE).

La raccolta è avvenuta in una parcella non trattata chimicamente, in fondovalle, dove le condizioni di alta umidità e scarsa ventilazione erano favorevoli allo sviluppo del patogeno. Sono stati scelti dei grappoli che ne mostravano i primi sintomi.

I grappoli, dopo il prelievo, sono stati posti in un frigo portatile e conservati poi a 4°C per 48 ore. Dalle bacche sono state asportate porzioni di buccia che venivano tagliate in quadratini di circa 1 cm di lato, dai quali, per mezzo di uno stereomicroscopio , sono stati selezionati settori infetti . Sono stati anche tagliati cubetti di mesocarpo con pericarpo di circa 1 mm di lato

Il materiale prelevato è stato fissato in glutaraldeide al 5% in tampone fosfato a pH 7,2 in contenitori posti a 4° C fino al momento della preparazione per lo studio al microscopio elettronico a scansione (SEM) . I campioni sono stati disidratati mediante passaggi , di 20 minuti l'uno, in una serie di soluzioni idroalcoliche a concentrazione crescenti (30% v/v, 50%, 70%, 85%, 95%, 100%) e poi in un bagno di acetone ed infine in un critical point CPD020 Balzers).

I campioni disidratati sono stati sistemati su stub di alluminio, fissati con colla di grafite colloidale ad evaporazione rapida e metallizzati con un film di oro di 150Å usando uno sputter coater Balzers SCD040 con portacampioni robuste.

Le osservazioni sono state effettuate con un microscopio Philips SEM 505 e le immagini sono state riprese con pellicola Polaroid 55.

Risultati e discussioni

La foto n.1 mostra il patogeno nel suo completo sviluppo che si presenta con numerosi conidiofori dentriformi e settati, portanti alla sommità i conidi.

La foto n.2 mostra i rami conidiofori che hanno perso totalmente o in parte i conidi che si sono riversati sull' epidermide della bacca. L' osservazione evidenzia delle macro e micro lesioni come riportato anche da diversi ricercatori (Bessis 1972 ed altri).

La foto n. 3 evidenzia una lacerazione dell epidermide con all' interno numerosi conidi e una estroflessione prossima alla lacerazione epidermica.

Quest'ultimo particolare è riportato nella foto n.4 che evidenzia numerosi conidi all' interno che premono in modo da rendere globosa l' epidermide; si nota anche una penetrazione, con formazione dell' apressorio, in una microlesione. Questa pressione esercitata dai conidi provoca la lacerazione della stessa (evidente nella foto n 5 e deducibile dalla disposizione dei bordi dell' epidermide).

La foto n 6 permette di vedere l'interno, in particolare i conidi frammisti a materiale derivante probabilmente dalla frammentazione della lamella mediana.

La foto 7 evidenzia un'altra lacerazione con dentro numerosi conidi, particolare interessante, alcuni alle prime fasi di germinazione con sviluppo dei primi conidiofori ben visibili nella foto 8-9 (la foto 9 è la foto 8 ruotata)

Queste osservazioni fanno supporre ad uno sviluppo miceliare sotto epidermide in seguito alla penetrazione dei conidi che sfruttano micro e macro lesioni e a maturità provoca l'estroflessione e la conseguente lacerazione dell'epidermide con sviluppo dei conidiofori.

Nella foto n. 10 si nota un' epidermide porosa dovuta probabilmente ad alterazioni tissutali ,ben visibile all'osservazione, in cui i conidi hanno una penetrazione diretta non mediata da apressori.

Nella foto n.11 (10.000 ingrandimenti) viene evidenziato questo tipo di penetrazione.

Conclusioni

Questo studio al SEM evidenzia delle colonizzazioni, mediate da macro e microlesioni, il successivo sviluppo sottoepidermide, le conseguenti lacerazioni e sviluppo dei conidiofori .

E' stato possibile evidenziare forme di penetrazione dirette, attraverso l'epidermide indebolita probabilmente da fattori biotici o abiotici, che escludono la formazione degli apressori e penetrazioni dirette che si avvalgono della formazione di apressori.

