

VI. ANNEXES

VI.1. : PRODUITS AGRÉÉS POUR LA LUTTE CONTRE LA SEPTORIOSE

Le tableau ci-dessous reprend uniquement les produits agréés en Belgique qui contiennent des molécules SDHI dans leur composition et qui permettent de lutter contre la septoriose du blé. (Source : site FYTOWEB).

Nom du produit	Composition	Dose agréée
VIVERDA	140 g/L BOSCALID , 50 g/L EPOXYCONAZOLE 60 g/L PYRACLOSTROBINE	2,5 l/ha, 1 application
VELOGY ERA	75 g/L BENZOVINDIFLUPYR , 150 g/L PROTHIOCONAZOLE	1 l/ha, 1 application
VARIANO XPRO	40 g/L BIXAFEN 50 g/L FLUOXASTROBINE 100 g/L PROTHIOCONAZOLE	1,75 l/ha, 1-2 applications à intervalle de 14 jours
SKYWAY XPRO	75 g/L BIXAFEN 100 g/L PROTHIOCONAZOLE 100 g/L TEBUCONAZOLE	1,25 l/ha, 1-2 applications (en cas de forte pression des maladies) à intervalle de 14 jours
SILTRA XPRO	60 g/L BIXAFEN 200 g/L PROTHIOCONAZOLE	1 l/ha, 1-2 applications avec un intervalle de 14 jours
PRIAXOR EC	75 g/L FLUXAPYROXAD , 150 g/L PYRACLOSTROBINE	1,5 l/ha, 1-2 applications à intervalle d'au moins 21 jours
MICARAZ	90 g/L EPOXYCONAZOLE , 125 g/L ISOPYRAZAM	1 l/ha, 1-2 applications à intervalle de 21 jours
LIBRAX	62.5 g/L FLUXAPYROXAD , 45 g/L METCONAZOLE	2 l/ha, 1 application
IMTRES EC	62.5 g/L FLUXAPYROXAD	2 l/ha, 1-2 applications, à intervalle de 21 jours
IMTRES	62.5 g/L FLUXAPYROXAD	2 l/ha, 1-2 applications, à intervalle de 21 jours
GRANOVO	140 g/L BOSCALID 50 g/L EPOXYCONAZOLE	2,5 l/ha, 1-2 applications à intervalle de 14 jours
FLUPOXAR	62.5 g/L EPOXYCONAZOLE , 62.5 g/L FLUXAPYROXAD	2 l/ha, 1-2 applications, à intervalle de 21 jours
EVORA XPRO	75 g/L BIXAFEN 100 g/L PROTHIOCONAZOLE 100 g/L TEBUCONAZOLE	1,25 l/ha, 1-2 applications (en cas de forte pression des maladies) à intervalle de 14 jours
EPYFLAX	41.6 g/L EPOXYCONAZOLE , 41.6 g/L FLUXAPYROXAD 66.6 g/L PYRACLOSTROBINE	3 l/ha, 1-2 applications, à intervalle de 21 jours
ELATUS PLUS	100 g/L BENZOVINDIFLUPYR	0,75 l/ha, 1 application
DIVEXO	375 g/L CHLOROTHALONIL , 37.5 g/L FLUXAPYROXAD	2 l/ha, 1 application
CERIX	41.6 g/L EPOXYCONAZOLE , 41.6 g/L FLUXAPYROXAD 66.6 g/L PYRACLOSTROBINE	3 l/ha, 1-2 applications, à intervalle de 21 jours
CERATAVO PLUS	100 g/L BENZOVINDIFLUPYR	0,75 l/ha, 1 application
BIXAZOR	75 g/L BIXAFEN 150 g/L PROTHIOCONAZOLE	1,25 l/ha, 1-2 applications à intervalle de 14 jours
AVIATOR XPRO	75 g/L BIXAFEN 150 g/L PROTHIOCONAZOLE	1,25 l/ha, 1-2 applications à intervalle de 14 jours
ASCRA XPRO	65 g/L BIXAFEN 65 g/L FLUOPYRAM 130 g/L PROTHIOCONAZOLE	1,5 l/ha, 1-2 applications à intervalle de 14 jours
ADEXAR	62.5 g/L EPOXYCONAZOLE , 62.5 g/L FLUXAPYROXAD	2 l/ha, 1-2 applications, à intervalle de 21 jours

