

Variabilität in der Wirkung von Glyphosat gegen *Alopecurus myosuroides* HUDS. (Acker-Fuchsschwanz) in Niedersachsen

Variability in glyphosate efficacy in *Alopecurus myosuroides* HUDS. (blackgrass) in Lower Saxony

Dirk Michael Wolber*, Goßswinth Warnecke-Busch, Lisa Köhler, Malena Kregel, Markus Radziejewicz



Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt, Wunstorfer Landstr. 9, 30453 Hannover

*Korrespondierender Autor, dirk.wolber@lwk-niedersachsen.de

DOI 10.5073/jka.2018.458.037

Zusammenfassung

Weltweit haben Herbizidresistenzen massiv zugenommen. Neben dem starken Auftreten von Resistenzen in Nord- und Südamerika und Australien, sind viele Wirkstoffgruppen mittlerweile auch in Europa von Resistenzen betroffen. Beim *Alopecurus myosuroides* HUDS. (Acker-Fuchsschwanz) wurden neben den Resistenzen gegenüber ALS-Hemmern, ACCase-Hemmern und Photosynthese-Hemmern nun erste Wirkungsminderungen oder Resistenzen gegenüber dem Wirkstoff Glyphosat aus der Wirkstoffgruppe der EPSP-Synthese-Hemmer (HRAC-Gruppe G) in Niedersachsen vermutet. Folglich könnte der Wirkstoff Glyphosat als wichtiges Instrument im Resistenzmanagement gegen *A. myosuroides* auf einzelnen Standorten wegfallen. Somit würde eine effektive Bekämpfung bei gleichzeitiger Resistenz gegen andere Wirkstoffgruppen sehr schwierig. Eine Herbizidresistenz wurde gemäß den von HEAP (2005) definierten Kriterien nicht bestätigt, sehr wohl aber Minderwirkungen von Glyphosat gegen einzelne Biotypen von *A. myosuroides* in Niedersachsen.

Stichwörter: Acker-Fuchsschwanz, Glyphosat, Resistenzmanagement, Ungrasbekämpfung

Abstract

Herbicide resistance has increased dramatically all over the world. Besides frequent occurrence of resistance in North America, South America and Australia, different active ingredient groups are currently affected by resistance also in Europe. In Germany, *Alopecurus myosuroides* has shown resistance to ALS-inhibitors, ACCase-inhibitors and photosynthesis-inhibitors. Recently, reduced efficacy or resistance to the EPSP-inhibitor glyphosate (HRAC group G) was suspected in *A. myosuroides* in Lower Saxony. That means that the active ingredient glyphosate might no longer be available as an effective instrument in herbicide resistance management for *A. myosuroides*. An effective control of *A. myosuroides* with additional resistance to other mode of action might become very difficult. Herbicide resistance was not confirmed according to the criteria defined by HEAP (2005), but a reduced efficacy of glyphosate on individual biotypes of *A. myosuroides* in Lower Saxony was observed.

Keywords: Blackgrass, glyphosate, grass weed control, herbicide resistance management

Einleitung

Der Acker-Fuchsschwanz (*Alopecurus myosuroides* HUDS.) gilt als eine sehr schwer zu bekämpfende Unkrautart und hat in Deutschland bereits Resistenzen gegen einige Wirkstoffgruppen (nach Herbicide Resistance Action Committee (HRAC)) Resistenzen ausgebildet. Die Resistenzen gegen ALS-Hemmer (HRAC-Gruppe B), ACCase-Hemmer (HRAC-Gruppe A) und Photosynthese-Hemmer (HRAC-Gruppe C) sind weit verbreitet. Nur noch wenige Wirkstoffgruppen können noch ausreichende Wirkung gegen *A. myosuroides* aufweisen. Der Herbizidwirkstoff Glyphosat gehört zu der HRAC-Gruppe G, den EPSP-Synthese-Hemmern. Er wird als wichtiger Baustein im Resistenzmanagement verwendet. Allerdings haben global gesehen bereits Gräser wie zum Beispiel *Lolium* spp. Resistenzen gegen Glyphosat ausgebildet. Dabei werden Biotypen mit einer natürlichen Widerstandsfähigkeit in ihrer Entwicklung begünstigt. Der Anteil resistenter Biotypen in der Population nimmt laufend zu und es entstehen zunehmend Bekämpfungsprobleme. Auch wenn in Deutschland keine gentechnisch veränderten Glyphosat-resistenten Nutzpflanzen verwendet werden, wird oft mit Glyphosat eine Vorsaatanwendung durchgeführt. Die Resistenzen gegenüber Glyphosat bei *Lolium* spp. sind seit 1996 bekannt

(PRATLEY et al., 1996). Nun werden auch erste Wirkungsminderungen oder Resistenzen bei *A. myosuroides* vermutet (DAVIES und NEVE, 2017).

