Les chercheurs se sont intéressés au vulpin car cette adventice est l'une des plus problématiques en France.

© N. Cornec

GESTION DES ADVENTICES

HERBICIDES : la résistance existait avant eux

Pour la première fois, l'INRA a montré qu'un gène de résistance était présent dans les populations de vulpin bien avant l'invention des herbicides. Cette découverte scientifique a vu le jour grâce à l'analyse ADN de spécimens de vulpin prélevés dans des herbiers.

La vérité se cachait entre les pages d'un vieil herbier. Pour savoir si des gènes de résistance pouvaient préexister à l'emploi des herbicides, une équipe de l'INRA a utilisé des collections de vulpins, parfois vieilles de plus de deux siècles, pour faire avancer la connaissance scientifique. Grâce aux techniques modernes, ils ont détecté dans un échantillon de 1888 une mutation aujourd'hui très répandue et responsable de nombreux cas de résistances aux herbicides de la famille des inhibiteurs de l'ACCase chez le vulpin.

« **L'application de produits phytosanitaires** conduit simplement à révéler des résistances naturellement présentes. »

Plus de place pour le doute : ce ne sont pas les herbicides qui « fabriquent » les mutations. L'application de produits phytosanitaires conduit simplement à révéler des résistances naturellement présentes dans les parcelles, en sélectionnant les plantes selon le principe darwinien. Ce processus était déjà pressenti par les scientifiques, mais cette démonstration est une première en matière d'herbicides.

Deux travaux de recherche antérieurs vont dans le même sens que cette étude de l'INRA. En 2011, des gènes conférant une résistance à des antibiotiques ont été découverts dans des bactéries présentes dans des sédiments vieux de 30 000 ans. En 2006, des mutations causant une résistance à des insecticides ont été observées en hautes fréquences dans des spécimens d'insectes prélevés et conservés avant la mise sur le marché de ces substances.

734 échantillons de vulpin analysés

La découverte de l'INRA n'a donc rien de surprenant. En revanche, la méthode utilisée est pour le

1 échantillon sur 685 contenait une mutation datant d'avant l'invention des herbicides.

moins originale. Jamais le monde de la recherche ne s'était appuyé sur des herbiers pour décrypter les mécanismes de résistance.

Tout a commencé en 2009, lorsque des chercheurs de l'INRA ont fait appel au musée des sciences et jardin botanique de Dijon, à l'institut de botanique de Montpellier et au conservatoire et jardin botanique de Genève. Objectif : obtenir des échantillons dans les collections des herbiers pour ensuite faire une analyse ADN et identifier d'éventuels gènes de résistance. Les chercheurs se sont intéressés plus particulièrement au vulpin des champs car cette adventice est l'une des plus problématiques en France : les herbicides ont de plus en plus de mal à en venir à bout. En outre, comme c'est une graminée, cela facilite le prélèvement d'un fragment de feuille sur les spécimens sans défigurer les planches. Pour éviter toute contamination, chaque feuille a été placée dans un sac fermé et scellé jusqu'à ce que l'ADN soit extrait. 734 échantillons ont suivi le même procédé.

Encore fallait-il décider quelle mutation rechercher. C'est celle du codon 1781 de l'ACCase qui a été choisie, car c'est actuellement la plus répandue dans les champs. Cette mutation est d'autant plus problématique qu'elle n'a pas d'effet collatéral négatif visible sur le cycle de vie du vulpin. Au contraire, elle pourrait même augmenter la vigueur de la mauvaise herbe.

Un cas de résistance dans des plantes prélevées au XVIII^{e} siècle

Le plus ancien des spécimens datait de 1788 et le plus récent de 1975, avant la commercialisation des premiers herbicides inhibiteurs de l'ACCase en France, en 1978. Plus précisément, 58,3 % des échantillons ont été recueillis avant 1900 *(figure 1)*. La date de collecte n'a pas pu être déterminée pour 7,6 % des échantillons.

