

Erste Glyphosat-Resistenz in Deutschland

First glyphosate resistance in Germany

Bernd Augustin^{1*}, Klaus Gehring²

¹Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinhessen, Nahe, Hunsrück, Rüdeshheimerstr. 60, 55545 Bad Kreuznach

²Bayrische Landesanstalt für Bodenkunde u. Pflanzenschutz, Lange Point 10, 85354 Freising

*Korrespondierender Autor, baugustin@t-online.de



DOI 10.5073/jka.2020.464.051

Zusammenfassung

Im Rahmen der alljährlichen Untersuchung von Verdachtsproben auf Herbizidresistenz aus Rheinland-Pfalz wurde 2018 eine Herkunft von Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne* L.) in einem Obstbaubetrieb in Rheinhessen gesammelt. Deutsches Weidelgras wird dort häufig zur Fahrgassenbegrünung eingesetzt und kann von dort in die herbizidbehandelten Baumzeilen einwandern. Durch mehrere Biotests am Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (Bad Kreuznach) und an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (Freising) in den Jahren 2018 und 2019 konnten mögliche Einflussfaktoren auf die festgestellten Minderwirkungen wie Applikationstechnik und Produktformulierung ausgeschlossen werden. Der Vergleich mit einer Glyphosat-sensitiven *L. perenne* ermöglichte den Nachweis der Glyphosatresistenz.

Stichwörter: Biotest, Herbizidresistenz, Glyphosat, *Lolium perenne* L.

Abstract

In 2018, numerous weed seed samples were taken from fields within Rhineland-Palatinate where herbicide resistance was suspected. One sample of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) was taken from an orchard farm in Rhinehessen. Perennial ryegrass is frequently used as permanent cover plant of the machine tracks from where they can emigrate into the tree rows usually treated with herbicides. By conducting several bioassays at the Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (Bad Kreuznach, Rhineland-Palatinate) and at the Landesanstalt für Landwirtschaft (Freising, Bavaria) potential factors impacting on a reduced efficacy of glyphosate could be excluded such as technique of application and product formulation. By comparing the test biotype with a sensitive *L. perenne* biotype, glyphosate resistance could be demonstrated.

Keywords: Bioassay, herbicide resistance, glyphosate, *Lolium perenne* L.

Einleitung

Bis 2003 waren in Rheinland-Pfalz kaum Wirkungsprobleme von Ungras herbiziden zu beobachten. Daher wurden nur sporadisch Proben von Acker-Fuchsschwanz von Verdachtsflächen gesammelt und auf eine mögliche Herbizidresistenz getestet. Ab 2006 wurden von der amtlichen Beratung jährlich Samenproben von Acker-Fuchsschwanz von Getreideflächen mit Verdacht auf nachlassende Herbizidwirkung gesammelt. Bereits unter den Proben des Jahres 2006 konnte die erste ausgeprägte Resistenz gegen Blattherbizide (ACCCase-Hemmer) bei Acker-Fuchsschwanz nachgewiesen werden (AUGUSTIN, 2008). Ab 2007 wurde die Probenahme auf den Gemeinen Windhalm ausgedehnt. Im Jahre 2008 wurde auf einem Standort eine ausgeprägte multiple Herbizidresistenz bei Gemeinem Windhalm festgestellt (AUGUSTIN, 2010).

In Rheinland-Pfalz ist ein vergleichsweise hoher Anteil an Sommerungen in den Fruchtfolgen vorhanden (Sommergerste, Zuckerrüben, Kartoffeln, Mais). Das stark schwankende Flughaferaufkommen wurde daher auf Jahreswitterung und biologische Eigenschaften des Ungrases zurückgeführt. In mehreren Flughafer-Verdachtsproben des Jahres 2011 und 2012 waren erstmals Target-Site-Resistenzen gegen ACCCase-Hemmer nachweisbar (AUGUSTIN und MENNE, 2014).