Material und Methoden

Biotest

Bei dem untersuchten Samenmaterial von *A. myosuroides* handelte es sich um ein Monitoring, die Proben entstammen aus allen Teilen Niedersachsens und werden aus den unbehandelten Varianten der Herbizidversuche aus den Jahren 2015, 2016 und 2017 gezogen. Minderwirkung oder ein Resistenzverdacht gegenüber Glyphosat wurden für die Proben des Monitorings unter Feldbedingungen nicht beschrieben. Zum Nachweis einer möglichen Herbizidresistenz wurde ein Biotest im Gewächshaus an Jungpflanzen von *A. myosuroides* unter definierten Temperatur- und Lichtbedingungen durchgeführt. Die ausgedroschenen und gesiebten Samenproben lagerten trocken in Papiertüten bis sie vor der Aussaat zur Brechung der Dormanz fünf Tage bei -18°C in der Tiefkühltruhe gelagert wurden. Im Anschluss daran erfolgte unmittelbar die Aussaat der Samenproben in Biotesttöpfe (Jiffy-Rundtöpfe, 8 x 8 cm, geschlitzt) in vier Wiederholungen je Versuchsvariante. Die Aussaatstärke betrug 10-15 Samen pro Topf in Abhängigkeit von der Keimfähigkeit der jeweiligen Samenprobe. Die Töpfe standen in Pflanzschalen (40 x 60 cm) deren Boden eine Plastikfolie bedeckte, auf der ein Bewässerungsfließ passgenau ausgelegt wurde. Bei der Aussaaterde handelte es sich um einen Standardboden (lehmgiger Sand pH 6,5, Humusgehalt 1,8 %, ca. 300 g incl. Topf, sterilisiert, ca. 60 % WK max.). Das zu testende Samenmaterial wurde portioniert, in die mit Erde gefüllten Töpfe gestreut und jeweils mit einer Schicht (1,0 cm) fein gesiebter Erde des Standardbodens bedeckt. Für das weitere Wachstum im Gewächshaus wurden die folgenden Parameter eingestellt: Tagphase: 20 °C, 16 h Beleuchtung mit 8000 LUX (180 Watt/m²); Nachtphase: 16 °C, 8 h Dunkelheit. Die Bewässerung geschah durch bedarfsgerechtes Gießen von unten (Anstau). Der Feuchtigkeitszustand der Töpfe wurde täglich kontrolliert.

Die Applikation von Roundup Powerflex (480 g Glyphosat/l) mit 3,75 l/ha in der einfachen Aufwandmenge und 7,5 l/ha in der doppelten Aufwandmenge erfolgte in einer Schachtner Applikationskabine (Wasseraufwandmenge 200 l/ha, ES 90-02, mit 1,89 bar, Spritzhöhe 40 cm) im Entwicklungsstadium BBCH 11-12. Zur Ermittlung der Dosis-Wirkungs-Beziehung wurden sieben Aufwandmengen von Glyphosat (0, 225, 449, 900, 1800, 2700 und 3600 g/ha) verwendet.

Nach der Herbizidapplikation (21 Tage) wurde gemäß EPPO-Richtlinie PP1/93(3) der „Wirkungsgrad“ bonitiert. Für die Bewertung des Wirkungsgrades wurden folgende Grenzwerte zugrunde gelegt: 0-50 % = resistente Proben; 51-80 % = moderat resistente Proben; 81-100 % sensitive Proben. Da einzelne Pflanzen die Behandlungen mit Glyphosat überlebten, ist die Erfassung des Wirkungsgrades nicht ausreichend. Daher wurde zusätzlich das Merkmal „Überlebende Pflanzen“ visuell ermittelt. Damit gemeint ist der prozentuale Anteil der Pflanzen in einem Topf, die den Biotest 21 Tage nach Applikation von Glyphosat vital überlebt haben. Die übrigen Pflanzen wurden vollständig bekämpft. Als sensitiver Standard wurde der Biotyp „Sensitiv“ (Katalog-Code 51036) der Firma Herbiseed (Berkshire, UK) verwendet.

Polymerase Chain Reaction (PCR) zum Nachweis der Target-Site-Resistenz (TSR) gegen Glyphosat an der Position 106

Diese Untersuchung wurde von der Plantalyt GmbH und dem Weed Resistance Competence Center der Bayer CropScience AG anhand ausgewählter Biotypen nach Vorselektion mit Glyphosat (1800 g/ha) durchgeführt. Im Weed Resistance Competence Center der Bayer CropScience AG wurden die zu untersuchenden Pflanzen zunächst mehrfach geklont, um genetisch identisches Material zu erstellen. Zur weiteren Untersuchung wurden die Pflanzen 10 Tage nach der Klonierung mit Glyphosat (225, 449, 900, 1800 und 3600 g/ha) nochmals behandelt und die Blätter der überlebenden Pflanzen geerntet und getrocknet. Nach Trocknung bei Raumtemperatur wurde die DNA der Pflanzen mit einem kommerziell erhältlichen Kit zur DNA-Extraktion aufbereitet. Die

DNA-Extrakte wurden als Template in einer PCR eingesetzt um den entsprechenden Abschnitt für eine polymorphe Position des EPSPS-Gens, nämlich Pro/Ser 106 zu amplifizieren. Nachfolgend sind beispielhaft Positionen für die Allele Pro106 und Ser106 dargestellt.

Tab.1 DNA-Sequenz des EPSP der sensitiven und resistenten *A. myosuroides* an der korrespondierenden Stelle 106 im Protein und abgeleitete Aminosäuren. Erläuterungen: Arg = Arginin, Pro = Prolin, Leu = Leucin, Ser = Serin; erste Zeile: DNA-Sequenz, zweite Zeile: Aminosäuresequenz im Protein, dritte Zeile: Nummer der Aminosäureposition im Protein.

Tab.1 DNA sequence of EPSP of sensitive and resistant plants at the corresponding site of 106 in the protein and derived amino acids. Explanation: Arg= Arginine, Pro= Proline, Leu= Leucine, Ser= Serine, first row: DNA sequence, second line: Amino acid sequence of the protein, third line: number of amino acid position in the protein.

