

Éléments sur les résistances aux herbicides et leur détection, en France, au Québec et ailleurs

contact-r4p@inra.fr

www.inra-r4p.fr

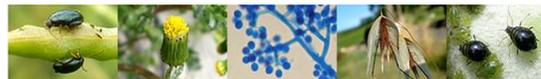


R4P_network

Christophe Délye christophe.delye@inra.fr

Anne-Sophie Walker

Myriam Siegwart



Utilisation des herbicides - côté lumineux: raisons du succès des herbicides

Facile (un passage de tracteur)

Pas / peu cher

Efficace et constant (tuent 95 à 99% des plantes sensibles)



Façons culturales: de 0 à 66%;

Faux semis: de 43 à 83%

Modification densité: de 0 à 38%

Gestion engrais: de 0 à 90%

Carabes: ~ 5%

Sélectif (tuent les adventices, pas les cultures)

Rapide (surtout pour une très grande exploitation)

Contraintes financière et/ou de temps excluant le désherbage mécanique,
voire les rotations

**Croyance dans la commercialisation régulière
de nouvelles substances**

FAUX



Utilisation des herbicides - côté obscur : inconvenients du succès des herbicides



Effets collatéraux (biodiversité, santé, environnement...)

Simplification et intensification à outrance des systèmes cultureux

Perte de biodiversité

Érosion / épuisement des sols

Perte de biocontrôle / de résilience

(risque élevé de pullulation d'un bio-agresseur qui s'adapterait)



Sélection de résistances

Pourra-t-on revenir en arrière en cas
de problème?



Modes d'action herbicides et classification

Les modes d'action herbicides



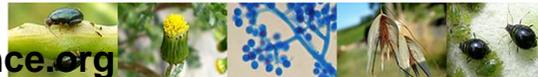
Classification **S** des herbicides

Three Herbicide Site of Action Classification Systems

In an ideal world we would only have one classification system for herbicide sites of action, no such luck. In 1990 whilst at the University of Manitoba I created a classification system based on numbers to assist growers in rotating herbicides, and published it in a fact sheet in 1991 – Group 1 = ACCase inhibitors, Group 2 = ALS inhibitors etc. This was added to and became the basis of the Canadian herbicide classification system, which in turn became the basis of the **WSSA (Weed Science Society of America) herbicide classification system** first published by Retzinger and Mallory-Smith in 1997.

In the early 1990's Australia created a classification system based on letters, and **HRAC (Herbicide-Resistance Action Committee)** also created a **classification system** also based on letters ... unfortunately not the same letters as the **Australian classification system**. This was not done deliberately, each group worked independently and thought they were coming up with the “first classification system”. Because growers became use to “their” classification system it became impractical to choose just one system at a later date.

The WSSA classification system is only used in the USA and Canada. The Australian classification system is only used in Australia. **The HRAC system is used in all other countries.** The good news is that, on the whole, the systems map to each other, for example, HRAC Group O, Australian Group I, and WSSA Group 4 are synthetic auxins and contain the same list of herbicides. There are a few exceptions, particularly where the herbicide site of action is not well understood.

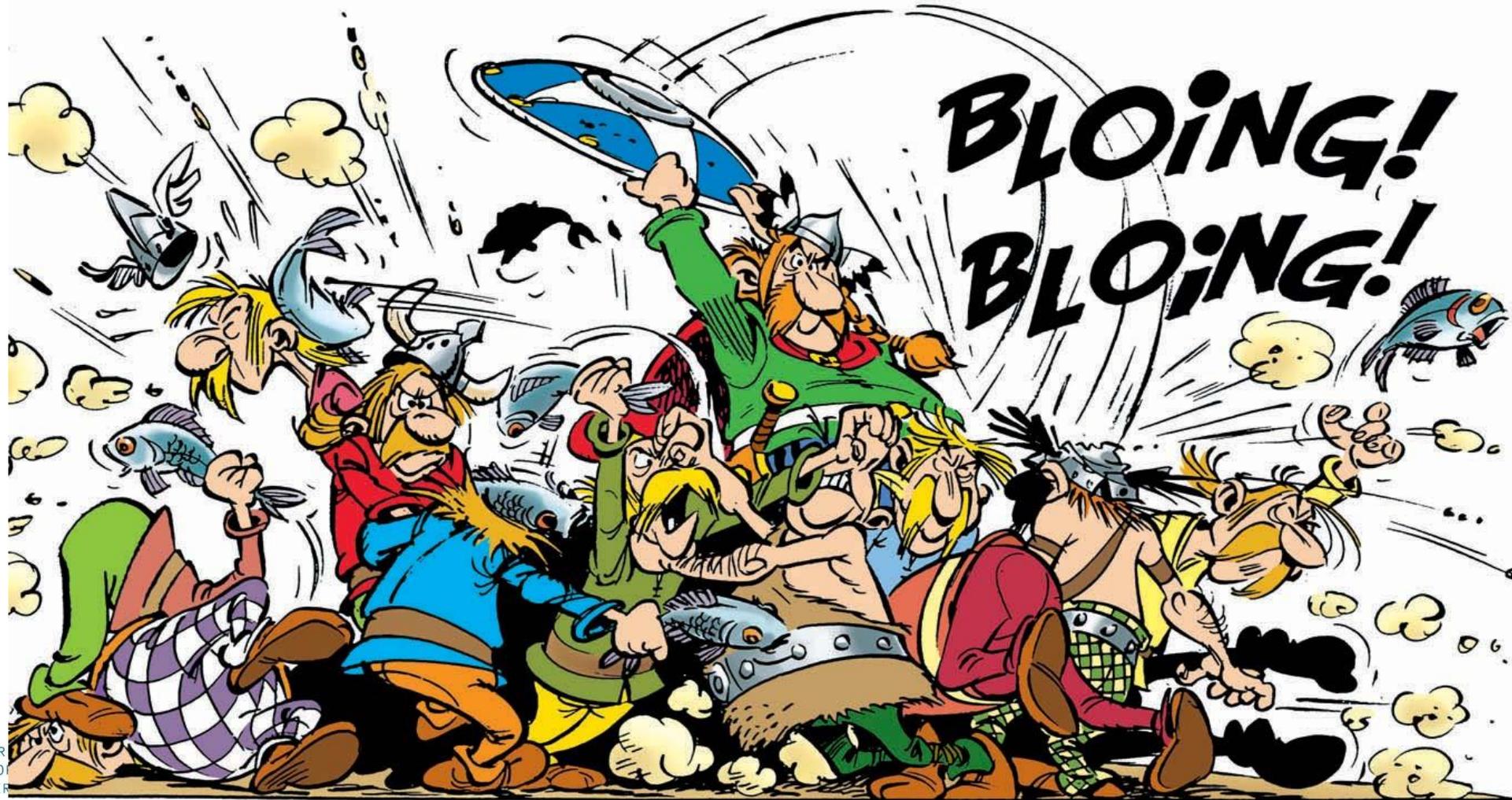


Un sujet à Polémix?

