

Charakterisierung einer Population der Geruchlosen Kamille mit reduzierter Sensitivität gegenüber Herbiziden, die die Synthese sehr langkettiger Fettsäuren hemmen

Characterizing a scentless mayweed population with reduced sensitivity towards VLCFA herbicides

Dagmar Rissel*, Lena Ulber

Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig

*Korrespondierende Autorin, dagmar.rissel@julius-kuehn.de

DOI 10.5073/jka.2020.464.073



Zusammenfassung

Die Geruchlose Kamille (MATIN) ist ein annuelles, dikotyles Ackerunkraut der gemäßigten Breiten. Bisher sind für dieses Unkraut 7 Fälle von Herbizidresistenz bekannt. Alle betreffen die Gruppe der Acetolactat-Synthase-Hemmer. Im Rahmen eines deutschlandweiten Herbizidresistenzmonitorings, wurde eine MATIN-Population identifiziert, die eine verringerte Sensitivität gegenüber Metazachlor, einem Wirkstoff aus der Gruppe der Hemmer der Synthese sehr langkettiger Fettsäuren zeigte. In dieser Studie wird die verringerte Sensitivität mittels erd- und agarbasierter Biotests genauer charakterisiert.

Stichwörter: Agarbasierter Biotest, erdbasierter Biotest, geruchlose Kamille, Metazachlor, verringerte Sensitivität

Abstract

Scentless mayweed (MATIN) is an annual dicotyledonous weed species in temperate zones. So far, seven cases of herbicide resistance are known. All cases of resistance refer to the group of acetolactate inhibitors. During a German resistance survey, a scentless mayweed population was detected showing reduced sensitivity to metazachlor, an active belonging to the group of inhibitors of very long chain fatty acid synthesis. In the present study, the reduced sensitivity was further characterized using soil- and agar-based bioassays.

Keywords: Agar-based bioassay, metazachlor, reduced sensitivity, scentless mayweed, soil-based bioassay

Einleitung

Die Geruchlose Kamille (*Tripleurospermum perforatum*; MATIN) ist ein bekanntes, weit verbreitetes Ackerunkraut. Sie kommt weltweit in den gemäßigten Zonen vor, wobei ihr natürliches Verbreitungsgebiet weite Teile Europas und Westasiens umfasst, während sie in Nordamerika und anderen gemäßigten Zonen eingeschleppt wurde (KAY, 1994; Woo et al., 1991). MATIN vermehrt sich nur sexuell und wird dabei von Insekten bestäubt (KAY, 1994; Woo et al., 1991). Die dabei entstehenden Achänen können für mindestens 10 Jahre im Boden überleben (KAY, 1994). Bisher sind 7 Resistenzfälle bei MATIN bekannt. Alle Resistenzfunde stammen aus Europa und betreffen Herbizide aus der Gruppe der Acetolactat-Synthase-Hemmer (HEAP, 2019).

Sehr langkettige Fettsäuren (VLCFA) besitzen mehr als 18 Kohlenstoffatome (HASLAM und KUNST, 2013). Sie werden für die Synthese von Sphingolipiden, kutikulären Wachsen, Suberin oder der Pollenhülle benötigt und übernehmen damit zentrale Funktionen in der Pflanze (HASLAM und KUNST, 2013). Herbizide Wirkstoffe der chemischen Gruppen der Acetamide, Chloroacetamide, Oxyacetamide und einiger anderer Wirkstoffe (HRAC-Gruppe K3) hemmen die VLCFA-Synthese. Bisher sind 15 Resistenzfälle gegen diese Gruppe bekannt (HEAP, 2019). Diese Fälle betreffen die Ungräser *Alopecurus myosuroides*, *Avena fatua*, *Echinochloa crus-galli*, *Lolium perenne* ssp. *multiflorum* und *Lolium rigidum* sowie die Unkräuter *Amaranthus palmeri* und *Amaranthus tuberculatus*. Der Chloroacetamid-Wirkstoff Metazachlor ist bisher nicht von Resistenzen betroffen (HEAP, 2019).

