

**AFPP – ONZIÈME CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS – 7 AU 9 DÉCEMBRE 2015**

VARIABILITÉ PHÉNOTYPIQUE CHEZ DES ISOLATS DE *BOTRYTIS CINEREA*

A. ADJEBLI⁽¹⁾, N. OUKALA⁽¹⁾, S. BENFEDALA⁽¹⁾ et K. AISSAT⁽¹⁾

¹ Laboratoire d'écologie microbienne, Faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Bejaia, 06000 Bejaia, Algérie. ahmed.adjebli@gmail.com; oukalanadira@gmail.com; s.benfedala@gmail.com; aissatk@yahoo.fr

RÉSUMÉ

La pourriture grise, est l'une des principales maladies sur diverses cultures d'importance agronomique. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet des températures élevées sur la croissance mycélienne et la germination de spores d'isolats de *B. cinerea in vitro* ainsi que leur niveau d'agressivité sur des folioles de tomate. Cette étude inclut une dimension comparative géographique entre des isolats collectés en Algérie, en France et en Norvège. Le test d'agressivité a révélé une grande variabilité entre les isolats. Les isolats collectés en Algérie ont été plus agressifs que ceux obtenus en France et Norvège. Les isolats ALG 108 et BC 21 ont été respectivement le plus et le moins agressif. Pour tous les isolats, la vitesse de croissance mycélienne et le taux de germination ont été maximaux à 21°C. Le développement de *B. cinerea* a été significativement affecté à des températures élevées. Une inhibition totale de la croissance mycélienne à 30°C et de la germination des spores à 32°C ont été observées.

Mots clés: Agressivité, Température, Croissance mycélienne, Germination, Variabilité.

ABSTRACT

PHENOTYPIC VARIABILITY OF *BOTRYTIS CINEREA* ISOLATES

Gray mold, is one of the major diseases on various crops of agronomic importance. The objective of this study was to evaluate the effect of high temperatures on the mycelial growth and spore germination of *B. cinerea* isolates *in vitro* and the level of aggressiveness on tomato leaflets. This study includes a geographical comparison between isolates of *B. cinerea* collected in Algeria, France and Norway. The aggressiveness test revealed a strong variability between isolates. Isolates collected in Algeria were more aggressive than isolates obtained in France and Norway. Isolate ALG 66 was the most aggressive and BC 21 the least aggressive. For all isolates mycelial growth rate and spore germination were maximum at 21°C. The development of *B. cinerea* was significantly affected by high temperatures. Total inhibition of mycelial growth at 30°C and spore germination at 32°C were observed.

Keywords: Aggressiveness, Temperature, Mycelial growth, Germination, Variability.

INTRODUCTION

Les conditions de culture des tomates sous serres fournissent un environnement idéal pour le développement des maladies fongiques. La pourriture grise causée par *Botrytis cinerea* est l'une des maladies les plus importantes affectant fréquemment les feuilles de plants de tomates en serres chauffées ou non (Baptista, 2007 ; Dik et Wubben, 2007). La chaleur et le taux d'humidité élevé dans les serres favorisent le développement de *B. cinerea*. Les contaminations par ce pathogène sont plus virulentes dans les cultures sous serres soumises à des températures modérées, une humidité relative élevée et de l'air stagnant (Baptista *et al.* 2011). La maîtrise de *B. cinerea* toujours a été difficile, plus particulièrement en conditions confinées. Les attaques sont en effet favorisées par plusieurs facteurs : le climat, des plantes particulièrement réceptives car elles ont des organes succulents, blessées par la taille ou l'ébourgeonnage, et l'aptitude particulière de ce champignon à s'adapter rapidement aux traitements chimiques utilisés. La pourriture grise pourrait être responsable de pertes de production de 20% et les traitements fongicides contre *B. cinerea* pourrait représenter environ 60% du total des fongicides utilisés sur une saison de culture (Prieto *et al.* 2003).