In den letzten Jahren wurden nur vereinzelt Proben mit Verdacht auf eine Glyphosatresistenz (*Epilobium*, *Bromus* spp.) zur Untersuchung eingereicht bei denen die im Feld beobachteten Minderwirkungen aber nicht auf einer Resistenz beruhte. Im Jahre 2018 wurde eine Probe des Deutschen Weidelgrases (*Lolium perenne* L.; WG 1) aus einem Obstbaubetrieb in Rheinhessen mit Resistenzverdacht eingeschendet und mit Hilfe von Biotesten auf eine mögliche Glyphosatresistenz untersucht.

Material und Methoden

In vorausgegangenen Biotests im Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum wurde die Verdachtsherkunft WG 1 bereits mit unterschiedlichen Substraten (rheinhesischem Lösslehm im Vergleich mit Einheitserde) und höherer Wasseraufwandmenge (400 l/ha, IDKN 12004, 3,3 Km/h, 3,6 bar) mit vergleichbaren Ergebnissen geprüft. Auf Basis dieser Voruntersuchungen wurde der nachfolgend beschriebene Biotest im Winterhalbjahr 2018/19 im Gewächshaus in dreifacher Wiederholung in 9 cm Töpfen in Torfkultursubstrat (Stender E510) ausgesät. Nach Kultivierung mit Zusatzbeleuchtung (Hortilux HPA 400, 100-200 $\mu\text{mol PAR/m}^2\text{s}$) und Temperatursteuerung (20°C/14 Stunden und 10°C/10 Stunden) wurden im 2-Blattstadium des Weidelgrases vier verschiedene Herbizidbehandlungen durchgeführt (Tab. 1). Die Behandlung erfolgte mit einer Schachtner Karrenspritze mit 200 l/ha Wasseraufwandmenge (3,6 Km/h; 1,75 bar an der Düse IDK 12002) mit anschließender Rückliterung. Als Glyphosat-sensitive Referenzherkunft diente die Herkunft S3/2017 bei der in früheren Untersuchungen eine hohe Resistenz gegen ALS-Hemmer nachgewiesen wurde. Eine Glyphosat-resistente Referenzherkunft war nicht verfügbar.

Tab. 1 Herbizidvarianten des Biotestes.

Tab. 1 *Herbicides used in the bioassay.*

Nr.	Herbizid	Wirkstoff (g/l bzw. kg)	Aufwandmenge/ha	HRAC-Gruppe
1	Kontrolle	-	-	-
2	Glyfos Supreme	Glyphosat (450)	4,0 l	G
3	Glyfos Supreme	Glyphosat (450)	8,0 l	G
4	Glyfos Supreme	Glyphosat (450)	12,0 l	G
5	Broadway + FHS	Pyroxsulam + Florasulam + Cloquintocet-Mexyl (68,3+22,8+68,3)	275 g + 1,0 l	B

Drei und vier Wochen nach der Herbizidbehandlung wurde eine Wirkungsbonitur durchgeführt. Die Einstufung der Herbizidsensitivität bzw. Resistenz erfolgte entsprechend dem in Tabelle 2 aufgeführten Schema.

Tab. 2 Einteilung der Resistenzklassen.

Tab. 2 *Classification of herbicide resistance.*

Einteilung der Resistenzklassen	
Klasse	Wirkungsgrad (%)
S	83,4-100
1	66,5-83,3
2	50-66,6
3	33,3-49,9
4	16,6-33,2
5	0-16,5

