

Détection de résistances aux inhibiteurs de l'ALS : des outils moléculaires pour un diagnostic rapide et fiable.

C. Délye¹, K. Boucansaud¹, F. Pernin¹, B. Couloume²

¹: INRA, UMR 1210 Biologie et Gestion des Adventices, 17 rue Sully, 21000 Dijon

²: Bayer CropScience, 16 rue Jean-Marie Leclair, 69009 Lyon.

Correspondance : delye@dijon.inra.fr;

Résumé

Les inhibiteurs de l'acétolactate-synthase (ALS) sont une des classes d'herbicides les plus utilisées actuellement. Être capable de diagnostiquer rapidement la présence de plantes résistantes à ces substances contribue à maintenir leur efficacité. La plupart des cas de résistance aux inhibiteurs de l'ALS sont dus à des mutations dans le gène de l'ALS. Des tests moléculaires ont été développés chez les principales graminées adventices du blé, le Vulpin (*Alopecurus myosuroides*) et les Ivraies (*Lolium* spp.). Ces tests permettent de détecter en 48 heures après l'arrivée des échantillons au laboratoire n'importe quelle mutation dans l'ALS dont on sait qu'elle confère une résistance. Les tests ont servi à analyser des échantillons d'Ivraies et de Vulpin provenant de parcelles où des échecs de contrôle de ces adventices par des inhibiteurs de l'ALS ont été observés. Ils ont révélé la présence de mutations de l'ALS en fréquences élevées dans 9 des 22 échantillons analysés. La résistance liée à l'ALS semble pouvoir évoluer rapidement dans certains cas, notamment quand le programme de désherbage est basé essentiellement sur des inhibiteurs de l'ALS anti-graminées. Ceci souligne la nécessité de raisonner l'emploi de ces molécules et de les inclure dans un ensemble diversifié de pratiques culturales.

Abstract

Acetolactate-synthase (ALS) inhibitors are currently one of the most broadly used classes of herbicides. Rapid resistance diagnosis can help safeguarding their efficacy. Most cases of resistance to ALS-inhibiting herbicides are due to mutations in the gene encoding ALS. DNA-based assays were developed to detect any ALS mutation endowing resistance in black-grass (*Alopecurus myosuroides*) and ryegrasses (*Lolium* spp.), two major grass weeds in wheat crops. These tests enable resistance diagnosis within 48 hours. They were used to analyse black-grass and ryegrass samples collected in fields where ALS inhibitor applications failed to control these weeds. The tests detected high frequencies of ALS mutations in 9 out of the 22 samples analysed. ALS-based resistance can evolve rapidly in some cases, particularly when herbicide spraying programs are mostly based upon ALS inhibitors targeting grass weeds. This underlines the need to ponder ALS inhibitor applications, and to use them in association with a diversity of cultural practices as high as possible.

Introduction

Les herbicides sont une des clefs de l'intensification de l'agriculture, qui a permis de garantir une certaine sécurité alimentaire en Europe. Leur emploi a cependant entraîné une diminution de la biodiversité dans les agro-écosystèmes en contribuant à éliminer les espèces les plus fragiles et s'est traduit par la présence de résidus dans l'environnement. La nécessité d'un changement profond des pratiques culturales a été reconnue lors du « Grenelle de l'Environnement ». L'une des principales

mesures envisagées est la réduction de moitié de l'usage des produits phytosanitaires d'ici 2018 (Plan Écophyto 2018). De plus, la directive européenne 91/414/CE a provoqué le retrait de nombreuses substances. De ce fait, la gamme des solutions herbicides disponibles pour l'agriculteur risque d'être de plus en plus restreinte (Decoin, 2008). Enfin, les contraintes économiques conduisent les agriculteurs à réduire le nombre d'applications. Une réponse aux nouveaux critères légaux et aux contraintes économiques pourrait être l'augmentation dans les programmes de traitements de la part des herbicides combinant forte efficacité, faible dose d'emploi, et large spectre d'action. Les substances actuellement disponibles répondant à ces critères sont essentiellement les inhibiteurs de l'acétolactate-synthase (ALS), et notamment les sulfonylurées qui sont appliquées à des doses allant de quelques grammes à quelques dizaines de grammes à l'hectare. Ainsi, sur blé, la tendance actuelle est d'employer majoritairement des herbicides inhibiteurs de l'ALS, et particulièrement l'association de deux sulfonylurées, le mésosulfuron et l'iodosulfuron (Gasquez *et al.*, 2008). Cependant, l'application fréquente de substances ne représentant qu'un nombre limité de modes d'action pour contrôler les adventices favorise inéluctablement le développement de résistances. Ces résistances peuvent drastiquement réduire, voire annuler, l'efficacité des applications d'herbicides. Or, les inhibiteurs de l'ALS sont la famille d'herbicides pour laquelle le plus de cas de résistance ont été signalés dans le monde (Heap, 2008). L'existence de résistances a été très récemment démontrée en France chez deux graminées adventices des céréales d'hiver ayant un fort impact économique, le Vulpin des champs (*Alopecurus myosuroides* Huds.) et les Ivraies (*Lolium* spp.) (Délye et Boucansaud, 2008 ; Délye *et al.*, sous presse ; Gasquez *et al.*, 2007)