Sensitive Pflanze (Pro106)	Resistente Pflanze (Ser106)
...CGG – CCA – TTG... DNA-Sequenz	...CGG – TCA – TTG... DNA-Sequenz
...Arg – Pro – Leu... Aminosäure	...Arg – Ser – Leu... Aminosäure
...105 – 106 – 107... Position im Protein EPSP	...105 – 106 – 107... Position im Protein EPSP

Vor der PCR musste das Pflanzenmaterial von *A. myosuroides* zu einem Pulver zerkleinert werden. Im Anschluss wurde die zu untersuchende DNA mithilfe eines zur DNA-Isolierung geeigneten Verfahrens extrahiert. Die PCR-Produkte wurden gereinigt mittels Elektrophorese auf Agarose-Gel und Herausschneiden der entsprechenden Banden aus dem Gel. Danach erfolgte die Sequenzierung der vorher amplifizierten DNA mithilfe der Didesoxymethode nach Sanger und einer entsprechenden Analysesoftware (Sequencher von Gene Codes Corporation). Zuletzt erfolgte die Analyse und Auswertung der erhaltenen Daten.

Nachweis von Glyphosat-Resistenzen aufgrund von erhöhter EPSPS-Genamplifikation

Zum Nachweis einer potentiellen Glyphosatresistenz aufgrund einer erhöhten EPSPS-Genamplifikation diente die Untersuchung der EPSPS-Enzymaktivität. Sie gab Hinweise darauf, ob eine erhöhte EPSPS-Genamplifikation vorliegt. Diese Untersuchung wurde im Weed Resistance Competence Center der Bayer CropScience AG durchgeführt.

Hierzu musste das zu untersuchende Pflanzenmaterial zu einem Pulver vermahlen werden und enthaltene Proteine mit einem dafür geeigneten Verfahren extrahiert werden. Danach erfolgte eine Ermittlung der Proteinkonzentration mittels eines Bradford-Tests (Bio-Rad protein assay system von Life Science Research). Die EPSPS-Enzymaktivität wurde durch eine spektrophotometrische Untersuchung mit einem EnzCheck phosphate assay kit von Invitrogen und einem Spektrophotometer (UV-3101 von Shimadzu) untersucht mit anschließender Auswertung der gewonnenen Daten.

Zusätzlich wurde die Anzahl der EPSPS-Genkopien ermittelt. Auch hier musste vor der eigentlichen Untersuchung das Pflanzenmaterial zu einem Pulver vermahlen und die zu untersuchende genomische DNA mithilfe eines zur DNA-Isolierung geeigneten Verfahrens extrahiert werden (DNeasy Plant Mini Kit, QIAGEN). Durch die Anwendung einer quantitativen Echtzeit-PCR wurde die zu vervielfältigende DNA direkt auf ihre Quantität und mittels einer anschließenden Elektrophorese in Agarose-Gel auf ihre Qualität hin untersucht. Die quantitative Echtzeit-PCR wurde mit einem MiniOpticon System von Bio-Rad durchgeführt, um die genomische DNA zu amplifizieren und die Anzahl der EPSPS-Genkopien in Relation zur Genkopie der cinnamoyl-CoA Reduktase (CCR) zu ermitteln (CFX Manager software). Zuletzt wurden die gewonnenen Daten analysiert und ausgewertet.

Ergebnisse

Der Biotest aus dem Jahr 2015 zeigte Auffälligkeiten bezüglich der Wirkung von Glyphosat bei *A. myosuroides*. Dabei überlebten einzelne Pflanzen einer Probe die Anwendung von Roundup Powerflex mit 3,75 l/ha (1800 g Glyphosat/ha) oder sogar auch die doppelte Aufwandmenge mit Roundup Powerflex 7,5 l/ha (3600 g Glyphosat/ha). Der Anteil der überlebenden Pflanzen im

Vergleich zu den aufgelaufenen Pflanzen ist der Abbildung 1 zu entnehmen, je nach Biotyp schwankt der Anteil der überlebenden Pflanzen der ursprünglich aufgelaufenen Pflanzen eines Biotyps zwischen 0 - 8 %. Anders ausgedrückt: Es wurden 92 – 100 % der aufgelaufenen Pflanzen vollständig bekämpft.

