



HAL
open science

Botrytis pseudocinerea, une nouvelle espèce distincte de B. cinerea responsable de la pourriture grise de la vigne.

Anne Sophie A. S. Walker, Elisabeth E. Fournier

► To cite this version:

Anne Sophie A. S. Walker, Elisabeth E. Fournier. Botrytis pseudocinerea, une nouvelle espèce distincte de B. cinerea responsable de la pourriture grise de la vigne.. 10. Conference Internationale sur les Maladies des Plantes, Association Française de Protection des Plantes (AFPP). Tour, FRA., Dec 2012, Tours, France. hal-02811143

HAL Id: hal-02811143

<https://hal.inrae.fr/hal-02811143>

Submitted on 6 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AFPP- 10^e CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS- 3, 4 ET 5 DÉCEMBRE 2012

**BOTRYTIS PSEUDOCINEREA, UNE NOUVELLE ESPECE DISTINCTE DE *B. CINEREA*
RESPONSABLE DE LA POURRITURE GRISE DE LA VIGNE**

A.-S. WALKER^{1*} et E. FOURNIER²

¹INRA, UR BIOGER-CPP, Avenue Lucien Bretignières, F78850 Thiverval-Grignon

²INRA, UR BGPI, Campus international de Baillarguet, F34398 Montpellier

*walker@versailles.inra.fr

RESUME

La pourriture grise de la vigne est générée par un complexe de deux espèces cryptiques, vivant en sympatrie, *Botrytis cinerea* est l'espèce majoritaire, responsable des dégâts à la vendange, alors que *B. pseudocinerea* constitue l'espèce nouvellement décrite, minoritaire dans les populations et prépondérante au printemps. Cet article a pour objectif d'établir cette seconde entité précédemment décrite comme « *Botrytis* groupe I » en tant qu'espèce distincte, en la comparant à *B. cinerea* sur le plan phylogénétique, biologique, morphologique et écologique. *B. pseudocinerea* (tel. *Botrytotinia pseudofuckeliana*) est maintenant une espèce officiellement décrite, disponible dans les collections internationales.

Mots-clés : *Botrytis cinerea*, *Botrytis pseudocinerea*, complexe d'espèces, spéciation, vigne.

SUMMARY

**BOTRYTIS PSEUDOCINEREA, A NEW SPECIES DISTINCT FROM *B. CINEREA*
CAUSING GREY MOULD ON GRAPEVINE**

Grapevine grey mould is caused by a complex of two cryptic species living in sympatrie. *Botrytis cinerea* is the main species, responsible for the damages observed at vintage. *B. pseudocinerea* is the newly described species, present at low frequency in populations but with a higher Spring abundance. This papers aims to establish this second entity, previously known as *Botrytis* group I, as a separate species, while comparing it to *B. cinerea* with phylogenetic, biological, morphological and ecological criteria. *B. pseudocinerea* (tel. *Botrytotinia pseudofuckeliana*) is now a fully described species, available in international collections.

Keywords: *Botrytis cinerea*, *Botrytis pseudocinerea*, species complex, speciation, grapevine.

INTRODUCTION

La définition de l'espèce est une question largement débattue dans la communauté scientifique, pour aboutir récemment à la définition suivante, illustrée dans la Figure 1 : « Une espèce est constituée d'un sous-ensemble d'organismes, connecté à d'autres sous-ensembles au sein du réseau généalogique du vivant, et délimité par deux événements de spéciation ou un événement de spéciation et un autre d'extinction » (Samadi & Barberousse 2006). La spéciation devient alors une division définitive du réseau généalogique.

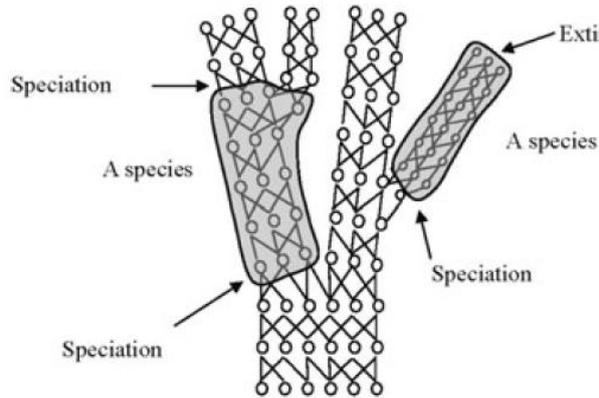


Figure 1 : Définition de l'espèce
Species definition
D'après (Samadi & Barberousse 2006)

Les espèces sont indiquées dans des ensembles grisés. Les cercles représentent des individus et les traits les relations de parenté entre ces individus. Une espèce est délimitée dans le temps par un événement de spéciation (origine) et un événement d'extinction ou d'une nouvelle spéciation.