Les modes d'action herbicides

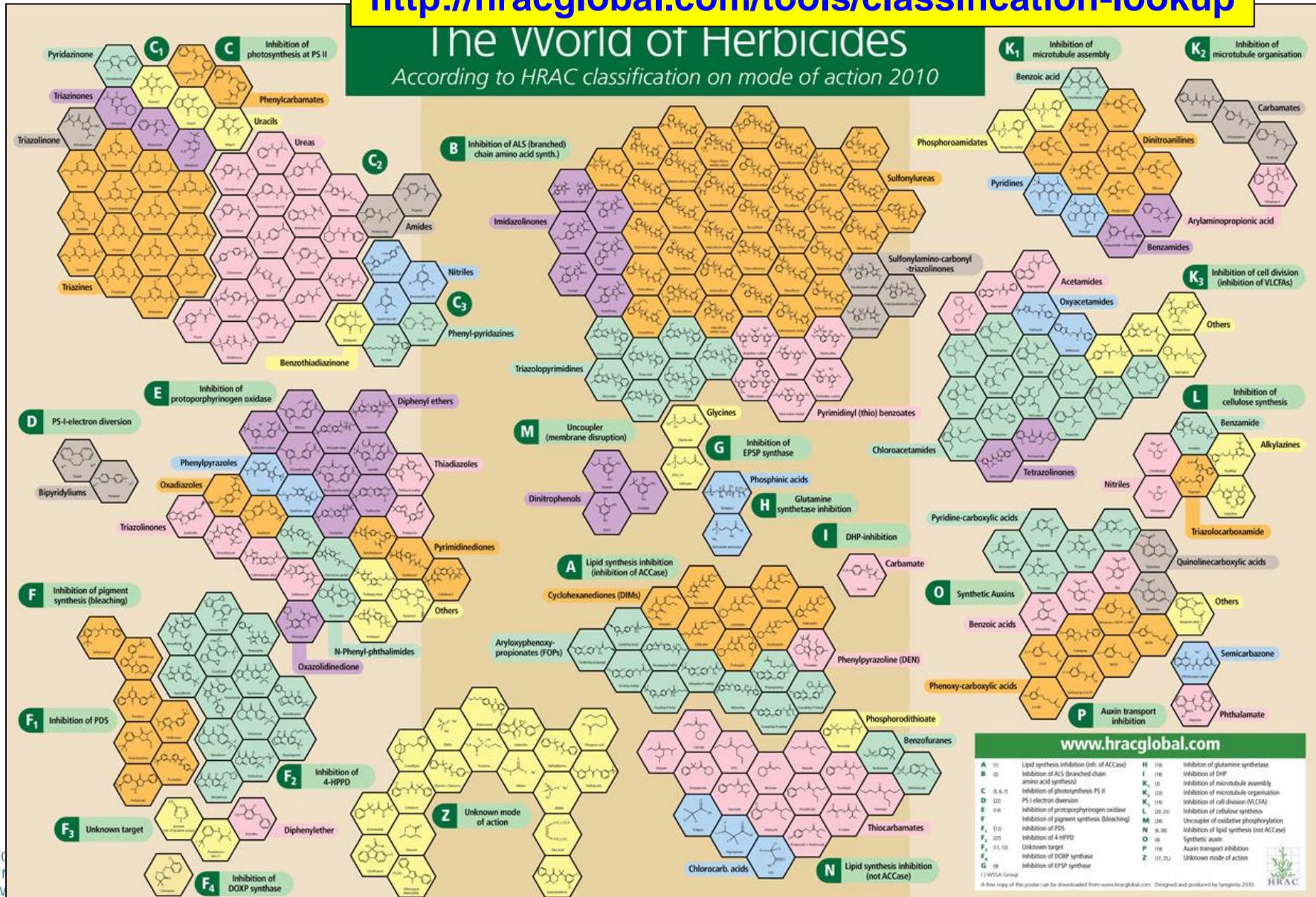


Classification **S** des herbicides



Classification dominante: HRAC – Herbicide Resistance Action Committee

<http://hracglobal.com/tools/classification-lookup>



Classification dominante: HRAC – Herbicide Resistance Action Committee

1 groupe = 1 lettre = 1 mode d'action
<http://hracglobal.com/tools/classification-lookup>

Groupe A: Anti-graminées

Fénoxaprop, clodinafop, diclofop, pinoxaden, cléthodime, cycloxydime, séthoxydime,...

↳ *Même mode d'action (Biosynthèse des phospholipides, inhibiteurs de l'ACCase)*

Groupe B: Mode d'action majeur en grandes cultures

Iodosulfuron + mésosulfuron, metsulfuron, pyroxsulame, florasulame, imazamox, imazéthabenz, pyrithiobac, etc...

↳ *Même mode d'action (Biosynthèse des acides aminés ramifiés, inhibiteurs de l'ALS)*

Groupe G: Non sélectif: interculture, destruction de couverts, cultures pérennes, cultures OGM...

Glyphosate (Roundup et autres...)

↳ *Même mode d'action (Biosynthèse des acides aminés aromatiques, inhibiteurs de l'EPSP synthase)*

Les challengers

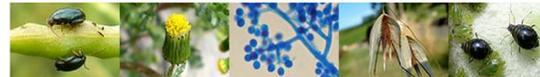
- **WSSA** (Weed Science Society of America) herbicide classification system

1 groupe = 1 nombre = 1 mode d'action
<http://wssa.net/wssa/weed/herbicides/>

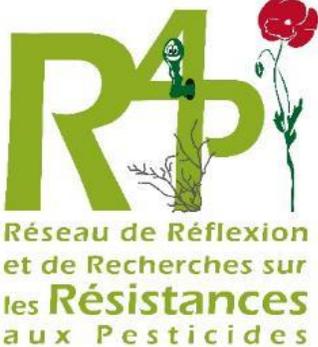
Groupe 1: inhibiteurs de l'ACCase

Groupe 2: inhibiteurs de l'ALS

Groupe 9: inhibiteurs de l'EPSPS (glyphosate)



Les challengers

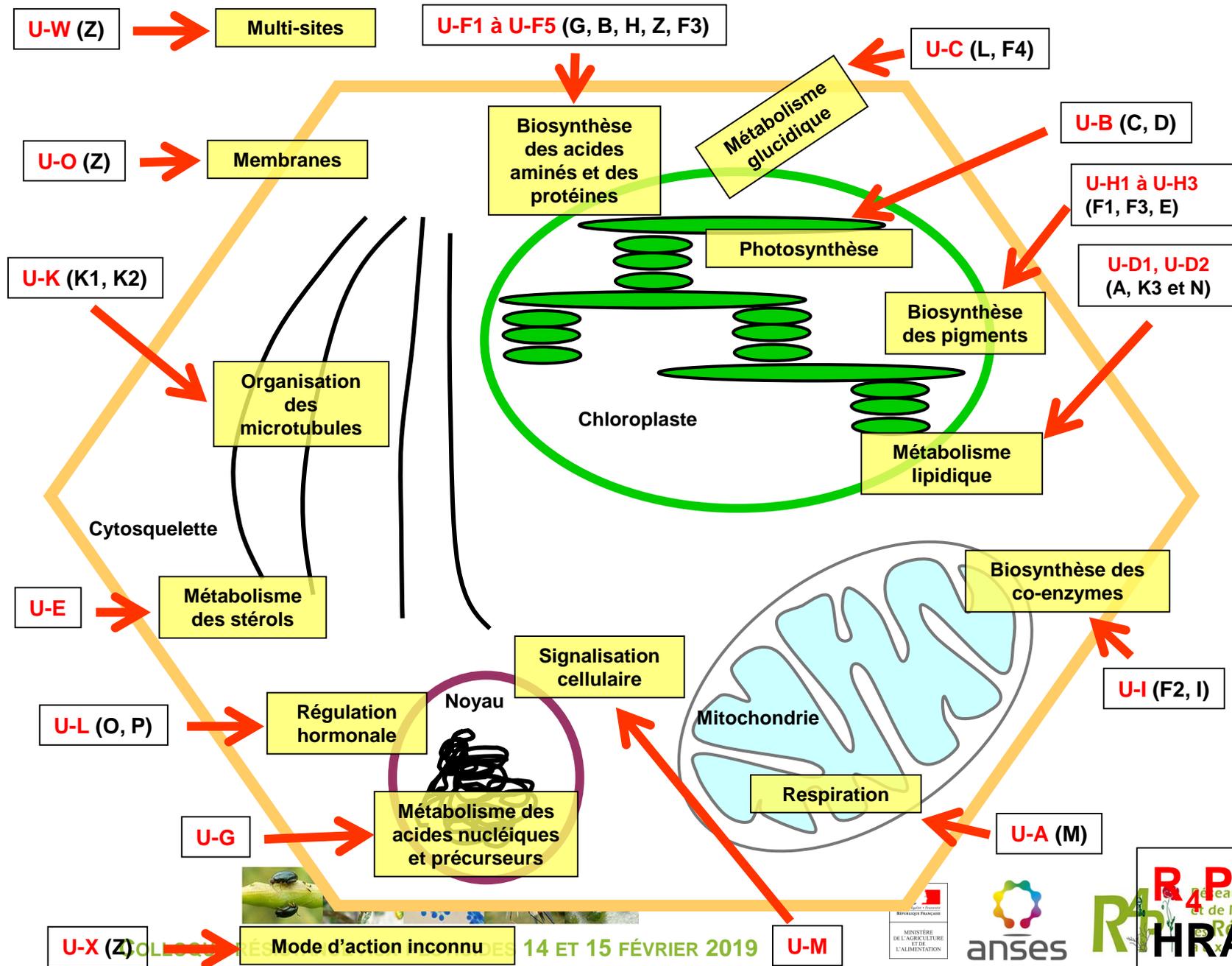
➤ **Classification**  Unique des **pesticides**

1 groupe = 1 code = 1 mode d'action pour tous les pesticides (herbicide, insecticides, fongicides)
<https://www.r4p-inra.fr/fr/classification-des-ppp/>

« **Universel** » **Cible enzymatique**
Exemple de code R4P: U-A1b
Voie métabolique inhibée (Facultatif) **classe chimique**

- Groupe U-D1:** inhibiteurs de l'ACCase
- Groupe U-F2:** inhibiteurs de l'ALS
- Groupe U-F1:** inhibiteurs de l'EPSPS (glyphosate)

Les cibles des herbicides



Les cibles des herbicides

- Multi-sites
- Métabolisme glucidique
- Membranes
- Biosynthèse des acides aminés et des protéines
- Photosynthèse
- Biosynthèse des pigments
- Organisation des microtubules
- Métabolisme lipidique
- Biosynthèse des co-enzymes
- Métabolisme des stérols
- Signalisation cellulaire
- Régulation hormonale
- Respiration
- Métabolisme des acides nucléiques et précurseurs