Les herbicides ont toutes les chances de rester encore longtemps une garantie d'une production agricole suffisante et de qualité (Di Tullio *et al.*, 2007). Peu de nouvelles substances et aucun nouveau mode d'action ne semblent devoir être mis sur le marché dans un futur proche. Il est donc indispensable de préserver le plus longtemps possible l'efficacité des substances disponibles, notamment des inhibiteurs de l'ALS, et de rationaliser au mieux leur emploi (un minimum d'applications pour un maximum d'efficacité). Une façon d'y contribuer est de développer des outils et des méthodologies permettant un diagnostic rapide et précoce de la résistance.

La résistance aux inhibiteurs de l'ALS : bases génétiques

Il existe deux grands types de mécanismes de résistance aux pesticides en général, et aux herbicides en particulier. Le premier est la résistance liée à la cible, qui est due à des mutations dans le gène codant pour la protéine cible de l'herbicide. Les herbicides se fixent sur une région donnée de leur protéine cible : le site d'action. La forme spatiale de ce site d'action sur la protéine codée par le gène mutant est légèrement différente de celle du site d'action sur la protéine non mutante, ce qui entrave la fixation des herbicides et permet la survie de la plante. Le second type de mécanisme de résistance est la résistance non liée à la cible. Elle englobe des processus différents, mais qui ont en commun de réduire la quantité de molécules herbicides atteignant sa cible dans une proportion telle que la survie de la plante en est peu ou pas affectée : pénétration réduite de l'herbicide dans la plante, déplacement réduit de l'herbicide vers sa cible, piégeage de l'herbicide ou dégradation de celui-ci. Les niveaux de résistance dus aux deux types de mécanismes varient avec la substance herbicide et l'espèce. Ainsi, selon les cas, une résistance liée à la cible peut permettre à la plante de survivre à seulement deux ou trois fois la dose homologuée d'herbicide (Délye *et al.* 2004), ou à plusieurs centaines de fois cette dose (Délye *et al.*, 2005).

L'essentiel de la résistance aux inhibiteurs de l'ALS semble dû à des mutations ponctuelles dans le gène de l'ALS. Des études conduites sur plus de 30 espèces d'adventices ont bien caractérisé ces mutations (Tranel *et al.*, 2008). Cinq positions dans le gène de l'ALS, toujours les mêmes, sont impliquées dans la résistance (Tableau 1). Toute mutation se produisant à une de ces positions dans

l'ALS d'une plante rend cette plante résistante à des inhibiteurs de l'ALS (mais pas forcément à tous, cf. Tableau 1).

Tableau 1 : Profils de résistance croisée associés aux mutations connues dans le gène de l'ALS (d'après Tranel *et al.*, 2008). R, résistance ; S, sensibilité, PDD, pas de données. **Attention : ces données sont une synthèse de la littérature. Une caractéristique de la plupart des travaux publiés est de ne considérer qu'une mutation particulière, dans une espèce donnée, et une ou deux substances actives représentant une ou deux familles chimiques. L'existence d'exceptions aux profils ci-dessous est donc possible.**

Position de l'ALS		Familles d'inhibiteurs de l'ALS autorisées sur blé en France		
Numéro	Nombre de mutants résistants connus	Sulfonylurées	Triazolopyrimidines	Sulfonylamino-carbonyl-triazolinones
122	1	R	S	PDD
197	8	R	R	R
205	1	R	R	PDD
574	1	R	R	R
653	2	S	S	PDD

Les « tests ADN » de diagnostic de la résistance : comment ça marche ?