B. cinerea est caractérisé par sa capacité d'adaptation, ce qui limite les méthodes de lutte entreprises (Baptista, 2007). Il convient de souligner que plusieurs familles de fongicides sont concernées par des phénomènes de résistance. La variabilité génétique de *B. cinerea* lui a permis de s'adapter à de nombreux fongicides qui lui ont été opposés. Plusieurs études ont démontré la variabilité phénotypique de *B. cinerea* dans de nombreux aspects, notamment, la morphologie, l'agressivité, l'effet des facteurs environnementaux et la résistance aux différents fongicides (Barnes, 1930 ; Lorbeer et Vencelli, 1990 ; Martinez *et al.* 2009 ; Ajouz *et al.* 2011), ainsi que la variabilité génétique entre les populations de *B. cinerea* (Fournier *et al.* 2005 ; Karchani-Balma *et al.* 2008 ; Decognet *et al.* 2009 ; Fekete *et al.* 2012 ; Adjebli *et al.* 2015). La difficulté à contrôler la pourriture grise a créé le besoin de rechercher des méthodes culturales comme la ventilation et le chauffage des serres. Méthodes qui se sont révélées comme étant très efficaces (Jarvis, 1992).

Dans les serres de tomate, le contrôle des paramètres climatiques est lié à la température de l'air et l'humidité relative, car les producteurs estiment que ces deux facteurs sont les plus importants et influencent la productivité des cultures. Le contrôle des conditions environnementales est une préoccupation majeure des ingénieurs et des phytopathologistes pour éviter les épidémies. La lutte climatique via l'utilisation de la température peut aider à déterminer les conditions qui empêchent le développement de la pourriture grise pendant la croissance de la tomate et ainsi minimiser l'utilisation de fongicides (Yunis *et al.* 1990 ; Baptista, 2007).

Plusieurs travaux de recherches ont été focalisés sur l'impact de la température sur le développement des isolats de *B. cinerea*, mais peu de travaux ont été réalisés sur l'aspect de la variabilité entre les isolats de ce champignon et leur capacité à tolérer des températures élevées. En conséquence, dans cette étude les objectifs principaux ont été d'étudier : (i) l'effet des températures élevées sur l'agressivité des isolats de *B. cinerea* sur des folioles de tomate dans des conditions contrôlées. (ii) Déterminer si l'inoculum secondaire produit à des températures élevées peut infecter des folioles de tomates. (iii) Vérifier l'existence d'une tolérance aux températures élevées entre les isolats de *B. cinerea* collectées en Algérie, en France et en Norvège.

MATERIELS ET MÉTHODES

Choix des isolats

Selection of the isolates

Neuf isolats de *B. cinerea* ont été collectés à partir de tomates sous serres (chauffées ou non) et recueillies à partir de différents organes de la plante dans trois régions géographiques différentes (Tableau I). La purification des isolats a été effectuée par la technique d'isolement monospore en utilisant un milieu de culture eau gélosée (1,5% agar Difco) (Leyronas *et al.* 2012). Le stockage des isolats a été réalisé à -20 °C dans un tampon phosphate (0,06 M) contenant 20% (v/v) de glycérol.

Caractérisation morphologique

Morphological characterisation

La caractérisation morphologique des souches de *B. cinerea* est déterminée sur milieu PDA. Un implant mycélien de chaque souche est déposé au centre d'une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre, une incubation est effectuée à 21°C pendant 7 jours à l'obscurité. L'aspect macroscopique des colonies de *B. cinerea*, la répartition des spores et des sclérotés sur la surface de milieu sont notés selon la méthode décrite par Mirzaei *et al.* (2009). La classification est établie selon les travaux de Martinez *et al.* (2003).

Tableau I: Origine des isolats de *B. cinerea* collectés à partir de serres de tomates

Table I: Origin of *B. cinerea* isolates collected from commercial tomato

Isolat	Origine d'isolement
ALG 88, ALG 89, ALG 90, ALG 92, ALG 101, ALG 108	Bejaia, Algérie
BC 01, BC 21	Avignon, France
BC 142	Norvège