VI.2 : RENDEMENTS DES ESSAIS PAR PROGRAMME FONGICIDE

Année	Lieu	Variété	Programme	Répétition	Rendement en tonnes/ha
2016	Ath	Henrik	Adexar 1,5L (39)	1	7516,1
2016	Ath	Henrik	Adexar 1,5L (39)	2	8271,5
2016	Ath	Henrik	Adexar 1,5L (39)	3	7930,9
2016	Ath	Henrik	Adexar 1,5L (39)	4	7880,7
2016	Ath	Henrik	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 0,8L (55)	1	8501,3
2016	Ath	Henrik	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 0,8L (55)	2	8214,5
2016	Ath	Henrik	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 0,8L (55)	3	7795,6
2016	Ath	Henrik	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 0,8L (55)	4	8127,0
2016	Ath	Henrik	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 1,5L (55)	1	8335,2
2016	Ath	Henrik	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 1,5L (55)	2	8378,0
2016	Ath	Henrik	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 1,5L (55)	3	8368,1
2016	Ath	Henrik	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 1,5L (55)	4	8312,2
2016	Ath	Henrik	Temoin	1	5936,5
2016	Ath	Henrik	Temoin	2	5985,2
2016	Ath	Henrik	Temoin	3	6027,1
2016	Ath	Henrik	Temoin	4	6040,4
2017	Ath	Henrik	Adexar 1,5 l (39)	1	10219,2
2017	Ath	Henrik	Adexar 1,5 l (39)	2	10389,5
2017	Ath	Henrik	Adexar 1,5 l (39)	3	10475,5
2017	Ath	Henrik	Adexar 1,5 l (39)	4	10624,1
2017	Ath	Henrik	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 0,8 l (55)	1	10670,8
2017	Ath	Henrik	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 0,8 l (55)	2	11186,1
2017	Ath	Henrik	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 0,8 l (55)	3	11158,4
2017	Ath	Henrik	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 0,8 l (55)	4	11085,7
2017	Ath	Henrik	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 1,5 l (55)	1	10143,8
2017	Ath	Henrik	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 1,5 l (55)	2	10733,1
2017	Ath	Henrik	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 1,5 l (55)	3	10892,9
2017	Ath	Henrik	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 1,5 l (55)	4	11535,2
2017	Ath	Henrik	Temoin	1	9239
2017	Ath	Henrik	Temoin	2	8735
2017	Ath	Henrik	Temoin	3	8286
2017	Ath	Henrik	Temoin	4	9444
2016	Thylechateau	Edgar	Adexar 1,5L (39)	1	7517,1
2016	Thylechateau	Edgar	Adexar 1,5L (39)	2	8720,2
2016	Thylechateau	Edgar	Adexar 1,5L (39)	3	8559,8
2016	Thylechateau	Edgar	Adexar 1,5L (39)	4	8273,1
2016	Thylechateau	Edgar	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 0,8L (55)	1	7641,4
2016	Thylechateau	Edgar	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 0,8L (55)	2	8042,2
2016	Thylechateau	Edgar	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 0,8L (55)	3	7596,8
2016	Thylechateau	Edgar	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 0,8L (55)	4	7339,0
2016	Thylechateau	Edgar	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 1,5L (55)	1	8523,1
2016	Thylechateau	Edgar	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 1,5L (55)	2	8433,2
2016	Thylechateau	Edgar	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 1,5L (55)	3	8050,2
2016	Thylechateau	Edgar	Input 1,25L + Bravo 1L (32) // Adexar 1,5L (55)	4	8103,5
2016	Thylechateau	Edgar	Temoin	1	6229,1
2016	Thylechateau	Edgar	Temoin	2	5370,4
2016	Thylechateau	Edgar	Temoin	3	5892,0
2016	Thylechateau	Edgar	Temoin	4	5972,7
2017	Thylechateau	Rgtreform	Adexar 1,5 l (39)	1	12074,5
2017	Thylechateau	Rgtreform	Adexar 1,5 l (39)	2	11419,7
2017	Thylechateau	Rgtreform	Adexar 1,5 l (39)	3	11747,9
2017	Thylechateau	Rgtreform	Adexar 1,5 l (39)	4	11931,4
2017	Thylechateau	Rgtreform	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 0,8 l (55)	1	10461,4
2017	Thylechateau	Rgtreform	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 0,8 l (55)	2	11197,3
2017	Thylechateau	Rgtreform	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 0,8 l (55)	3	12665,7
2017	Thylechateau	Rgtreform	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 0,8 l (55)	4	12388,8
2017	Thylechateau	Rgtreform	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 1,5 l (55)	1	11550,7
2017	Thylechateau	Rgtreform	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 1,5 l (55)	2	11210,4
2017	Thylechateau	Rgtreform	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 1,5 l (55)	3	12523,1
2017	Thylechateau	Rgtreform	Kestrel 1,25 l + Bravo 1 l (32) // Adexar 1,5 l (55)	4	12523,1
2017	Thylechateau	Rgtreform	Témoïn	1	11026,6
2017	Thylechateau	Rgtreform	Témoïn	2	11550,7
2017	Thylechateau	Rgtreform	Témoïn	3	11747,9
2017	Thylechateau	Rgtreform	Témoïn	4	11747,9
2017	Thylechateau	Rgtreform	Témoïn	1	12024,3
2017	Thylechateau	Rgtreform	Témoïn	2	11223,4
2017	Thylechateau	Rgtreform	Témoïn	3	11223,4
2017	Thylechateau	Rgtreform	Témoïn	4	11223,4

