
Sektion 2: Herbizidresistenz

Session 2: Herbicide resistance

Wird die ALOMY-Bekämpfungseffizienz einer ‚Atlantis‘-Behandlung im Frühjahr durch den vorausgehenden ‚Lexus‘-Einsatz im Herbst eingeschränkt? – Stichwort: Resistenzkonditionierung

Will the efficacy of an ALOMY treatment with ‚Atlantis‘ in spring be reduced by a prior application of ‚Lexus‘ in autumn? – Keyword: Conditioning for resistance

Friedrich G. Felsenstein*, Saúl Molina-Herrera

EpiLogic GmbH, Hohenbachernstr. 19-21, 85354 Freising

*Korrespondierender Autor, friedrich.felsenstein@epilogic.de

DOI 10.5073/jka.2018.458.010



Zusammenfassung

In der Praxis wird derzeit kontrovers diskutiert, ob eine Herbstbehandlung des Ackerfuchsschwanzes mit dem Produkt ‚Lexus‘ die Bekämpfungseffizienz einer Behandlung mit ‚Atlantis WG‘ im darauffolgenden Frühjahr einschränkt. Hintergrund ist die Frage, ob metabolisch resistente und nach einer ALS-Ausbringung überlebende ALOMY-Individuen über die 1. ALS-Behandlung wirkungsnegativ für eine darauffolgende weitere ALS-Behandlung konditioniert werden. Zu dieser Fragestellung, die das Prinzip gleichgerichteter ALS-Behandlungssequenzen darstellt, wurde EpiLogic beauftragt, eine Antwort über eine geeignete Versuchsanstellung zu erarbeiten.

Zu diesem Zweck wurden im Rahmen eines ALOMY-Populations-Monitorings entsprechende Pflanzen mit gut messbarer metabolischer Resistenz mit ‚Lexus‘ (40 g/ha) selektiert. Gleichzeitig wurde mit einer ‚Atlantis WG‘-Anwendung (500 g/ha) ausgeschlossen, dass die betreffende Population von Target-Site-Resistenz und/oder sehr hoher metabolischer Resistenz betroffen ist. ‚Atlantis WG‘ zeigte bei diesen Populationen durchgehend eine noch sehr gute Wirksamkeit.

Die selektierten Pflanzen wurden in Einzeltöpfe überführt. Nach unterschiedlichen Zeiträumen, in denen die Pflanzen spezifischen Umweltbedingungen ausgesetzt waren sowie einer Bestockungsphase, wurden die Pflanzen vegetativ vermehrt (Pflanzenklonierung). 3 Klone je Elternpflanze wurden 3 unterschiedlichen Behandlungen unterzogen: Kontrolle, ‚Lexus‘ (40 g/ha) sowie ‚Atlantis WG‘ (500 g/ha). Es wurden zeitlich versetzt mehrfach Elternpflanzen selektiert und so mehrere Sensitivitätsanalysen mit den entsprechenden Klonen durchgeführt. Die 3 Behandlungen wurden unter 4 Zeit- und Umweltvarianten geprüft. Alle Untersuchungen wurden in der Klimakammer unter definierten Umweltbedingungen durchgeführt. Lediglich die Pflanzen bei Umweltvariante 4 wurden einer Überwinterung im Freiland mit einer Dauer von ca. 3,0 bis 3,5 Monaten ausgesetzt.

Die Boniturergebnisse zu den Klonen der Elternpflanzen werden den Daten aus dem Selektionsversuch gegenübergestellt. Die Untersuchungen zeigen über alle Behandlungs- und Umweltvarianten ein gleichgerichtetes Ergebnisbild auf. Bei Pflanzen, welche die ‚Lexus‘-Behandlung aufgrund ihrer metabolischen Resistenz überlebt haben, tritt in der Behandlungssequenz ‚Lexus‘-‚Atlantis WG‘ keine messbare Resistenzkonditionierung auf. Eine ‚Lexus‘-Anwendung im Herbst hat also keine resistenzsteigernden Auswirkungen auf die Anwendung von ‚Atlantis WG‘ im Frühjahr. Die Behandlungssequenz ‚Lexus‘-‚Lexus‘ macht zudem deutlich, dass auch ein leichter Sensitivitätsabbau bei entsprechenden Pflanzen auszuschließen ist.

Stichwörter: Ackerfuchsschwanz, ALOMY, ALS, Behandlungssequenz, metabolische Resistenz, Pflanzenklonierung, Resistenzkonditionierung

Abstract

Currently, there is controversy regarding whether or not an autumn application with the product ‚Lexus‘ for black grass control reduces the efficacy of an ‚Atlantis WG‘ application in the following spring. It is hypothesized that metabolic resistant ALOMY individuals who survived the first ALS treatment are less

susceptible to following ALS treatments through conditioning. To answer this question, which represents the strategy of ALS sequential applications, EpiLogic was requested to apply a suitable experimental design.

