

**AFPP – VINGTIÈME CONFÉRENCE DU COLUMA
JOURNÉES INTERNATIONALES SUR LA LUTTE CONTRE LES MAUVAISES HERBES
DIJON – 11 ET 12 DÉCEMBRE 2007**

***DIGITARIA SANGUINALIS* : UNE NOUVELLE ESPECE RESISTANTE AUX INHIBITEURS
DE L'ACCASE EN FRANCE**

J. GASQUEZ⁽¹⁾, G. BAY

⁽¹⁾ INRA, UMR BGA, 17 rue Sully, BP 86510, 21065, Dijon, France, gasquez@dijon.inra.fr

RÉSUMÉ

Actuellement le développement de résistances en France concerne surtout des graminées adventices des cultures d'hiver. Cependant dans certaines régions les rotations de cultures intensives de printemps sont prépondérantes. Dans les Landes depuis 2005 des populations de *Digitaria sanguinalis* sont devenues impossibles à contrôler avec les fops et les dimes utilisés en carotte et haricot vert. La plupart des lots testés se sont avérés totalement résistants au fluazifop et au cycloxydime, à l'haloxyfop et faiblement au quizalofop. Cette gamme de résistances pourrait être due à la présence d'une mutation du gène de la cible. Cependant l'explosion brusque de foyers dans toute la région de production de carotte est difficile à expliquer et tient peut être aux conditions de conduite de ces cultures.

Mots-clés : digitaire, résistance, inhibiteurs de l'ACCase, carottes.

SUMMARY

***DIGITARIA SANGUINALIS* : A NEW SPECIES RESISTANT TO THE ACCASE INHIBITORS IN FRANCE**

Herbicide resistances on weed grasses in France are spreading nowadays in winter crops. But in some regions like les Landes were intensive spring crops are predominant some populations of *Digitaria sanguinalis* are not controlled anymore with fops and dimes used in carrots and green beans. Almost all the samples we tested are completely resistant to fluazifop, cycloxydim, haloxyfop and less to quizalofop. This range of resistances could be due to a target site mutation. Moreover the sudden spreading of spots with resistant plants all over the region of the carrot production is hard to explain and could be due to specific cultivation conditions of these crops.

Key words : large crabgrass, herbicide resistance, ACCase inhibitors, carrots.

INTRODUCTION

Dans le cadre de la gestion des adventices en grandes cultures en France, le problème majeur associé à l'usage des herbicides concerne actuellement le développement de populations résistantes aux antigraminées. Il s'agit essentiellement de vulpin, ray grass et folle avoine en céréales d'hiver. Aucune autre citation documentée de problèmes de contrôle dans d'autres cultures vis-à-vis d'autres herbicides n'a été signalée depuis l'explosion des résistances aux triazines il y a plus de vingt ans.

Ainsi malgré l'extension constante des phénomènes de résistance dans le monde, aujourd'hui 315 résistances différentes chez 183 espèces (Heap www.weedscience.com) concernant 19 modes d'action sur les 21, la France serait relativement épargnée puisque, outre ces trois graminées résistantes aux inhibiteurs de l'ACCase (fops et dimes), il n'y a qu'une citation de ray grass résistant au glyphosate en vigne (Favier et Gauvrit 2007).

Cependant d'autres cultures comme les estivales occupent des surfaces importantes avec des problèmes adventices spécifiques et parfois graves sans pour autant avoir sélectionné jusqu'à aujourd'hui des adventices actuellement impossibles à contrôler. Dans certaines régions parmi ces cultures, les cultures légumières de plein champ peuvent localement être dominantes, c'est le cas des Landes qui est devenue la première région de culture de carottes en France. Dans ces cultures particulières le nombre d'herbicides homologués est très limité (et diminue sans cesse) accroissant le risque de résistance lié au maintien d'une pression de sélection unique sur quelques espèces fortement favorisées par le système de culture. Jusqu'à aujourd'hui la nécessité de faire des rotations (souvent longues) participait à la limitation de ce risque. Cependant dans les Landes, ces rotations sont de plus en plus souvent limitées à deux ou trois années de carottes, haricot voire pomme de terre séparées par une ou deux années de maïs. Ce type de succession favorise hautement les adventices estivales et les graminées en particulier. La production intensive qui conduit à deux cultures de carottes la même année favorise encore plus les mêmes espèces. C'est dans ce type de rotations qu'on trouve dans les Landes parmi les espèces très difficiles à contrôler qui se développent le souchet (*Cyperus esculentus*) (Dodet et al 2007). Ainsi depuis 2005 des échecs de contrôle de digitaire (*Digitaria sanguinalis*) par des inhibiteurs de l'ACCase ont été rapportés dans les carottes des Landes.