VI.3 : LISTING DES SOUCHES DE Z. TRITICI

Projet de recherche D31-1195 de Aurélie CLINCKEMAILLIE					
Listing des souches de 2008-2009 utilisées pour mémoire AN					
Année	n°souche	Code	Localité	Traitement	Prélevement
2008	3	03/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	4	04/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	5	05/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	6	06/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	7	07/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	10	10/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	11	11/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	13	13/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	14	14/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	15	15/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	16	16/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	17	17/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	18	18/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	20	20/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	26	26/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	27	27/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	28	28/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	29	29/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	30	30/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	34	34/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	35	35/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	36	36/08	Sart Risbart	Pré-traitements	25/04/08
2008	38	38/08	Corroy I G.	Pré-traitements	23/04/08
2008	39	39/08	Corroy I G.	Pré-traitements	23/04/08
2008	40	40/08	Corroy I G.	Pré-traitements	23/04/08
2008	41	41/08	Corroy I G.	Pré-traitements	23/04/08
2008	42	42/08	Corroy I G.	Pré-traitements	23/04/08
2008	43	43/08	Corroy I G.	Pré-traitements	23/04/08
2008	44	44/08	Corroy I G.	Pré-traitements	23/04/08
2008	45	45/08	Corroy I G.	Pré-traitements	23/04/08
2008	48	48/08	Corroy I G.	Pré-traitements	30/04/08
2008	51	51/08	Corroy I G.	Pré-traitements	30/04/08
2008	54	54/08	Corroy I G.	Pré-traitements	30/04/08
2008	55	55/08	Corroy I G.	Pré-traitements	30/04/08
2008	56	56/08	Corroy I G.	Pré-traitements	30/04/08
2008	57	57/08	Corroy I G.	Pré-traitements	30/04/08
2008	58	58/08	Graux	Pré-traitements	5/05/08
2008	62	62/08	Graux	Pré-traitements	5/05/08
2009	102	102/09	Niverlée	Non-traité	inconnu
2009	103	103/09	Niverlée	Non-traité	inconnu
2009	104	104/09	Niverlée	Non-traité	inconnu
2009	107	107/09	Niverlée	Non-traité	inconnu
2009	108	108/09	Niverlée	Non-traité	inconnu
2009	110	110/09	Niverlée	Non-traité	inconnu
2009	112	112/09	Perwez	Non-traité	inconnu
2009	118	118/09	Perwez	Non-traité	inconnu
2009	121	121/09	Perwez	Non-traité	inconnu
2009	124	124/09	Les Isnes	Non-traité	inconnu
2009	125	125/09	Les Isnes	Non-traité	inconnu
2009	126	126/09	Les Isnes	Non-traité	inconnu
2009	130	130/09	Les Isnes	Non-traité	inconnu
2009	132	132/09	Les Isnes	Non-traité	inconnu
2009	133	133/09	Graux 09 -14	Non-traité	inconnu
2009	134	134/09	Graux 09 -14	Non-traité	inconnu
2009	136	136/09	Graux 09 -14	Non-traité	inconnu
2009	145	145/09	Graux 09 -23	Non-traité	inconnu
2009	146	146/09	Graux 09 -23	Non-traité	inconnu
2009	147	147/09	Graux 09 -23	Non-traité	inconnu
2009	155	155/09	Thorembais	Non-traité	inconnu
2009	156	156/09	Thorembais	Non-traité	inconnu
2009	157	157/09	Thorembais	Non-traité	inconnu
2009	158	158/09	Thorembais	Non-traité	inconnu