For this purpose, black grass plants possessing a measurable metabolic resistance level towards ALS were selected using 'Lexus' (40 g/ha) within an ALOMY monitoring program. Simultaneously 'Atlantis WG' (500 g/ha) was used to exclude that the respective populations were affected by target-site resistance and/or high metabolic resistance. For the selected populations, 'Atlantis WG' showed high efficacy.

The selected plants were transferred to single pots. After different time periods, during which the plants were exposed to specific environmental conditions, and after an appropriate tillering phase, the plants were vegetatively multiplied (plant cloning). Three clones per parental plant were used in three different treatments: Control, 'Lexus' (40 g/ha) and 'Atlantis WG' (500 g/ha). Parental plants were obtained from several selection experiments and thus several of such sensitivity analysis of respective clones could be performed. The three treatments were investigated under four variants of time and environmental conditions. All experiments were conducted in a climate chamber under controlled environmental conditions. Only the plants of variant four were exposed to overwintering in the field which lasted approx. 3.0 to 3.5 months.

The assessed data of the clones from the parental plants are compared to the data obtained during the selection assay. The experiments demonstrate a uniform picture across all herbicide applications and environmental conditions. For plants which survived a 'Lexus' treatment due to their metabolic resistance, no measurable conditioning for resistance occurs within the 'Lexus'-'Atlantis WG' sequence. Therefore, the application of 'Lexus' in autumn does not result in a resistance-increasing effect to the application of 'Atlantis WG' in spring. Additionally, the application sequence 'Lexus'-'Lexus' revealed that even a slight decrease in sensitivity can be excluded for respective plants.

Keywords: ALOMY, ALS, application sequence, black grass, conditioning for resistance, metabolic resistance, plant cloning

Einleitung

Der Ackerfuchsschwanz (*Alopecurus myosuroides*; ALOMY) zählt mittlerweile zu den am schwersten zu bekämpfenden Unkräutern im Getreideanbau in Westeuropa (MARÉCHAL et al., 2012; KRÄHMER, 2009). Hintergrund ist insbesondere eine nachhaltige und weitverbreitete Herbizidresistenzbildung gegenüber verschiedenen Wirkstoffgruppen (KESHTKAR et al., 2015; CUMMINS et al., 2013; HENRIET und MARÉCHAL, 2009; MOSS et al., 2007; eigene Untersuchungen), ausgelöst und forciert durch einen relativ intensiven Herbizideinsatz oftmals sowohl im Herbst als auch im darauffolgenden Frühjahr. Diese Resistenzentwicklung schließt auch die ökonomisch sehr bedeutende Familie der ALS-Inhibitoren (Hemmung des Enzyms Acetolactat-Synthase) mit ein (DROBNY et al., 2012). Dabei unterscheidet man zwei Formen der Resistenzbildung. Zum einen ist dies die sog. 'Target-Site Resistenz' (TSR), bei der durch eine genetische Einzelmutation und damit einhergehender Modifikation am Wirkort zumeist hohe Resistenzfaktoren seitens der Pflanze erzielt werden. Dies führt oftmals zur Wirkungslosigkeit entsprechender Präparate im Bestand. Zum anderen und derzeit noch am weitesten verbreitet tritt die sog. metabolische Resistenz in Erscheinung. Dabei erfolgt in der Pflanze ein verstärkter, beschleunigter Abbau bzw. eine Umwandlung des Wirkstoffs in unwirksame Komponenten. Dies wird vermutlich durch eine ganze Reihe von genetischen Veränderungen bedingt. Je nach pflanzenindividuell vorhandener genetischer Variation bzw. Genkombination kann dabei die erreichte Anpassung ganz unterschiedlich hoch ausfallen von 'kaum analysierbar' und im Feld bei voller Aufwandmenge kaum feststellbar bis hin zu TSR-ähnlicher hoher Ausprägung. Derartig unterschiedliche Erscheinungsformen von Herbizidresistenz lassen natürlich viel Raum für weitgefächerte Diskussionen, Interpretationen und hypothetische Spekulationen. So wird in der Praxis immer wieder kolportiert, dass eine Herbstbehandlung von ALOMY mit dem ALS-Produkt 'Lexus' die Bekämpfungseffizienz einer Behandlung mit dem Produkt 'Atlantis WG' im darauffolgenden Frühjahr einschränkt bzw. negativ beeinflusst. Hintergrund ist die Hypothese, dass metabolisch resistente und nach einer ALS-Ausbringung überlebende ALOMY-Individuen über die erste ALS-Behandlung wirkungsnegativ für eine darauffolgende weitere ALS-Behandlung konditioniert werden. Zu dieser Fragestellung wurde die EpiLogic GmbH, Freising-Weihenstephan, beauftragt, über eine geeignete Versuchsanstellung eine Antwort zu erarbeiten.