Parmi les graminées et notamment les estivales les digitaires ne sont pas souvent citées pour la résistance. Déjà pour la résistance aux triazines, il y avait très peu de populations résistantes, peut être parce que cette espèce est plutôt autogame (Darmency et Gasquez 1990). Dans la littérature, seules trois espèces de digitaires sont citées dans le monde pour la résistance aux inhibiteurs de l'ACCase : *Digitaria ciliaris*, une population dans le soja au Brésil (Heap www.weedscience.com) ; Une citation de *Digitaria ischaemum* aux US dans un golf qui pourrait avoir une mutation de la cible (Kuk et al 1999) et deux citations de *Digitaria sanguinalis*, l'une en Australie dans des oignons qui présente une détoxication amplifiée (Hidayat et Preston 1997 et 2001) et une aux Etats Unis dans une rotation carotte, oignon, maïs dont la cible pourrait aussi être mutée (Wiederholt et Stoltenberg. 1995). Dans ces deux derniers cas la sélection a été observée après plusieurs années (4 à 6 ans) avec de nombreux traitements au fluazifop voire haloxyfop ou quizalofop (plusieurs par an).

L'objectif de cette étude était de vérifier au laboratoire si les récents échecs rapportés sur *Digitaria sanguinalis* dans les Landes sont effectivement liés à la sélection de génotypes résistants aux antigraminées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des semences ont été récoltées en 2006 dans les parcelles où les contrôles avaient échoué (le lot A a été récolté en 2005 dans les mêmes conditions) et dans des bordures de parcelles apparemment sans problème de contrôle (tab I). A cause de manques d'effectifs récoltés dans les bordures, c'est la population H qui a servi de référence sensible pour tous les traitements. Les récoltes en culture ont toutes été faites en carotte, culture qui a révélé l'échec de contrôle. Pour les parcelles dont on connaissait la succession culturelle, la rotation était constituée de carottes et haricot vert (souvent deux cultures dans l'année), maïs (deux ou trois ans) ou pomme de terre. Le désherbage des carottes est intensif avec trois ou quatre traitements en quelques semaines à base essentiellement d'urées (métoxuron et linuron) et d'inhibiteurs de l'ACCase (fluazifop et cycloxydime) presque toujours à la dose homologuée (tab II). Le fluazifop est aussi utilisé dans les haricots. Dans tous les cas le niveau de satisfaction était bon avant les carottes 2006 (ou 2005 pour la parcelle A) et brusquement inacceptable voire totalement inefficace.

Nous avons utilisé un test rapide très simple consistant à pulvériser de jeunes plantules au stade trois feuilles avec un appareil expérimental. Les semences ont été mises à germer en boîte de Petri en enceintes climatisées à 30°C-25°C 16h de jour, 8h de nuit. Après germination les plantules ont été repiquées dans de la terre en petits pots (une plante par pot) et maintenues aux mêmes températures. Les traitements de trois répétitions de 25 plantules ont été réalisés au stade trois feuilles et les observations à T+7, T+15 et T+30. Les traitements avec des spécialités commerciales ont été réalisés avec un appareil expérimental de précision qui dans une enceinte fermée délivrait une bouillie à 300 l/ha

Tableau I : origine des populations récoltées et cultures pratiquées dans la parcelle
Location of the collected populations and crop rotations in these fields