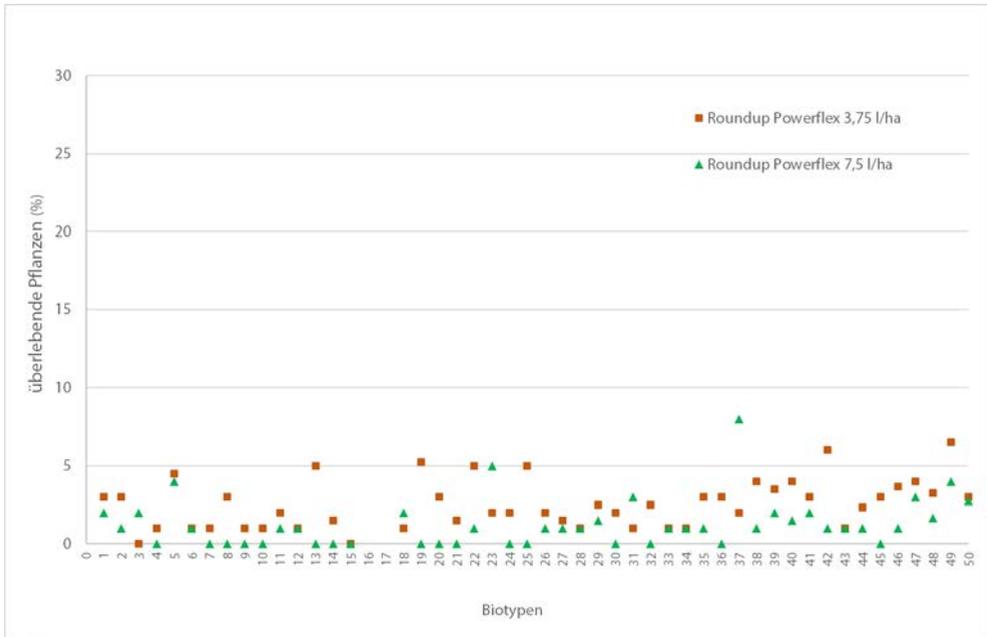


Abb. 1 Verminderte Wirksamkeit von Glyphosat gegen *A. myosuroides* aus 2015.

Fig. 1 Reduced efficacy against glyphosate in *A. myosuroides* from 2015.

Für die ausgewählten Biotypen 1, 19, 39, 42, 47, 48, 49, 50 aus dem Probenahmejahr 2015 wurde im nächsten Schritt eine Dosis-Wirkungs-Kurve für sieben Wirkstoffkonzentrationen von Glyphosat (in g/ha) vorgenommen. Aus Kapazitätsgründen konnte nicht für alle auffälligen Biotypen eine Dosis-Wirkungs-Analyse durchgeführt werden. Das Ergebnis dieser Untersuchung zeigt die nachfolgende grafische Darstellung (Abb. 2) als Dosis-Wirkungs-Beziehung. Dabei ist die Wirkung in % ins Verhältnis zur applizierten Dosis von Glyphosat in g/ha gesetzt.

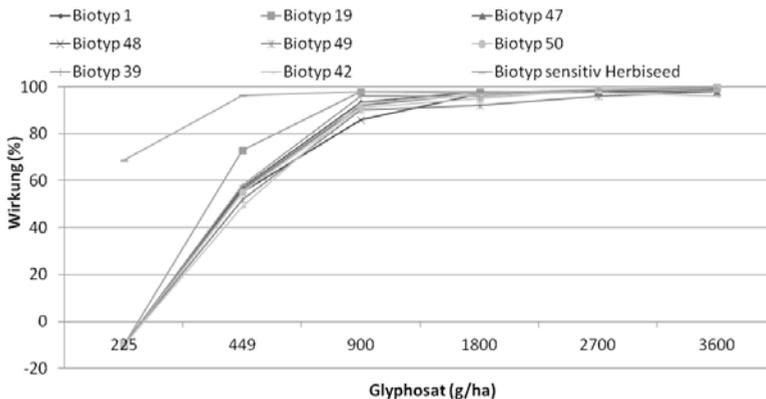


Abb. 2 Analyse der Dosis-Wirkungs-Beziehung für *A. myosuroides* aus 2015.

Fig. 2 Analysis of the dose-response relationship for *A. myosuroides* from 2015.

Alle untersuchten Biotypen zeigten bei einer Dosis von 225 g Glyphosat/ha eine Zunahme der Frischmasse im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle, dieser Effekt wird als hormetischer Effekt definiert. 21 Tage nach Applikation von 2700 g Glyphosat/ha haben der Biotyp 42 (mit 3 % überlebenden Pflanzen) und Biotyp 49 (mit 5 % überlebenden Pflanzen) den Biotest überstanden. Eine Applikation von Glyphosat mit 3600 g/ha wurde lediglich von 4 % des Biotyps 42 überlebt. Diese überlebenden Pflanzen wurden bis zur Samenreife im Gewächshaus kultiviert, allerdings konnten keine ausreichend fertilen Samen aus diesen Biotypen gewonnen werden.

Die Abbildung 3 zeigt für die einzelnen Biotypen von *A. myosuroides* aus dem Jahr 2016 eine verminderte Wirksamkeit gegenüber dem Wirkstoff Glyphosat nach Applikation von Roundup Powerflex mit den Aufwandmengen 3,75 l/ha und 7,5 l/ha. Der Anteil der überlebenden Pflanzen zu den aufgelaufenen Pflanzen schwankt je nach Biotyp zwischen 0 - 25 % der ursprünglich aufgelaufenen Pflanzen eines Biotyps. Die Anteile der überlebenden Pflanzen nach Anwendung von Roundup 3,75 l/ha (1800 g Glyphosat/ha) und Roundup 7,5 l/ha (3600 g Glyphosat/ha) waren stärker ausgeprägt, als im Vorjahr. Der von der Firma Herbiseed als sensitiv beschriebene Biotyp wies ebenfalls 1 % überlebende Pflanzen auf.

Überlebende Pflanzen der Biotypen 4, 12, 24, 26, 28, 33, 34, 35, 50, 54, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 75, 77 und 78 wurden nach Anwendung von 1800 g Glyphosat/ha mit Hilfe einer PCR durch Plantalyt GmbH auf Mutation an der Position Pro106 untersucht. Für diese Biotypen wurde keine TSR an der Position Pro106 festgestellt. Weiterhin wurden überlebende Einzelpflanzen der Biotypen 26, 28, 29, 32, 33, 45, 54, 66, 68, 69 und 77 nach Anwendung von 1800 g Glyphosat/ha an das Weed Resistance Competence Center der Firma Bayer CropScience in Frankfurt übergeben, um weitere Untersuchungen vornehmen zu können.