Effet de la température sur la de croissance mycélienne *in vitro*

Effect of temperature on mycelial growth *in vitro*

La vitesse de croissance mycélienne a été étudiée à quatre températures différentes (21, 28, 30 et 32 °C) sur le milieu de culture PDA (39 g l⁻¹ ; Laboratoire Difco, Detroit, Michigan, USA). Les expériences ont été menées dans des boîtes de Pétri de 90 mm inoculés avec un implant mycélien de 3 mm de diamètre. Les implants contenant du mycélium de chaque isolat ont été placés en contact direct avec le milieu de culture. Les boîtes contenant les implants mycéliens ont été incubées à l'obscurité pendant 7 jours. Deux diamètres perpendiculaires par colonie ont été mesurés quotidiennement sans avoir ouvert les boîtes de Pétri et la vitesse de croissance a été calculée sur la base de ces deux diamètres. Trois boîtes ont été utilisées pour chaque isolat et température. L'expérience a été répétée trois fois simultanément.

Effet de la température sur la germination des spores *in vitro*

Effect of temperature on conidial germination *in vitro*

La germination des spores a été évaluée sur des lames contenant milieu de culture PDA (39 g l⁻¹ ; Laboratoire Difco, Detroit, Michigan, USA). Les lames ont été inoculées avec 10 µl d'une suspension contenant 106 conidies par ml et ont été incubées pendant 10 heures dans l'obscurité à 21, 28, 30 et 32 °C. Sur chaque lame, un total de 100 conidies a été examiné et le nombre de spores germées a été compté. Une conidie est considérée comme ayant germé si le tube germinatif est au moins aussi long que la longueur de spores. Cinq lames ont été utilisées pour chaque isolat et la température et l'ensemble de l'expérience ont été réalisées deux fois.

Pour les tests de comparaison des moyennes, une analyse statistique a été menée en utilisant le module ANOVA implémenté dans le logiciel STATISTICA 5.5. Le test de comparaison multiple de Newman-keuls a été ensuite utilisé pour la comparaison du développement de *B. cinerea* (croissance mycélienne, germination des conidies) des différents isolats à différentes températures.

Agressivité des isolats de *B. cinerea* sur folioles de tomate

Aggressiveness of *B. cinerea* isolates on tomato leaflets

L'agressivité des isolats de *B. cinerea* a été étudiée sur des folioles de tomate (*Lycopersicon esculentum* v. Monalbo) sur des folioles de tomates. L'inoculum a été produit à 21 °C sur milieu PDA (39 g l⁻¹; Laboratoire Difco, Detroit, Michigan, USA). Les tests ont été effectués sur des folioles de tomates âgées de six à huit semaines. Des folioles de taille uniforme, ont été recueillies à partir de feuilles de tomates, puis placés dans des boîtes de Pétri avec un fond humidifié avec du papier absorbant bleu. Trois folioles par isolat et par température ont été utilisées. Pour chaque isolat de *B. cinerea* les folioles ont été inoculés avec un implant mycélien âgé de trois jours.

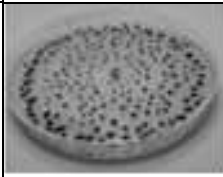
Les boites contenant les folioles inoculées avec les implants de chaque isolat ont été incubées dans des enceintes climatiques à l'obscurité. L'expérience a été répétée trois fois indépendamment. Les notations ont été effectuées après 24 h d'inoculation, et pendant cinq jours suivant l'inoculation. Les surfaces des lésions résultant ont été mesurées pour chaque boîte par un le logiciel Asses 2.0 (APS Press, St Paul, Minnesota, USA) qui consiste à une prise de photo toutes les 24 heures puis analysées par ce dernier logiciel.

RESULTATS

L'étude de la morphologie des isolats de *B. cinerea* collectés à partir de deux origines différentes (Algérie et Europe) a montré l'existence de différents morphotypes mycélien et sclérotien. Tous les isolats de *B. cinerea* collectés en France et en Norvège présentent un aspect sclérotien et ceux collectés à Bejaia (Algérie) sont exclusivement du type mycélien (Tableau II).