Les chercheurs ont alors utilisé des moyens technologiques modernes pour détecter la présence d'une mutation dans le génome des échantillons. Si de l'ADN a été extrait de tous les spécimens, un profil clair et lisible n'a été obtenu que dans 685 cas. Dans un spécimen sur 685, la présence d'une mutation conférant une résistance à des herbicides a été confirmée. Ce spécimen est conservé à l'herbier de Montpellier et avait été recueilli le 9 juillet 1888 près de Bordeaux. Il avait été prélevé en même temps que trois autres plantes, qui elles ne contenaient pas de mutation de l'ACCase.

Une résistance qui évoluerait plus vite que prévu

L'observation de la mutation 1781 dans une plante sur 685 (0,15 % des plantes analysées) ne signifie pas que cette mutation était présente avec une telle fréquence dans les populations de vulpin à l'arrivée des herbicides. Si tel avait été le cas, l'évolution de la résistance et la perte d'efficacité des herbicides inhibiteurs de l'ACCase eût été quasi-immédiate. En revanche, ce résultat implique que certaines mutations conférant une résistance à des herbicides peuvent être présentes naturellement dans les populations d'adventices avec des fréquences largement supérieures à ce que l'on pensait jusqu'ici. Conséquence : la résistance, sur le terrain, évoluerait plus rapidement que ce que qui était communément admis par la communauté scientifique.

Les herbiers, un appui pour la science moderne

Ces travaux prouvent que des gènes conférant une résistance à des herbicides existaient avant les herbicides. Cette première utilisation d'herbiers pour comprendre la résistance en appelle d'autres. Les collections botaniques pourraient être utilisées de manière proactive. Lorsqu'une nouvelle résistance émerge, les progrès technologiques de séquençage permettraient d'identifier les gènes les plus « dangereux » : ceux qui ne présentent pas de d'effet collatéral négatif sur les mauvaises herbes et qui sont donc les plus susceptibles de devenir les plus fréquents dans les populations d'adventices. De tels gènes sont aussi les plus susceptibles d'être observés dans des spécimens d'herbiers.

Christophe Délye -delye@dijon.inra.fr - Inra
Ludovic Bonin - l.bonin@arvalisinstitutduvegetal.fr
Lise Gautellier Vizioz, Catherine Vacher
ARVALIS-Institut du végétal
Lise Monteillet, *Perspectives Agricoles*

SPECIMENS : la majorité des échantillons a été recueillie avant 1900

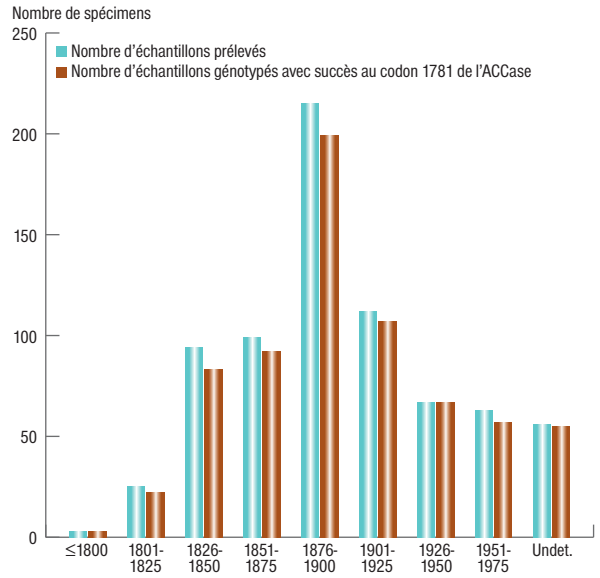

Figure 1 : Nombre de spécimens selon leur âge (source : INRA).

ZOOM

PHÉNOMÈNE DE RÉSISTANCE : des rouages encore méconnus

Comment les plantes résistent-elles aux herbicides ? Deux types de mécanismes entrent en jeu.

Il est conseillé de diversifier la rotation et les pratiques de désherbage.