Im Rahmen eines deutschlandweiten Resistenzmonitorings für dikotyle Unkrautarten, wurde eine MATIN-Population identifiziert, die unter Feldbedingungen eine reduzierte Sensitivität gegenüber Metazachlor zeigte. Mit Hilfe von Biotesten und Kreuzungen soll diese verringerte Sensitivität nun validiert werden.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

M363, die MATIN-Population mit reduzierter Sensitivität gegenüber den Herbiziden aus der Gruppe der Hemmer der Synthese langkettiger Fettsäuren, stammt aus Baden-Württemberg. Sie wurde im Rahmen eines deutschlandweiten Monitoring zur Herbizidresistenz bei dikotylen Unkrautarten identifiziert. Zwei Individuen, die eine Behandlung mit der zugelassenen Aufwandmenge von Metazachlor überlebten, wurden miteinander gekreuzt. Die Samen, die aus dieser Kreuzung hervorgegangen sind werden als Population M363-1 bezeichnet. Die verwendete sensitive Referenzpopulation (S) stammt aus dem Unkrautgarten des Julius Kühn-Institut.

Biotests

Die Samen der jeweiligen MATIN-Population wurden zunächst in Petrischalen auf mit 0,02 M CaNO₃-Lösung getränktem Filterpapier ausgelegt und in einen Klimaschrank überführt (16 h Licht 20°C, Ehret). Je vier Keimlinge wurden in mit Erde gefüllte Töpfe pikiert und bis zum BBCH-Stadium 10-12 im Klimaschrank weiterkultiviert. Pro Behandlung wurden 4 Wiederholungen angelegt. Im BBCH-Stadium 10-12 wurde der Wirkstoffe Metazachlor (Butisan, 500 g l⁻¹, zugelassene Aufwandmenge 1,5 l ha⁻¹, BASF) in den angegebenen Aufwandmengen appliziert. Außerdem wurde der Wirkstoff Dimethenamid-P (Spektrum, 720 g l⁻¹, zugelassene Aufwandmenge 1,4 l ha⁻¹, BASF) in der zugelassenen Aufwandmenge appliziert. 21 Tage nach der Applikation wurde die Sprossfrischmasse der Pflanzen bestimmt.

Agar-basierter Biotest

Die Samen der Populationen M363-1 und S wurden zunächst oberflächensterilisiert (RISSEL et al., 2014) und in sterilem Wasser bei 4°C für 2 Tage stratifiziert. Anschließend wurden etwa 30 Samen jeder Population mit einer Pinzette auf eine Agar-Platte (1 % Plant Agar, Duchefa, Niederlande) gesetzt, die ein vollwertiges Murashige & Skoog-Medium (Duchefa, Niederlande) und die angegebenen Metazachlor-Aufwandmenge enthielt. Pro Butisan-Konzentration wurden drei Agarplatten vorbereitet. Nach der Aussaat wurden die Platten horizontal in einen Klimaschrank gelegt (16 h Licht 20/10 °C, Rumed, Deutschland). Die Sprossfrischmasse wurde 15 Tage nach der Aussaat bestimmt. Es wurden 2 unabhängige Wiederholungen durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

M363 und M363-1 zeigen eine verringerte Sensitivität gegenüber Metazachlor

Um den Sensitivitätsverlust der Population M363 gegenüber Metazachlor genau zu klassifizieren, wurde ein Biotest durchgeführt. Dabei zeigten sich leicht erhöhte Sprossfrischmassen der Population M363 im Vergleich zur S-Referenzpopulation (Abb. 1A). Diese Erhöhungen sind auf das Überleben von Einzelpflanzen zurückzuführen.

Laut Definition ist Resistenz eine vererbare Eigenschaft. Um festzustellen, ob dies auch auf die reduzierte Sensitivität einiger Individuen der Population M363 zutrifft, wurden 2 Individuen, die eine Behandlung mit der zugelassenen Aufwandmenge von Metazachlor überlebten, bis zur Blüte weiterkultiviert und miteinander gekreuzt. So wurde die Population M363-1 erzeugt. Abbildung 1B zeigt auch für diese Population leicht erhöhte Sprossfrischmassen im Vergleich zur S-Referenzpopulation. Wie bei M363 sind auch hier die erhöhten Sprossfrischmassen auf das Überleben von Einzelpflanzen zurückzuführen.