**13 processus métaboliques ciblés
(+ substances multi-sites ou de mode
d'action inconnu)**

- Mode d'action inconnu

A MONTREAL

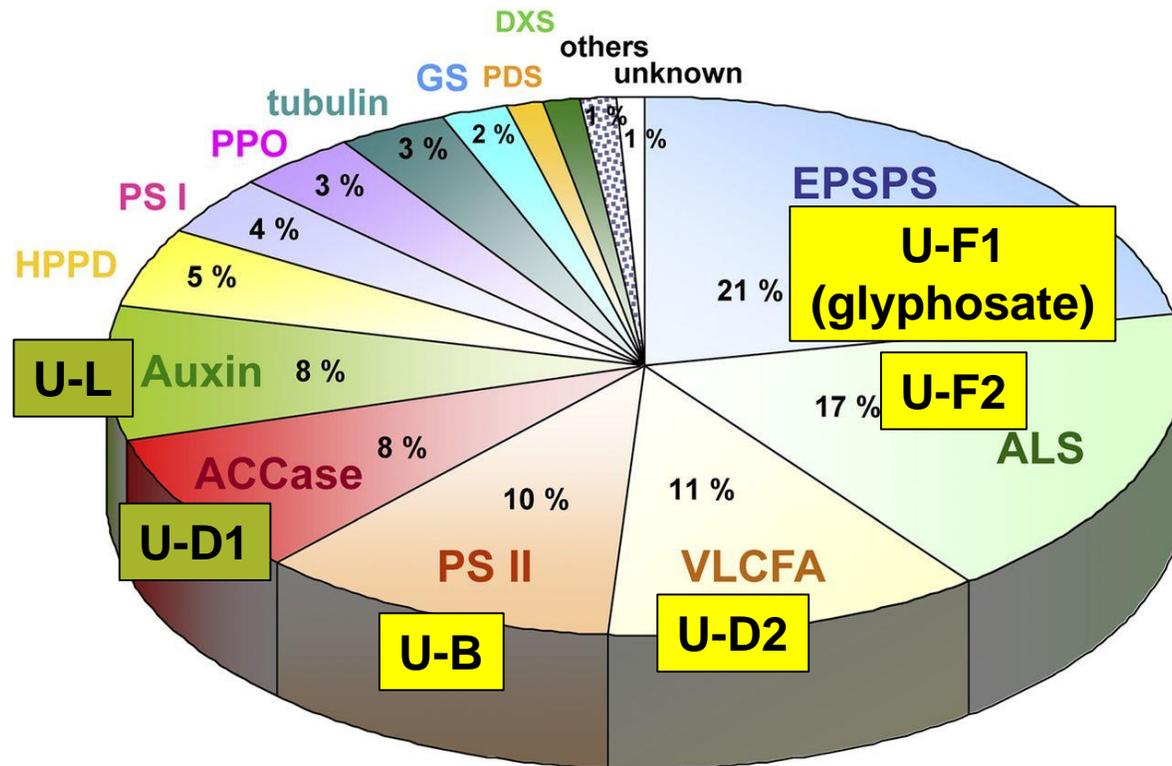


Effet de la domination mondiale du glyphosate...

- Multi-sites
- Métabolisme glucidique
- Membranes
- Biosynthèse des acides aminés et des protéines
- Photosynthèse
- Biosynthèse des pigments
- Organisation des microtubules
- Métabolisme lipidique
- Biosynthèse des co-enzymes
- Métabolisme des stérols
- Signalisation cellulaire
- Régulation hormonale
- Respiration
- Métabolisme des acides nucléiques et précurseurs
- Mode d'action inconnu

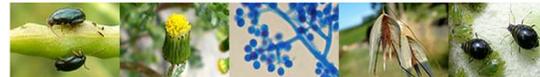
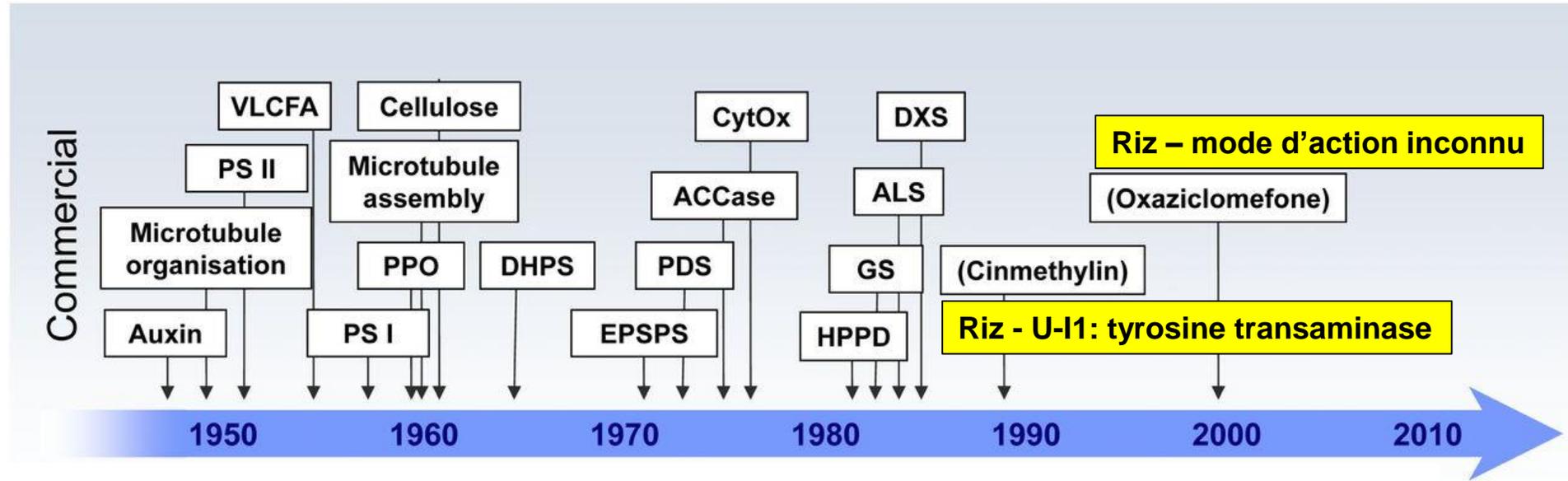
➤ **Glyphosate = 21% du marché**
 ➤ **4 groupes = 59% du marché**
 (6 groupes = 75%)

➤ **Utilisation déséquilibrée des modes d'action**



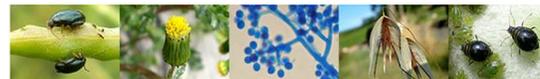
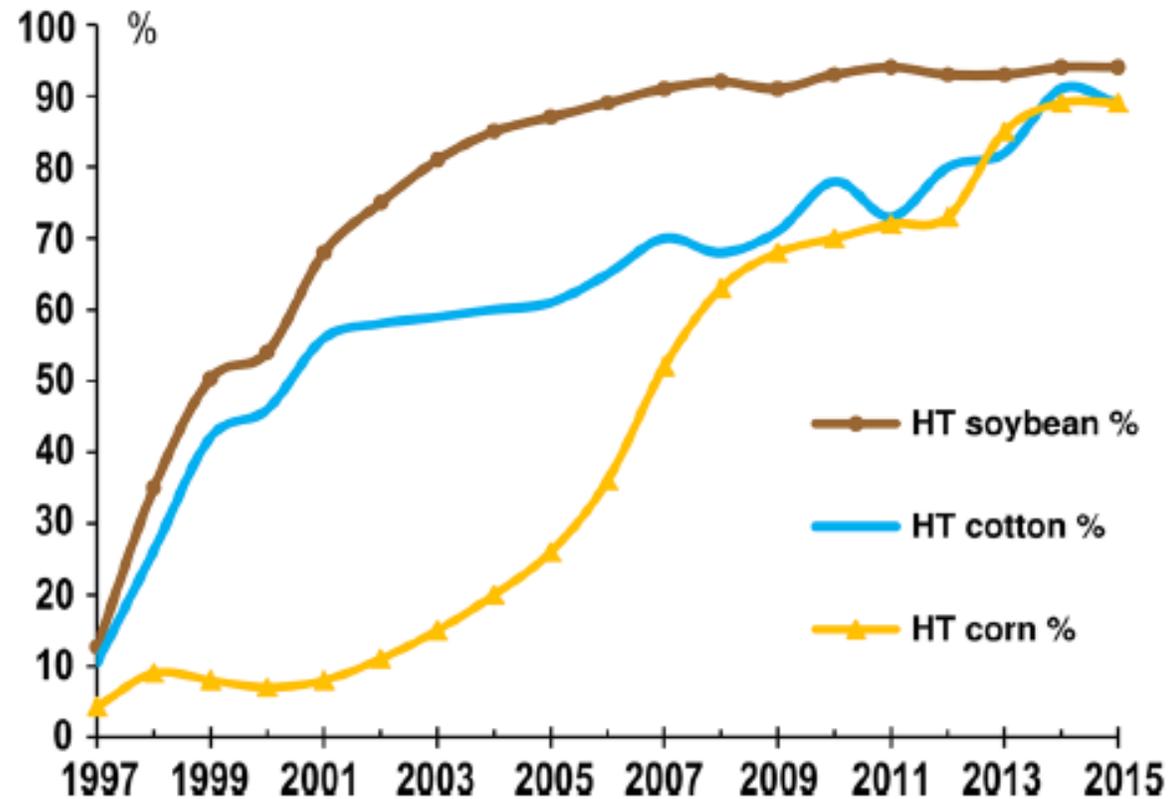
Herbicide market share in 2010
 Kraemer et al., 2004