Material und Methoden

Verfahrensschritte der Sensitivitätsanalyse

Die entsprechenden Untersuchungen wurden von September 2016 bis April 2017 durchgeführt. Ihre Ausführung erfolgte grundsätzlich in der Klimakammer unter kontrollierten und definierten Umweltbedingungen (Lichtintensität, Temperatur, Tag-Nacht-Rhythmus, relative Luftfeuchte). Lediglich die Kultivierung der Pflanzen unter Umweltvariante 4 mit einer Überwinterung der Pflanzen fand über eine Dauer von ca. 3,0 bis 3,5 Monaten im Freiland statt. Die Pflanzenkultivierung erfolgte unter folgenden Bedingungen: Lichtintensität $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Temperatur Nacht 12°C , Temperatur Tag 17°C , Tag-Nacht-Rhythmus 14/10 h, relative Luftfeuchtigkeit 75 %. Des Weiteren diente das EpiLogic zur Verfügung gestellte DuPont Manual „Black-grass susceptibility monitoring / Herbicides – DuPont test: plants in agar boxes. – Cereal herbicides 2005/2006“ (nicht publiziert) als Grundlage für den methodischen Ansatz. Mit dessen Hilfe etablierte EpiLogic bei sich vor ca. 10 Jahren die Sensitivitätsanalyse des Ackerfuchsschwanzes im Agarmedium. Die Methode gewährt den je 15 Einzelpflanzen, die pro Population/Stichprobe und Wirkstoffkonzentration standardmäßig untersucht werden, ausreichend individuellen Platz für Wachstum und Entwicklung. Auch das ALOMY-typische Bestockungswachstum ist für die einzelnen Pflanzen mit dem zur Verfügung gestellten Platz problemlos möglich.

Für die Sensitivitätsanalysen werden Einzelpflanzen im ca. 2-3 Blattstadium mit einer Pinzette in transparente Anzuchtgefäße (10 cm x 8 cm x 3 cm) pikiert, welche einen mit Nährstoffen angereicherten Wasseragar enthalten (8 g/l Agar-Agar, ca. 170 ml). In jedes Anzuchtgefäß werden 5 Pflanzen eingesetzt, so dass jeder Pflanze ca. 15 cm^2 Fläche für eine mögliche individuelle Entwicklung nach Behandlung zur Verfügung stehen. Ca. 7 Tage nach dem Pikieren in das Agar-Medium haben die Pflanzen neue Wurzeln ausgebildet, was durch das transparente Gefäßmaterial sowie den Agar optisch gut kontrollierbar ist, und die Behandlung der Pflanzen kann vorgenommen werden. Diese wird mit einer ‚Schachtner Applikationsanlage‘ ausgeführt, wobei die Qualität der Anlage selbst sowie das Eichen der Anlage vor jedem Behandlungslauf die exakte Ausbringungsmenge je m^2 bzw. ha (300 l) bei minimierter Streuung sicherstellt.

25 Tage nach der Behandlung (DAT) werden die Pflanzen in Relation zu unbehandelten Vergleichspflanzen bonitiert. Daraus lässt sich ein %-Wert an Wirksamkeit (Effizienz E) bestimmen.

Selektion von ALOMY-Biotypen mit metabolischer Resistenz (Selektionsversuch)

Zur Bearbeitung der Fragestellung wurden im Rahmen eines DuPont-Routinemonitorings (Samenproben aus 2016) für die Versuche geeignete Pflanzen mit gut messbarer metabolischer Resistenz mit ‚Lexus‘ (40 g/ha = 20 g ai/ha Flupyr-sulfuron) selektiert. Gleichzeitig wurde mit ‚Atlantis WG‘ (500 g/ha = 15 g ai/ha Mesosulfuron + 3 g ai/ha Iodosulfuron) ausgeschlossen, dass die betreffende Population von TSR einerseits und/oder von einer äußerst hohen metabolischen Resistenz andererseits betroffen ist. In beiden Fällen wäre ‚Atlantis WG‘ nur noch eingeschränkt oder überhaupt nicht mehr wirksam. ‚Atlantis WG‘ zeigte mit 500 g/ha bei den betreffenden Populationen aber ausschließlich eine noch sehr gute Wirksamkeit. Die selektierten Pflanzen stammten also exklusiv von Feldpopulationen, die sich speziell durch eine gut messbare, aber nur moderat bis mittel ausgeprägte metabolische ALS-Resistenz in der Stichprobe auszeichneten. Solch ein typisches Reaktionsmuster im Pflanzenwachstum nach Behandlung mit ‚Lexus‘ sowie ‚Atlantis WG‘ ist in Abbildung 1 veranschaulichend wiedergegeben.