En pratique, la définition de l'espèce a longtemps été confondue avec les critères utilisés pour la reconnaître et la délimiter. Tout critère qui permettra de montrer qu'un ensemble d'individus appartient à une communauté de reproduction ayant une histoire évolutive autonome est pertinent. Les méthodes et la difficulté d'observation pouvant varier selon les espèces, il n'est pas étonnant de constater qu'aucun critère n'est satisfaisant pour tous les organismes, et que plusieurs critères sont généralement utiles pour caractériser une nouvelle espèce. Parmi tous les critères disponibles plusieurs sont d'un intérêt particulier chez les champignons (Giraud *et al.* 2008) :

- le critère biologique, basé sur l'observation de l'interfécondité. L'incompatibilité reproductrice (ou isolement reproducteur) de deux ensembles d'individus confirme qu'ils sont divergents. De manière pratique, il est possible de croiser au laboratoire de nombreuses espèces de champignons et d'observer la production d'une descendance.
- le critère phénétique, basé sur l'observation des ressemblances morphologiques héréditaires au sein d'un ensemble. La description des structures sexuées et asexuées est traditionnellement la base de la reconnaissance en mycologie.
- le critère écologique, basé sur la capacité d'un ensemble d'individus à s'adapter à une niche écologique particulière. Ce critère est particulièrement pertinent pour les champignons, qui présentent une grande variabilité de styles de vie (parasitisme, saprophytisme ou symbiotisme)
- le critère phylogénétique, basé sur la mesure de la divergence entre les séquences d'ADN des individus. Ce critère est particulièrement commode, car universel et particulièrement discriminant.

Par ailleurs, plusieurs modes de spéciation sont observés chez les champignons. La spéciation est dite allopatrique lorsque les deux groupes se différencient dans des lieux séparés par des barrières géographiques (océans, montagnes), empêchant le flux de gènes entre les entités et entraînant donc l'isolement reproducteur. A l'inverse, dans le cas de la spéciation sympatrique, l'isolement reproducteur est généré en l'absence de barrière évidente au flux de gènes et possiblement sur le même hôte (Giraud *et al.* 2008). Ce mode de spéciation est relativement fréquent chez les champignons qui, en s'adaptant à des plantes hôtes spécifiques, finissent par isoler des populations distinctes qui peuvent cependant cohabiter dans un même paysage.

Le genre *Botrytis* (Ascomycota) contient 22 espèces et une espèce hybride. Une phylogénie récente montre qu'il est constitué de deux clades, l'un groupant des espèces capables de se développer sur des plantes mono et dicotylédones, et l'autre sur des plantes dicotylédones uniquement (Staats *et al.* 2005). Au sein de ce second clade, *B. cinerea* (tel. *Botryotinia fuckeliana*) présente le plus large spectre d'hôtes (min. 220 plantes dont beaucoup de cultures légumières, fruitières et ornementales). Cette espèce est décrite comme très variable, tant au niveau de sa morphologie que de sa diversité génétique, ce qui suggère de grandes tailles de population et une recombinaison génétique régulière et intense, par exemple liée à la reproduction sexuée (Fournier & Giraud 2008). Depuis longtemps, les éléments transposables (*i.e.* des séquences d'ADN capables de se déplacer et de se multiplier de manière autonome dans le génome) *boty* et *flipper* sont utilisés pour discriminer les individus de *B. cinerea*, nommés *transposa* s'ils les contiennent, ou *vacuma* s'ils ne les contiennent pas (Giraud *et al.*, 1999). Ces marqueurs moléculaires, associés à des marqueurs microsatellites (Fournier *et al.*, 2002) ont été à la base de la caractérisation de deux espèces vivant en sympatrie : (1) *B. cinerea stricto sensu* ou groupe II, espèce dominante dans les populations et contenant des souches *transposa* et des souches *vacuma* et (2) *Botrytis* groupe I, espèce minoritaire, supposée ne contenir que des souches de type *vacuma* (Fournier *et al.*, 2005; Leroux *et al.*, 2006). Bien que démontrée, la caractérisation de cette nouvelle espèce n'avait jamais été produite de manière formelle. Ce travail vise donc à établir définitivement le groupe I de *Botrytis* comme une nouvelle espèce, en utilisant les critères d'espèces évoqués plus haut. Le nom proposé est *B. pseudocinerea* (tel. *Botryotinia pseudofuckeliana*).