...et pénurie de nouveaux modes d'action herbicides commercialisables



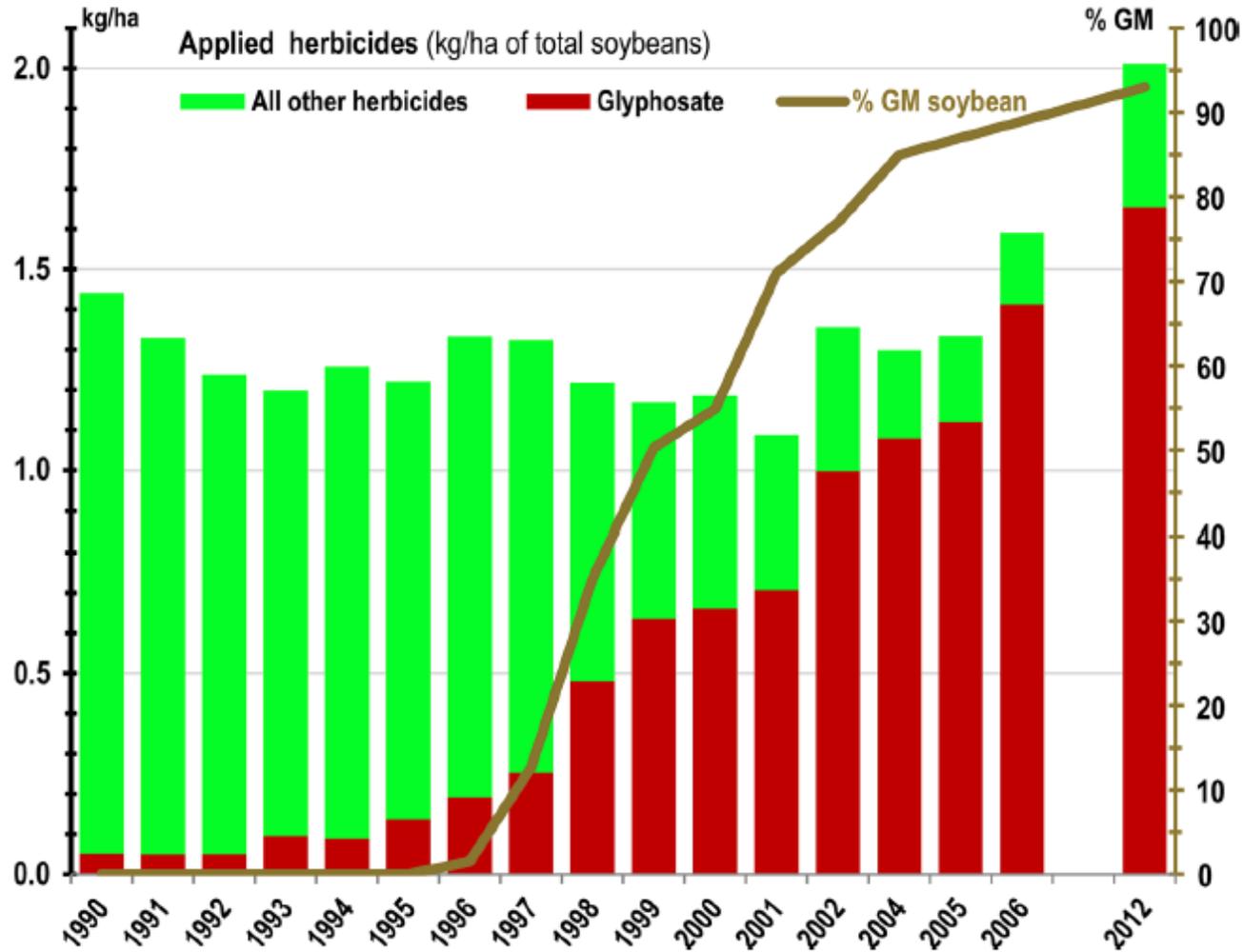
Le succès des variétés OGM Round-up ready

Adoption of herbicide-resistant GMO crops by farmers in the USA



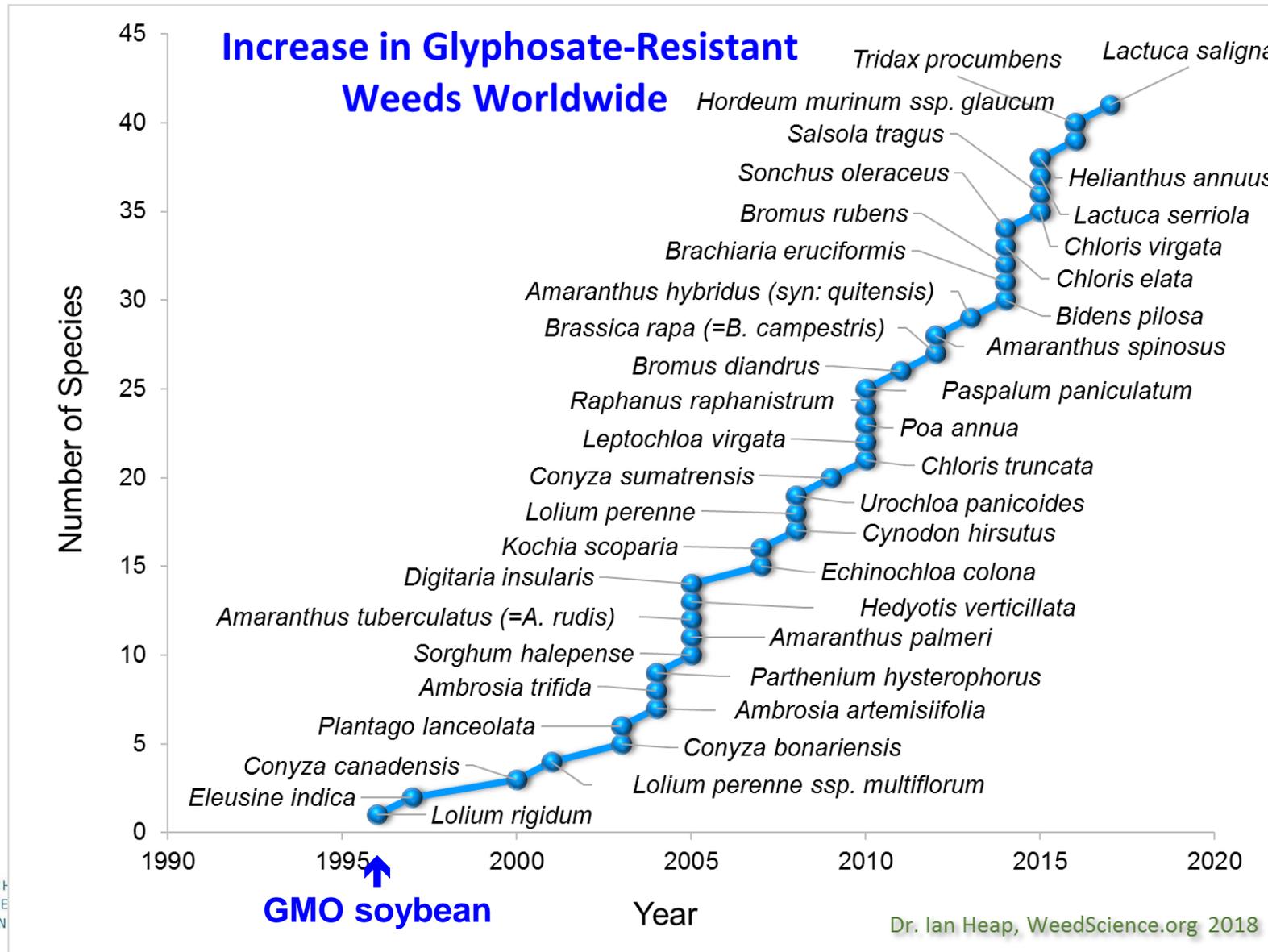
The American Way of Weeding

Vers un désherbage « tout-glyphosate »...