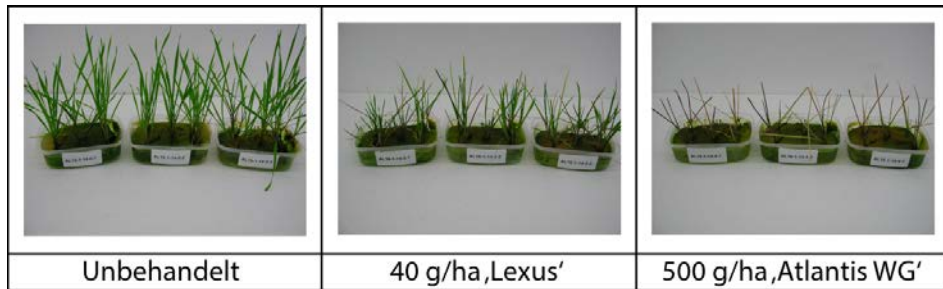


Abb. 1 Typische Reaktionsmuster einer ALOMY Population mit mittel ausgeprägter metabolischer Resistenz auf eine Behandlung mit den verwendeten ALS-Herbiziden.

Fig. 1 Typical reaction pattern of an ALOMY population carrying a moderately expressed metabolic resistance towards the ALS herbicides used.

Bei festgesetzt maximal 12 Pflanzen je Population bzw. Stichprobe wurden insgesamt 216 geeignete Pflanzen mit entsprechender Resistenzprägung gegenüber ‚Lexus‘ ausgewählt, die aus gesamt 21 Populationen und aus mehreren, zeitlich zueinander versetzten Untersuchungsläufen stammten.

Sensitivitätsanalyse der Pflanzenklone

Die 216 selektierten Pflanzen wurden jeweils in Einzeltöpfe mit Humuserde überführt. Nach Durchlaufen einer Zeitfenstervariante, in der eine Gruppe von Pflanzen einer spezifischen Umweltvariante (Tab. 1) ausgesetzt war, plus ca. 8 Tagen für eine optimale Pflanzenentwicklung, erfolgte jeweils eine vegetative Vermehrung (= Klonierung) jeder Einzelpflanze. Dabei wurden durch mehrfache Unterteilung der bestockten Ausgangspflanze (= Elternpflanze) eigenständige Pflanzenklone mit jeweils 2-3 sichtbar verbleibenden Blättern erstellt, die in etwa dem 2-3 Blattstadium frisch angezogener Pflanzen entsprechen. An dieser Stelle sei ausdrücklich darauf hingewiesen, dass die erzeugten Pflanzenklone in allen Gesichtspunkten wie Genetik, Epigenetik, spezifischer Behandlung sowie der [Mikro-]Umwelthistorie zu 100 % mit der elterlichen Ausgangspflanze identisch sind. Drei solcher einzelner Klone je Elternpflanze wurden nach der Teilung umgehend in Anzuchtgefäße mit Agar-Medium pikiert. Nach erneuter Wurzelbildung wurden die Klone 3 unterschiedlichen Behandlungen zugeführt: Klon 1 diente als unbehandelte Kontrolle, Klon 2 wurde nochmals mit 40 g/ha ‚Lexus‘ und Klon 3 mit 500 g/ha ‚Atlantis WG‘ behandelt (Abb. 2).

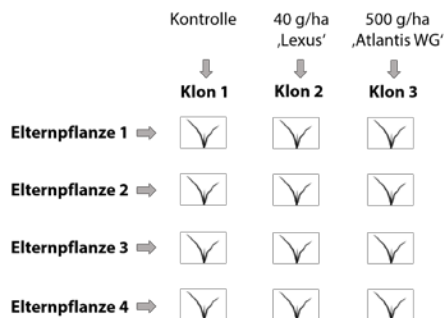


Abb. 2 Behandlungsschema für die Sensitivitätsanalyse der ALOMY-Klone, die aus Elternpflanzen mit metabolischer ALS-Resistenz hervorgegangen sind.

Fig. 2 Application scheme during bioassays of the ALOMY clones which were obtained from parental plants with metabolic ALS-resistance.

Die Ergebnisse zu ‚Atlantis WG‘ sollen direkt Aufschluss geben, ob dieses Produkt in der genutzten Aufwandmenge in seiner Wirkung durch eine ‚Lexus‘-Vorbehandlung eingeschränkt wird. Die parallele Behandlung eines weiteren Schwesterklons mit ‚Lexus‘ erlaubt darüber hinaus, auch einen kleinen ‚Shift‘ hin zu einem etwas höheren Anpassungslevel bzw. geringerer Empfindlichkeit gegenüber ALS-Herbiziden bei diesen Pflanzen zu erkennen.

Im Zeitfenster zwischen der Bonitur des Selektionsversuchs und der Teilung der Pflanzen für die Sensitivitätsanalyse der Pflanzenklone wurden insgesamt 4 Umweltvarianten geprüft. Aus deren Konsequenz ergaben sich unterschiedliche Zeiträume zwischen der 1. Behandlung und der 2. Behandlung. Diese 4 Zeit-Umweltvarianten sind in Tabelle 1 im Einzelnen aufgeführt. Mit Variante 4 simuliert der Test auch die Frühjahrsbehandlung mit ‚Atlantis WG‘ nach einer Herbstbehandlung mit ‚Lexus‘. Da aus mehreren zeitlich zueinander versetzten Selektionen Pflanzen zur Verfügung standen, konnten auch alle Zeit-Umweltvarianten mehrfach und unabhängig voneinander geprüft werden. Die Ergebnisse und Aussagen der vorliegenden Untersuchungen basieren damit bei den Sensitivitätsanalysen auf 216 selektierten Elternpflanzen x 3 Pflanzenklone = 648 Einzelpflanzen bzw. 216 Sensitivitätsanalysen je Behandlungsansatz (‚Lexus‘ oder ‚Atlantis WG‘) bzw. 432 Einzelpflanzenbonituren.