		2006	2005	2004	2003	2002
A	Millet Ychoux (40)	-	carotte	maïs doux	haricot X2	maïs waxy
B	A1 Sud St Jean d'Illac (33)	carotte carotte	maïs doux	maïs	maïs	haricot vert haricot vert
C	Certlandes C7 Audenge (33)	carotte carotte	haricot vert	maïs doux	pomme de terre	
D	Deyres Pallin Le Temple (33)	carotte	maïs haricot vert	maïs	maïs	haricot vert
E	Minjat Mautens Blagon (33)	carotte carotte	haricot vert haricot vert	maïs	maïs	pomme de terre
F	Pollen Ychoux (40)	bord de parcelle				
G	Ombrière Ychoux (40)	bord de parcelle				
H	La Bruyère (21)		bord de chemin			

Les trois inhibiteurs de l'ACCase homologués en carotte ont été utilisés à plusieurs doses de m.a. : fluazifop (fusilade X2) 78.75, 187 et 375 g/ha, quizalofop (targa D+) 30, 60 et 120 g/ha et cycloxydime (stratos ultra) 100, 200, 300 et 1600 g/ha. La population A a aussi été traitée à l'haloxyfop (éloge) 26, 52 et 78 g/ha.

Les notations ont porté sur le dénombrement à T+ 30 de plantules mortes qui au moins pour les lots sensibles sont toutes mortes dès le stade T+ 7.

Tableau II : traitements herbicides appliqués dans les parcelles de récolte, (X2) nombre de traitements dans la même culture. En gras les inhibiteurs de l'ACCase
 Herbicide treatments in the fields where the seeds were harvested, (X2) number of treatments in the same crop. In bold the ACCase inhibitors

	A	B	C	D	E
2006					
2		metoxuron (X3)	metoxuron (X2)	métoxuron (X4)	métoxuron (X3)
2		linuron -X3)	linuron (X2)	linuron (X4)	linuron (X3)
2		cycloxydime (X2)	quizalofop	cycloxydime (X2)	fluazifop (X2)
2		fluazifop	cycloxydime (X3)		cycloxydime
1		clomazone	pendiméthaline		linuron (X2)
1		pendiméthaline	linuron (X3)		metoxuron (X2)
1		metoxuron (X2)	clomazone		clomazone
1		linuron	metoxuron		pendiméthaline
1		quizalofop (X2)	quizalofop (X2)		
2005					
2	cycloxydime (X2)		fomesafen	fomesafen	métolachlore
2	metoxuron (X3)		fluazifop (X2)	fluazifop	fomesafen
2	linuron (X3)		bentazone	métolachlore	fluazifop
2	quizalofop				bentazone
1		alachlore		sulcotrione	fomesafen
1		sulcotrione		foramsulfuron	fluazifop
1					bentazone
1					
2004					
	alachlore	bentazone (X2)	métolachlore	sulcotrione	mésotrione
	bromoxynil	sulcotrione (X3)	sulcotrione	foramsulfuron	
		nicosulfuron			
2003					
	fomesafen	sulcotrione	prosulfocarb	sulcotrione	mésotrione
	fluazifop (X2)		métribuzine	foramsulfuron	
	bentazone		bentazone		
			cycloxydime		
			diquat		
2002					
2		bentazone			
2		cycloxydime			
2		fluazifop			
2		fomesafen		fomesafen	
1	métolachlore	bentazone		métolachlore	
1	sulcotrione	fomesafen		fluazifop	
1	alachlore	ethofumesate			
1		fluazifop			

RÉSULTATS

A la dose la plus faible de chaque herbicide utilisé qui correspond à la demi dose homologuée, tous les individus des trois lots récoltés hors parcelle et supposés sensibles sont morts en une semaine (tab III). On n'a pas cherché à savoir si une dose plus faible pouvait contrôler aussi rapidement dans nos conditions expérimentales ces plantes sensibles. Par voie de conséquence ceci risque de sous estimer les niveaux de résistance des autres lots qui sont tous exprimés en fonction de cette valeur.

Tableau III : taux de survie à T+30 aux différents traitements d'inhibiteurs de l'ACCase (g/l m.a.)