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL BIOLOGIQUE

Les souches pures du genre *Botrytis* proviennent des collections de l'INRA BIOGER ou de collections internationales. Ces souches ont servi pour la caractérisation fine utilisant les 4 critères d'espèce définis plus haut.

Nous avons également collecté 1088 souches champenoises, soit sur vigne, soit sur ronce, entre l'automne 2005 et le printemps 2007 (4 dates de collecte) des populations de *Botrytis sp.*, afin d'estimer la structure des populations naturelles.

CRITERE PHYLOGENETIQUE

Nous avons actualisé la phylogénie du genre *Botrytis*, en intégrant de nouvelles souches du groupe II et des souches du groupe I dans celle préalablement établie (Staats *et al.* 2005). Nous avons séquencé 3 gènes choisis pour être de bons marqueurs phylogénétiques (*G3PDH*, *HSP60*, *MS47*) puis établi un arbre phylogénétique pour chaque gène selon la méthode du maximum de vraisemblance. Nous avons ensuite comparé la topologie de ces arbres pour vérifier leur congruence (indice *Icong*) puis nous avons établi un arbre consensus en concaténant les séquences individuelles des trois gènes. Nous avons enfin testé une horloge moléculaire permettant d'estimer le temps de divergence entre les espèces des groupes I et II.

CRITERE BIOLOGIQUE

Après avoir déterminé leur type sexuel, nous avons réalisé des croisements inter et intra-groupes selon une méthode précédemment établie (Faretra *et al.* 1988). Pour chaque croisement, et après incubation de 4 à 6 mois, nous avons observé la production d'apothécies, organes de la reproduction sexuée chez *Botrytis*.

Nous avons également étendu ce critère au niveau populationnel, en établissant le profil allélique des 1088 individus (populations naturelles) pour 8 loci microsatellites neutres (Fournier *et al.* 2002) et en recherchant la présence de l'élément transposable *flipper*. Nous avons ensuite utilisé une méthode d'assignation (logiciel Structure) qui permet d'affecter les

individus dans des clusters génétiquement stables. Nous avons ensuite mesuré la diversité génétique dans ces clusters cohabitant dans les populations naturelles de pourriture grise, estimant ainsi les potentialités de recombinaisons génétiques dans la nature.

CRITERE PHENETIQUE

Nous avons mesuré le diamètre et la surface des conidies (spores asexuées) dans des conditions standardisées de souches des groupes I et II. Une observation des caractères morphologiques des colonies, du mycélium, des conidies, des apothécies et des spermaties a été réalisée par une spécialiste de la taxonomie des champignons pour établir la diagnose latine nécessaire à l'établissement de toute nouvelle espèce. Enfin, nous avons mesuré en conditions standardisés le taux de germination et la vitesse de croissance sur milieu PDA.

CRITERE ECOLOGIQUE

Nous avons noté l'abondance relative des deux espèces au cours du temps, au sein d'une population naturelle, collectée soit sur matériel vivant (baies infectées à l'automne), soit sur matériel mort (pièces florales sèches au printemps). De plus, nous avons mesuré la vitesse de croissance sur des milieux synthétiques plus ou moins riches en sucres et à diverses températures (plage allant de 7°C à 27°C, pour un optimum connu à 20°C pour cette espèce). Nous avons aussi noté la production de sclérotés (forme de conservation du champignon) produits à différentes températures par les souches des deux espèces. Enfin, nous avons mesuré l'agressivité des isolats des 2 groupes en les inoculant sur feuilles de haricot et de tomate et en mesurant le diamètre des nécroses générées au cours du temps.

RESULTATS ET DISCUSSION

CRITERE PHYLOGENETIQUE

Les arbres individuels construits pour les gènes *G3PDH*, *HSP60* et *MS547*, ainsi que l'arbre concaténé (Figure 1) construit à partir des séquences précédentes, montrent des topologies congruentes, de manière significative (indice *I*cong ; voir détail dans (Walker *et al.* 2011)). Les souches du groupe I forment un clade proche mais distinct de *B. cinerea*, fortement différencié par une valeur de bootstrap de 100%, ce qui caractérise généralement deux espèces différentes. De manière surprenante, ces deux espèces ne sont pas des espèces sœurs puisque *B. cinerea* est plus proche de *B. fabae* que de *Botrytis* groupe I. Les tests statistiques confirment l'hypothèse d'une vitesse d'évolution moléculaire constante sur toutes les branches de l'arbre, ce qui permet d'estimer un temps de divergence entre les deux espèces de 7 à 18 millions d'années.