Tab. 1 Kultivierungsbedingungen der selektierten ALOMY-Elternpflanzen zwischen der Bonitur des Selektionsversuchs und der Sensitivitätsanalyse der Pflanzenklone.

Tab.1 *Culturing conditions of the selected ALOMY parental plants between the assessment of the selection experiment and the bioassay with the plant clones.*

Umweltbedingungen	Beschreibung der Zeitschiene
Variante 1 (83 Elternpflanzen aus 7 Populationen)	Pflanzenkultivierung (8 Tage) und Klonierung maximal zeitnah nach dem Selektionsversuch. 2. Behandlung ca. 15 Tage nach dessen Abschlussbonitur
Variante 2 (57 Elternpflanzen aus 5 Populationen)	Pflanzenkultivierung (8 Tage) und Klonierung nach 7 Tagen Latenzzeit (3 Tage Dunkelheit bei 2-5 °C + 1 Tag unter Licht bei 12-17 °C + 3 Tage Dunkelheit bei 2-5 °C) nach dem Selektionsversuch. 2. Behandlung ca. 22 Tage nach dessen Abschlussbonitur
Variante 3 (44 Elternpflanzen aus 5 Populationen)	Pflanzenkultivierung (8 Tage) und Klonierung nach 27 Tagen Latenzzeit (Sequenz von 4 x 3 Tage Dunkelheit bei 2-5 °C + 3 x 1 Tag unter Licht bei 12-17 °C) nach dem Selektionsversuch. 2. Behandlung ca. 41 Tage nach dessen Abschlussbonitur
Variante 4 (32 Elternpflanzen aus 4 Populationen)	Pflanzenkultivierung (8 Tage) und Klonierung nach 3,0-3,5 Monaten Latenzzeit unter Feldbedingungen (Verpflanzung ins Freiland mit einer Phase von Minustemperaturen und Schneedecke) nach dem Selektionsversuch. 2. Behandlung ca. 105-120 Tage nach dessen Abschlussbonitur

Ergebnisse

Die Boniturergebnisse der Einzelpflanzen nach der 2. Behandlung (Klone) werden den Daten aus der 1. Behandlung (Selektionsversuch) gegenübergestellt. Daraus lässt sich ablesen, ob durch eine Vorbehandlung mit ‚Lexus‘ eine Resistenzkonditionierung des Ackerfuchsschwanzes erfolgt.

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse zu Umweltvariante 1 dargestellt, bei der die Behandlungssequenz so zeitlich eng wie möglich erfolgte und eine Beeinflussung des Bekämpfungsergebnisses der 2. ALS-Behandlung hypothetisch am wahrscheinlichsten wäre. Links in der Tabelle finden sich zusammengefasst die Ergebnisse zur Produktwirksamkeit der 1. Behandlung aus dem Selektionsversuch von 7 ausgewählten Populationen. Rechts sind die korrespondierenden Boniturdaten zu den Klonen der jeweiligen, max. 12 selektierten Elternpflanzen einzeln gelistet sowie zusammenfassend wiedergegeben.

Tab. 2 Wirkeffizienz der Behandlungen bei den ausgewählten ALOMY-Populationen im Selektionsversuch sowie bei den korrespondierenden Pflanzenklonen. Dargestellt werden die Daten der Umweltvariante 1.

Tab. 2 Efficacy of the applications on the chosen ALOMY populations during the selection assay as well as on the corresponding plant clones. The table presents the data collected for environmental variant 1.