Un test ADN de diagnostic permet d'identifier une ou des mutations d'intérêt dans le génome d'un individu. Dans le cas présent, le but est d'identifier des plantes portant une ou des mutations dans le gène de l'ALS. La démarche habituelle dans ce cas est d'attendre qu'un problème de résistance se déclare au champ, de collecter des plantes ou des semences, de vérifier par des tests biologiques que certaines plantes sont en effet résistantes, de séquencer l'ALS de ces plantes pour identifier la ou les mutations en cause, et de développer un test de diagnostic ciblant la ou les mutations identifiées (en général un test par mutation). Cette démarche doit être effectuée de nouveau quand une mutation non détectée par les tests développés est sélectionnée au champ. La procédure « classique » est donc longue, et nécessite de développer autant de tests de diagnostic qu'il existe de mutations. Dans le cas de la résistance aux inhibiteurs de l'ALS, ceci impliquerait de développer pas moins de 13 tests (Tableau 1) ! L'approche choisie a donc été différente. Nous avons utilisé une technique dérivée de la PCR, appelée technique dCAPS (derived Cleaved Amplified Polymorphic Sequence). Cette technique permet de détecter à l'aide d'un **seul** test **toutes** les mutations possibles à une position donnée de l'ALS (Figure 1).

Cinq tests dCAPS (un par position) permettant de diagnostiquer une résistance ont été développés pour le Vulpin, et cinq autres pour les Ivraies.

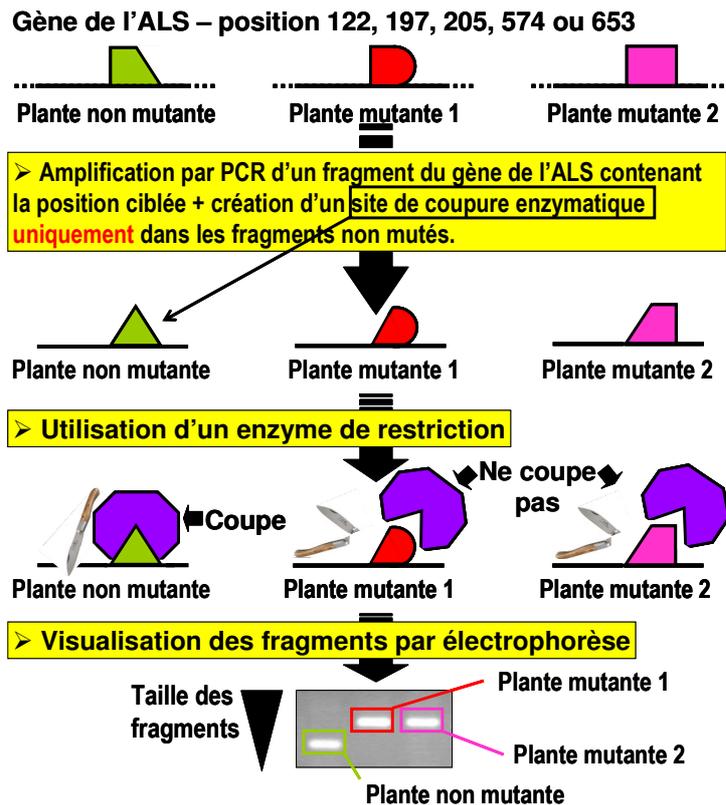


Figure 1 : Principe du test dCAPS de diagnostic des mutations de l'ALS (d'après Délye et Boucansaud, 2008). Le diagnostic se fait par digestion enzymatique du fragment d'ALS amplifié par PCR. L'enzyme de restriction coupe ce fragment uniquement s'il contient la version non mutante (« sensible ») de la position. Si une mutation, quelle qu'elle soit, est présente à la position étudiée, le fragment amplifié par PCR n'est pas coupé. La différence de taille observée après électrophorèse permet donc de déterminer si la plante analysée est ou non mutante à la position considérée. En cas de détection d'une mutation, la position à laquelle cette mutation a été détectée renseigne sur les substances auxquelles la plante mutante est *a priori* résistante (Tableau 1).