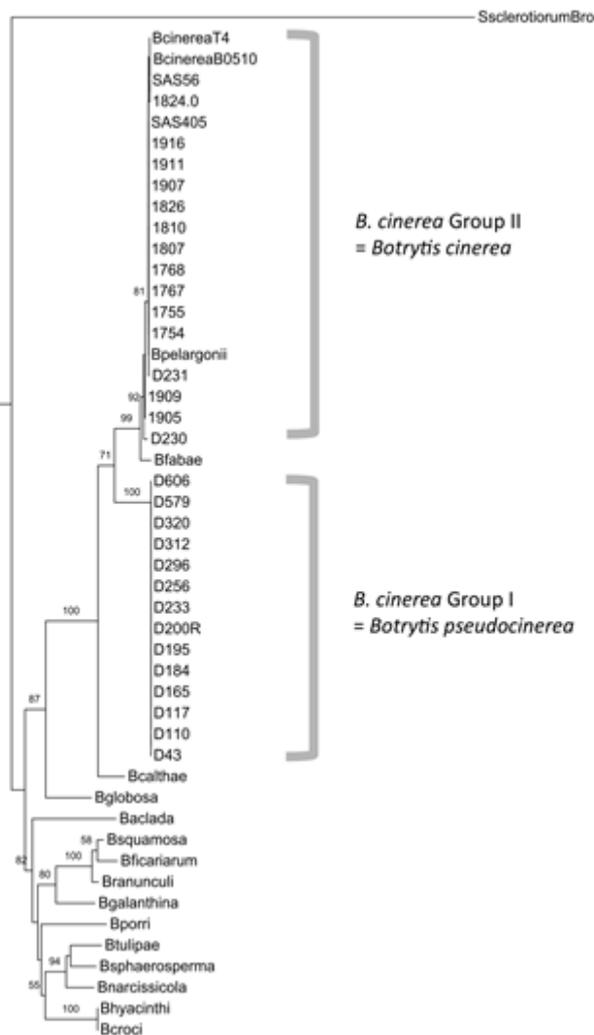


Figure 1: Arbre du genre *Botrytis*, montrant la position phylogénétique de la nouvelle espèce *B. pseudocinerea*.

Phylogenetic tree of the *Botrytis* genus, showing the phylogenetic position of the new species *B. pseudocinerea*.

Cet arbre a été construit à partir des séquences concaténées obtenues pour les gènes *G3PDH*, *HSP60* et *MS547*, soit une séquence concaténée de 2492 paires de bases. L'arbre consensus a été obtenu grâce à la méthode du maximum de vraisemblance (modèle HKY +I +G). Des permutations aléatoires des branches de l'arbre (100) permettent d'estimer le nombre de fois où une branche considérée est réellement considérée dans l'arbre. Plus cette valeur de bootstrap est forte, plus la structure de l'arbre est solide. La séquence concaténée équivalente de *Sclerotinia sclerotiorum* (espèce proche de *B. cinerea*) sert à enracer l'arbre.

CRITERE BIOLOGIQUE

Nous avons réalisé 69 croisements intra et interspécifiques (8 croisements intra-groupe II, 50 croisements intra-groupe I et 11 croisements inter-groupes), dont 26 croisements témoin (Walker *et al.* 2011). Seuls les croisements intra-groupe ont fourni des apothécies matures et viables, *i.e.* contenant des ascospores issues de la reproduction sexuée et capables de produire des colonies vivantes. Seul un croisement groupe II x groupe I a produit quelques apothécies, vides (sans ascospores) et avortées.

En complément de ces croisements inter-individus, nous avons également étendu le critère biologique au niveau populationnel en utilisant des marqueurs microsatellites neutres et des outils de génétique des populations pour estimer les flux de gènes entre les deux groupes. L'analyse par le logiciel Structure (qui assigne sans *a priori* les individus dans des clusters génétiquement homogènes) a permis d'estimer un nombre idéal de clusters à K=2. Le premier cluster (nommé cluster I) contient uniquement les individus du groupe I, alors que le cluster II contient uniquement les individus du groupe II (Figure 2). Cette assignation stricte en deux clusters indépendants montre bien l'indépendance génétique entre les 2 groupes. Une seconde analyse du cluster II uniquement permet de le subdiviser en deux sous-clusters, le cluster IIa contenant principalement des individus collectés sur ronce et le cluster IIb, contenant principalement des individus collectés sur vigne (Figure 2). Cette seconde subdivision confirme l'adaptation à l'hôte déjà démontrée (Fournier & Giraud 2008) chez l'espèce *B. cinerea*.