Wirkung (E in %) der 1. Behandlung bei Feldproben im Routinemonitoring (Vortest)			Wirkung (E in %) der 2. Behandlung entweder mit 'Lexus' (40 g/ha) oder mit 'Atlantis WG' (500 g/ha) nach Umweltvariante V1 bei jeweils Pflanzenklon 2 und 3 (Haupttest) - jeweils hervorgehend von (Eltern)Pflanzen, welche im Vortest mit 40 g/ha 'Lexus' vorbehandelt ("konditioniert") wurden														
EpiLogic Lab-ID	1. Beh.	Ø E	EpiLogic Vers.-Nr.	2. Beh.	(Eltern)Pflanze Nr.												Ø E
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
AL16-1-7	Lexus	22	V1-1-7	Lexus	15	25	25	20	30	10	10	50	40	45	25	30	27
	Atlantis	98		Atlantis	35	98	98	98	85	90	95	100	100	98	100	100	91
AL16-1-11	Lexus	12	V1-1-11	Lexus	25	15	30	20	25	0	15	5	25	20	25	25	19
	Atlantis	94		Atlantis	100	75	100	100	100	98	75	95	80	100	100	95	93
AL16-1-14	Lexus	10	V1-1-14	Lexus	25	20	50	100	25	10	65	50	15	25	0	5	33
	Atlantis	97		Atlantis	100	100	98	100	100	98	100	100	100	100	100	95	99
AL16-2-5	Lexus	18	V1-2-5	Lexus	10	5	30	10	50	60	0	25	10	10	25	95	28
	Atlantis	100		Atlantis	85	80	95	50	100	100	100	100	100	100	100	98	98
AL16-2-6	Lexus	17	V1-2-6	Lexus	0	15	10	0	70	70	50	30	100	70	100	100	51
	Atlantis	94		Atlantis	90	100	80	90	80	98	100	95	100	100	98	100	94
AL16-3-14	Lexus	33	V1-3-14	Lexus	15	10	25	50	25	60	15	5	50	60	10	30	
	Atlantis	99		Atlantis	85	98	95	95	98	90	100	100	90	85	70	91	
AL16-3-16	Lexus	28	V1-3-16	Lexus	65	100	75	85	25	80	40	70	70	45	20	25	58
	Atlantis	98		Atlantis	100	80	100	80	80	75	98	100	95	100	100	100	92

Die Ergebnisse der Einzelbewertungen nach der 2. Behandlung lassen gegenüber ‚Atlantis WG‘ in den meisten Fällen eine gute bis sehr gute Bekämpfungsleistung erkennen. Auch wenn in einigen Fällen die metabolische Resistenz etwas, in einem Fall auch einmal stärker zum Tragen kommt, so liegt doch bei 61 der behandelten 83 Pflanzen (ca. 75 %) eine Bekämpfungsleistung ≥ 95 %, in vielen Fällen sogar von 100 % nach 25 DAT vor. Die durchschnittliche Bekämpfungsleistung liegt durchweg bei > 90 % und unterscheidet sich nur marginal von der aus der Behandlung der Elternpopulation.

Bei der Behandlung mit 40 g/ha ‚Lexus‘ kommt die metabolische Resistenz mit ihrer Variabilität in der Ausprägung zu einem weit höheren Maße zum Tragen als bei 500 g/ha ‚Atlantis WG‘, wie die Ergebnisse deutlich machen. Die Bekämpfungsleistung nach der 2. Behandlung mit ‚Lexus‘ liegt zumeist um die 50 % oder deutlich darunter. Insgesamt streut sie in einem relativ hohen Maße, so dass in einigen wenigen Fällen auch Werte ≥ 90 % erreicht werden. Ein Vergleich der durchschnittlichen Effizienzwerte der beiden ‚Lexus‘-Behandlungen lassen jedoch dabei wiederum keinerlei Effizienzeinbuße bei der 2. Behandlung erkennen. Die Daten von Variante 1 weisen hier sogar eine Tendenz eher in die entgegengesetzte Richtung auf. Insgesamt ergibt sich also bei der Betrachtung der Daten von Variante 1 kein Hinweis auf eine Verschlechterung der Wirksamkeit innerhalb der 2-stufigen ALS-Sequenzbehandlung.

Dies wird auch deutlich, wenn man die weiteren Ergebnisse aus den Umweltvarianten 2-4 betrachtet, die zusammenfassend in Tabelle 3 aufgeführt sind. Die Daten gehen praktisch parallel zu den Ergebnissen, die bereits unter der Umweltvariante 1 im Detail wiedergegeben wurden. So weisen in allen 4 Umweltvarianten die Klone nach ‚Lexus‘-Behandlung eine relativ hohe Streuung in der individuellen Ausprägung der metabolischen Resistenz auf, wie die Minimal- und Maximalwerte zeigen. Der größte Teil der Pflanzen reagiert jedoch ähnlich wie der errechnete Mittelwert (Daten nicht dargestellt). Diese Mittelwerte haben jeweils die gleiche Größenordnung wie das Ergebnis aus der 1. Behandlung. So lassen sich keine besonderen Abweichungen

zueinander erkennen, das Datenmaterial weist letztendlich unter allen 4 Umweltvarianten relativ homogen in die gleiche Richtung.

Tab. 3 Zusammenfassende Darstellung der Wirkeffizienz der Behandlungen bei den ausgewählten ALOMY-Populationen des Selektionsversuchs sowie bei den korrespondierenden Pflanzenklonen nach allen Umweltvarianten.

Tab. 3 Summary of the efficacy of the applications on the chosen ALOMY populations during the selection assay as well as on the corresponding plant clones for all environmental variants.