Tableau II : Classification phénotypique des isolats de *B. cinerea* sur le milieu PDA

Table II: Phenotypic classification of *B. cinerea* isolates on PDA medium

Isolats	ALG 89	ALG 88, ALG 90, ALG 92, ALG 101, ALG 108	BC 01, BC 21	BC 142
Aspect sur boîte de Pétri				
Phénotype	M 1	M2	M3	M4
Mycélium	rasant	aérien	masses mycéliennes	épais et dense
Sporulation	0	1 ou 2	1 ou 2	1
Sclérotés	0	0	+	+

Effet de la température sur la de croissance mycélienne *in vitro*

Effect of temperature on mycelial growth *in vitro*

L'effet de la température sur la croissance mycélienne des isolats de *B. cinerea* est déterminé à trois températures : 21, 28 et 30 °C. Une différence significative de croissance mycélienne entre les isolats

à une même température a été observée. L'augmentation de la température d'incubation diminue la croissance de tous les isolats étudiés (Figure 1).

Les 9 isolats utilisés dans cette étude ont été capables de croître sur le milieu PDA à une température de 30 °C et tous ont été inhibés à 32 °C. L'analyse de la variance à 2 facteurs a montré que la croissance du mycélium diffère de manière significative ($P < 0,0001$) entre les isolats, elle est significativement influencée par les températures ($P < 0,0001$) (Tableau III), avec une interaction significative entre les isolats et la température ce qui suggère que les différents isolats ont été affectés différemment par la température. A 32 °C, aucune croissance mycélienne n'a été observée pour tous les isolats utilisés. Par contre, il n'y a pas d'interaction entre l'effet de la température et l'origine des souches sur la croissance mycélienne (Tableau III).

Figure 1 : Vitesses de croissance mycélienne des isolats de *B. cinerea* à différentes températures. Les barres verticales (I) représentent l'erreur standard.

Figure 1: Mycelial growth rate of *B. cinerea* isolates at different temperatures, (I) errors standard.

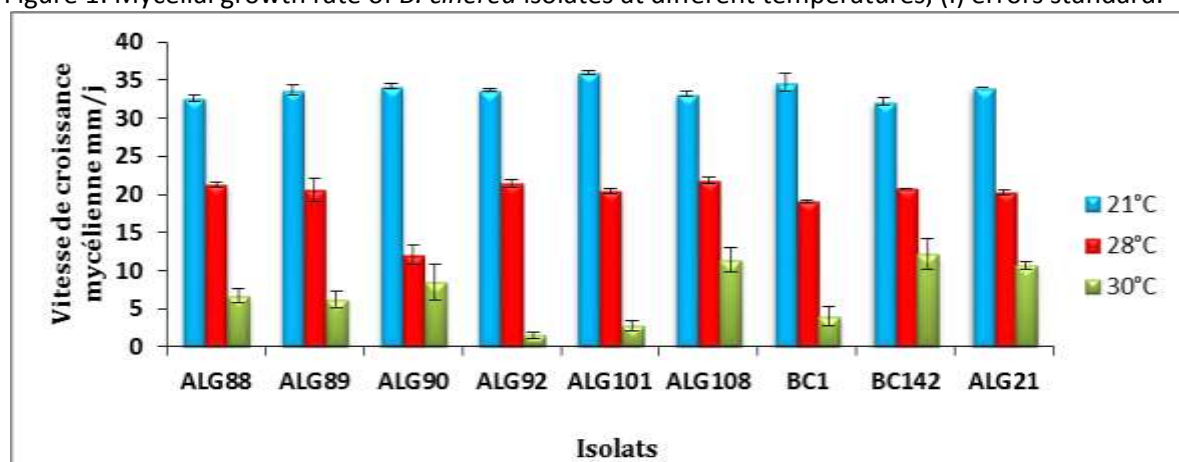


Tableau III : Analyse de la variance de la vitesse de croissance mycélienne des isolats de *B. cinerea* sur milieu PDA

Table III: Analysis of variance of mycelial growth rate of *B. cinerea* isolates on PDA medium