In Ergänzung zu den beschriebenen Biotesten am Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum wurde an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft ein weitere Biotest mit verschiedenen Herbiziddosierungen (Dosis-Wirkungsprüfung) durchgeführt. Neben der Verdachtsherkunft WG 1 aus Rheinland-Pfalz wurde eine handelsübliche Herkunft des Deutschen Weidelgrases (Sorte „Discus“, Deutsche Saatveredelung AG) als sensitive Referenz geprüft. Die Samenproben wurden mit einem Saugluft-Stufensichter (Fab. Pelz, Typ 2) aufbereitet. Anschließend wurde die Keimfähigkeit nach der ISTA-Methode ermittelt (ISTA, 2015). Die Aussaat erfolgte flächig mit einem Mikrolöffel auf Pflanztopfträgerplatten (Töpfe mit 4,5 cm Durchmesser). Die Saatstärke wurde so eingestellt, dass nach der Samengröße und Keimfähigkeit der jeweiligen Herkunft ein relativ gleichmäßiger Pflanzenbestand im Vergleich der im Test befindlichen Prüferkünfte erreicht wurde. Als Substrat wurde einmal ein natürlicher Mineralboden vom Standort Freising (Parabraunerde aus Lösslehm, 2,8 % OS, pH 7,2) in Mischung mit einem Torf-Kultursubstrat (Mischungsverhältnis 3:1) und als weitere Variante das reine TK-Substrat (tonhaltiges Torfsubstrat, Typ Höfter Humaton Standard, 80 % organische Substanz, pH 5,8, nährstoffangereichert) verwendet. Die Bewässerung

erfolgte durch regelmäßiges Gießen und im Wechsel im Anstauverfahren zur gleichmäßigen Durchfeuchtung der Pflanztöpfe. Im Laufe der Anzuchtperiode wurde eine einmalige Düngemaßnahme mit Flüssigdünger (Wuxal® 8-8-6, 100 ml/10 l Gießwasser) mit der Bewässerung vorgenommen. Die Anzucht und Wirkungsperiode (21 Tage) fand in einer Starklichtklimakammer (Typ York® 520284) statt. Bei einer Tag-Nacht-Phase von 12:12 Stunden wurde die Temperatur in einem Bereich von 20 °C am Tag bzw. 12 °C in der Nachtperiode und die Lichtintensität in der Tagesperiode auf 70000 Lux (Lampen Typ Phillips® MT400LE/U, Weißlicht mit tageslichtähnlichem Vollspektrum, 400 µmol PAR/m²*s) geregelt. Die relative Luftfeuchtigkeit wurde auf konstant 85 % gehalten.

Die Applikation erfolgte nach einer Anzuchtperiode von 15 Tagen im Entwicklungsstadium BBCH 12-13 des Weidelgrases. Hierfür wurde eine linearangetriebene Laborspritzbahn (Fab. Schachtner) verwendet. Die Applikationskabine war mit Flachstrahldüsen vom Typ TeeJet® 8001EVS ausgestattet. Bei einem Spritzdruck von 2,5 bar und einer Geschwindigkeit von 2,0 km/h betrug die Wasseraufwandmenge 200 l/ha. Dabei erfolgte neben der unbehandelten Kontrolle die Anwendung von Roundup PowerFlex (Glyphosat) in fünf und die Anwendung von Broadway (Pyroxulam + Florasulam + Cloquintocet-Mexyl) in drei Dosisstufen.

Tab. 3 Herbizidvarianten der Dosis-Wirkungsprüfung.

Tab. 3 *Herbicides used in the dose-response test.*

Nr.	Behandlung/Herbizid	Wirkstoff (g/l bzw. g/kg)	Standard-Dosis (= 100 %) (l/ha bzw. kg/ha)	Dosisstufen (% der Standard-Dosis)
1	Unbehandelte Kontrolle	-	-	-
2	Roundup PowerFlex	Glyphosat (480)	3,75	25 / 50 / 100 / 200 / 400
3	Broadway + FHS	Pyroxulam + Florasulam + Cloquintocet-Mexyl (68,3 + 22,8 + 68,3)	0,275 + 1,0	100 / 150 / 200