Code	Répétition							
		17T2A3	Rep 3		17TET6	Rep 4	17T2T2	Rep 3
17TEA6	Rep 1	17T2A4	Rep 3		17TET7	Rep 4	17T2T3	Rep 3
17TEA2	Rep 1	17T2A6	Rep 3		17TET8	Rep 4	17T2T4	Rep 3
17TEA3	Rep 1	17T2A1	Rep 3		17TET9	Rep 4	17T2T5	Rep 3
17TEA15	Rep 1	17T2A9	Rep 3		17TET10	Rep 4	17T2T6	Rep 3
17TEA8	Rep 1	17T2A15	Rep 4		17TET11	Rep 4	17T2T8	Rep 3
17TEA9	Rep 1	17T2A8	Rep 4		17TET13	Rep 4	17T2T9	Rep 3
17TEA14	Rep 1	17T2A17	Rep 4		17TET14	Rep 4	17T2T10	Rep 3
17TEA11	Rep 1	17T2A14	Rep 4		17TET15	Rep 4	17T2T11	Rep 3
17TEA13	Rep 1	17T2A3	Rep 4		17TET16	Rep 4	17T2T4'	Rep 3
17TEA12	Rep 1	17T2A3	Rep 4		17T1T1	Rep 1	17T2T1	Rep 4
17TEA8	Rep 2	17T2A4	Rep 4		17T1T2	Rep 1	17T2T2	Rep 4
17TEA5	Rep 2	17T2A5	Rep 4		17T1T3	Rep 1	17T2T3	Rep 4
17TEA7	Rep 2	17T3A6	Rep 1		17T1T4	Rep 1	17T2T4	Rep 4
17TEA10	Rep 2	17T3A1	Rep 1		17T1T5	Rep 1	17T2T5	Rep 4
17TEA14	Rep 2	17T3A14	Rep 1		17T1T6	Rep 1	17T2T6	Rep 4
17TEA15	Rep 2	17T3A7	Rep 1		17T1T7	Rep 1	17T2T7	Rep 4
17TEA16	Rep 2	17T3A4	Rep 1		17T1T9	Rep 1	17T2T8	Rep 4
17TEA2	Rep 3	17T3A10	Rep 1		17T1T10	Rep 1	17T2T10	Rep 4
17TEA11	Rep 3	17T3A1 bis	Rep 1		17T1T11	Rep 1	17T2T11	Rep 4
17TEA10	Rep 3	17T3A5	Rep 2		17T1T13	Rep 1	17T2T12	Rep 4
17TEA5	Rep 3	17T3A3	Rep 2		17T1T15	Rep 1	17T2T13	Rep 4
17TEA5 bis	Rep 3	17T3A10	Rep 2		17T1T1	Rep 2	17T3T1	Rep 1
17TEA4	Rep 3	17T3A4	Rep 2		17T1T2	Rep 2	17T3T2	Rep 1
17TEA3	Rep 3	17T3A2	Rep 2		17T1T3	Rep 2	17T3T3	Rep 1
17TEA1	Rep 3	17T3A6	Rep 2		17T1T4	Rep 2	17T3T4	Rep 1
17TEA7	Rep 4	17T3A7	Rep 2		17T1T5	Rep 2	17T3T5	Rep 1
17TEA3	Rep 4	17T3A12	Rep 2		17T1T6	Rep 2	17T3T6	Rep 1
17TEA10	Rep 4	17T3A3	Rep 2		17T1T7	Rep 2	17T3T7	Rep 1
17TEA1	Rep 4	17T3A5	Rep 3		17T1T8	Rep 2	17T3T8	Rep 1
17TEA11	Rep 4	17T3A10	Rep 3		17T1T9	Rep 2	17T3T9	Rep 1
17TEA1 bis	Rep 4	17T3A2	Rep 3		17T1T10	Rep 2	17T3T10	Rep 1
17T1A11	Rep 1	17T3A7	Rep 3		17T1T12	Rep 2	17T3T11	Rep 1
17T1A1	Rep 1	17T3A4	Rep 3		17T1T13	Rep 2	17T3T11'	Rep 1
17T1A5	Rep 1	17T3A3	Rep 3		17T1T14	Rep 2	17T3T12	Rep 1
17T1A13	Rep 1	17T3A6	Rep 3		17T1T15	Rep 2	17T3T1	Rep 2
17T1A10	Rep 1	17T3A8	Rep 3		17T1T16	Rep 2	17T3T2	Rep 2
17T1A8	Rep 1	17T3A4 bis	Rep 4		17T1T2	Rep 3	17T3T4	Rep 2
17T1A4	Rep 1	17T3A4	Rep 4		17T1T3	Rep 3	17T3T5	Rep 2
17T1A6	Rep 1	17T3A6	Rep 4		17T1T5	Rep 3	17T3T7	Rep 2
17T1A12	Rep 1	17T3A	Rep 4		17T1T6	Rep 3	17T3T8	Rep 2
17T1A7	Rep 1	17T3A3	Rep 4		17T1T8	Rep 3	17T3T9	Rep 2
17T1A14	Rep 1	17TET1	Rep 1		17T1T9	Rep 3	17T3T10	Rep 2
17T1A10	Rep 2	17TET3	Rep 1		17T1T10	Rep 3	17T3T11	Rep 2
17T1A11	Rep 2	17TET5	Rep 1		17T1T12	Rep 3	17T3T12	Rep 2
17T1A13	Rep 2	17TET6	Rep 1		17T1T13	Rep 3	17T3T13	Rep 2
17T1A9	Rep 2	17TET7	Rep 1		17T1T14	Rep 3	17T3T14	Rep 2
17T1A3	Rep 2	17TET8	Rep 1		17T1T15	Rep 3	17T3T1'	Rep 2
17T1A11 bis	Rep 2	17TET9	Rep 1		17T1T16	Rep 3	17T3T1	Rep 3
17T1A4	Rep 2	17TET10	Rep 1		17T1T1	Rep 4	17T3T2	Rep 3
17T1A6	Rep 2	17TET11	Rep 1		17T1T2	Rep 4	17T3T3	Rep 3
17T1A2	Rep 2	17TET12	Rep 1		17T1T3	Rep 4	17T3T4	Rep 3
17T1A8	Rep 2	17TET14	Rep 1		17T1T4	Rep 4	17T3T5	Rep 3
17T1A2	Rep 3	17TET15	Rep 1		17T1T5	Rep 4	17T3T6	Rep 3
17T1A8	Rep 3	17TET2	Rep 2		17T1T6	Rep 4	17T3T7	Rep 3
17T1A3	Rep 3	17TET3	Rep 2		17T1T8	Rep 4	17T3T8	Rep 3
17T1A7	Rep 3	17TET4	Rep 2		17T1T9	Rep 4	17T3T11	Rep 3
17T1A4	Rep 3	17TET5	Rep 2		17T1T10	Rep 4	17T3T12	Rep 3
17T1A5	Rep 3	17TET7	Rep 2		17T1T11	Rep 4	17T3T14	Rep 3
17T1A4 bis	Rep 3	17TET8	Rep 2		17T1T12	Rep 4	17T3T15	Rep 3
17T1A2 bis	Rep 3	17TET9	Rep 2		17T1T14	Rep 4	17T3T16	Rep 4
17T1A1	Rep 3	17TET10	Rep 2		17T1T15	Rep 4	17T3T1	Rep 4
17T1A3 bis	Rep 3	17TET11	Rep 2		17T1T16	Rep 4	17T3T2	Rep 4
17T1A11	Rep 4	17TET12	Rep 2		17T2T1	Rep 1	17T3T3	Rep 4
17T1A10	Rep 4	17TET13	Rep 2		17T2T2	Rep 1	17T3T4	Rep 4
17T1A16	Rep 4	17TET14	Rep 2		17T2T3	Rep 1	17T3T5	Rep 4
17T1A8	Rep 4	17TET15	Rep 2		17T2T4	Rep 1	17T3T6	Rep 4
17T1A7	Rep 4	17TET16	Rep 2		17T2T7	Rep 1	17T3T7	Rep 4
17T2A4	Rep 1	17TET1	Rep 3		17T2T8	Rep 1	17T3T10	Rep 4
17T2A9	Rep 1	17TET3	Rep 3		17T2T10	Rep 1	17T3T11	Rep 4
17T2A11	Rep 1	17TET4	Rep 3		17T2T2'	Rep 1	17T3T12	Rep 4
17T2A6	Rep 1	17TET5	Rep 3		17T2T7'	Rep 1	17T3T14	Rep 4
17T2A10	Rep 1	17TET6	Rep 3		17T2T1	Rep 2	17T3T15	Rep 4
17T2A2	Rep 1	17TET7	Rep 3		17T2T2	Rep 2		
17T2A1	Rep 1	17TET9	Rep 3		17T2T3	Rep 2		
17T2A16	Rep 2	17TET10	Rep 3		17T2T4	Rep 2		
17T2A3	Rep 2	17TET11	Rep 3		17T2T5	Rep 2		
17T2A5	Rep 2	17TET12	Rep 3		17T2T7	Rep 2		
17T2A11	Rep 2	17TET13	Rep 3		17T2T9	Rep 2		
17T2A13	Rep 2	17TET14	Rep 3		17T2T12	Rep 2		
17T2A17	Rep 2	17TET15	Rep 3		17T2T13	Rep 2		
17T2A15	Rep 2	17TET16	Rep 3		17T2T14	Rep 2		
17T2A18	Rep 2	17TET2	Rep 4		17T2T1'	Rep 2		
17T2A10	Rep 3	17TET3	Rep 4		17T2T3'	Rep 2		
17T2A7	Rep 3	17TET4	Rep 4		17T2T1	Rep 3		

VI.4 : PROTOCOLES

VI.4.1 Isolation mono-conidienne des souches (Maxime Duvivier)

PROTOCOLE DE PRÉLÈVEMENT D'ISOLATION MONO-CONIDIENNE DES SOUCHES DE ZYMOSEPTORIA TRITICI.