Wirkung (E in %) der 1. Behandlung im Rahmen des Routinemonitorings von (Samen) Stichproben (Vortest)					Wirkung (E in %) der 2. Behandlung entweder mit 'Lexus' (40 g/ha) oder mit 'Atlantis WG' (500 g/ha) nach Umweltvarianten V1-4 (Haupttest) - geprüfte Klone jeweils hervorgehend von (Eltern)Pflanzen, welche im Vortest mit 40 g/ha 'Lexus' vorbehandelt ("konditioniert") wurden					
Proben-anzahl	1. Beh.	Reaktion Stichproben			Umwelt-variante	Geprüfte Eltern Pflanzen	2. Beh.	Reaktion Einzelpflanzen		
		Ø E	Min.	Max.				Ø E	Min.	Max.
7	Lexus	20	10	33	V1	83	Lexus	35	0	100
	Atlantis	97	94	100			Atlantis	93	35	100
5	Lexus	26	20	42	V2	57	Lexus	27	0	100
	Atlantis	95	88	100			Atlantis	92	20	100
5	Lexus	44	18	60	V3	44	Lexus	48	0	100
	Atlantis	97	93	99			Atlantis	91	20	100
4	Lexus	58	48	67	V4	32	Lexus	72	0	100
	Atlantis	99	97	100			Atlantis	97	85	100

Diskussion

Um die vorliegende Fragestellung aussagekräftig zu beantworten, müssen bestimmte methodische Ansätze und Kriterien berücksichtigt werden. So können wegen der genetischen Variabilität von Ackerfuchsschwanz nicht einfach beliebige Pflanzen aus einer Feldpopulation für die Untersuchungen direkt herangezogen werden. Stattdessen müssen einzelne, definierte Pflanzen, deren Resistenzprofil bekannt ist, einer Behandlungssequenz unterzogen werden. Um eine gleiche Behandlungshistorie (hier: 1. Behandlung mit ‚Lexus‘) sowie die (epi)genetische Homogenität des Pflanzenmaterials für die verschiedenen Behandlungsvarianten der 2. Behandlung (hier: Kontrolle, ‚Lexus‘, ‚Atlantis WG‘) sicherzustellen, bietet einzig die Klonierung der vorbehandelten und für die weiteren Untersuchungen selektieren Pflanzen eine methodische Option. Des Weiteren muss sichergestellt sein, dass die Umweltbedingungen bei der Erst- und dann bei der Zweitbehandlung weitestgehend identisch sind, da insbesondere die Temperatur als auch die Lichtintensität einen erheblichen Einfluss auf die quantitative Ausprägung der metabolischen Resistenz haben (eigene Erfahrungen). Die Option, entsprechende Untersuchungen im Gewächshaus durchzuführen, scheidet aufgrund der dort oftmals variablen und nur sehr eingeschränkt regel- und definierbaren Umweltbedingungen deshalb von vornherein aus. Ebenso ist es von Bedeutung, dass das Wurzelmedium absolut identisch ist und keinerlei Nährstoffvariationen zwischen den Behandlungssequenzen auftreten, da Unterschiede im Nährstoffgehalt des Bodens ebenfalls zu einer unterschiedlichen Ausprägung der metabolischen Resistenz führen können. Dies wurde in den vorliegenden Untersuchungen durch die Nutzung eines geeigneten Agar-Mediums gewährleistet. Außerdem muss auch dem Platzbedarf der einzelnen Pflanzen Rechnung getragen werden. Zum einen droht ansonsten Vergeilungswachstum, zum anderen können die Pflanzen im Vergleich zur Normalsituation im Feld mit maximal einigen hundert Pflanzen je m² quantitativ unterschiedlich metabolisch

reagieren. In diesem Zusammenhang erscheint es äußerst wichtig, dass die Bestockung der Pflanzen, wie Sie auch im Feld stattfindet, im Versuch ebenfalls nachvollzogen und von der Einzelpflanze realisiert werden kann.

Ein wichtiger methodischer Ansatz bei entsprechenden Untersuchungen ist aus Sicht der Autoren die Analyse einer möglichst hohen Anzahl an Elternpflanzen und den daraus gebildeten Pflanzenklonen. Gerade bei metabolischer Resistenz mit ihrer rein quantitativen Ausprägung ist dies von besonderer Bedeutung. Wie die Extremreaktionen einzelner Pflanzen aufzeigen (Tab. 2 und 3), können entsprechende Untersuchungen mit nur wenigen Pflanzen einer nicht zu unterschätzenden Fehlerwahrscheinlichkeit im Ergebnis wie auch in den abgeleiteten Schlussfolgerungen unterliegen. Des Weiteren erschien es bei der Versuchsplanung vorteilhaft, die potentielle Versuchsstreuung durch mehrere zeitlich zueinander versetzte Versuchsläufe zu minimieren. Dies konnte, wenn auch mit unterschiedlichen Pflanzenzahlen, bei allen Umweltvarianten realisiert werden. Letztere sollten eine weitere, das Ergebnis und die Aussage absichernde zentrale Versuchskomponente darstellen. Es wurde deshalb auf eine möglichst breite zeitliche Spreizung der Umweltvarianten bei einer gestaffelten Dauer geachtet. Die Bedingungen sollten auch herbst- sowie winterlichen Verhältnissen nahe kommen - mit einer Variante, die den Bedingungen zwischen einer Herbst- und Frühjahrsbehandlung im Ansatz möglichst entspricht. Mit Umweltvariante 4 konnte dies recht realitätsnah erreicht werden.