Recherche de résistances dans des échantillons de semences de Vulpin et d'Ivraies provenant de quelques parcelles « à problèmes »

Les tests dCAPS ont été utilisés pour analyser 10 échantillons de semences d'Ivraies et 12 de Vulpin provenant de parcelles où des problèmes de contrôle de ces adventices par des inhibiteurs de l'ALS ont été rencontrés en 2006 ou en 2007 (Tableau 2). Pour chaque échantillon, 50 plantules ont été analysées à l'aide de chacun des cinq tests dCAPS (illustration sur la Figure 2). En parallèle, la présence de plantes résistantes a été recherchée dans chaque échantillon par l'application de la formulation Atlantis® WG (3 % iodosulfuron + 0,6 % mésosulfuron, Bayer CropScience) sur 50 plantules au stade 3-4 feuilles cultivées en serre froide.

Tests dCAPS et applications d'herbicides confirment la présence de plantes résistantes dans 9 parcelles.

Des plantes contenant des mutations dans le gène de l'ALS ont été identifiées par les tests dCAPS dans un des échantillons d'Ivraie et dans huit des échantillons de Vulpin (Figure 2). Dans ces neuf échantillons, de 25 à 100% des plantes contiennent des mutations dans l'ALS (Tableau 2). Les mutations détectées ne concernent que deux positions : 197 et 574. Dans deux des échantillons de Vulpin, nous avons détecté la présence simultanée de mutations à ces deux positions (197 et 574), y compris dans une même plante.

Les résultats des tests dCAPS sont corroborés par ceux des applications d'herbicides (Tableau 2), qui confirment l'existence de plantes résistantes dans l'ensemble des neuf échantillons. Le problème de contrôle du Vulpin ou des Ivraies observé dans les neuf parcelles correspondantes est donc clairement lié à la présence de plantes mutantes résistantes en fréquences élevées. En effet, même si des différences de sensibilité peuvent exister selon la substance active, l'espèce considérée et la mutation,

la plupart des travaux publiés montrent que les mutations aux positions 197 et 574 confèrent toutes deux une résistance aux trois familles d'inhibiteurs de l'ALS autorisés sur blé en France (Tableau 1).

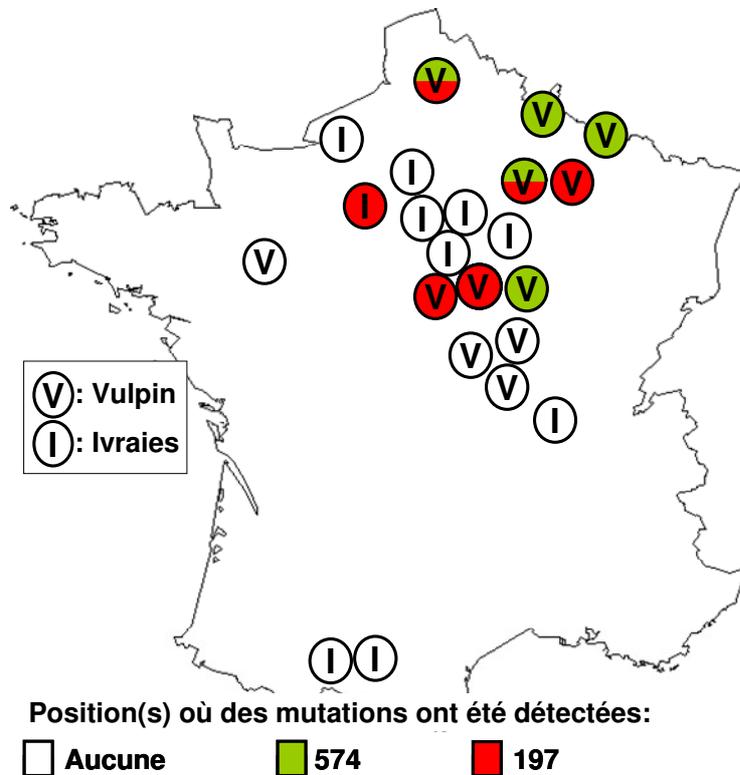


Figure 2 : Origine géographique des 12 échantillons de Vulpin et des 10 d'Ivraies, et diagnostic de la présence de plantes contenant des mutations de l'ALS.