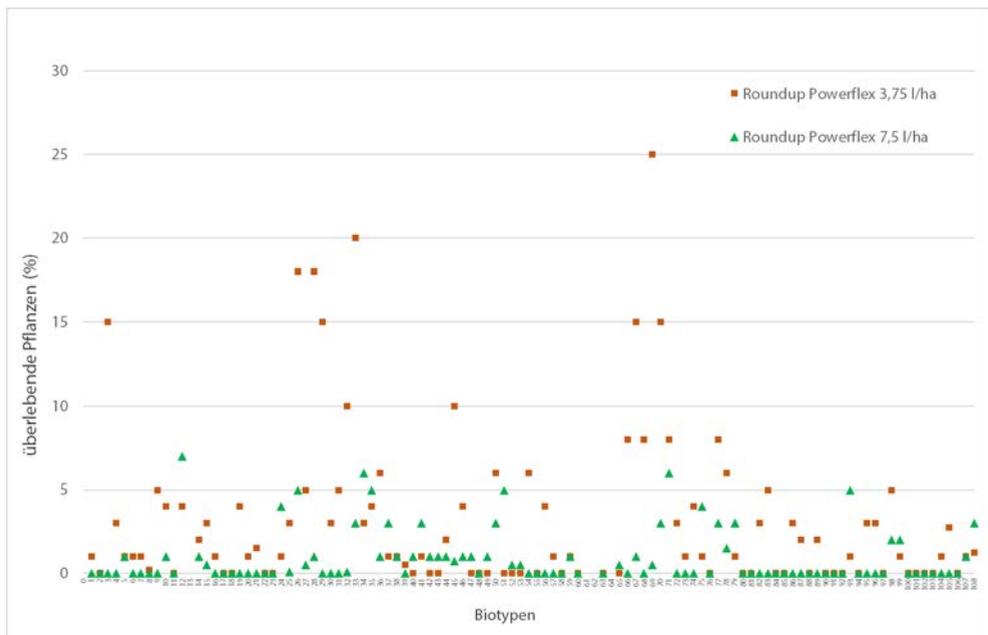


Abb. 3 Verminderte Wirksamkeit gegen von Glyphosat in *A. myosuroides* aus 2016.

Fig. 3 Reduced efficacy against glyphosate in *A. myosuroides* from 2016.

Die in der Abbildung 4 gezeigte Dosis-Wirkung der mit 1800 g/ha Glyphosat vorselektierten Klone verdeutlicht auch nach einer wiederholten Behandlung mit Glyphosat eine Wirkungsminderung bei den Test-Biotypen im Vergleich zu dem als sensitiv zu beschreibenden Biotyp 29. Besonders auffällig waren hier die Biotypen 32, 68 und 69, die nach der Vorbehandlung mit 1800 g/ha Glyphosat und der hier gezeigten Nachbehandlung bis 900 g Glyphosat/ha (in der Summe 2700 g/ha Glyphosat) lediglich Wirkungsgrade von 70 -75 % erreichten. Auch bei der Nachbehandlung mit 1800 g /ha (in der Summe 3600 g Glyphosat/ha) erreichte der Biotyp 69 nur einen Wirkungsgrad von 80 %.

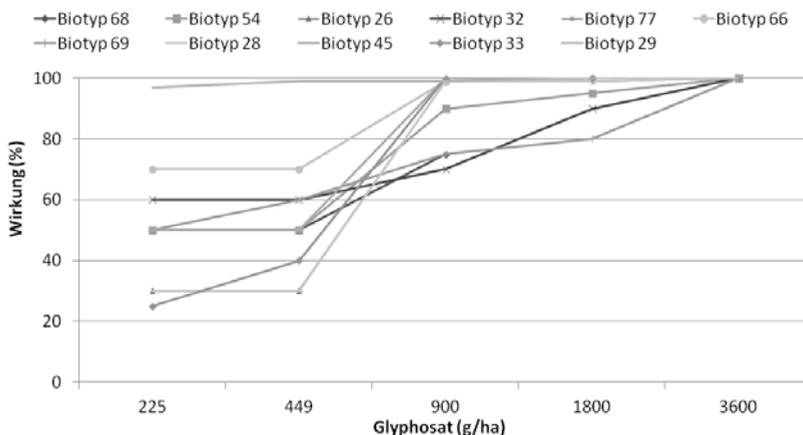


Abb. 4 Analyse der Dosis-Wirkungs-Beziehung für *A. myosuroides* aus 2016.

Fig. 4 Analysis of the dose-response relationship for *A. myosuroides* from 2016.

Im weiteren Verlauf wurden die Biotypen 26, 28, 29, 32, 33, 45, 54, 66, 68, 69 und 77 aus 2016 auf mögliche Resistenzmechanismen untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 2 dargestellt.

Tab. 2 Übersicht der möglichen Resistenzmechanismen bei Glyphosat.

Tab. 2 Overview of possible resistance mechanisms for glyphosate.

Target Site-Resistenz		Non Target Site-Resistenz			
EPSPS Mutation an Position Pro106	EPSPS Genamplifikation	-	reduzierte Translokation in die Wurzel	Transport in die Vakuole	reduzierte Absorption
nicht nachgewiesen	nicht nachgewiesen	Ergebnisse noch ausstehend	Ergebnisse noch ausstehend	Ergebnisse noch ausstehend	Ergebnisse noch ausstehend

Eine vermutete Mutation an der Position Pro106 konnte ebenso wie die vermutete EPSPS-Genamplifikation nicht nachgewiesen werden. Weitere Resistenzmechanismen werden noch untersucht, hier liegen zum Redaktionsschluss allerdings noch keine Ergebnisse vor.