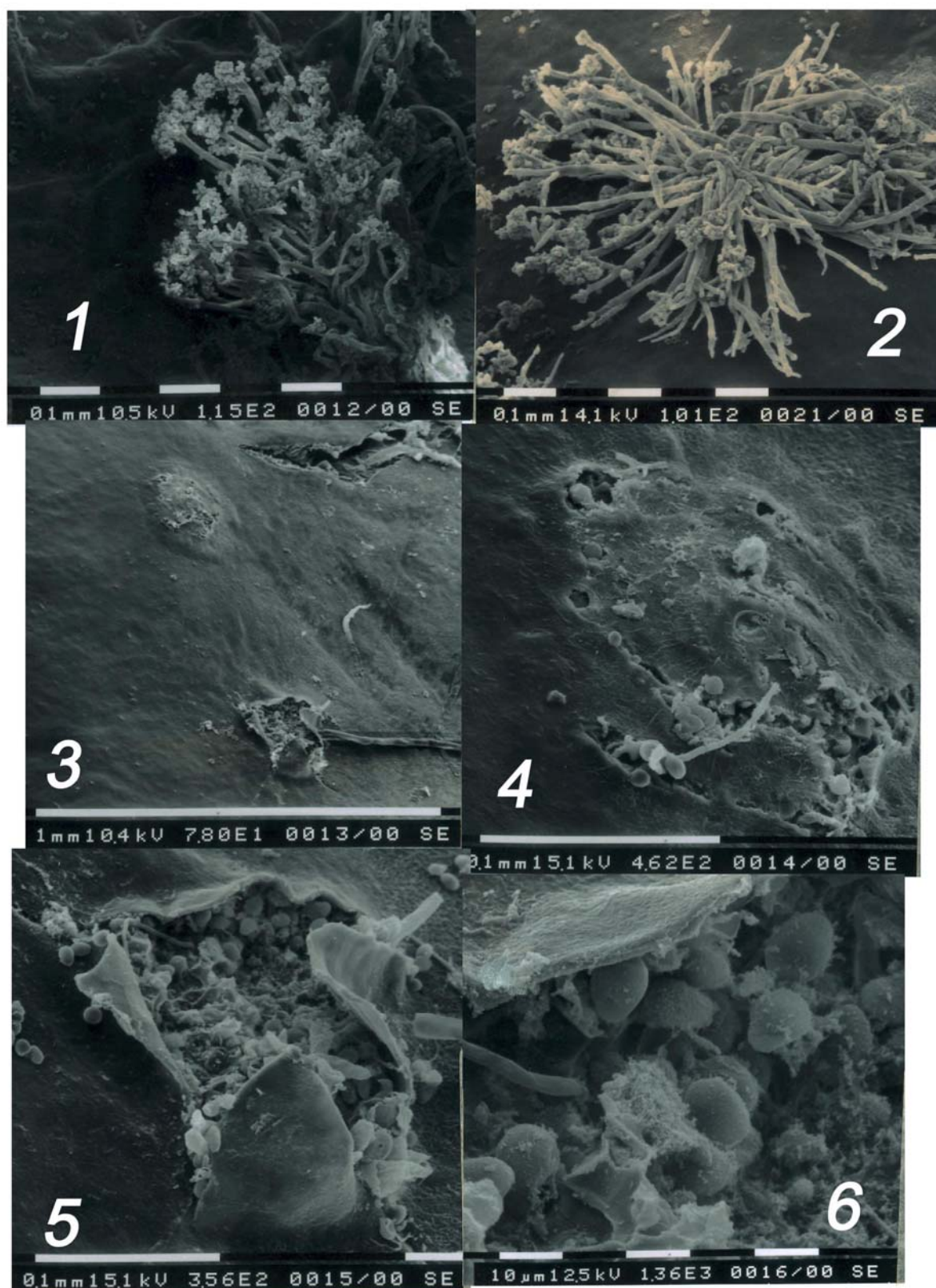
Possiamo concludere, attraverso l'analisi del decorso di una infezione naturale, come il patogeno utilizzi ogni forma di penetrazione favorevole per il suo sviluppo.