Peu ou pas de plantes résistantes détectées dans les 13 autres parcelles

En revanche, aucune plante mutante n'a été détectée par les tests dCAPS dans les neuf autres échantillons d'Ivraies, ni dans les quatre autres échantillons de Vulpin (Figure 2). Ces résultats sont confirmés par les applications d'herbicides, qui révèlent que ces échantillons contiennent très peu ou pas du tout de plantes résistantes (Tableau 2). Le problème de contrôle du Vulpin ou des Ivraies observé sur les parcelles correspondantes pourrait donc essentiellement être dû à une mauvaise application des herbicides. Quelques plantes résistantes ont toutefois été mises en évidence par les applications d'herbicides. Il est possible qu'elles possèdent une résistance non liée à l'ALS. Ce type de résistance ne peut être détecté à l'aide des tests dCAPS.

La résistance non liée à l'ALS est le plus souvent due à une métabolisation exacerbée d'herbicides ; elle est aussi appelée « détoxication ». La métabolisation exacerbée d'herbicides est très répandue chez le Vulpin dans le cas de la résistance aux « fops » (inhibiteurs de l'acétyl-coenzyme A carboxylase ; exemples : fénoxaprop [Puma LS®], clodinafop [Célio®]) (Délye *et al.*, 2006). Elle a été mise en évidence dans certains cas de résistance aux inhibiteurs de l'ALS chez le Vulpin (Letouzé et Gasquez, 2001) comme chez les Ivraies (Christopher *et al.*, 1991; 1992). Toutefois, son importance dans la résistance aux inhibiteurs de l'ALS en France reste à évaluer chez le Vulpin comme chez les Ivraies.

Tableau 2 : Échantillons de Vulpin et d'Ivraie étudiés. Les numéros d'échantillons sont les mêmes que sur la Figure 2. Suite à l'application d'herbicides, les échantillons ont été répartis en trois classes : moins de 20% de plantes résistantes, de 21 à 50 % de plantes survivantes, et plus de 50% de plantes survivantes.

Échantillon	Nombre d'applications d'inhibiteurs de l'ALS sur :		% de plantes mutantes (test dCAPS)	% de plantes résistantes (traitement herbicide)
	la dernière campagne	les 4 dernières campagnes		
Vulpin				
V1	1	4	100%	> 50%
V2	2	5	100%	Non testé
V3	2	4	85%	> 50%
V4	2	3	43%	> 50%
V5	3	6	100%	> 50%
V6	2	5	95%	Non testé
V7	1	5	38%	> 50%
V8	1	3	0%	< 20%
V9	1	5	0%	< 20%
V10	1	1	0%	< 20%
V11	1	3	0%	< 20%
V12	2	5	100%	> 50%
Ivraies				
I1	2	5	0%	< 20%
I2	1	2	0%	< 20%
I3	2	4	75%	> 50%
I4	1	2	0%	< 20%
I5	1	3	0%	Non testé
I6	1	1	0%	< 20%
I7	1	1	0%	< 20%
I8	1	1	0%	< 20%
I9	1	2	0%	< 20%
I10	1	2	0%	< 20%

Sans précautions, la résistance peut évoluer rapidement

Le résultat le plus frappant de ce travail est probablement la détection de plantes mutantes en fréquences très élevées dans certains échantillons. On observe en effet la présence de jusqu'à 100% de plantes mutantes sur des parcelles n'ayant reçu des inhibiteurs de l'ALS anti-graminées que pendant 4 ans (5 à 6 applications, Tableau 2). Ces parcelles étaient pour la plupart conduites en monoculture de blé, et désherbées quasi-exclusivement à l'aide d'inhibiteurs de l'ALS anti-graminées. Ceci suggère que, si l'on ne prend pas de précautions dans l'utilisation de ces herbicides, la sélection de plantes résistantes peut être très rapide.