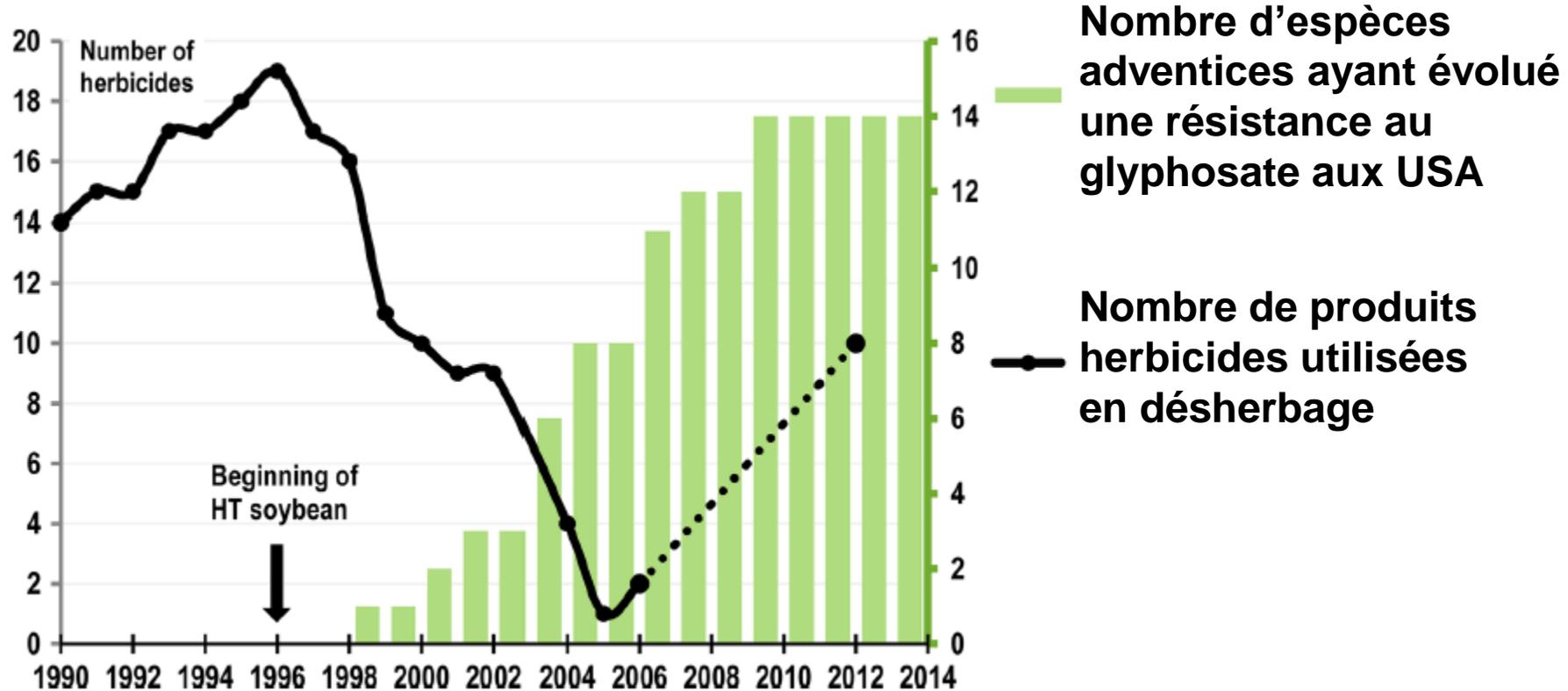
The American Way of Weeding

Et ses conséquences!

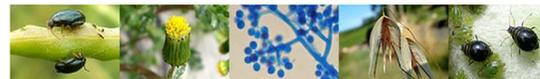


The American Way of Weeding

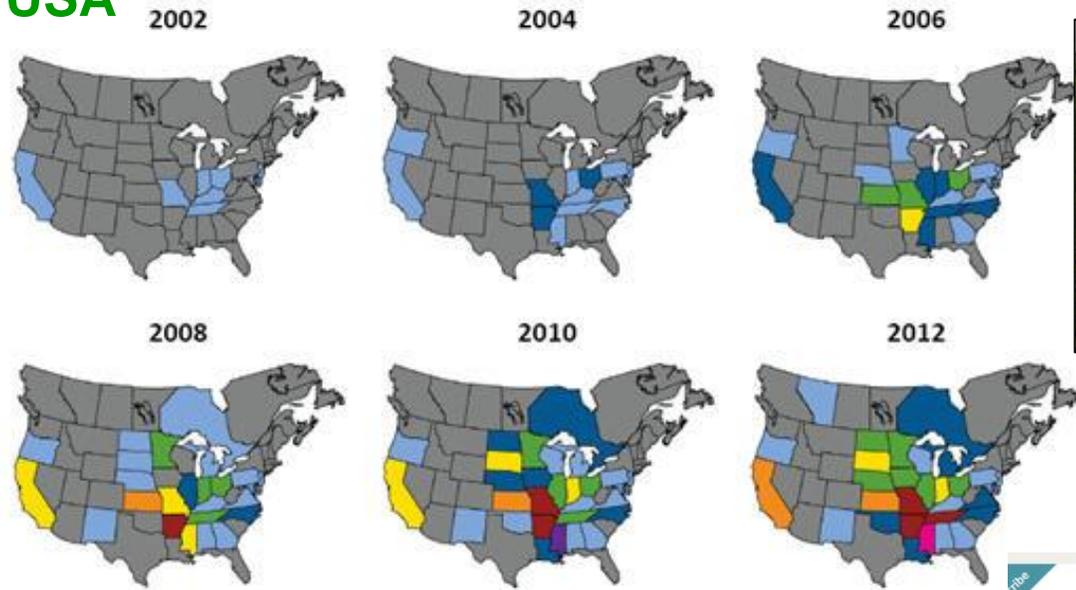
Et ses conséquences!



(Ou comment griller en 10 ans l'un des herbicides les moins à risque au monde en termes de résistance)



Sélection et expansion de la résistance au glyphosate aux USA



Vergerette - (*Conyza* sp.)

Glyphosate-Resistant Species 1 2 3 4 5 6 7 8



Kochia
(*Kochia scoparia*)



Ambrosie trifide
(*Ambrosia trifida*)

How glyphosate-resistant weeds will infest all US crops by 2020

Monday 19 October 2015 15:16

Richard Allison

More than 50m hectares of some of the best land in the world is infested with glyphosate-resistant weeds, potentially rendering this valuable herbicide obsolete. And according to agronomists and researchers, without changes in farming practice, it is set to get worse, with one predicting that all US arable crops will be affected by 2050. All five of the big global exporting countries – US, Brazil, Argentina, Canada and Australia – have herbicide resistance problems, says Steve Powles, director of the [...]



© Design Pics Inc/Rex Shutterstock

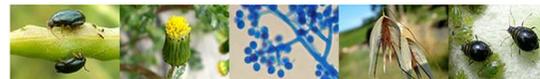
Amaranthe
(*Amaranthus* sp.)

This article is for subscribers.
To continue reading [subscribe today...](#)

En conséquence : empilage (« gene stacking »)

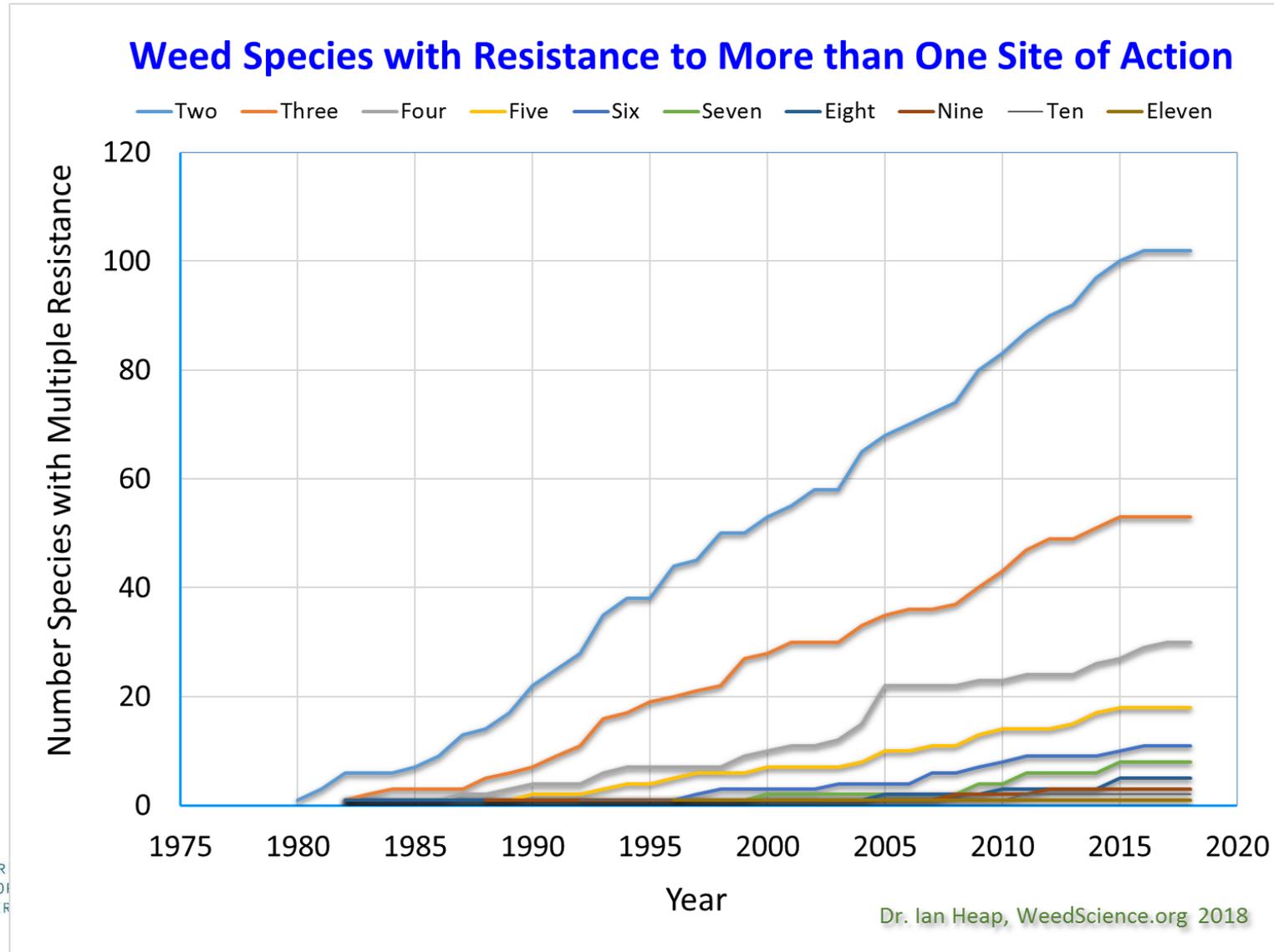
➔ OGM résistants au glyphosate + 1, 2... autres herbicides.