Source	ddl	F de Fisher	Pr > F
Origine	1	0,041	0,840
Température	2	653,223	< 0,0001
Origine x Température	2	0,463	0,631

ddl. degrés de liberté

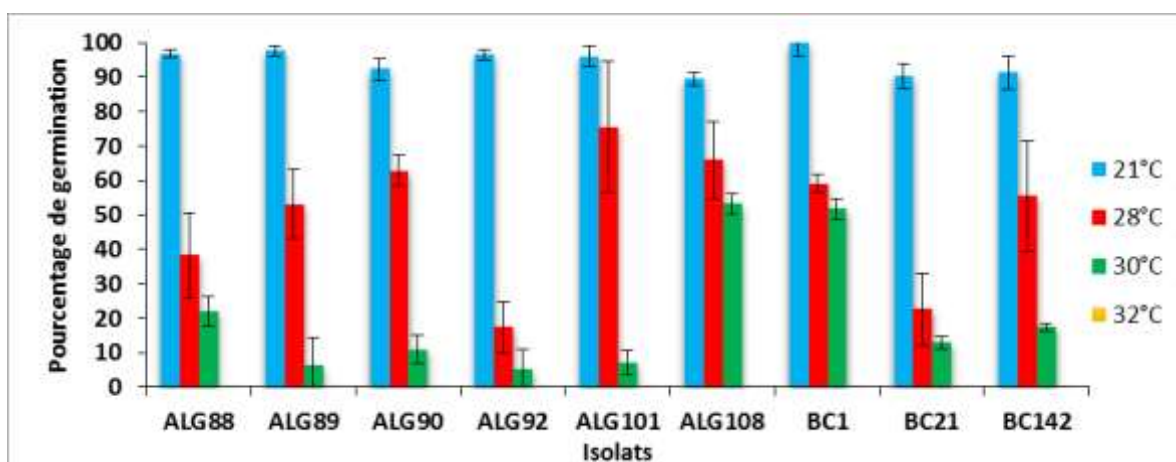
Effet de la température sur la germination des spores *in vitro*

Effect of temperature on conidial germination *in vitro*

Une bonne germination des spores a été observée à 21 °C pour tous les isolats testés, mais leur germination a été significativement réduite à partir de 28 °C (Figure 2). Aucune germination n'a été observée à 32 °C pour tous les isolats. En revanche, le taux de germination a été élevé pour tous les isolats à 21 °C ($94,0 \pm 1,5\%$). À 28 °C et 30 °C, la germination a été globalement réduite de $50,2 \pm 7,3\%$ et $20,3 \pm 6,3\%$, respectivement, tandis que l'effet de la température diffère significativement entre tous les isolats à différentes températures (Tableau IV).

Figure 2: Pourcentage de germination des spores des isolats de *B. cinerea* à différentes températures. Les barres verticales (I) représentent l'erreur standard.

Figure 2: Percentage of germination of *B. cinerea* isolates at different temperatures, (I) errors standard.



Les pourcentages de germination des spores d'isolats de *B. cinerea* sont significativement influencés par la température ($P < 0,0001$; tableau IV). Par contre, aucun effet significatif n'a été détecté entre les isolats selon leur origine et l'interaction entre les sites d'isolement et la température sur le pourcentage de germination des spores de *B. cinerea* ($P > 0,05$; tableau IV).

Tableau IV. Analyse de la variance du pourcentage de germination des spores des isolats de *B. cinerea* sur milieu PDA

Table IV: Analysis of variance of mycelial growth rate of *B. cinerea* isolates on PDA medium

Source	ddl	F de Fisher	Pr > F
Origine	1	0,677	0,411
Température	3	273,877	< 0,0001
Origine X Température	3	0,678	0,566

ddl. degrés de liberté

Agressivité des isolats de *B. cinerea* sur folioles de tomate

Aggressiveness of *B. cinerea* isolates on tomato leaflets

Tous les isolats de *B. cinerea* ont produit des lésions sur les folioles de tomate (Figure 3). Les lésions ont commencé à apparaître à partir de 12h après l'inoculation sous forme de petites taches grises puis elles s'élargissent en fonction de temps. Différentes vitesses de propagation des taches selon le niveau d'agressivité des isolats testés ont été observées (Figure 4).