Avantages et inconvénients des tests dCAPS

Les tests moléculaires de détection de résistances qui avaient été mis au point avant ce travail étaient très spécifiques. Chacun ne permettait de détecter qu'une seule mutation à une position donnée (Délye et al., 2002). Les tests dCAPS présentés ici, basés sur une technologie légèrement différente,

permettent de détecter toutes les mutations possibles à une position donnée. Ceci est un gros avantage pour les positions où plusieurs mutations peuvent exister, et particulièrement la position 197 pour laquelle huit mutations sont connues. Le test dCAPS possède d'autres atouts :

- **Souplesse** vis-à-vis du matériel végétal analysé : le diagnostic peut être effectué à partir de petits fragments de feuilles récoltés sur le terrain, conservés « à sec » entre deux feuilles de papier, et voyageant par la poste. Il n'est pas nécessaire de disposer de matériel vivant.
- **Rapidité** : le temps requis entre la réception de l'échantillon et la lecture du diagnostic est de l'ordre de 48 heures. Ceci permet de savoir très rapidement si des mutations de l'ALS sont présentes sur une parcelle. Sous réserve de mettre au point un protocole d'échantillonnage adapté, il est donc possible d'avoir un diagnostic avant d'effectuer le traitement.
- « **Portabilité** » : les tests développés sont spécifiques d'une espèce, mais pas la méthodologie utilisée. Il est donc assez aisé de développer des tests dCAPS pour le diagnostic des mutations de l'ALS chez d'autres espèces d'adventices.
- **Possibilité de réutiliser les échantillons** pour d'autres tests moléculaires. Ainsi, des mutations conférant une résistance à des « fops » ont été identifiées par d'autres tests moléculaires (Délye *et al.*, 2002) dans 32% des plantes de l'échantillon de Vulpin V12. 100% des plantes de cet échantillon contiennent une mutation de l'ALS (Tableau 2), ce qui signifie que 32% des plantes de cet échantillon sont résistantes aux inhibiteurs de l'ALS **et** aux « fops ».

Malgré leurs avantages indéniables, les tests dCAPS possèdent quelques gros inconvénients. Le premier est bien sûr la nécessité de disposer d'un équipement de biologie moléculaire. En outre, les tests dCAPS ont l'inconvénient d'être spécifiques d'un type de résistance. Si les cinq tests permettent de détecter dans une espèce d'adventices toutes les résistances actuellement connues qui sont dues à des mutations de l'ALS, ils ne permettent de détecter aucun autre mécanisme de résistance. Ceci est bien illustré par l'existence de quelques plantes résistantes en tests biologiques dans des échantillons de Vulpin ou d'Ivraies où aucune mutation de l'ALS n'a été détectée (Tableau 2). De ce fait, les tests dCAPS sont idéaux pour fournir un premier diagnostic, très rapide, de la résistance. Ce diagnostic doit ensuite idéalement être complété par des tests biologiques de sensibilité aux herbicides pour être complet.

Pour conclure :

Les tests dCAPS ont permis d'effectuer un diagnostic rapide de la résistance due à des mutations dans l'ALS dans les échantillons d'Ivraies et de Vulpin analysés. À l'issue de cette étude, deux points saillants émergent :

- Les tests dCAPS ont permis de confirmer la présence de plantes résistantes à cause de mutations dans le gène de l'ALS dans neuf des 22 parcelles étudiées. Les mutations identifiées dans les échantillons analysés ne l'ont été qu'à deux positions : 197 et 574. Ceci est cohérent avec les données de la littérature, où des mutations à ces positions sont de loin les plus fréquemment observées (Tranel *et al.*, 2008). Les positions 197 et 574 sont également actuellement les seules dont l'implication dans la résistance aux inhibiteurs de l'ALS ait été montrée chez des graminées adventices. Les mutations à ces deux positions semblent toutes conférer une résistance aux trois familles d'inhibiteurs de l'ALS utilisés sur blé (Tableau 1). De ce fait, une rotation efficace des substances actives pour prévenir la résistance doit considérer **des modes d'action différents**, et pas seulement des familles chimiques différentes mais ayant un même mode d'action. À cet égard, la liste des

substances inhibitrices de l'ALS utilisables sur céréales en France est rappelée dans le tableau 3.

Tableau 3 : Substances actives et formulations correspondant aux différentes familles d'inhibiteurs de l'ALS autorisées sur blé en France en 2008.