Rate of T+ 30 surviving plants treated with different ACCase inhibitors (g/l a.i.)

	fluazifop			haloxyfop			quizalofop			cycloxydime			
	78.75	187.5	375	26	52	78	30	60	120	100	200	300	1600
A	100	100	96	100	95	100	32	8	0	100	100	100	100
B	100	100	100				92	40	12	100	100	100	
C	100	100	100				62	8	0	100	100	100	
D	96	60	20				12	0	0	25	30	30	
E	100	100	100							100	100	100	
F	0	0	0	0			0	0	0	0			
G	0	0	0	0			0	0	0	0			
H	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Pour ce qui concerne le fluazifop et le cycloxydime, herbicides dont l'efficacité a baissé dans les carottes toutes les populations suspectées présentent une certaine résistance. Les populations A, B, C et E présentent quelle que soit la dose (jusqu'à quatre fois la plus faible dose qui tue les sensibles) un taux de survie à T+30 de 100% avec des plantes identiques en taille aux témoins. De plus, même à une dose de cycloxydime 16 fois supérieure, la population A n'est pas du tout affectée, les individus restent identiques aux témoins. En revanche la population D a un comportement différent puisqu'on observe un effet dose, au moins pour le fluazifop, seulement 20% des plantes survivent à quatre fois la dose létale pour les sensibles. Pour le cycloxydime, il semble que quelle que soit la dose il n'y ait pas plus de 30% de survie. Cependant dans ces deux situations les plantes mettent plus longtemps à mourir.

Le quizalofop, utilisé en rattrapage en carottes, est plus efficace mais les populations ne sont pas totalement sensibles. Les populations A, C et surtout D survivent peu à la demi dose homologuée et très peu voire pas du tout à la dose homologuée. Seule la population B présente un effet dose avec encore 12% des plantes qui survivent encore à deux fois la dose homologuée, soit quatre fois la dose qui contrôle complètement les sensibles dans notre expérimentation.

Enfin, à la demande de notre fournisseur de graines de la population A, celle-ci a été traitée à l'haloxyfop qui peut être utilisé en interculture ou dans certaines cultures de printemps. Toutes les plantes ont survécu à toutes les doses utilisées. Ainsi les populations A, B, C et E sont clairement totalement et fortement résistantes aux antigraminées utilisés en carottes et haricot vert. Seule la population D présente encore des sensibles et peut être un autre mécanisme de

résistance. Cela demande un suivi supplémentaire, notamment la recherche d'une éventuelle mutation du gène de la cible.

DISCUSSION

Pour tous les produits testés, les plantes sensibles sont détruites en une semaine dès la plus faible dose testée, soit la demi dose homologuée. Cela laisse penser que dans nos conditions il est probable que ces plantes seraient sensibles à une dose encore plus faible. De même pour le fluazifop, l'haloxyfop et le cycloxydime les plantes résistantes ne sont pas du tout affectées par la plus forte dose utilisée, ce qui ne nous permet pas de donner une limite. Ainsi l'écart entre résistants et sensibles serait encore plus important.

Au moins quatre populations sur les cinq étudiées semblent présenter le même comportement de résistance sans effet dose : 100% des plantes traitées croissent comme le témoin. Même à la dose la plus élevée, la croissance des individus n'est pas affectée par le traitement. Seule la population D a un comportement particulier. Soit il s'agit d'une population dont la sélection est moins avancée que les autres. Soit il s'agit d'un mécanisme de type détoxication qui est encore prédominant alors que les plantes mutées sont encore rares, voire inexistantes, dans la population (au plus 20%). Pour les quatre autres, ces comportements laissent penser à l'existence d'au moins une mutation de la cible. Bien que ces données ne soient pas en contradiction avec les effets de la mutation, Ile1781, la plus fréquente chez les espèces résistantes comme le vulpin et le ray grass, nous n'avons pas testé assez de molécules pour comparer les profils de résistance croisée et confirmer la présence de l'une ou l'autre des mutations connues. De la même manière, pour les espèces estivales du groupe des Panicoidées sélectionnées, soit les mutations n'ont pas été déterminées comme chez les digitaires, soit comme pour *Setaria viridis* la mutation Ile1781 reste la seule connue (Delye et al 2002). Cependant la population sélectionnée aux Etats-Unis (Wiederholt, et Stoltenberg., 1995) est fortement résistante au fluazifop, fénoxaprop, haloxyfop, séthoxydime et plus faiblement au quizalofop et cléthodime sans que les auteurs envisagent vraiment la possibilité d'une mutation de cible. Par ailleurs la résistance de la population rapportée d'Australie est une détoxication qui concerne le fluazifop, plus faiblement l'haloxyfop et le quizalofop mais aussi l'imazethapyr.