Diskussion

Aufgrund der Annahme, dass möglicherweise der gleiche Wirkungsmechanismus des Glyphosats bei *A. myosuroides* wie bei *Lolium* spp. zum Tragen kommt, ist davon auszugehen, dass auch dieselben Resistenzmechanismen eine Rolle bei etwaigen Toleranzverschiebungen hin zu einer Minderwirkung oder gar Resistenz spielen können.

Es existieren bei *Lolium* spp. bisher fünf nachgewiesene Resistenzmechanismen. Dazu zählen Target-Site-Resistenzmechanismen wie die Mutation im EPSPS-Gen an der Position 106, wodurch eine einzelne Aminosäuresubstitution (von Prolin zu z.B. Serin) herbeigeführt wird (WAKELIN et al., 2006; PEREZ-JONES et al., 2007; YU et al., 2007; JASINIUK et al., 2008; BOSTAMAM et al., 2012; GONZALEZ-

TORRALVA et al., 2012; ADU-YEBOAH et al., 2014; FERNANDEZ et al., 2015). Weiterhin gehört die erhöhte EPSPS-Genamplifikation ebenfalls zu den TSR-Resistenzmechanismen. Sie führt zu einer erhöhten Synthese des EPSPS-Enzyms (BAERSON et al., 2002; SALAS et al., 2015). In Bezug auf die Mutation im EPSPS-Gen konnten Resistenzfaktoren von 2-6 (LD_{50}) nachgewiesen werden (WAKELIN et al., 2006; PEREZ-JONES et al., 2007; BOSTAMAM et al., 2012; ADU-YEBOAH et al., 2014). Bei der erhöhten EPSPS-Genamplifikation wurden Resistenzfaktoren von 8-15 nachgewiesen (SALAS et al., 2015).

Zu den entdeckten Non-Target-Site-Resistenzmechanismen (nTSR) bei der Resistenz bei *Lolium* spp. gegen Glyphosat zählt die reduzierte Translokation des Glyphosats aus den behandelten Blättern in die übrigen Pflanzenteile bei einhergehendem Verbleib des Wirkstoffes in den Blattspitzen (LORRAINE-COLWILL et al., 2003; WAKELIN et al., 2004; WAKELIN et al., 2006; PEREZ-JONES et al., 2007; YU et al., 2009; BOSTAMAM et al., 2012; ADU-YEBOAH et al., 2014; GHANIZADEH et al., 2014; GHANIZADEH et al., 2016). Für die reduzierte Translokation wurden Resistenzfaktoren von 2-30 nachgewiesen (WAKELIN et al., 2004; WAKELIN et al., 2006; PEREZ-JONES et al., 2007; BOSTAMAM et al., 2012; ADU-YEBOAH et al., 2014).

Weiterhin gehört der Transport des absorbierten Glyphosats in die Vakuole (GE et al., 2012) und die reduzierte Absorption von Glyphosat auf der Blattspreite (MICHITTE et al., 2007; FERNANDEZ et al., 2015) ebenfalls zu den nTSR-Resistenzmechanismen bei *Lolium* spp. .

Es konnten darüber hinaus Biotypen von *Lolium* spp. mit mehreren bzw. multiplen Resistenzmechanismen entdeckt werden (MICHITTE et al., 2007; YU et al., 2007; BOSTAMAM et al., 2012; GONZALEZ-TORRALVA et al., 2012; GHANIZADEH et al., 2014; FERNANDEZ et al., 2015).

Eine Entwicklung der Glyphosat-Resistenz wird bei *Lolium* spp. besonders durch die Selektion durch zu geringe Herbizidaufwandmengen begünstigt (BUSI und POWLES, 2009). Das Ausmaß dieser Resistenzentwicklungen hängt auch von der genetischen Variation, der Häufigkeit von Genänderungen bzw. Akkumulation von Einzelgenen (die in Korrelation eine Resistenz auslösen könnten) und der Anzahl an überlebenden Pflanzen ab.

Das Reproduktionssystem (Fremd-, oder Selbstbestäuber) hat einen wesentlichen Einfluss auf die Minderwirkung bzw. Resistenzentwicklung unter niedrigen Herbiziddosen. Bei Fremdbestäubern wie *Lolium* spp. und *A. myosuroides* kann eine Resistenz unter entsprechendem Selektionsdruck daher binnen weniger Generationen entstehen. Bei Herbizideinsatz mit geringer Dosis kann der geringe Selektionsdruck unter der Variation an Genotypen zu Überlebenden führen (BUSI und POWLES, 2009). Es ist naheliegend, dass niedrige Herbizidaufwandmengen über Generationen hinweg zu einer fortschreitenden Anreicherung von Resistenzallelen führen können. In relativ kurzer Zeit hat der massive Einsatz von Glyphosat in Round-up-ready-Kulturen zu Toleranzverschiebungen und Resistenzen bei Ungräsern geführt (DILL et al., 2008).

Resistente Biotypen von *Lolium* spp. konnten bereits in zahlreichen Ländern wie Australien (South Australia, New South Wales), den USA (Arkansas, Kalifornien), Südafrika, Neuseeland, Chile, Frankreich und Spanien nachgewiesen werden (MICHITTE et al., 2007; YU et al., 2007; JASINIUK et al., 2008; YU et al., 2009; BOSTAMAM et al., 2012; GONZALEZ-TORRALVA et al., 2012; FERNANDEZ et al., 2015; SALAS et al., 2015; GHANIZADEH et al., 2016).