	Familles d'inhibiteurs de l'ALS autorisées sur blé en France		
	Sulfonylurées	Triazolopyrimidines	Sulfonylamino-carbonyl-triazolinones
Substances actives	Amidosulfuron, flupyrsulfuron, iodosulfuron, mésosulfuron, metsulfuron, sulfosulfuron, thifensulfuron, tribenuron	Florasulam	Propoxycarbazone-sodium
Exemples de produits formulés (substances actives)	Archipel (mésosulfuron + iodosulfuron), Allié (metsulfuron)	Primus	Attribut

- Les tests ADN ont indirectement permis de montrer que des programmes de désherbage basés exclusivement ou essentiellement sur des inhibiteurs de l'ALS peuvent, dans certains cas, aboutir rapidement à l'obtention de fréquences élevées de plantes mutantes (Tableau 2). La monoculture de blé est probablement un facteur facilitant la sélection de plantes résistantes dans les espèces de graminées adventices comme le Vulpin ou les Ivraies.

Pour finir, il faut souligner que les cas étudiés ici ne sont certainement pas représentatifs de la situation générale en France : les échantillons analysés proviennent tous de parcelles où des problèmes de contrôle ont été signalés. Ils ont néanmoins valeur d'avertissement, en soulignant la nécessité de bien raisonner l'emploi des inhibiteurs de l'ALS dans leur ensemble, et de les inclure dans un ensemble diversifié de pratiques culturales.

Références bibliographiques

Christopher J.T., Powles S.B., Holtum J.A.M., 1992. Resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) involves at least two mechanisms. *Plant Physiology* 100, 1909-1913.

Christopher J.T., Powles S.B., Liljegren D.R., Holtum J.A.M., 1991. Cross-resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*). II. Chlorsulfuron resistance involves a wheat-like detoxification system. *Plant Physiology* 95, 1036-1043.

Decoin M., 2008. Réglementation demain, ce qui se prépare en France. *Phytoma LdV* 616, 21-25.

Délye C., Boucansaud K., 2008. A molecular assay for the proactive detection of target site-based resistance to herbicides inhibiting acetolactate synthase in *Alopecurus myosuroides*. *Weed Research* 48, 97-101.

Délye C., Boucansaud K., Pernin F., Le Corre V., sous presse. Variation at the gene encoding acetolactate-synthase in ryegrasses (*Lolium* spp.) and proactive detection of mutant, herbicide-resistant alleles. *Weed Research*.

Délye C., Chauvel B., Guillemain J-P., Menchari Y., Matějček A., Michel S., Camilleri C., Bérard A., Brunel D., Dessaint F., 2006. La résistance du Vulpin des champs aux anti-graminées dans les blés en France – La métabolisation : son importance crée une situation à risque. *Phytoma – LdV* 598, 12-16.

Délye C., Matějček A., Calmès É, Chauvel B., 2002. Résistances aux herbicides chez le Vulpin et le Ray-grass: des marqueurs moléculaires pour un diagnostic rapide. *Phytoma* – LdV 548, 41-46.

Délye C., Menchari Y., Michel S., Darmency H., 2004. Molecular bases for sensitivity to tubulin-binding herbicides in green foxtail. *Plant Physiology* 136, 3920-3932.

Délye C., Zhang X.-Q., Michel S., Matějček A., Powles S.B., 2005. Molecular bases for sensitivity to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors in black-grass. *Plant Physiology* 137, 794-806.

Di Tullio E., Baldi S., Bono P., Culver J., Filippini R., Gentile E., Magnatti P., Pipia D., Spigola M., Zaghi A., 2007. L'agriculture européenne du futur : le rôle des produits phytosanitaires. Institut Nomisma, Bologne. Sur demande à agri-food@nomisma.it, ou auprès des auteurs.

Gasquez J., Fried G., Délos M., Gauvrit C., Reboud X., 2008. Vers un usage raisonné des herbicides : analyse des pratiques en blé d'hiver de 2004 à 2006. *Innovations Agronomiques* 3, 145-156.

Gasquez J., Bay G., Boucansaud K., 2007. Mise au point sur des graminées adventices d'un test biologique spécifique des inhibiteurs de l'ALS. Vingtième conférence du COLUMA - Journées internationales sur la lutte contre les mauvaises herbes, 185-194, AFPP, Paris.

Heap I.M., 2008. Herbicide resistant weeds. <http://www.weedresearch.com>

Letouzé A., Gasquez J., 2001. Inheritance of fenoxaprop-P-ethyl resistance in a blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) population. *Theoretical and Applied Genetics* 103, 288-296.

Tranel P.J., Wright T.R, Heap I.M., 2008. Mutations from herbicide-resistant weeds. <http://www.weedscience.com>