***Nicola Bellone**

Dott. Agronomo , Dott. Biologo e Dott. Enologo

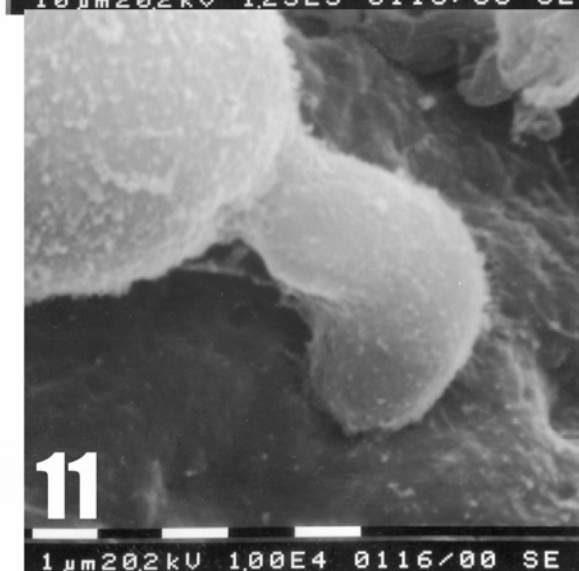
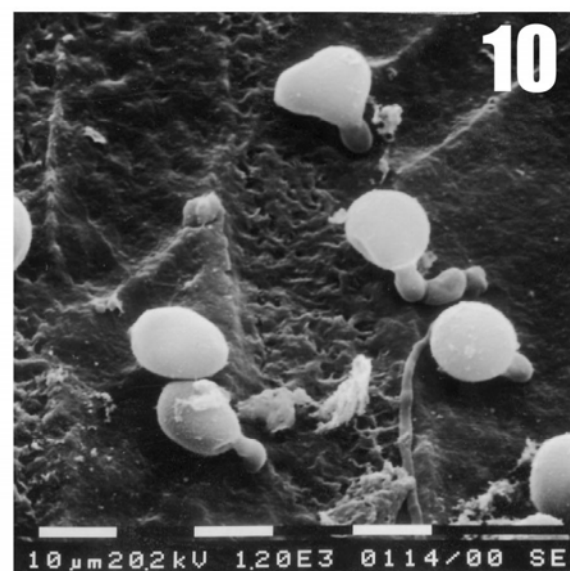
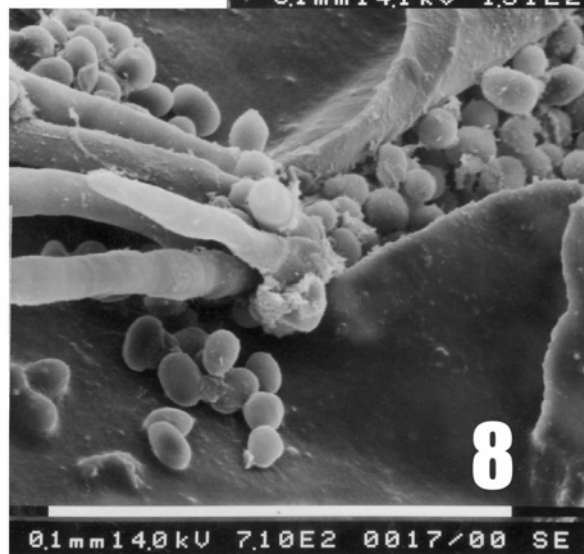
BIBLIOGRAFIA

- BESSIS R.(1972). C.r. hebd. Sèanc. Acad. Sci , Paris, Ser. D 274, 2991-2994
- BROWN, W. 1936. The physiology of host-parasite relations. – Bot. Rev. 5: 236-281
- BROWN, W. 1955. On the physiology of parasitism in Plants. – Ann. Appl. Biol. 43: 325-341
- CICCARONE, A. 1970. Attuali cognizioni intorno a *Botrytis cinerea* Pers. sulla vite. Attiv. Accad. It. Vite Vino 22: 1-33
- GARTEL, W. 1970. Über die Eigenschaften der *Botrytis Cinerea* Pers als Rebenparasit unter Besonderer Berücksichtigung von Infektion und inkubation. Weinberg Keller 17: 15-52.
- GARTEL, W. 1971. *Botrytis cinerea*_ein gefährlicher Rebenparasit. Obstbau Weinbau 8: 38-41.
- JARVIS, W.R. 1962d. Splash dispersal of spores of *Botrytis cinerea* Pers. Nature, (Lond.) 193: 599.
- LINSKENS, H.F., AND HAAGE, P. 1963. Cutinase-Nachweis in phytopathogene Pilzen. Phitopathol. Z. 48: 306-311
- MCKEEN, W. E. 1974. Mode of penetration of epidermal Cell walls of *Vicia faba* by *Botrytis cinerea*. Phytopathology 64: 455.
- NELSON, K. E., KOSUGE, T., AND NIGHTINGALE, A. 1963. Large scale production of spores to botrytise grapes for commercial natural sweet wine production. Am. J. Enol. Vitic. 14: 118-128
- VERHOERF, K. 1973 Determination of pectolytic enzyme Activity in extracts of three *Botrytis* species, before and During germination. Abstr. Pap. 2nd Int. Congr. Plant Pathol. Abstr. 0969.



Figg. 1-6 Penetrazione di *B. cinerea* in bacche d'uva.

1- Sviluppo completo del patogeno. 2- Rami conidiofori con perdita totale e parziale dei conidi. 3- Sacca aperta e sacca in fase di apertura. 4- Particolare di sacca prossima all'apertura. 5- Sacca partita con conidi all'interno. 6- Particolare ingrandito della fig. 5.



Figg. 7-11 Sviluppo conidiofori e penetrazione diretta.

7- Sacca aperta con inizio dei conidiofori. 8- Particolare dello sviluppo dei tubi germinativi. 9- Inserimento nell'epidermide del tubo germinativo. 10- Conidi in penetrazione diretta. 11- Particolare di un conidio in penetrazione diretta.