In der Studie von BUSI und POWLES (2009) wurde bewiesen, dass bereits nach zwei Selektionszyklen mit reduzierten Glyphosataufwandmengen die Nachkommen von *Lolium rigidum* erste Toleranzverschiebungen bzw. Minderwirkungen aufweisen können. Nach drei Selektionszyklen wurde sogar eine deutliche Glyphosatresistenz nachgewiesen. Die Versuche, welche Teil der Studie waren, wurden in Klimakammern, als auch unter Feldbedingungen durchgeführt und in beiden Fällen ist es zu den bereits genannten Effekten gekommen.

Unter der Annahme, dass die Erkenntnisse über *Lolium* spp. auch für *A. myosuroides* gelten, wäre es möglich, dass bei einer anfangs für Glyphosat anfälligen Population drei bis vier Selektionszyklen mit reduzierten Glyphosataufwandmengen ausreichen könnten, um eine Toleranzverschiebung hin zu einer Minderwirkung bzw. Resistenz herbeizuführen. Dies liegt darin begründet, dass *A. myosuroides* ebenfalls ein Fremdbestäuber ist und daher eine große genetische

Variabilität innerhalb einzelner Populationen aufweist, was bei Anwendung von Glyphosat nach Aufwandmengenreduktion zu Überlebenden führen kann. Bei Pollenflug kann es des Weiteren zu einem verstärkten Austausch an möglichen Resistenzallelen zwischen verschiedenen Populationen kommen (ZWERGER et al., 1994), was die Ausbreitung von Minderwirkungen oder Resistenzen gegenüber Glyphosat fördern würde.

Darüber hinaus konnten in einem zweijährigen Selektionsversuch mit Glyphosat im Gewächshaus (sechs ausgewählte von ursprünglich 40 Populationen) Toleranzverschiebungen (bzw. Wirkungsminderungen) bei fünf Biotypen von *A. myosuroides* beobachtet werden (DAVIES und NEVE, 2017). Die Autoren der Studie heben hervor, dass die aus dem Selektionsversuch hervorgegangenen Ergebnisse darauf hindeuten, dass die Variabilität in Bezug auf eine Glyphosatsensitivität auf einer vererbaren Grundlage basiert und somit ein Potential für Toleranzverschiebungen bzw. Resistenzentwicklungen bei wiederholter Selektion vorhanden ist. Gleichzeitig wird jedoch angemerkt, dass bei Selektionsversuchen in einem Gewächshaus die Möglichkeit einer Vermischung mit weniger sensitiven Individuen stark erhöht ist und sich somit eventuell in diesem Falle bei Fremdbestäubern schneller Toleranzverschiebungen zeigen könnten, als unter Feldbedingungen.

In Niedersachsen werden im Dienstgebiet der Landwirtschaftskammer Niedersachsen zukünftig entsprechende Demonstrationsvorhaben entwickelt, um Landwirte künftig besser auf die Gefahren von zu niedrig dosierten Herbizidmaßnahmen mit Glyphosat zu informieren. Darüber hinaus ist es wichtig, den Landwirten ackerbauliche Maßnahmen im Sinne eines Resistenzmanagements nahezu legen. Dieses sollte eine erweiterte Fruchtfolge mit mehr Blattfrüchten oder Sommerungen (Auflaufrate von typischen Herbstkeimern wird reduziert) beinhalten. Besonders der Anbau von Sommerungen hat das Potential eine Verunkrautung mit *A. myosuroides* deutlich zu senken. In die Bodenbearbeitung sollte eine intensive Stoppelbearbeitung (mindestens zwei- bis dreimaliger Einsatz eines Grubbers) mit einbezogen werden, welche einen gleichmäßigen Aufgang von Unkrautsamen herbeiführt. Hierbei ist anzumerken, dass ein nachfolgender Einsatz einer Crosskill-Walze den Effekt einer schnelleren und gleichmäßigeren Unkrautentwicklung nochmals verbessert. Der wichtigste Baustein bei der Bodenbearbeitung ist der Pflug. Er vergräbt die Samen in tiefere Schichten und verringert eine spätere Verunkrautung. Im Weiteren sollte für eine effektive Resistenzvermeidung ein ortsüblich leicht verzögerter Saattermin von Winterungen, wie auch ein konsequenter Wirkstoffwechsel (möglichst unterschiedliche Wirkungsmechanismen) beim Herbizideinsatz in der Fruchtfolge zur Anwendung kommen.