Firme	Culture	Résistance à:
Syngenta	Maïs	Glufosinate, Glyphosate (Agrisure corn)
DuPont Pioneer Hi-Bred International	Maïs	Glufosinate, Glyphosate (Optimum corn)
Dow AgroSciences, Monsanto	Maïs	2,4-D, ACCase-Inhibitor (Haloxyfop), Glyphosate (Enlist corn) 2,4-D, ACCase-Inhibitor (Haloxyfop), Glufosinate, Glyphosate (Smartstax et PowerCore Enlist corn)
Monsanto	Maïs	Dicamba, Glufosinate
DuPont Pioneer Hi-Bred International	Maïs	ALS-inhibitors (Imidazolinones), Glyphosate
Monsanto	Coton	Dicamba, Glufosinate, Glyphosate (XtendFlex cotton)
Dow AgroSciences	Coton	2,4-D, Glufosinate (Enlist cotton)
Monsanto	Soja	Dicamba, Glyphosate (Xtend soybean)
Dow AgroSciences	Soja	2,4-D, Glufosinate, Glyphosate (Enlist soybean)
Bayer CropScience M.S. Technologies	Soja	Isoxaflutole, Glyphosate (Balance GTsoybean)
Bayer CropScience M.S. Technologies	Soja	Isoxaflutole, Glufosinate, Glyphosate (annoncé)
Bayer CropScience Syngenta	Soja	HPPD-inhibitors (mesotrione, isoxaflutole), Glufosinate (MGI soybean, en attente)
Pioneer Hi-Bred International	Soja	ALS-inhibitors (non transgénique), Glyphosate (Bolt brand soybean)



En conséquence : empilage (« gene stacking »)

➔ Sélection d'adventices résistantes à plusieurs modes d'action!



En conséquence : empilage (« gene stacking »)

➔ OGM résistants au glyphosate + 1, 2... autres herbicides.

Course aux armements!



Firme
Syngenta
DuPont Pioneer Hi-Bred
Dow AgroSciences Monsanto
Monsanto
DuPont Pioneer Hi-Bred
Monsanto
Dow AgroSciences
Monsanto
Dow AgroSciences
Bayer Crop Sciences
Bayer Crop Sciences
Bayer Crop Sciences

Resistant weed

(transgénique), G

GM crop

En conséquence : empilage (« gene stacking »)

Herbicides de substitution: en particulier 2,4-D et dicamba (U-L)

⊗ Toxicité:

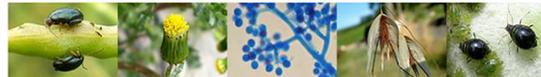
- Herbicides anciens 60 ans (2,4-D) et 40 ans (Dicamba)

2,4 D: N Xn ; R22 : Nocif en cas d'ingestion; R37 : Irritant pour les voies respiratoires; R41 : Risque de lésions oculaires graves; R43 : Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau; R52/53 : Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.

Dicamba: Xn R22 : Nocif en cas d'ingestion; R41 : Risque de lésions oculaires graves; R52/53 : Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.

(Glyphosate: N Xi R41 : Risque de lésions oculaires graves; R51/53 : Toxique pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.)

- Toxicité pour la végétation environnante lié à une forte **volatilité** (dérive lors des épandages)



En conséquence: empilage (« gene stacking »)

Herbicides de substitution: en particulier 2,4-D et dicamba (U-L)

Il existe déjà des cas de résistance chez des adventices:

Au 2,4-D : chez 36 espèces

Au dicamba: chez 16 espèces

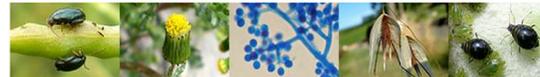
... et des cas de résistance multiple!



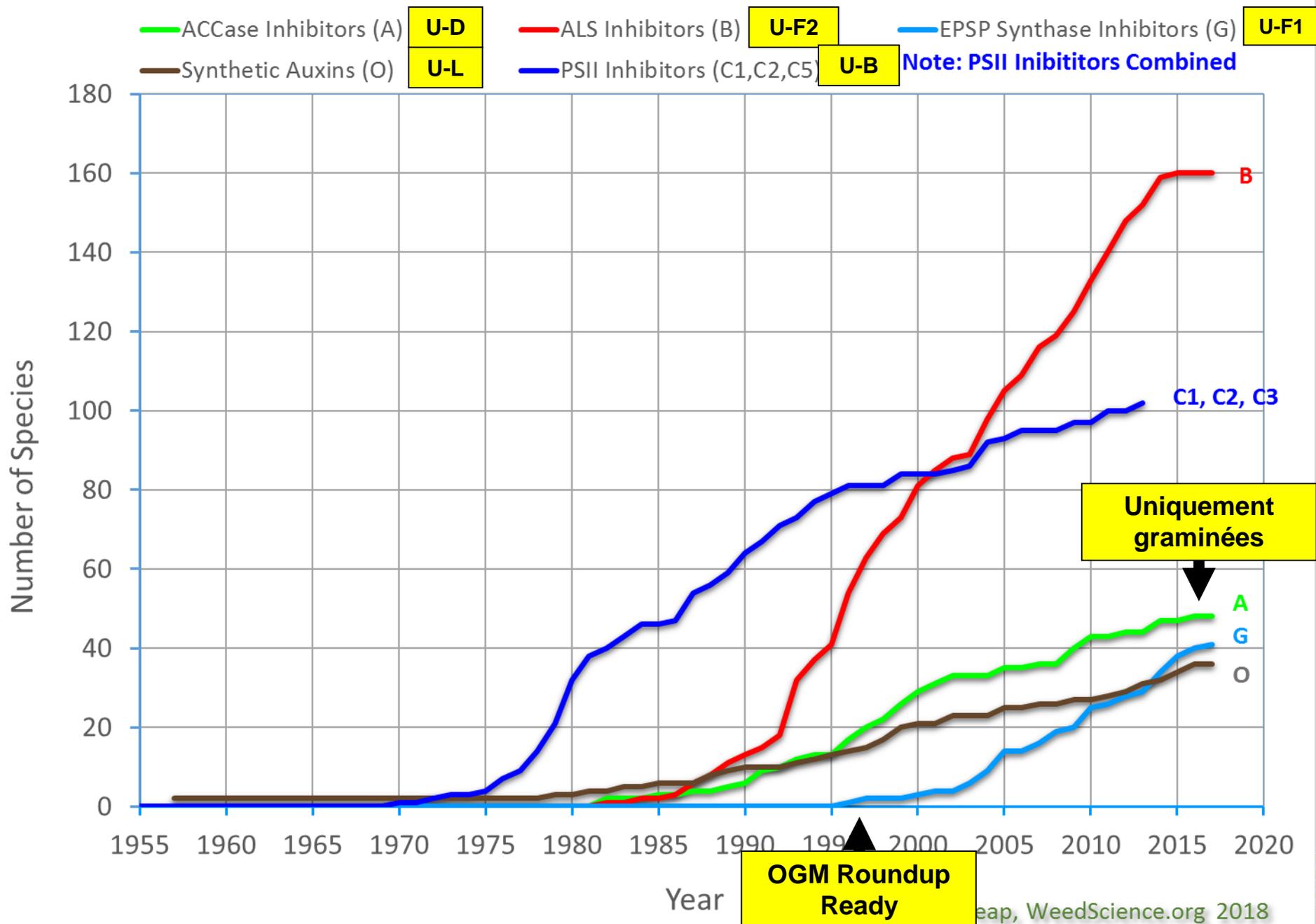
Kochia scoparia: **glyphosate**, **dicamba**, atrazine, chlorsulfuron (Kansas)

Raphanus raphanistrum: **2,4-D**, MCPA (U-L), chlorsulfuron, imazethapyr, metosulam, sulfometuron (U-F2), diflufenican (U-H1), **glyphosate** (Australie)





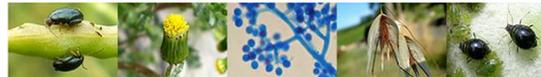
Number Resistant Species for Several Herbicide Sites of Action (HRAC Codes)



OGM Roundup Ready

Uniquement graminées

Situation des résistances en France: les cas **publiés** de résistance aux herbicides



Graminées



Vulpin
A (1993),
B (2006)
Grandes cultures
Très répandue



Bromes
B (2009)
Grandes cultures
Modérée



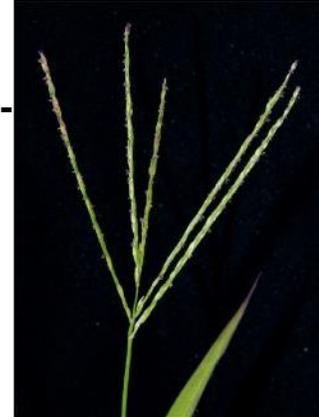
Ivraies
A (1993),
B (2006)
Grandes cultures
Très répandue
G (2005)
Vigne
Modérée