Figure 3 : Lésions causées par les isolats de *B. cinerea* sur les folioles de tomates après 96h d'incubation

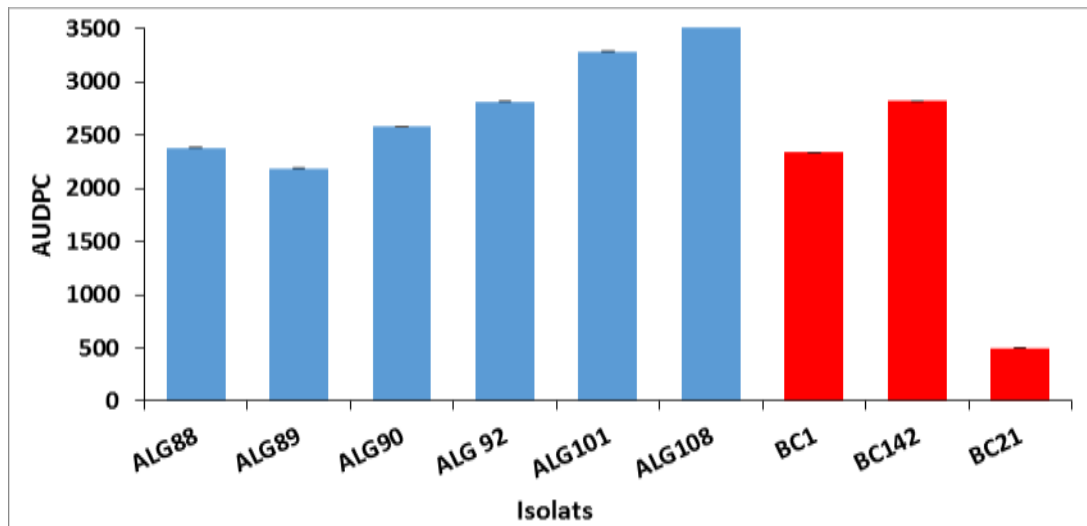
Figure 3: Lesions caused by isolates of *B. cinerea* on tomato leaflets after 96h of incubation.



Les isolats de *B. cinerea* utilisés ont montré des différents niveaux d'agressivité sur les folioles de tomates ($P < 0.05$). Les isolats ALG 108 et ALG 101 ont été les isolats les plus agressifs avec des AUDPC de 3529 et 3282 respectivement, tandis que l'isolat BC 21 a été le moins agressif (Figure 4).

Figure 4 : Agressivité des isolats de *B. cinerea* sur folioles de tomates exprimée en AUDPC. Les barres verticales représentent l'erreur standard.

Figure 4: Aggressiveness isolates of *B. cinerea* on tomato leaflets expressed as AUDPC. Vertical bars are standard errors.



Les isolats de *B. cinerea* ont différents niveaux d'agressivité. Les isolats collectés dans la région de Bejaia ont montré une grande agressivité comparés à ceux collectés en France et en Norvège ($P < 0.05$).

DISCUSSION

L'objectif de ce travail visait à comprendre la variabilité d'isolats de *B. cinerea* collectés dans différentes régions sur des folioles de tomate en étudiant l'effet de la température sur leur développement et leurs niveaux d'agressivité. Une grande variabilité a été observée entre les isolats vis-à-vis des températures élevées testées sur la croissance mycélienne et la germination des spores. Plusieurs études antérieures ont évalué l'impact de la température sur le développement de *B. cinerea* et confirment les résultats obtenus dans cette étude (Boneche et Pucheu, 1986). Entre 5°C et 22°C, la vitesse de croissance de *B. cinerea* augmente avec la température. Au-dessus de 25°C, le développement du champignon est ralenti et il y a très rapidement une inhibition totale. Ainsi, il n'a pas été possible d'obtenir la germination des conidies pour des températures supérieures à 35°C.

A des températures favorables (15 °C, optimale 20 et 25 °C), les isolats ont montré des différences significatives de vitesse au niveau de leur croissance mycélienne. Aux températures limites inférieure et supérieure (5 et 28 °C), la vitesse de croissance mycélienne de *B. cinerea* a été significativement affectée. Les différences entre les isolats ne sont significatives qu'à 20 °C, mais pas aux températures limites (Martinez *et al.* 2003). La germination des spores a été observée entre 5 et 30 °C. Salinas *et al.* (1989) ont montré que la germination de conidies et la formation de lésions nécrotiques sur des fleurs de Gerbera sont observées à une gamme de températures comprises entre 4 et 25°C avec un optimum allant de 18°C à 25°C et selon Latorre *et al.* (2002) les températures optimales sont comprises entre 15 à 20 °C.