Objectif : Obtenir une souche mono-conidienne

Prélever les conidies contenues dans un cirrhe afin de les isoler ultérieurement

Mode opératoire : A partir d'une lésion à pycnides sur une feuille de blé d'hiver, récupérer le cirrhe d'un pycnide et le mettre en suspension dans de l'eau stérile. Attention : une souche maximum doit être prélevée par feuille pour être sûr d'avoir des souches génétiquement différentes (les feuilles sont prélevées tous les 2 m dans les champs)

Préparation de l'échantillon végétal.

Matériel :

- Lame porte-objet
- Boîte de pétri vide
- Filtre Whatman
- Papier collant
- Feuille de blé avec lésion à pycnides

Manipulation : Couper un morceau de feuille comportant une lésion à pycnides et le fixer à l'aide du papier collant à ses 2 extrémités sur une lame porte objet. Conserver les morceaux de feuilles et les échantillons dans les enveloppes. Numéroter la lame porte objet avec le code de la souche. Placer 2 filtres Whatman dans le fond de la boîte de pétri et y déposer la lame porte-objet. Humecter légèrement et observer au binoculaire les pycnides afin de détecter le moment d'extrusion du cirrhe. A partir de l'humectation, compter 1 h minimum à 14h en fonction de l'état de la lésion (jeune ou vieille).

Prélèvement du cirrhe et mise en culture (en chambre stérile)

Matériel :

- Boîtes de pétri (Potato Dextrose Agar 39gr/L)
- Eau stérile + tween 20 (500µl par 40 ml d'H₂O)
- Falcon stérile
- Aiguille
- Étaleur
- Eppendorf 2 ml stériles
- Tips p1000 stériles
- Binoculaire

Manipulation :

A l'aide de l'aiguille, prélever un cirrhe par Eppendorf au préalablement remplis de 500 µl d'eau stérile. Remuer délicatement la pointe de l'aiguille dans l'Eppendorf.

Bien stériliser l'aiguille entre chaque cirrhe !!!!! Vortexer légèrement l'Eppendorf. Mettre 150µl du contenu de l'Eppendorf dans une boîte de Pétri PDA, étaler avec l'étaleur stérile et refermer. Mettre dans une étuve (ou chambre noire à 20°C) pendant 12-15h.

Isolation mono-conidienne

Mode opératoire : Transférer 2x une spore dans un nouveau milieu

Matériel :

- Boîtes de pétri + Chloramphénicol (Potato Dextrose Agar 39gr/L)
- Bistouri
- Microscope inverse
- Chloramphénicol pas obligatoire mais plus facile

Manipulation :

En chambre stérile, placer la boîte de Pétri sortie de l'étuve (point 1) sur le microscope inversé. Repérer une conidie de *Septoria tritici* germée étant bien isolée de toutes autres conidies. Couper un cube dans le milieu PDA contenant la conidie. Prélever délicatement le cube avec la pointe du bistouri et le placer renversé dans un milieu PDA + Chloramphénicol. Répéter l'opération une seconde fois. Placer la deuxième spore à l'opposé de la première. Placer les boîtes en chambre noire à 20°C.

VI.4.2 Conservation et mise en collection des souches (Pierre Hellin)**PROTOCOLE : CONSERVATION DES SOUCHES DE ZYMOSEPTORIA TRITICI****Matériel stérile :**

- Eau glycérol 30%
- Lames de microscope rodées
- Tips 1ml + pipette
- Tubes 2ml avec bouchon à visser
- Tubes PDA (6ml) incliné
- Paraffine liquide (autoclavée 2x) et distributeur

Procédure :

- 1) Ajouter 1 à 2 ml d'eau glycérol dans la boîte de pétri contenant la souche à conserver.
- 2) Gratter la souche en pour mettre les particules de champignon en suspension.
- 3) En inclinant la boîte de pétri, rincer la souche avec la suspension en la pipetant et récupérer la suspension finale dans un tube de 2ml portant le code de référence de la souche.
- 4) Conserver les tubes au -80°C.

- 5) Inoculer un tube PDA incliné avec le reste de la suspension (ex 50µl) en prenant soin que la suspension ait été mise en contact avec une bonne partie de la surface du milieu de culture. Indiquer le code de la souche sur le tube.
- 6) Incuber les tubes à 18°C dans le noir pendant une semaine.
- 7) Une fois la souche bien développée sur PDA, ajouter 10ml de paraffine liquide à l'aide du dispenseur et conserver à température ambiante.

Remarque :

Afin de garantir une conservation optimale des suspensions conservées au -80°C malgré les cycles de gel/dégel, les souches doivent être dégelées lentement sur glace et remise immédiatement au -80°C après utilisation.