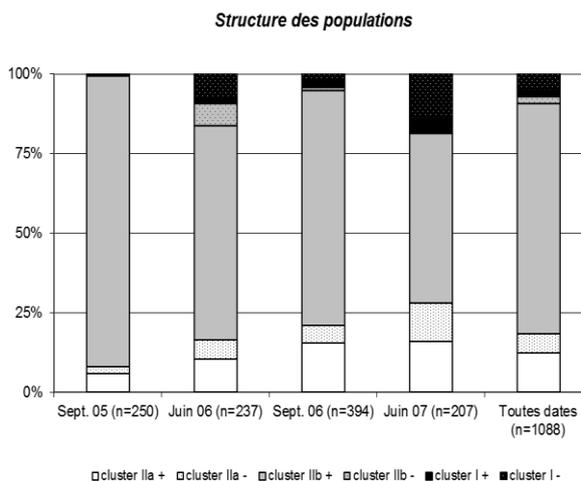


Figure 2 : Evolution de la structure des populations de *Botrytis* au cours du temps.
Evolution of *Botrytis* populations structure overtime.

Ce diagramme montre l'évolution de la taille de chaque cluster (cluster I : souches du groupe I ; cluster IIa : souches du groupe II majoritaire collectées sur ronce ; cluster IIb : souches du groupe II majoritaire collectées sur vigne) au cours du temps. Pour chaque cluster, le remplissage uni ou en motif à pois montre la proportion de souches comportant l'élément transposable *flipper* (+) ou non (-), respectivement.

L'espèce groupe I (cluster I, en noir) reste minoritaire, quelle que soit la date de collecte. L'élément transposable *flipper* est détecté dans tous les clusters, mais à forte fréquence pour les clusters II et à faible fréquence pour le cluster I. Ce résultat contredit les observations faites précédemment à partir d'un nombre limité de souches du groupe I, toutes trouvées *vacuma*. Ceci indique finalement que le marqueur *vacuma/transposa* est obsolète et ne doit plus être utilisé pour caractériser les 2 espèces, et plus largement, les populations de pourriture grise.

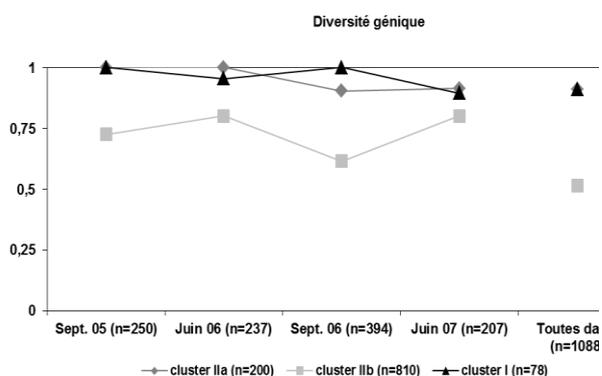


Figure 3 : Evolution de la diversité génique dans les 3 clusters de *Botrytis sp.* au cours du temps.

Evolution of genic diversity overtime in the 3 *Botrytis sp.* clusters.

La diversité génique (G/N soit le nombre de combinaisons uniques d'allèles sur les 8 loci testés, par rapport au total des individus d'un cluster) mesure la proportion de clones dans un cluster.

La diversité génique mesure, dans chaque cluster, la proportion de génotypes multilocus (ou GML, *i.e.* la combinaison unique d'allèles aux 8 locigénotypés) distincts par rapport au nombre total d'individus. En d'autres termes, cet indice mesure la proportion de clones dans chaque cluster. Cette proportion est proche de 1 pour les clusters I et IIa et de 0.75 pour le cluster IIb. Pour ces 3 clusters, la proportion de clones est donc faible, ce qui indique des populations très diversifiées génétiquement, subissant probablement d'importants flux migratoires et une recombinaison génétique liée à une reproduction sexuée intense. Les compartiments hébergeant les espèces des groupes I et II sont donc étanches mais leurs populations ont des comportements similaires.