Les résultats d'agressivité dans cette étude sont en correspondance avec ceux obtenus dans d'autres études réalisées sur différentes parties aériennes de différentes plantes hôtes. Par exemple, 3 isolats de *B. cinerea* provenant de fruits de fraise ont montré des variations de degrés de virulence, ces différences étaient aussi notées au niveau des caractéristiques culturales et morphologiques

(Valiuskaite *et al.* 2010). La comparaison de l'agressivité sur tomate de 15 souches de *Botrytis* isolées à partir de l'air et de 2 souches de référence révèle que ces dernières montrent une agressivité supérieure aux 15 souches étudiées. Selon les auteurs cela est dû au fait que les spores de *B. cinerea* isolées à partir de l'air ont été peut être endommagées par différentes contraintes physiques rencontrées pendant la dissémination à savoir, le taux faible d'humidité, les températures élevées de l'air ou leur exposition aux rayons solaires (Decognet *et al.* 2009).

Shen *et al.* (2009) ont réalisé une étude sur la pathogénicité de 26 souches de *B. cinerea* sur des feuilles de concombre. Ils ont remarqué une différence importante de pathogénicité entre les souches testées. Les conditions de culture influencent l'apparition et la progression de la maladie. En effet, dans des serres non chauffées, la plupart des lésions sur les tiges provenaient de la progression de l'agent pathogène le long des pétioles infectés. L'infection des feuilles proches de la tige nécessite 6 semaines pour qu'elle soit établie. L'influence de l'environnement sur la progression de *B. cinerea* sur les pétioles a également été déterminée. Dans la gamme de température allant de 5 à 30°C, plus la température augmente, plus la progression de la maladie est rapide. Le champignon a progressé plus rapidement sur les pétioles de tomate incubés à haute pression de vapeur plutôt qu'à une pression de vapeur faible (Shtienberg *et al.* 1998).

CONCLUSION

L'étude phénotypique réalisée sur le type du morphotype a montré une grande variabilité entre les isolats testés. Deux principaux morphotypes ont été identifiés, un type mycélien et un autre sclérotien, avec une prédominance de ce dernier pour les isolats collectés en France et en Norvège. Les isolats collectés à Bejaia (Algérie) sont exclusivement du type mycélien. L'étude de l'effet de la température sur le développement des isolats de *B. cinerea* (croissance mycélienne et germination des spores) *in vitro* a montré que 21°C était la température optimale de développement pour tous les isolats. La croissance mycélienne et la germination des spores ont été significativement réduites lors de l'augmentation de la température. Une inhibition totale du développement a été obtenue à 32 °C. Les résultats obtenus dans le test d'agressivité des isolats de *B. cinerea* sur des folioles de tomates ont montré une hétérogénéité entre les isolats, avec une différence significative entre ceux collectés à Bejaia et ceux obtenus en France et en Norvège.

REMERCIEMENTS

Cette étude a reçu un financement du laboratoire d'écologie microbienne, département de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia, Algérie. Nous remerciant infiniment le Dr Philippe Nicot C pour la fourniture des isolats collectés en France et en Norvège.

BIBLIOGRAPHIE

- Adjebli A., Leyronas C., Aissat K., Nicot P.-C., 2015- Comparison of *Botrytis cinerea* populations collected from tomato greenhouses in Northern Algeria. *Journal of Phytopathology*, 163, 124-132.
- Ajouz S., Decognet V., Nicot P.-C., Bardin M., 2011- Microsatellite stability in the plant pathogen *Botrytis cinerea* after exposure to different selective pressures. *Fungal Biology*, 114, 949-954.
- Baptista F.-J 2007- Modelling the climate in unheated tomato greenhouses and predicting *Botrytis cinerea* infection. Phd Thesis. Universidade de Évora. Portugal.
- Baptista F.-J., Bailey B.-J., Meneses J.-F., 2011- Development of a warning system for controlling *Botrytis cinerea* in unheated tomato greenhouses. *Acta Horticulturae*, 893, 1263-1269.
- Barnes B., 1930- Variations in *Botrytis cinerea*, Pers., Induced by the Action of High Temperatures. *Annals of Botany*, 44, 825-858.
- Boneche B., Pucheu B., 1986- Influence de divers effecteurs sur le développement de *Botrytis cinerea* en milieu synthétique : définition d'un cycle conidien. *Vitis*, 25, 21- 30.