VI.4.3 Analyse de EC50 (Pierre Hellin)

PROTOCOLE : DÉTERMINATION DE LA SENSIBILITÉ DES SOUCHES DE ZYMOSEPTORIA TRITICI AUX FONGICIDES (EC50)

Préparation de l'inoculum

Matériel stérile :

- PDB
- YMA (4g/L yeast extract, 4g/L malt extract, 10g/L sucrose, 15g/L agar)
- Lames de microscope rodées
- Filtre 100µm
- Tube Falcon 50ml et 15ml
- Cellules de THOMA
- Tips 200µl et 1ml + pipettes

Procédure :

- 8) Strier une boîte de YMA avec une souche ou étaler une solution de spores (ex souches conservées au -80°C) et parafilmer. Incuber dans le noir pendant une semaine à 18°C.
- 9) Ajouter du PDB (environ 5-10ml) dans la boîte et gratter avec une lame de microscope.
- 10) Filtrer la solution (100µm) dans un Falcon de 50ml et mesurer la concentration avec une cellule THOMA.
- 11) Diluer afin d'obtenir une solution à 100 000 particules/ ml.

Préparation et inoculation des plaques multi-puits

Matériel stérile :

- PDB
- Plaque 96 puits + couvercle
- Tube Falcon 50ml et 15ml
- DMSO
- Eppendorf 1.5ml
- Solutions stock de fongicide
- Tips 200µl et 1ml + pipettes (+multicanaux)
- Gouttières
- Tips 1250µl + pipette multicanaux électronique

Procédure :

- 1) Sortir les solutions stock (concentrées) du frigo (40mg/ml) et préparer une dilution 10x (ex 50µl dans 450µl) dans du DMSO pour obtenir la première dilution de chaque fongicide à utiliser (concentration 30mg/L dans le milieu final). Le volume final à préparer dépend du nombre de souches à tester.
- 2) Effectuer des dilutions successives d'un facteur 3 dans le DMSO (300µl dans 600µl) pour obtenir les concentrations correspondant à 10, 3.3, 1.1, 0.37, 0.123 et 0.04 mg/L de fongicide dans le milieu final.
- 3) Diluer les fongicide du PDB (Falcon) selon un facteur 100. Par ex, pour 4ml de milieu, retirer 40µl de PDB et remplacer par un volume équivalent de fongicide. Pour une plaque 96 puits, 1.8 ml (150µl x 12 puits) de chaque dilution sont nécessaires. Pour la dilution « 0 », utiliser du DMSO pur.
- 4) A l'aide des gouttières et pipettes multicanaux, remplissez les plaques avec 150 µl de solution par colonne en considérant la plaque de manière verticale selon le schéma suivant:

	H	G	F	E	D	C	B	A
1	0	0,04	0,123	0,37	1,1	3,3	10	30
2	0+	0,04+	0,123+	0,37+	1,1+	3,3+	10+	30+
3	0+	0,04+	0,123+	0,37+	1,1+	3,3+	10+	30+
4	0+	0,04+	0,123+	0,37+	1,1+	3,3+	10+	30+
5	0+	0,04+	0,123+	0,37+	1,1+	3,3+	10+	30+
6	0+	0,04+	0,123+	0,37+	1,1+	3,3+	10+	30+
7	0+	0,04+	0,123+	0,37+	1,1+	3,3+	10+	30+
8	0+	0,04+	0,123+	0,37+	1,1+	3,3+	10+	30+
9	0+	0,04+	0,123+	0,37+	1,1+	3,3+	10+	30+
10	0+	0,04+	0,123+	0,37+	1,1+	3,3+	10+	30+
11	0+	0,04+	0,123+	0,37+	1,1+	3,3+	10+	30+
12	0+	0,04+	0,123+	0,37+	1,1+	3,3+	10+	30+

- 5) Ajouter ensuite 50µl de solution de spores de chaque souche (une souche par ligne) dans les lignes de 3 à 12. La ligne 1 doit être complétée avec 50 µl de PDB pur et la ligne 2 avec 50µl de solution de spores de la souche Témoin.
- 6) Indiquer le nom et la position de chaque souche sur le couvercle de la plaque.
- 7) Parafilmer les plaques par 3, ajouter deux anciennes plaques sur le dessus pour éviter la condensation et placer dans un sac plastique fermé. Incuber à 18°C dans le noir pendant 7 jours.
- 8) Lire à 405nm dans le lecteur de plaque.

VI.4.4 PCR et séquençage (Pierre Hellin)

AMPLIFICATION PCR POUR SÉQUENÇAGE

Matériel :

- Pipettes + Tips
- Échantillons ADN dilué
- Kit Q5 polymérase (buffer + enzyme)
- Eau biomoléculaire
- Amorces
- dNTP
- Tubes 1.5 ou 2 ml
- Tubes PCR
- Kit purification PCR ou gel)

Procédure :

Mélanger les réactifs dans l'ordre du tableau ci-dessous en fonction du volume souhaité et du nombre d'échantillons d'ADN dans un tube Eppendorf. Prévoir un blanc (eau à la place de l'ADN). Préparer pour 10% d'échantillon en plus pour être certain d'avoir assez de mix. Bien vortexer les réactifs avant de les pipeter sauf pour la polymérase.

MIX	Volume final (µl)	
	25	50
Water	14,25	28,5
Buffer	5	10
dNTP	0,5	1
For (10µM)	1,25	2,5
Rev(10µM)	1,25	2,5
Q5 polym	0,25	0,5
DNA (25-50ng/µl)	2,5	5

Vortexer le mix et répartir 22,5 µl de mix dans chaque tube PCR. Ajouter ensuite 2,5 µl d'ADN dilué (25-50ng/µl) au tube PCR correspondant à l'échantillon (bien numéroter les tubes !!). Centrifuger légèrement les tubes pour faire descendre le liquide dans le fond du tube (pas de bulle au fond !). placer les tubes dans le thermocycleur et lancer le cycle présenté dans le tableau ci-dessous. L'annealing et le temps d'élongation dépendent des amorces utilisées.