Folles Avoines
A (1996),
B (2006 env.)
Grandes cultures
Modérée



Agrostis jouet-du-vent
A (1999 env.),
B (2006 env.)
Grandes cultures
Modérée



Digitaire sanguine
A (2005)
Maraîchage
B (2014)
Maïs
1^{ers} cas



Sétaires
B (2011)
Maïs
1^{ers} cas



Panic pied-de-coq
A (2000 env.)
Riz
Très répandue
B (2013)
Riz
Très répandue
Maïs
1^{ers} cas



Panic à feuilles barbes
A (2000 env.)
B (2013)
Riz
Très répandue

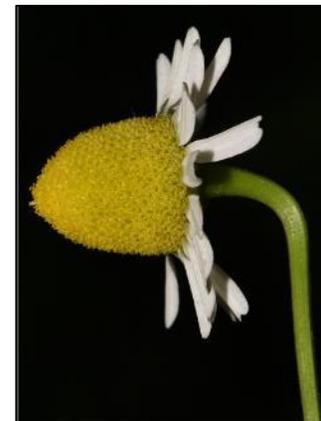
Dicotylédones - Astéracées



Séneçon commun
B (2009)
Vigne, grandes cultures
Répandue



Tournesol adventice
B (2009)
Tournesol VTH
1^{ers} cas



Matricaires
B (2010)
Grandes cultures
Modérée



Vergerette de Sumatra
G (2010)
B (2016)
Vigne
Modérée



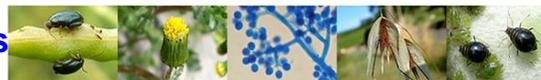
Ambroisie à feuilles d'armoise
B (2014)
Soja, tournesol VTH, maïs
Modérée



Laiteron épineux
B (2016)
Endive
Très répandue



Galinsoga à petites fleurs
B (2017)
Endive
1^{ers} cas



Dicotylédones - Autres



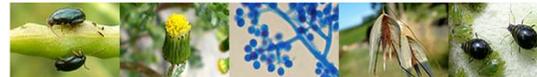
Coquelicot
B (2007)
Répandue
O (2013)
1^{ers} cas
Grandes cultures



Stellaire
B (2012)
Grandes cultures
1^{ers} cas



Chénopode blanc
C1 (2005)
Betterave
Répandue?



Bilan:

Résistance en France:

- Aux anti-graminées (groupe A)
- Aux inhibiteurs de l'ALS (groupe B)
 - Aux « auxiniques » (groupe O)
- Aux inhibiteurs du PSII (groupe C1)
 - Au glyphosate (groupe G) en cultures pérennes

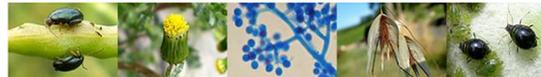
Graminées et Asteracées

(+ Coquelicot, Chénopode & Stellaire)

Mise à jour régulière sur:

www.r4p-inra.fr

Quelques éléments de connaissances sur les principales adventices résistantes aux herbicides au Québec

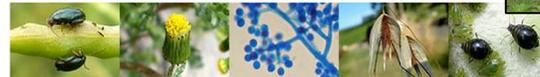


Petite herbe à poux (*Ambrosia artemisiifolia*)



Blé

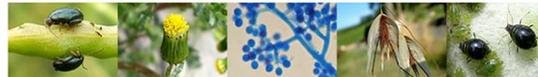
Soja (si si, regardez bien!)



COLLOQUE RÉSISTANCE AUX PESTICIDES 14 ET 15 FÉVRIER 2019
À MONTRÉAL

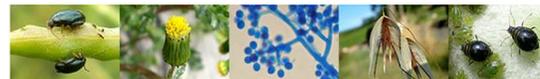
Petite herbe à poux (*Ambrosia artemisiifolia*)

- Résistance aux inhibiteurs du photosystème II
(triazines, urées – HRAC: C1 & C2, WAAS: 7 & 5, R4P: U-B1, U-B2)
 - probablement RLC
 - hérédité chloroplastique
- Résistance aux inhibiteurs de l'ALS
(triazolopyrimidines, imidazolinones – HRAC: B, WSSA: 2, R4P: U-F2)
 - publications: RLC
 - cas de la France: un peu de RLC, **beaucoup de RNLC**
 - hérédité nucléaire dominante
- *Attention: résistance à l'inhibiteur de l'EPSPS?*
(glyphosate – HRAC: G, WSSA: 9, R4P: U-F1)
 - présente en Amérique du nord (USA)
 - publications: RLC ou RNLC, généralement spécifiques glyphosate
 - hérédité nucléaire dominante?



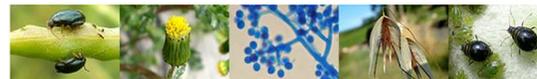
Chénopode blanc (*Chenopodium album*)

- Résistance aux inhibiteurs du photosystème II (triazines – HRAC: C1, WAAS: 7, R4P: U-B1)
 - probablement RLC
 - hérédité chloroplastique
- Résistance aux inhibiteurs de l'ALS (sulfonylurées, imidazolinones – HRAC: B, WSSA: 2, R4P: U-F2)
 - publications: surtout RLC
 - hérédité nucléaire dominante
- Résistance à l'inhibiteur de l'EPSPS (glyphosate – HRAC: G, WSSA: 9, R4P: U-F1)
 - publications: RLC ou RNLC (généralement spécifique glyphosate)
 - hérédité nucléaire dominante?



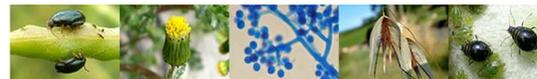
Morelle noire de l'Est (*Solanum ptycanthum*)

- Résistance aux inhibiteurs du photosystème I
(paraquat – HRAC: D, WAAS: 22, R4P: U-B4)
 - probablement RNLC (séquestration)
 - hérédité nucléaire
- Résistance aux inhibiteurs de l'ALS
(imidazolinones – HRAC: B, WSSA: 2, R4P: U-F2)
 - publications: surtout RLC
 - hérédité nucléaire dominante



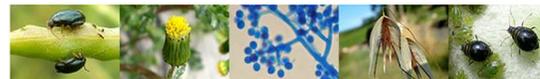
Moutarde des oiseaux (*Brassica rapa*)

- Résistance aux inhibiteurs du photosystème II (triazines – HRAC: C1, WAAS: 5, R4P: U-B1)
 - probablement RLC (séquestration)
 - hérédité chloroplastique
- Résistance à l'inhibiteur de l'EPSPS (glyphosate – HRAC: G, WSSA: 9, R4P: U-F1)
 - publications: RLC ou RNLC (généralement spécifique glyphosate)
 - hérédité nucléaire dominante?
 - **ATTENTION aux flux de gènes avec le colza Roundup Ready...**



Folle-Avoine (*Avena fatua*)

- Résistance aux inhibiteurs de l'ACCCase (« fops » – HRAC: A, WAAS: 1, R4P: U-D1)
 - RLC et **RNLC** possibles
 - hérédité nucléaire
- **Attention: au Canada (Manitoba, Alberta, Saskatchewan), résistance de la Folle Avoine à jusqu'à 5 modes d'action:**
 - Inhibiteurs de l'ACCCase inhibitors (A/1/U-D1) et/ou
 - Inhibiteurs de l'ALS inhibitors (B/2/U-F2) et/ou
 - Inhibiteurs de la PPO inhibitors (E/14/U-H3) et/ou
 - Inhibiteurs des l'élongation des chaînes carbonées d'acides gras (K3&N/15&8/U-D2)



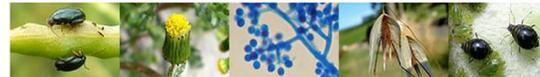
Bilan:

Résistance au Québec:

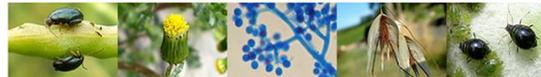
- Aux anti-graminées (groupe A)
- Aux inhibiteurs de l'ALS (groupe B)
- Aux inhibiteurs du PSII (groupe C1)
- Au glyphosate (groupe G)

Graminées, Asteracées

(+ Chénopode, Moutarde, Morelle & Stellaire)