CRITERE PHENETIQUE

Le mesure du grand diamètre des conidies elliptiques des individus des deux groupes, évaluée en condition standardisés, ne montre pas de différence significative ($12,04 \pm 1,55 \mu\text{m}$ pour le groupe I et $11,86 \pm 1,45 \mu\text{m}$ pour le groupe II). La mesure des surfaces de conidies ne permet pas non plus de distinguer les 2 groupes ($91,29 \pm 21,85 \mu\text{m}^2$ pour le groupe I contre $87,77 \pm 18,84 \mu\text{m}^2$ pour le groupe II). L'analyse fine des mesures, de la morphologie et de la couleur des différents organes des 2 espèces n'a pas montré de différence majeure (Figure

4), mais a permis d'établir la diagnose latine de la nouvelle espèce *B. pseudocinerea*. Cette espèce est déposée maintenant officiellement dans une collection internationale (Mycobank ; n° MB 561818).

Nous n'avons également pas observé de différence en ce qui concerne le taux de sporulation des deux espèces sur milieu PDA solide (en moyenne 96,58% pour le groupe I et 94,60% pour le groupe II. La vitesse moyenne de croissance sur PDA n'était pas significativement différente entre les 2 groupes (24,10 mm/jour pour le groupe I et 25,56 mm/jour pour le groupe II).

Finalement, tous ces résultats permettent de conclure qu'il n'existe pas de différence morphologique, pour les critères observés, entre les deux espèces (Walker *et al.* 2011).

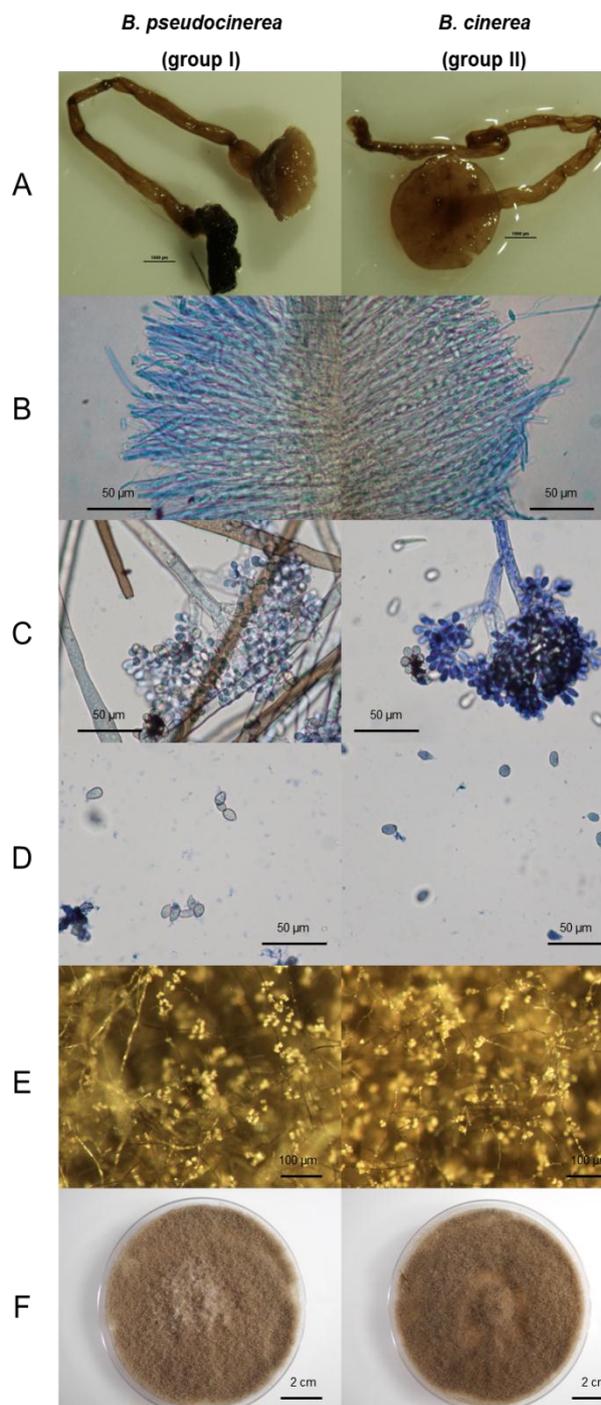


Figure 4: Caractéristiques morphologiques de *Botrytis pseudocinerea* (à gauche) et de *Botrytis cinerea* (à droite). A : Apothécies, structures sexuées de *Botrytis* sp. ; B : Asques, contenant les ascospores (spores sexuées), observées après dissection des apothécies ; C : Conidiophores en arbuscule, portant les conidiospores ; D : conidies (spores asexuées) ; E : mycélium sporulant (10 jours) ; F : culture de 10 jours sur milieu malt-levure.