Cycle

temp (C°)	time
98	30''
98	10''
65	30''
72	30''/kb
72	2'
4	forever

40x

Pour CYP51 (cyp51-F1 + cyp51-R1) le temps d'élongation (étape a 72°C) sera de 1min (amplicon de 2 kb) alors que pour SdhC (Mg-SdhC-F et Mg-SdhC-R), 30 sec devraient suffire (amplicon de 1kb).

Étant donné que le buffer de la q5 est transparent et ne contient ni dye (marqueur de poids moléculaire coloré) ni d'« allourdisseur » (glycérol ou autre, qui permet à l'échantillon de couler au fond du puits dans le gel), il faut mélanger à l'échantillon du loading dye ou bleu de charge. Pour faire un gel dans le seul but de visualiser le produit PCR, mélanger 5µl d'échantillon à 5µl de loading dye 2x et spotter 5µl dans le gel. Pour faire migrer l'entièreté de l'échantillon, mélanger plutôt le dye concentré (6x) à l'entièreté de l'échantillon dans son tube PCR. Faire migrer l'entièreté de l'échantillon n'est nécessaire que si on désire faire une découpe de bande sur gel (suivit d'une extraction d'ADN sur gel) dans le cas où on suspecte d'avoir d'autres amplifications (bandes « aspécifiques »).

Une fois que le produit est visualisé et qu'on a pu observer un fragment unique de taille correspondant à ce que l'on avait prédit, on purifie le reste de l'échantillon (20µl) avec un kit (ex. Eurogentec SmartPure PCR). Éluer avec 30µl. Il est important de lire la concentration et la pureté au nanodrop après la purification. Une quantité supérieure à 15-20 mg/µl est généralement suffisante.

Pour le séquençage, on mélange 5µl du produit à 1.25µl d'amorce forward et 3.75µl d'eau biomoléculaire dans un tube de 1.5ml. Si la concentration en ADN est trop faible, on peut aller jusque 8.75µl d'échantillon et ne pas mettre d'eau biomoléculaire. Dans le cas du gène CYP51, il faut préparer 3 tubes par produit. Chaque tube contiendra une amorce forward différente (CYP51-F1, CYP51-F2 et C51-F3). Le gène étant plus long, il faut trois fragments pour être sûr d'avoir toute la longueur de la séquence du gène. Les tubes doivent être numérotés et porter les initiales du chercheur.

VI.4.5 Analyse de fitness (Alice Nysten, Lucas Yzerbyt)

PROTOCOLE : ÉVALUATION DU FITNESS DES SOUCHES DE ZYMOSEPTORIA TRITICI SUR DIFFÉRENTES VARIÉTÉS DE BLÉ

Préparation du matériel végétal

- Pots carrés de plantation de 10cm
- Terreau et sable fin 50:50
- Graines de 4 variétés choisies
 - Olympus ++
 - Chevignon +
 - RGT reform =
 - Henrik -

Procédure :

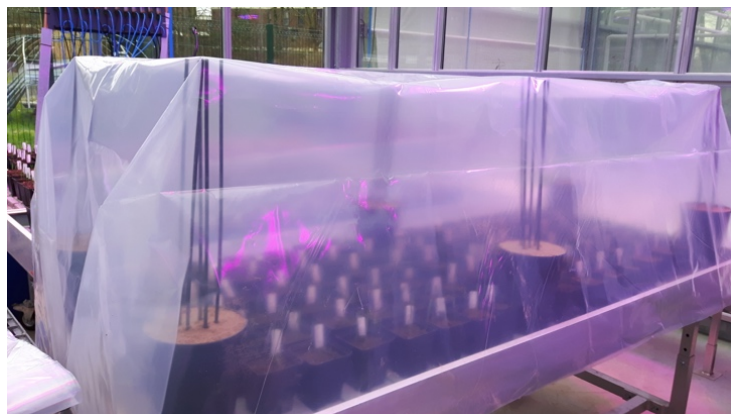
- 1) Préparer les pots de plantation en mélangeant le sable fin et le terreau en proportion 50:50.
- 2) Remplir les pots et y planter 4 graines dans chaque. Il faut réaliser 27 séries de 4 pots par variété de blé (352 pots au total).
- 3) Arroser et placer le matériel en serre conditionnée.
- 4) Les conditions de la serre doivent être vérifiées lors de l'installation en serre. Conditions contrôlées à 15-20°C (nuit/jour) et une humidité relative de 90% (HR).
- 5) Arroser régulièrement sans noyer les plants et surveiller la croissance de plantules. Une solution nutritive sera également ajoutée en cours de croissance des plantules (Hoegland)
- 6) Après 16-17 jours, les plantules ont atteint la taille souhaitée. Délimiter une zone de 5 cm à l'aide d'un feutre indélébile sur la plus jeune feuille (voir photo ci-contre).
- 7) On inocule 2 plantules choisies dans chaque pot avec 1 souche de *Zymoseptoria*. On obtient 8 feuilles inoculées par souche et par variété.
- 8) Les pots seront disposés aléatoirement dans le « **bloc d'une variété de blé** ».



Préparation de l'inoculum

Matériel :

- Eau + Tween20 stérile
- YMA (4g/L yeast extract, 4g/L malt extract, 10g/L sucrose, 15g/L agar)
- Lames de microscope rodées stériles
- Filtres 100µm stériles
- Tubes Falcon 50ml et 15ml
- Cellules de THOMA
- Tips stériles 200µl et 1ml + pipettes
- Pinceaux stériles (à autoclaver)
- Pipettes 10ml + Pistolet pompe
- Réalisation des « mini-serres » afin de garder HR élevée grâce à une bache transparente et des tuteurs verts de 30 ou 50 cm (en fonction des plantules) plantés dans des pots remplis de sable.