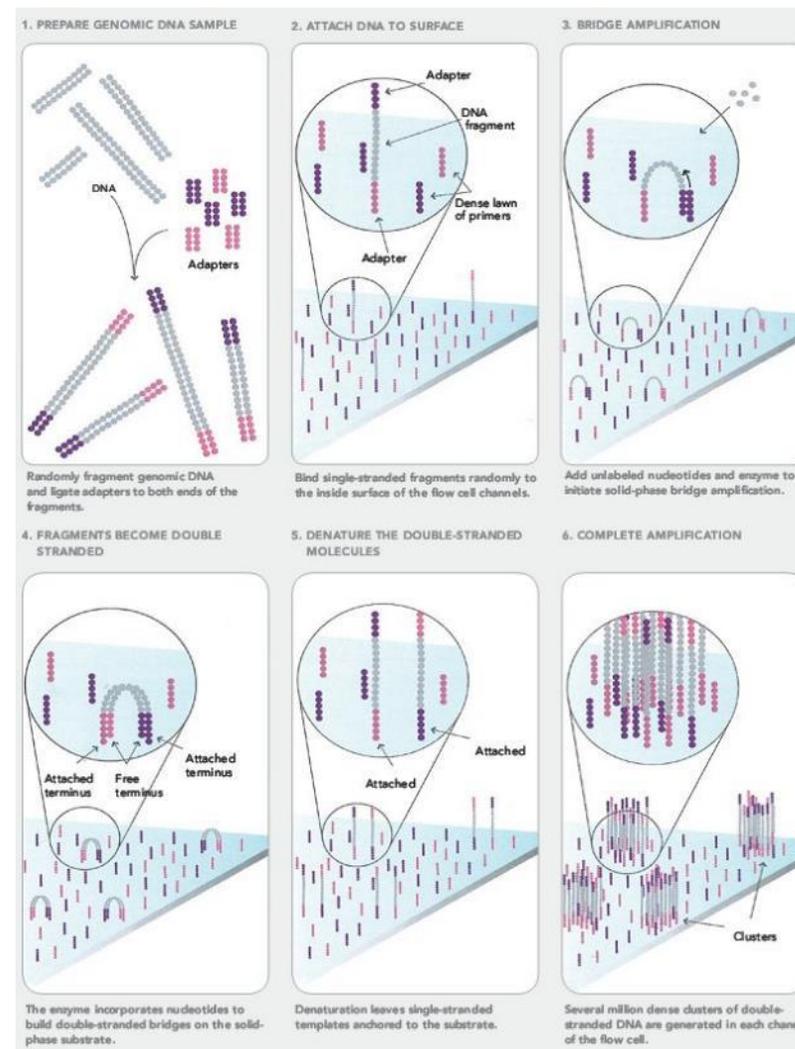
Suivi de la résistance aux inhibiteurs de l'ALS à grande échelle chez la petite herbe à poux (en France)



Test Illumina-ALS – principe

Génotypage-par-séquençage (PCR + séquençage Illumina)

- Détection de mutations: **trois PCR** par 400-450 bases de gène et **par parcelle (= 50 plantes)**
- Différenciation entre mutations à un même codon: **oui**
- Couverture de toutes les mutations connues sur un gène: **oui**
- Identification de mutations non recherchées: **oui**
- Capacité: 1 analyse = **96 parcelles** (50 plantes par parcelle)
- ***Pas de détection = impossible de conclure à l'absence de résistance***



PCR+dCAPS vs. PCR + Illumina

Recherche de RLC à des inhibiteurs de l'ALS

➤ Analyse par PCR-dCAPS

96 populations × 50 plantes × 7
codons (122, 197, 205, 376, 377, 574, 653, 654)

=

33 600 PCR + 33 600 digestions +
33 600 électrophorèses.

C'est long!

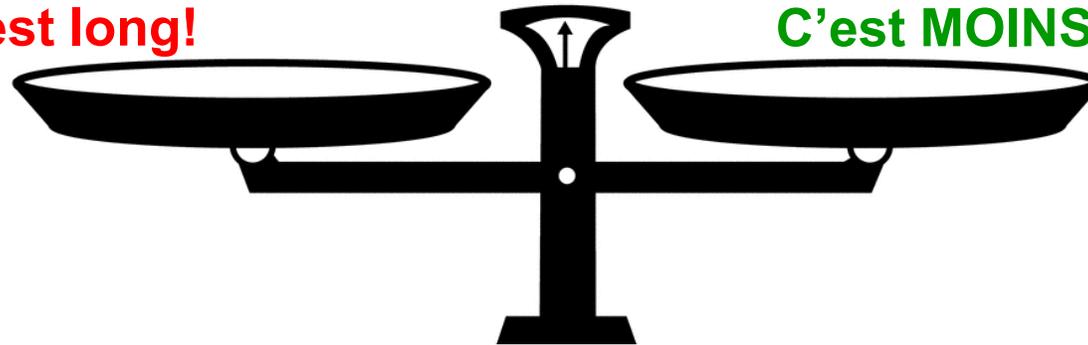
➤ Analyse par PCR + Illumina

96 populations de 50 plantes × 6
PCR (codons 122 à 654)

=

576 PCR puis 1 run Illumina

C'est MOINS long!



➤ Précisions

Séquençage Illumina: 1 run = 20 000 000 séquences (2×250 bases)

Possibilité de passer 96 populations par run

↪ 208 000 séquences par population (50-70 000 par amplicon et par population)

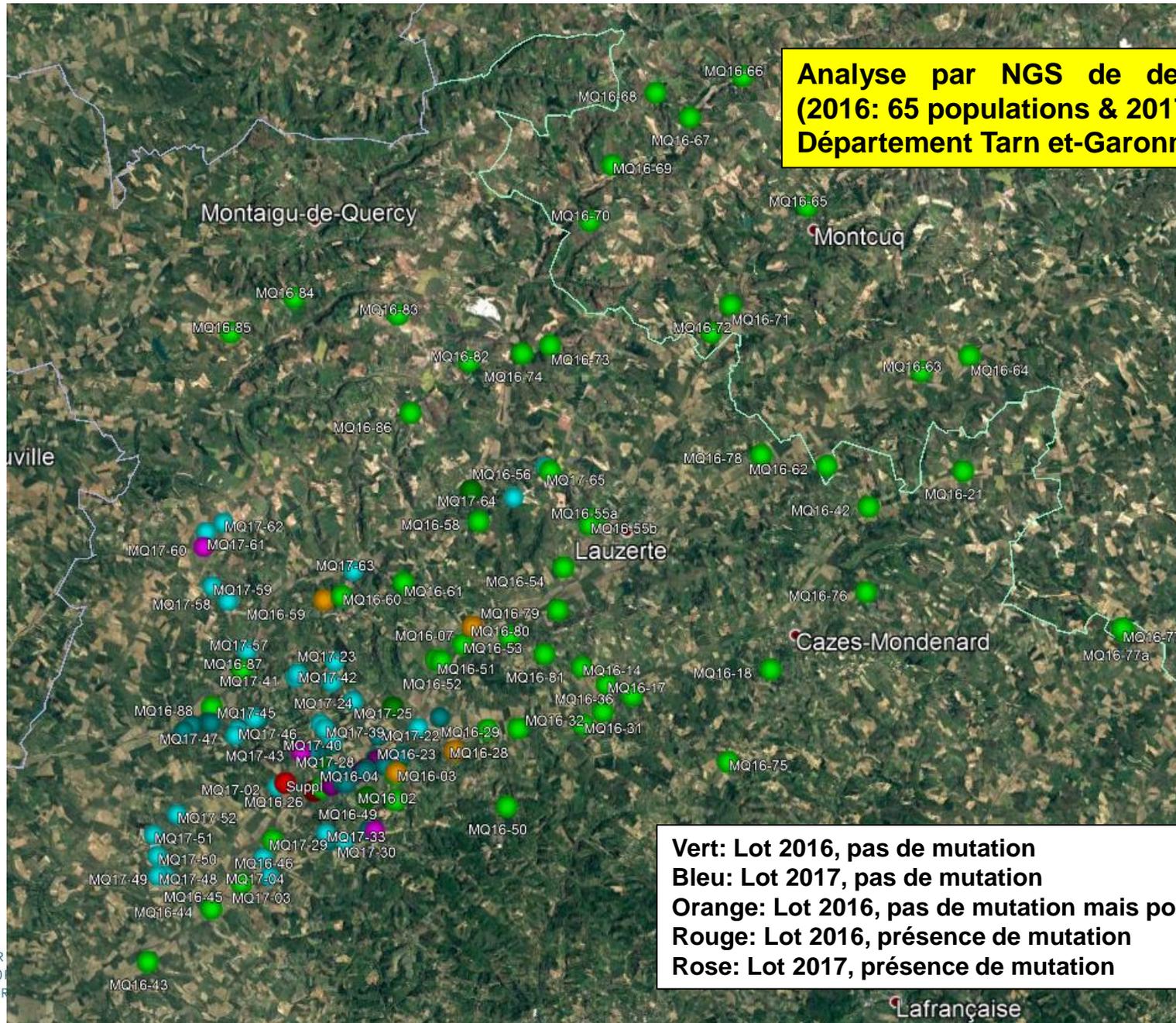
50 plantes avec 1 ALS par population

↪ 4000 séquences par allèle d'ALS

↪ **S'il y a un mutant ALS dans une population, on doit le voir!**

Test Illumina-ALS – Petite herbe à poux en France

Analyse par NGS de deux échantillonnages
(2016: 65 populations & 2017: 68 populations)
Département Tarn-et-Garonne



Vert: Lot 2016, pas de mutation
Bleu: Lot 2017, pas de mutation
Orange: Lot 2016, pas de mutation mais positif test bio (RNLC)
Rouge: Lot 2016, présence de mutation
Rose: Lot 2017, présence de mutation

Test Illumina-ALS – Petite herbe à poux en France

- **Détection à grande échelle (nombreux lots analysés)**
Capacité maximale d'un test: 384 lots de 50 plantes...
- **Détection de faibles fréquences de résistants (nombreuses plantes analysées)**
Capacité maximale d'un test: au moins 19 200 plantes...
- **Matériel de départ: fragments de feuilles, même secs**
- **Moins cher que le génotypage codon-par-codon**
- **Possibilité de développement pour d'autres espèces / d'autres modes d'action**

➤ **Collaboration possible si ça branche quelqu'un!**
christophe.delye@inra.fr

Merci de votre attention