Literatur

- ADU-YEBOAH, P., J.M. MALONE, G. GILL und C. PRESTON, 2014: Reduced Glyphosate Translocation in Two Glyphosate-Resistant Populations of Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum*) from Fence Lines in South Australia. *Weed Science* **62**, 4-10.
- BAERSON, S., D.J. RODRIGUEZ, N.A. BIEST, M. TRAN, J. YOU, R.W. KRUEGER, G.M. DILL, J.E. PRATLEY und K.J. GRUYS, 2002: Investigating the mechanism of glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science* **50**, 721-730.
- BOSTAMAM, Y., J.M. MALONE, F.C. DOLMAN, P. BOUTSALIS und C. PRESTON, 2012: Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum*) Populations containing a Target Site Mutation in EPSPS and Reduced Glyphosate Translocation are more Resistant to Glyphosate. *Weed Science* **60**, 474-479.
- BUSI, R. und S.B. POWLES, 2009: Evolution of glyphosate resistance in a *Lolium rigidum* population by glyphosate selection at sublethal doses. *Heredity* **103**, 318-325.
- DAVIES, L.R. und P. NEVE, 2017: Interpopulation variability and adaptive potential for reduced glyphosate sensitivity in *Alopecurus myosuroides*. *Weed Research* **57**, 323-332.
- DILL, M.D., C.A. Cajacob und S.R. Padgett, 2008: Glyphosat-resistent crops: adoption, use and future considerations. *Pest Manag Sci.* **64**, 326-331.
- FERNANDEZ, P., C. GAUVRIT, F. BARRO, J. MENENDEZ und R. DE PRADO, 2015: First case of glyphosate resistance in France. *Agronomy for Sustainable Development* **35**, 1469-1476.
- GE, X., D.A. D'AVIGNON, J.J.H. ACKERMAN, A. COLLAVO, M. SATTIN, E.L. OSTRANDER, E.L. HALL, R.D. SAMMONS und C. PRESTON, 2012: Vacuolar Glyphosate-Sequestration Correlates with Glyphosate Resistance in Ryegrass (*Lolium* spp.) from Australia, South America, and Europe: A 31P NMR Investigation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**, 1243-1250.

- GONZALES-TORRALVA, F., J. GIL-HUMANES, F. BARRO, I. BRANTS und R. DE PRADO, 2012: Target site mutation and reduced translocation are present in a glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* Lam. Biotype from Spain. *Plant Physiology and Biochemistry* **58**, 16-22.
- GHANIZADEH, H., K.C. HARRINGTON, T.K. JAMES, D.J. WOOLLEY und N.W. ELLISON, 2014: Mechanisms of glyphosate resistance in two perennial ryegrass (*Lolium perenne*) populations. *Society of Chemical Industry* **71**, 1617-1622.
- GHANIZADEH, H., K.C. HARRINGTON, T.K. JAMES, D.J. WOOLLEY und N.W. ELLISON, 2016: Restricted Herbicide Translocation was found in two Glyphosate-resistant Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) Populations from New Zealand. *Journal of Agricultural Science and Technology* **18**, 1041-1051.
- HEAP, I. (2005): Criteria for Confirmation of Herbicide-Resistant Weeds. URL <http://hracglobal.com/files/Criteria-for-Confirmation-of-Herbicide-Resistant-Weeds.pdf> - Abrufdatum: 02.10.2017 – Herbicide Resistance Action Committee
- JASIENIUK, M., R. AHMAD, A.M. SHERWOOD, J.L. FIRESTONE und A. PEREZ-JONES, 2008: Glyphosate-Resistant Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum*) in California – Distribution, Response to Glyphosate, and Molecular Evidence for an Altered Target Enzyme. *Weed Science* **56**, 496-502.
- LORRAINE-COLWILL, D.F., S.B. POWLES, T.R. HAWKES, P.H. HOLLINSHEAD, S.A.J. WARNER und C. PRESTON, 2003: Investigations into the mechanism of glyphosate resistance in *Lolium rigidum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **74**, 62-72
- MICHITTE, P., R. DE PRADO, N. ESPINOZA, J.P. RUIZ-SANTAELLA und C. GAUVRIT, 2007: Mechanisms of Resistance to Glyphosate in a Ryegrass (*Lolium multiflorum*) Biotype from Chile. *Weed Science* **55**, 435-440.
- PEREZ-JONES, A., K.W. PARK, N. POLGE, J. COLQUHOUN und C.A. MALLORY-SMITH, 2007: Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. *Planta* **226**, 395-404.
- PRATLEY, J., P. BAINES, P. EBERBACH, M. INCERTI und J. BROSTER, 1996: Glyphosat resistance in annual ryegrass. *Proc. Eleventh Ann. Conf. Grassld. Soc. NSW* 1996, 122-123.
- SALAS, R.A., F.E. DAYAN, Z. PAN, S.B. WATSON, J.W. DICKSON, R.C. SCOTT und N.R. BURGOS, 2012: EPSPS gene amplification in glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium perenne ssp. multiflorum*) from Arkansas. *Pest Management Science* **68**, 1223-1230.
- SALAS, R.A., R.C. SCOTT, F.E. DAYAN und N.R. BURGOS, 2015: EPSPS Gene Amplification in Glyphosate-Resistant Italian Ryegrass (*Lolium perenne ssp. multiflorum*) Populations from Arkansas (United States). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**, 5885-5893.
- WAKELIN, A. und C. PRESTON, 2006: A target-site mutation is present in a glyphosate-resistant *Lolium rigidum* population. *Weed Research* **46**, 432-440.
- WAKELIN, A., D.F. LORRAINE-COLWILL und C. PRESTON, 2004: Glyphosate resistance in four different populations of *Lolium rigidum* is associated with reduced translocation of glyphosate to meristematic zones. *Weed Research* **44**, 453-459.
- YU, Q., A. CAIRNS und S. POWLES, 2007: Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. *Planta* **225**, 499-513.
- YU, Q., I. ABDALLAH, H. HAN, M. OWEN und S. POWLES, 2009: Distinct non-target site mechanisms endow resistance to glyphosate, ACCase and ALS-inhibiting herbicides in multiple herbicide-resistant *Lolium rigidum*. *Planta* **230**, 713-723.
- ZWERGER, P. und H. WALTER, 1994: Modelle zum Management herbizidresistenter Unkrautpopulationen. *Z. PflKrankh. Pfl-Schutz, Sonderh.* **XIV**, 409-420.