Procédure :

Choix de 20 souches parmi la collection testée en EC50 préalablement en sélectionnant 4 catégories :

- A. EC50 élevées pour FLUXA-PRO ou FLUO-FLUXA-PRO*
- B. EC50 élevées pour FLUXA-FLUO*
- C. EC50 élevées pour PRO-TEB ou PRO*
- D. EC50 faibles, souches sensibles*

1. Étaler 30 µl d'une solution de spores (conservée au -80°C) sur YMA pour chaque souche et parafilmer. Incuber dans le noir pendant une semaine à 22°C.
2. Ajouter du 5 ml d'eau + tween dans la boîte et gratter avec une lame de microscope.
3. Filtrer la solution (100µm) dans un Falcon de 50ml et mesurer la concentration avec une cellule THOMA.
4. Diluer afin d'obtenir une solution à **150 000 particules/ ml**.
5. Badigeonner à l'aide d'un pinceau la zone de 5 cm des plantules avec les solutions de souche à la bonne concentration. Ne pas oublier de badigeonner la série de feuilles choisies comme témoin avec de l'eau + tween simplement.
6. Les zones inoculées ne doivent pas se toucher. Libeller des plantes.
7. Installer la « mini-serre » durant 72H sur les plants inoculés afin de maintenir une humidité relative élevée.

Observations et critères d'évaluation

Pour la période de latence et d'incubation, les observations seront faites tous les jours dès **5 jours** après inoculation jusqu'à 20 jours.

- **La période d'incubation** (première nécrose, symptômes) (en cotation binaire).
- **La période de latence** sera calculée comme l'intervalle entre l'inoculation et l'apparition des premières fructifications.

Les observations devront être faites **12-16-20-24 jours** après l'inoculation pour les critères suivants :

- **La surface des symptômes** est estimée par cotation à l'œil nu de la surface couverte par les décolorations (%) comme sur la photo ci-dessous
- **La surface de sporulation** est estimée par la surface symptomatique couverte par des pycnides

A la fin de l'essai (24j après inoculation), toutes les feuilles inoculées sont récoltées. Les feuilles d'une même variété/souche sont collées sur une même feuille A4 qui est scannée en couleur pour une **estimation des symptômes par imagerie** (surface + pycnide).

SMARTPURE Protocol

PCR kit
SK-PCPU-100

Sample Preparation



1. Add 1 volume of **Sample** (up to 100 μ L) in a 1.5 mL microcentrifuge tube.
2. Add 2 volumes of **Binding Buffer** (up to 200 μ L)
3. Vortex.

→ Close the Binding Buffer bottle immediately after usage.

Binding



4. Place a Smart Pure column into a collection tube (2mL).
5. Apply the **Mixture** to the SmartPure column.
6. Centrifuge for 1 min at 6 000 \times g.
7. Discard the flow-through.

Washing



8. Add 650 μ L of **Wash Buffer**
9. Centrifuge for 30-60 sec at 12 000 \times g.
10. Discard the flow-through.
11. Repeat washing step once.
12. Centrifuge 1 min at 12 000 \times g to remove residual liquid.

Elution



13. Transfer the SmartPure column to a sterile 1.5 mL microcentrifuge tube.
14. Add 50 μ L of **Elution Buffer**, ddH₂O or TE Buffer to the SmartPure column.
15. Incubate 1 min at room temperature.

Purified DNA



16. Centrifuge 1 min at 12 000 \times g to recover your purified DNA fragments in the microcentrifuge tube.

→ The purified DNA fragment can be used directly or stored at -20°C for long term storage.

SMARTPURE Protocol

Gel kit
SK-GEPU-100

Sample Preparation



1. Excise **DNA fragment** out of the gel with a clean scalpel.
→ Minimize the size of the gel slice by removing extra agarose.
2. Weigh the gel slice and transfer it to a clean tube.
3. Add 3 volumes of **Extraction Buffer** to 1 volume of gel slice.
→ e.g. 300 μ L of Extraction Buffer to 100 mg of gel. The gel slice should be \leq 400 mg per assay.
→ The yellow color indicates a pH <7.8
4. Incubate (5-10 min) at 50 °C until the gel melts and vortex the tube every 2-3 min during the incubation.
→ If the color of the mixture becomes purple add 10 μ L of 3 M sodium acetate (pH5.0) and mix. The color will return yellow.
Optional: if DNA Fragment <500 bp or > 4 Kb, add 1 volume of isopropanol to 1 volume of gel and mix well.



Binding



5. Place a Smart Pure column into a collection tube (2mL)
6. Apply **Sample** on the SmartPure column.
7. Centrifuge for 1 min at 6 000 \times g.
8. Discard the flow-through.
→ If the sample volume is higher than 750 μ L, reload the remaining volume on the same SmartPure column and spin again.
9. Add 500 μ L of **Extraction Buffer** on the SmartPure column
10. Centrifuge for 30-60 sec at 12 000 \times g.
11. Discard the flow-through.

Washing



12. Add 750 μ L of **Wash Buffer** to the SmartPure column
13. Centrifuge for 30-60 sec at 12 000 \times g.
14. Discard the flow-through.
→ If the DNA will be used for salt sensitive applications, let the spin column stand for 2-5 min after the addition of the Wash Buffer before centrifuging.
15. Centrifuge for 1 min at 12 000 \times g to remove residual liquid.

Elution



16. Transfer the SmartPure column to a sterile 1.5ml microcentrifuge tube.
17. Add 30-100 μ L of **Elution Buffer**, H₂O or TE Buffer to the SmartPure column and let it stand for 1 min at room temperature.
→ The volume of elution buffer can be adjusted according to needs (min 20 μ L).

Purified DNA

18. Centrifuge for 1 min at 12 000 \times g to elute the DNA in the microcentrifuge tube.
→ The purified DNA fragment can be used directly or stored at -20°C for long term storage.