Dans la littérature, tous les cas de résistance rapportés sur digitaria correspondent à des situations classiques de traitements répétés (parfois plusieurs fois la même année) avec le même produit pendant plusieurs années. Ces situations sont particulièrement favorables à la sélection de résistants par la constance de la même forte pression de sélection. En revanche, dans les Landes, nous sommes dans une situation particulière, puisqu'il s'agit de rotations qui n'autorisent pas l'usage systématique des inhibiteurs d'ACCase tous les ans. De plus seulement deux sont régulièrement utilisés (fluazifop et cycloxydime) en carotte et haricot. Le quizalofop, quand il a été utilisé, ne l'a été que l'année de récolte des échantillons et plutôt lors de la première carotte (en avril) soit à très forte dose pour détruire l'orge semée pour protéger les carottes du vent et du sable, soit pour tenter de limiter le développement des plantes non contrôlées par les deux autres antigraminées. Le fluazifop et le cycloxydime ont été utilisés de manière variable : de deux fois sur les deux dernières années pour E à deux fois sur cinq pour B (3/4 pour A, 3/4 pour C, 3/5 pour D). Pour B à part deux traitements à doses très faible en 2002, il n'y a pas eu de traitement avec des inhibiteurs de l'ACCase avant 2006. La population C n'a reçu que des très faibles doses en 2003 et 2005, or les doses appliquées en 2006 traduisent manifestement un échec du contrôle avec ces produits. Paradoxalement D qui n'a que peu de résistants n'est pas la parcelle ayant été traitée le moins de fois avec ce type de produits : 2002 et surtout 2005 et 2006. Seule la population A a reçu ce type de traitements régulièrement.

D'autre part, dans ces rotations c'est en carotte qu'il y a le plus de modes d'action antigraminées différents (groupes A, inhibiteurs d'ACCase, C2, inhibiteurs du photosystème II et K1, inhibiteurs de la division cellulaire) avec six matières actives différentes. En maïs il n'y a selon les cas que deux ou trois modes d'action, différents des précédents (B, inhibiteurs de l'ALS, F2, inhibiteurs de la synthèse des caroténoïdes et K3, inhibiteurs des élongases), mais les sulfonylurées restent moyennement efficaces sur les digitaires. Les haricots et pommes de terre n'apportent pas de nouveaux modes d'action. Finalement seuls les deux fops et le dime sont vraiment efficaces sur les digitaires aux doses appliquées. Dans ce type de rotation, le maïs apporte effectivement des modes d'action différents qui ne sont pas connus pour sélectionner des résistances croisées avec les herbicides du groupe A.

CONCLUSION

Quoi qu'il en soit, cela confirme bien l'existence récente d'un problème de sélection de résistance dans toute la région des Landes où l'on fait de la carotte : la population A vient de Ychoux, village où plusieurs agriculteurs se plaignent d'un mauvais contrôle de cette espèce. Il est donc très difficile d'expliquer la sélection, si l'on accepte les observations des agriculteurs qui disent ne pas avoir eu de problèmes d'efficacité avant l'année de récolte de nos échantillons, ni dans les maïs qui ne sont pas traités avec ces deux herbicides, ni dans les haricots précédents. De plus, quand on a eu l'information, la densité des plantes (plusieurs centaines au mètre carré) et leur répartition (souvent généralisée dans toute la parcelle) semblaient indiquer que la résistance est déjà bien installée. Il faudrait postuler que le contrôle de l'espèce en maïs (culture qui sépare deux années de carottes) n'est pas suffisant et que la population peut continuer à s'accroître. Cependant, à moins que les herbicides utilisés en maïs favorisent les résistants (ce qui pourrait être le cas s'il s'agissait de détoxication qui concerne aussi les sulfonylurées), cela conduit à penser que la sélection est en marche de longue date à partir des faibles doses utilisées en 2003 et 2002, et certainement dans les carottes et haricots des années précédentes. Donc que le contrôle avant 2006 n'était pas si bon que cela.