Morphological characteristics of *Botrytis pseudocinerea*(left) and *B. cinerea*(right). A: apothecia, sexual structures of *Botrytis* sp.; B: asci, containing ascospores (sexual spores), observed after apothecia dissection; C: tree-like conidiophores, bearing conidiospores; D: conidia (asexual spores); E: sporulating mycelium (10 days); F: 10-day culture on malt-yeast medium.

Observation des souches VD256 (*B. pseudocinerea*) et 1810 (*B. cinerea*). Coloration au bleu coton pour les observations microscopiques

CRITERE ECOLOGIQUE

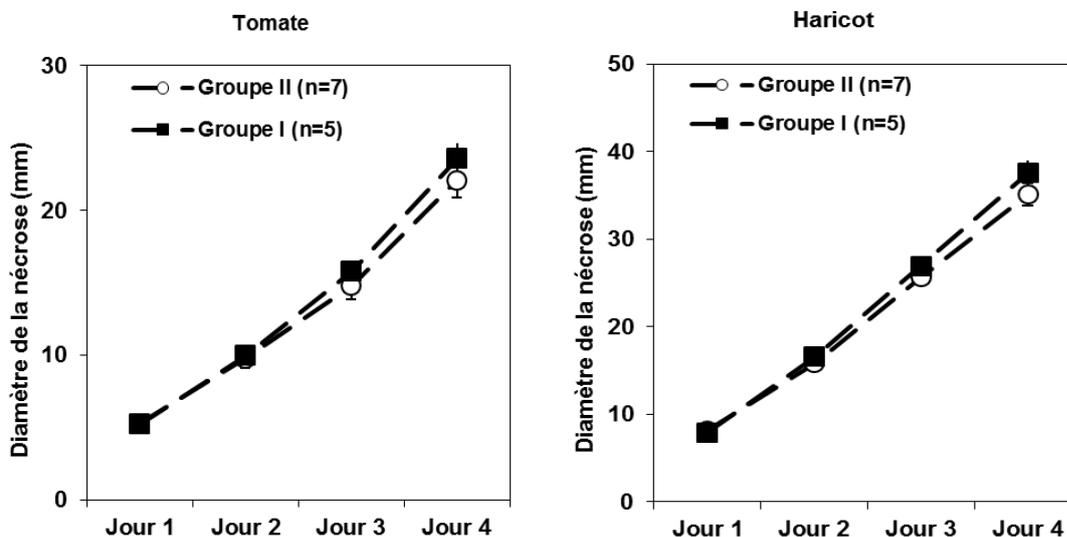
En populations naturelles, les espèces des groupes I et II sont retrouvées au printemps et à l'automne, mais dans des proportions significativement différentes (Figure 2). Si l'espèce du groupe I reste minoritaire, sa fréquence est en effet toujours plus importante qu'à l'automne, ce qui laisse suggérer une meilleure adaptation aux conditions climatiques printanières et/ou une meilleure capacité à consommer du matériel végétal mort (capuchons floraux).

Nous avons donc cherché préciser ce point en mesurant l'agressivité sur feuilles de tomate ou de haricot détachées et maintenues en survie. Nous n'avons pas observé de différence significative entre les deux groupes, pour ce qui est de leur capacité à produire des lésions sur les feuilles des deux hôtes (Figure 5). De même, la mesure de la vitesse de croissance à une température donnée, et pour un milieu nutritif donné n'était pas significativement différente entre les deux espèces, même si l'effet de la température et de la richesse du milieu synthétique avaient un effet significatif sur la croissance des deux espèces (optimum de croissance mesuré comme attendu à 20°C sur le milieu le plus riche). De manière similaire, nous n'avons pas observé de variation significative de la production de sclérotés entre les 2 espèces (Walker *et al.* 2011).

Finalement, les espèces *B. cinerea* groupe I et II semblent avoir des exigences écologiques distinctes, comme le montre leurs phénologies différentes, mais nous n'avons pas pu identifier précisément les facteurs responsables de ces adaptations.

Figure 5: Comparaison de l'agressivité de *B. cinerea* (groupe II) et *B. pseudocinerea* (groupe I) sur feuilles de tomate (à gauche) et de haricot (à droite).

Comparison of *B. cinerea* (group II) and *B. pseudocinerea* (group I) aggressiveness on tomato (left) and green bean (right) leaves.