Dimethenamid-P ist ein weiterer herbizider Wirkstoff aus der Gruppe der Chloroacetamide. Nach einer Behandlung der Population M363-1 mit der zugelassenen Aufwandmenge zeigten sich ebenfalls überlebende Einzelpflanzen (Daten nicht gezeigt). Damit scheint die Population M363-1

Mechanismen zur Kreuzresistenz gegenüber Chloroacetamiden zu besitzen. Diese Mechanismen sollen nun weiter untersucht werden.

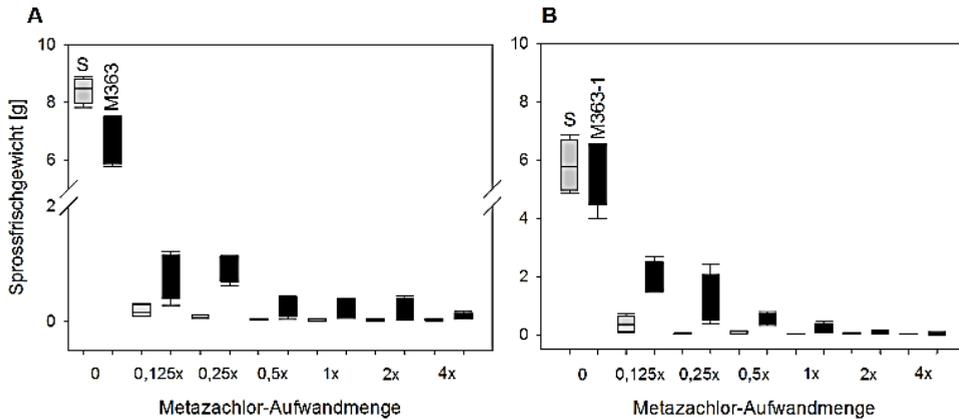


Abb. 1 Sprossfrischmasse der MATIN-Populationen 363 (A) und 363-1 (B) und der S-Referenzpopulation nach der Behandlung mit verschiedenen Metazachlor-Aufwandmengen. 1x entspricht der zugelassenen Aufwandmenge von 750 g ha⁻¹ Metazachlor. Die Sprossfrischmasse wurde 21 Tage nach der Behandlung bestimmt.

Fig. 1 Shoot weight of M363 (A) and M363-1 (B) the sensitive reference population (S) in response to the application of different doses of metazachlor. 1x represents the registered dose of 750 g ha⁻¹ metazachlor. Shoot weight was determined 21 days after application.

Die verringerte Sensitivität von M363-1 gegenüber Metazachlor wurde in einem Agar-basierten Biotest bestätigt

Die eindeutige Diagnose von Resistenzen gegenüber Voraufaulherbiziden ist schwierig, da die Wirksamkeit von Voraufaulherbiziden von vielen Faktoren wie zum Beispiel der Bodenfeuchte und Bodenstruktur, der Aussattiefe, der Dormanz der Samen und der Keimrate abhängt (ROSENHAUER und PETERSEN, 2015).

Um den Widrigkeiten der Resistenzdiagnose bei Voraufaulherbiziden in erdbasierten Biotests zu entgehen, wurden verschiedene Agar-basierte Biotests entwickelt (BURNET et al., 1994; ROSENHAUER und PETERSEN, 2015). Diese beiden Systeme wurden nun miteinander kombiniert und angepasst, um die Samenkeimung und das Pflanzenwachstum der Population M363-1 auf verschiedenen Aufwandmengen von Metazachlor genauer zu analysieren.

Dabei zeigten die S-Referenzpopulation und M363-1 eine ähnliche Samenkeimung bei allen Metazachlor-Aufwandmengen (Abb. 2A). Wie bereits bei den erd-basierten Biotests zeigten die M363-1-Pflanzen auch auf Agar eine höhere Sprossfrischmasse (Abb. 2B). Damit bestätigt der von uns entwickelte Agar-basierte Biotest die Ergebnisse aus den erdbasierten Biotests und bewährt sich als Werkzeug zur Diagnose von Resistenzen gegenüber Voraufaulherbiziden.