Cette espèce étant très autogame, il y a peu de chances que le phénomène ait une dispersion et une distribution comparable à celles des espèces allogames avec des apparitions simultanées dans beaucoup de lieux à la fois. Pour les espèces autogames, habituellement les foyers sont généralement peu nombreux et s'étendent peu. Ici la dispersion des localités touchées, l'importance du phénomène dans les parcelles et la rapidité d'extension constatée pourraient conforter l'hypothèse qu'il n'y aurait eu qu'une apparition localisée (par exemple près de Ychoux) et une dispersion immédiate par les machines en particulier les machines à récolter les carottes qui sont utilisées dans toute la région. Il faudrait pouvoir déterminer le parcours de la même machine à récolter au cours d'une campagne. Ceci dit comme dans les parcelles testées il n'y a pas eu de carottes lors des quatre années précédentes il faudrait imaginer que l'introduction de graines résistantes serait antérieure à 2002, ce qui serait en contradiction avec une apparition récente dans toute la région. On pourrait aussi imaginer que nous n'avons reçu des graines que de parcelles en carottes en 2006 qui exprimaient bien la résistance cette année-là, la résistance étant peut-être aussi présente dans d'autres parcelles dont l'historique est plus à même de correspondre à un schéma classique de sélection et donc à l'origine d'un foyer de contamination.

Avec les informations dont nous disposons, il est très difficile de proposer une hypothèse définitive pour expliquer le développement de ce phénomène de résistance. Après avoir déterminé si un seul ou plusieurs mécanismes sont impliqués, ce qui pourrait nous permettre d'estimer le nombre de foyers d'origine, il faudrait pouvoir accéder à d'autres parcelles autrefois ou récemment devenues résistantes pour lesquelles on aurait une bonne connaissance de l'historique culturel et du déplacement des machines. Mais si la soudaineté du déclenchement du phénomène se confirmait, sa compréhension risque d'être fortement compliquée, à moins d'avoir une preuve d'une introduction de l'extérieur.

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à Bayer qui nous a fourni un lot de semences et surtout à Agnès Euzen (Altus, Ychoux 40) qui nous a gracieusement fourni les semences de la plupart des populations et les informations relatives à l'historique des parcelles.

BIBLIOGRAPHIE

- Darmency H. et Gasquez J., 1990. Résistance aux herbicides chez les mauvaises herbes. *Agronomie*, 6, 457-472
- Délye, C., Wang, T.Y. & Darmency, H. (2002). An isoleucine-leucine substitution in chloroplastic acetyl-CoA carboxylase from green foxtail (*Setaria viridis* L. Beauv.) is responsible for resistance to the cyclohexanedione herbicide sethoxydim. *Planta* **214**, 421-427
- Dodet M., Petit RJ, and Gasquez J. 2007 Local spread of the invasive *Cyperus esculentus* L. (Cyperaceae) inferred using molecular genetic markers *Weed Research* (in press)
- Favier T., Gauvrit C., 2007 – Premier cas de résistance au glyphosate en France. AFPP – VINGTIÈME CONFÉRENCE DU COLUMA JOURNÉES INTERNATIONALES SUR LA LUTTE CONTRE LES MAUVAISES HERBES DIJON – 11 ET 12 DÉCEMBRE 2007
- Heap, I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Internet. October 18, 2007 . Available www.weedscience.com
- Hidayat, I. and C. Preston., 1997. Enhanced metabolism of fluazifop acid in a biotype of *Digitaria sanguinalis* resistant to the herbicide fluazifop-P-butyl. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **57**: 137-146
- Hidayat I. and Preston C., 2001. Cross-resistance to imazethapyr in a fluazifop-P-butyl-resistant population of *Digitaria sanguinalis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **71**: 190-195
- Kuk YongIn, Wu JingRui, J. Derr F., and K. Hatzios K. 1999. Mechanism of fenoxaprop resistance in an accession of smooth crabgrass (*Digitaria ischaemum*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **64**: 112-123
- Wiederholt, R. J. and D. E. Stoltenberg. ,1995. Cross-resistance of a large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) accession to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione herbicides. *Weed Technology*. **9**: 518-524.