CONCLUSION

La pourriture grise de la vigne est causée par un complexe d'au moins deux espèces vivant en sympatrie, *B. cinerea* (espèce dominante) et *B. pseudocinerea* (espèce minoritaire nouvellement décrite). Ces deux espèces sont distinguées (1) par leur position différente dans la phylogénie de l'espèce (critère phylogénétique), (2) par leur incapacité à produire une descendance fertile, et par l'incapacité des populations respectives à échanger des gènes (critère biologique) et (3) par leur exigences écologiques, mêmes si les raisons de cette différenciation n'ont pu être mises au clair (critère écologique). Ces deux espèces sont par non distinguables par leur morphologie (critère phénétique). On parle donc d'espèces cryptiques.

De manière pratique, il est peu probable que *B. pseudocinerea*, de phénologie plutôt printanière et d'abondance faible (fréquence <10%) participe de manière importante aux dégâts de pourriture grise dans les parcelles. Ceci facilite la gestion de cette maladie au vignoble, mais reste surprenant car *B. pseudocinerea* a été décrite comme naturellement résistante au fenhexamid (fongicide de la famille des hydroxyanilides) (Leroux *et al.* 2002), appliqué principalement en fin de floraison de la vigne, donc au moment où cette espèce est abondante. Ce fongicide devrait donc la sélectionner. Puisque nous observons de plus faibles fréquences de cette espèce à la vendange, cela confirme sans doute que l'optimum écologique de *B. pseudocinerea* est bien rencontré au printemps, et que ces souches présentent une fitness plus faible à l'automne, malgré la pression de sélection fongicide. Enfin, si cette résistance naturelle est le seul marqueur phénotypique à ce jour permettant de distinguer les deux espèces, de nombreux marqueurs moléculaires sont disponibles pour discriminer et quantifier les deux espèces dans les populations (Azzedine *et al.*, 2012; Leroux *et al.*, 2002).

REMERCIEMENTS

Nous remercions Muriel Viaud et Pascal Le Pêcheur pour la fourniture des espèces du genre *Botrytis* et l'aide apporté pour les tests d'agressivité. Nous remercions également le CIVC (Comité Interprofessionnel des Vins de Champagne) pour avoir permis l'accès aux populations naturelles. Enfin, nous remercions Joëlle Dupont (Muséum d'Histoire Naturelle de Paris) et Giuseppe Consiglia (Université de Bologne, Italie) pour l'établissement de la diagnose latine.

BIBLIOGRAPHIE

- Azzedine S., Walker AS., Fillinger S., 2012 - Caractérisation du gène *cyp684* responsable de la résistance au fenhexamid chez *Botrytis pseudocinerea*. In: *10ème conférence internationale sur les maladies des céréales*. AFPP, Tours, France, 3-5 décembre 2012.
- Faretra F., Antonacci E., Pollastro S., 1988 - Sexual behaviour and mating system of *Botryotinia fuckeliana*, teleomorph of *Botrytis cinerea*. *Journal of General Microbiology*, 134, 2543-2550.
- Fournier E., Giraud T., 2008 - Sympatric genetic differentiation of a generalist pathogenic fungus, *Botrytis cinerea*, on two different host plants, grapevine and bramble. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 122-132.
- Fournier E., Giraud T., Albertini C., Brygoo Y., 2005 - Partition of the *Botrytis cinerea* complex in France using multiple gene genealogies. *Mycologia*, 97, 1251-1267.
- Fournier E., Giraud T., Loiseau A., *et al.*, 2002 - Characterization of nine polymorphic microsatellite loci in the fungus *Botrytis cinerea* (Ascomycota). *Molecular Ecology Notes*, 2, 253-255.
- Giraud T., Fortini D., Levis C., *et al.*, 1999 - Two sibling species of the *Botrytis cinerea* complex, *transposa* and *vacuina*, are found in sympatry on numerous host plants. *Phytopathology*, 89, 967-973.
- Giraud T., Refregier G., Le Gac M., de Vienne DM., Hood ME., 2008 - Speciation in fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 45, 791-802.
- Leroux P., Fritz R., Debieu D., *et al.*, 2002 - Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Management Science*, 58, 876-888.
- Leroux P., Gredt M., Walker AS., Panon M., 2006 - *Botrytis* de la vigne et neuf sortes de fongicides : distribution des souches résistantes en Champagne. *Phytoma - La Défense des Végétaux*, 599, 22-27.
- Samadi S., Barberousse A., 2006 - The tree, the network, and the species. *Biological Journal of the Linnean Society*, 89, 509-521.
- Staats M., van Baarlen P., van Kan JAL., 2005 - Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. *Molecular Biology and Evolution*, 22, 333-346.
- Walker A-S., Gautier A., Confais J., *et al.*, 2011 - *Botrytis pseudocinerea*, a new cryptic species causing gray mold in French vineyards in sympatry with *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 101, 1433-1445.