© N. Cornec

L'existence d'individus porteurs de gènes de résistance au sein d'une population est naturelle. Le patrimoine génétique des espèces se transmet de génération en génération, mais des erreurs de transcription (mutations) sont parfois commises. Une propriété nouvelle, comme la résistance, peut apparaître.

Le mécanisme de résistance permettant à une plante de survivre à un herbicide normalement efficace est lié à une ou plusieurs mutations qui peuvent engendrer deux types de résistance différents *(figure 2)*. La mutation peut induire une réduction de l'affinité de l'herbicide pour son site d'action, ou une production plus élevée de la cible empêchant la « saturation » par l'herbicide : on a alors une résistance par mutation de cible. C'est le principe qui régit une partie des résistances aux inhibiteurs de l'ALS et aux inhibiteurs de l'ACCase. La résistance de cible peut être forte, mais pas forcément. Elle ne concerne pas systématiquement tous les herbicides ayant le même mode d'action : pour une même mutation, on peut observer des niveaux de résistance différents, voire une sensibilité, entre herbicides de même famille. La solution : en prévention, alterner ou mélanger les modes d'action via des programmes de traitements contenant différents modes d'action. En situation de résistance, il ne faut plus utiliser le mode d'action concerné.

> **En cas de résistance,** il est toujours plus avantageux de prévenir que de guérir. »

Un autre type de résistance est dite « non liée à la cible ». Elle est due à tout mécanisme réduisant l'accès de l'herbicide à sa cible (dégradation du produit, séquestration, etc.) La détoxication d'un herbicide peut par exemple être plus rapide avec des plantes résistantes. Ce type de résistances est complexe : il implique de nombreux gènes, peut donner un niveau de résistance élevé et peut concerner simultanément des modes d'action différents (ACCase et ALS par exemple). La résistance « non liée à la cible » est la plus préoccupante chez les graminées, mais elle est aussi présente chez les dicots. C'est le type de résistance le plus fréquent, mais aussi le plus mal connu. De ce fait, en cas de résistance, il est toujours plus avantageux de prévenir que de guérir. Les pratiques de prévention sont connues *(encadré)*, reste à les mettre en pratique !

Comment limiter le risque de résistance ?

Il est conseillé de diversifier la rotation (alternance culture d'hiver et culture de printemps ou d'été) et les pratiques de désherbage : labour, faux-semis, semis sous couvert, binage, désherbage mécanique… La diversification doit aussi porter sur les herbicides, en alternant les modes d'action et en utilisant des programmes et des mélanges. Les herbicides associés, de modes d'action différents, doivent tous êtres efficaces sur la mauvaise herbe visée et utilisés à leur dose d'efficacité. Dernier message de prévention : frapper tôt et fort. Pour une efficacité maximale, les herbicides doivent être appliqués le plus tôt possible, sur le bon stade de la mauvaise herbe, à la pleine dose efficace et dans les meilleures conditions.

RÉSISTANCE : plusieurs mécanismes expliquent ce phénomène

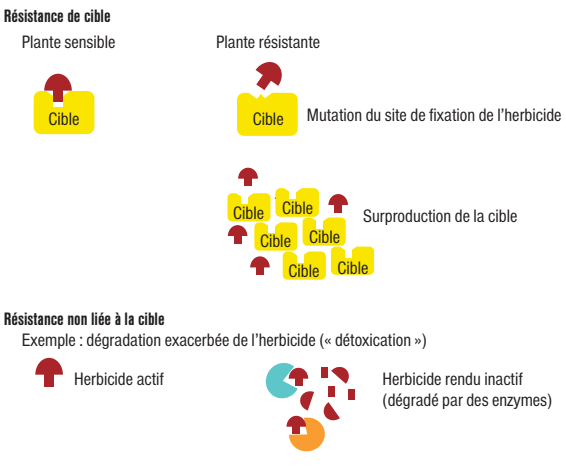

Figure 2 : Deux mécanismes de résistance en jeu.