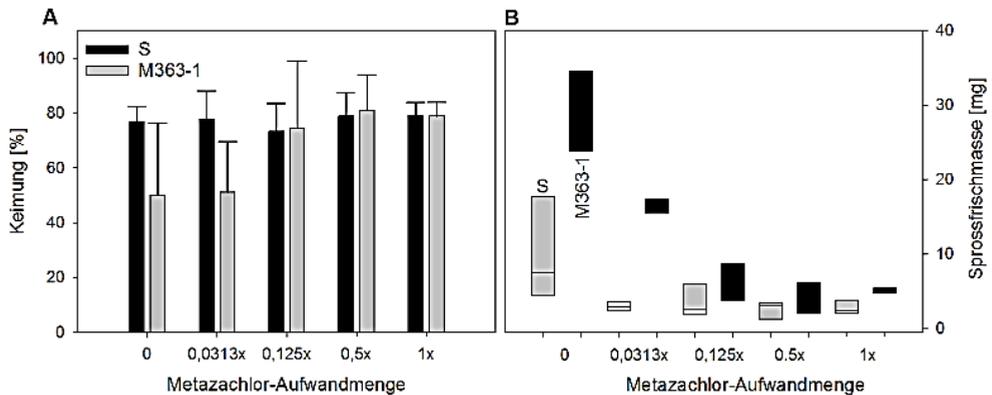


Abb. 2 Anzahl der gekeimten Samen der MATIN-Population 363-1 und S-Referenzpopulation auf 1x MS-Medium, das unterschiedliche Metazachlor-Aufwandmengen enthielt, 45h nach der Aussaat (A) und Sprossfrischmasse nach der Keimung auf verschiedenen Metazachlor-Aufwandmengen (B). Es wurden jeweils 30 Samen pro Population und Wiederholung ausgesät. Jede Behandlung wurde dreimal wiederholt. 1x entspricht der zugelassenen Aufwandmenge von 750 g ha⁻¹ Metazachlor. Die Sprossfrischmasse wurde 15 Tage nach der Behandlung bestimmt.

Fig. 2 Number of germinated seeds of M363-1 and the reference population on full-strength MS medium supplemented with different doses of metazachlor 45h after sowing (A) and shoot weight of M363-1 the sensitive reference population in response to the application of different doses of metazachlor (B). 30 seeds per population and replication were sown. All treatments were repeated 3 times. 1x represents the registered dose of 750 g ha⁻¹ metazachlor. Shoot weight was determined 15 days after application.

References

- BURNET, M.W.M., A.R. BARR, S.B. POWELS, 1994: Chloroacetamide resistance in rigid rygrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science* **42**, 153-157.
- HASLAM, T.M., L. KUNST, 2013: Extending the story of very-long-chain fatty acid elongation. *Plant Science* **210**, 93-107.
- HEAP, I., 2019. The international Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Internet. www.weedscience.org.
- KAY, Q.O.Y., 1994: *Tripleurospermum inodorum* (L.) Schultz Bip. *Journal of Ecology* **82**, 681-697.
- RISSEL, D., J. LOSCH, E. PEITER, 2014: The nuclear protein Poly(ADP-ribose) polymerase 3 (AtPARP3) is responsible for seed storability in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biology* **16**, 1058-1064.
- ROSENHAUER, M., J. PETERSEN, 2015: Bioassay development for the identification of pre-emergence herbicide resistance in *Alopecurus myosuroides* (Huds.) populations. *Gesunde Pflanzen* **67**, 141-150.
- WOO, S.L., A.G. THOMAS, D.P. PESCHKEN, G.G. BOWES, D.W. DOUGLAS, V.L. HARMS, A.S. MCCLAY, 1991: The biology of Canadian weeds. 99. *Matricaria perforata* Mérat (Asteraceae). *Canadian Journal of Plant Science* **71**, 1101-1119.