- Decognet V., Bardin M., Trottin-Caudal Y., Nicot P.-C., 2009- Rapid change in the genetic diversity of *Botrytis cinerea* populations after the introduction of strains in a tomato glasshouse. *Phytopathology*, 99, 185-193.
- Dik A.-J., Wubben J.-P., 2004- Epidemiology of *Botrytis cinerea* diseases in greenhouses. In: Elad Y., Williamson B., Tudzynski P., Delen N. (eds) *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Dordrecht, the Netherlands, Kluwer Academic Press, pp 319–333.
- Fournier E., Giraud T., Albertini A., Brygoo Y., 2005- Partition of the *Botrytis cinerea* complex in France using multiple gene genealogies. *Mycologia*, 97, 1251-1267.
- Jarvis W.-R., 1992. Managing diseases in greenhouse crops. American Phytopathological Society, St Paul, MN.
- Karchani-Balma S., Gautier A., Raies A., Fournier E., 2008- Geography, plants, and growing systems shape the genetic structure of Tunisian *Botrytis cinerea* populations. *Phytopathology*, 98, 1271-1279.
- Latorre B.-A., Rioja M.-E., Lillo C., 2002- Efecto de la temperatura en el desarrollo de la infección producida por *Botrytis cinerea* en flores y bayas de uva de mesa. *Ciencia e investigación agraria*, 29, 3, 145-151.
- Leyronas C., Duffaud M., Nicot P.-C., 2012- Compared efficiency of the isolation methods for *Botrytis cinerea*, Mycology. *International Journal of Fungal Biology*, 4, 221–225.
- Lorbeer J.-W., Vincelli P.-C., 1990. Efficacy of dicarboximide fungicides and fungicide combinations for control of botrytis leaf-blight of onion in new-york. *Plant Disease*, 74, 235-237.
- Martinez F., Blancard D., Lecomte P., Levis C., Dubos B., Fermaud M., 2003- Phenotypic differences between vacuola and transposon subpopulations of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 479-488.
- Martinez J.-A., Gomez-Bellot M.-J., Banon S., 2009- Temperature-dependent growth of *Botrytis cinerea* isolates from potted plants. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 74, 729-738.
- Prieto R., Rodrigues S., Henriques S., 2003. ptProtecção integrada de tomate em estufa. Relatório Projecto Agro 4-Desenvolvimento de técnicas de produção integrada na horticultura protegida e de ar livre na região Oeste. 2 pp.
- Salinas J., Glandorf D., Picavet F., Verhoeff K., 1989- Effects of temperature, relative humidity and age of conidia on the incidence of spotting on gerbera flowers caused by *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 95, 51-64.
- Shen D., Li B., Li X., Song J., Shi Y., Wang H., Shen D., Li B.-J., Li X.-X., Song J.-P., Shi Y.-X., Wang H.-P., 2009- Pathogenicity analysis of different *Botrytis cinerea* strains in cucumber. China. *Vegetables*, 25-28.
- Shtienberg D., Elad Y., Niv A., Nitzani Y., Kirshner B., 1998- Significance of leaf infection by *Botrytis cinerea* in stem rotting of tomatoes grown in non-heated greenhouses. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 753-763.
- Valiuskaite A., Survilieene E., Baniulis D., 2010- Genetic diversity and pathogenicity traits of *Botrytis* spp. isolated from horticultural hosts. *Zemdirbyste-Agriculture*, 97, 85-90.
- Yunis H., Elad Y., Mahrer Y., 1990- Effects of air temperature, relative humidity and canopy wetness on grey mould of cucumbers in unheated greenhouses. *Phytoparasitica*, 3, 203-215.