Die Hypothese, dass nach einer ALS-Ausbringung überlebende ALOMY-Individuen über die erste ALS-Behandlung wirkungsnegativ für eine darauffolgende weitere ALS-Behandlung konditioniert werden, erscheint erst einmal plausibel. Der metabolische Resistenzmechanismus könnte durch die Erstbehandlung in irgendeiner Form aktiviert werden. Gerade die Frage, ob das im Herbst durch die 1. ALS-Behandlung möglicherweise metabolisch angeregte Ungras auf die ALS-Frühjahrsbehandlung schlechter oder kaum noch reagiert, wird aktuell sehr häufig diskutiert. Den Autoren sind bisher aber keine Forschungsarbeiten oder Versuche bekannt, die diese Hypothese als Fragestellung aufgreifen.

Die Ergebnisse der vorgestellten Studie und die damit verbundenen Aussagen fallen über alle Behandlungs- und Umweltvarianten hinweg eindeutig aus. Es traten keine sich widersprechenden Wirkungsreaktionen auf. Also gilt es nachfolgendes festzuhalten: Vergleicht man das Maß der Resistenzausprägung der mit 40 g/ha ‚Lexus‘ behandelten Elternpopulationen mit dem Anpassungsmaß der anschließend mit 500 g/ha ‚Atlantis WG‘ behandelten Klone, so kann man schlussfolgern, dass keine negativen Auswirkungen (Resistenzkonditionierung) von ‚Lexus‘ bei einer Herbstbehandlung auf die Wirksamkeit der nachfolgenden Anwendung von ‚Atlantis WG‘ im Frühjahr auf Pflanzen zu erwarten sind, welche die ‚Lexus‘-Behandlung überlebt haben und eine metabolische ALS-Resistenz besitzen. Darüber hinaus kann auch eine etwaige leichte Verschiebung des Resistenzniveaus dieser Pflanzen in Folge einer ‚Lexus‘-Behandlung aufgrund des vorliegenden Datenmaterials aus der reinen ‚Lexus‘-Sequenzbehandlung ausgeschlossen werden. Die Untersuchungsergebnisse fallen insgesamt so eindeutig aus, dass es möglich ist, die getroffenen Schlussfolgerungen auch auf andere ALS-Sequenzbehandlungen zu übertragen.

Danksagung

Wir bedanken uns bei DuPont Deutschland für die an uns herangetragene sehr interessante Fragestellung, für das entgegengebrachte Vertrauen in unsere Forschungsleistung sowie für die finanzielle Unterstützung zur Realisierung des Untersuchungsvorhabens. Des Weiteren gilt unser Dank natürlich unseren lieben EpiLogic Arbeitskolleginnen und -kollegen, die bei der technischen Ausführung mitgeholfen haben.

Literatur

CUMMINS, I., D. WORTLEY, F. SABBADIN, F. HE, C. COXON, H. STRAKER, J. SELLARS, K. KNIGHT, L. EDWARDS, D. HUDGES, S. KAUNDUN, S. HUTCHINGS, P. STEEL und R. EDWARDS, 2013: Key role for a glutathione transferase in multiple-herbicide resistance in grass weeds. *PNAS* **110** (15), 5812-5817.

28. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und -bekämpfung, 27.02. – 01.03.2018 in Braunschweig

- DROBNY, H., M. SCHULTE und H. STREK, 2012: 25 years of sulfonylurea herbicides: a few grams changed the world of chemical weed control. *Julius-Kühn-Archiv* **434**, 21-33.
- HENRIET, F. und P.-Y. MARÉCHAL, 2009: Black-grass resistance to herbicides: three years of monitoring in Belgium. *Comm. Appl. Biol. Sci.*, Ghent University, **74/2**.
- KESHTKAR, E., S. MATHIASSEN, S. MOSS und P. KUDSK, 2015: Resistance profile of herbicide-resistant *Alopecurus myosuroides* (black-grass) populations in Denmark. *Crop Protection* **69**, 83-89.
- KRÄHMER, H., 2009: Mapping of European weeds - Basis for a new working group of the EWRS, 1st EU Weed Mapping Meeting, May 14th, 2009 in Prague.
- MARÉCHAL, P.-Y., F. HENRIET, F. VANCUTSEM und B. BODSON, 2012: Ecological review of black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) propagation abilities in relationship with herbicide resistance. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **16** (1), 103-113.
- MOSS, S., S. PERRYMAN und L. TATNELL, 2007: Managing Herbicide-resistant Black-grass (*Alopecurus myosuroides*): Theory and Practice. *Weed Technology* **21**(2), 300-309.