Die Herbizidwirkung wurde 21 Tage nach der Applikation durch visuelle Bonitur im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle und durch Wiegung des Frischmasseaufwuchses erhoben. Für die Bewertung der Boniturergebnisse wurde eine Resistenzklassifikation verwendet (CLARKE et al., 1994). Das Bewertungssystem beruht auf der Ermittlung von fünf Resistenzklassen. Diese ergeben sich aus dem Wirkungsunterschied zwischen einer sensitiven Vergleichsherkunft und der resistenzverdächtigen Prüferkunft. Die Klassengrenzen werden individuell für den durchgeführten Test ermittelt (CLARKE et al., 1994). Die statistische Analyse der Frischmasseergebnisse erfolgte durch eine nichtparametrische Rangvarianzanalyse nach Kruskal-Wallis (UNISTAT LTD., 2015) und eine Log-Logistic-Analyse (SEEFELDT et al., 1995) mit der NLIN-Anwendung durch SAS/STAT® Software. Die Ermittlung eines Resistenzfaktors beruht auf dem Dosisunterschied zwischen der sensitiven und resistenzverdächtigen Herkunft auf dem Wirkungsniveau von 50 % bzw. bei ED₅₀.

Ergebnisse

Die Glyphosat-sensitive Weidelgrasherkunft S3/2017 wurde bereits mit der zugelassenen Glyphosataufwandmenge (1800 g Glyphosat/ha) sicher erfasst. Bei dieser Herkunft war bereits im Vorjahr eine ausgeprägte ALS-Resistenz festgestellt worden, die sich wieder im Hinblick auf Pyroxulam bestätigte (Resistenzklasse 5).

Die Verdachtsherkunft WG 1 wurde dagegen mit dieser zugelassenen Glyphosat-Aufwandmenge nicht mehr ausreichend kontrolliert (Resistenzklasse 5). Bei der doppelten und dreifachen Glyphosat-Aufwandmenge wurden im Vergleich zu der zugelassenen Aufwandmenge höhere Wirkungsgrade erzielt, aber die Wirkung blieb unzureichend und wurde in die geringere Resistenzklasse 2 eingestuft. Damit ist eine klare Dose-Response-Reaktion erkennbar. Darüber hinaus war in der Weidelgrasherkunft WG 1 eine Kreuzresistenz mit Pyroxulam nachweisbar (Resistenzklasse 3).

Tab. 4 Einstufung der Herbizidresistenz bei der Weidelgraserherkunft WG 1 aus Rheinland-Pfalz.

Tab. 4 Classification of herbicide resistance in the perennial ryegrass population WG 1 collected in Rhineland-Palatinate.

Ergebnis des Biotestes		Wirkstoff (g/ha)			
Nr.	Herkunft/Bezeichnung	Glyphosat		Pyroxulam + Florasulam	
		1800	3600	5400	18,8 + 6,3
WG 1	55218 Ingelheim	5	2	2	3
S3/2017	„Standard“ Glyphosat-sensitiv	5	5	5	5

Bei der Dosis-Wirkungsprüfung ergab die Bewertung der Boniturergebnisse für die Weidelgras-Verdachtsherkunft WG 1 gegenüber Glyphosat und Pyroxulam die Resistenzklasse 3 bzw. R* nach der Nomenklatur von CLARKE et al. (1994). Diese Einstufung in eine jeweils mittlere Resistenzklasse war unabhängig von dem verwendeten Anzuchsubstrat.

Eine erste Analyse der Frischmasseergebnisse mittels einer Kruskal-Wallis One-Way ANOVA (95 % Konfidenzintervall) ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den zwei verwendeten Anzuchsubstraten. Für die weitere Analyse wurden daher die Frischmasseergebnisse beider Substrate gemeinsam verrechnet. Die Überprüfung der Dosis-Wirkungsreaktion gegenüber Roundup PowerFlex anhand der Log-Logistic-Funktion nach SEEFELDT et al. (1995) ergab für die Weidelgraserherkunft WG 1 einen Resistenzfaktor von 8,4 auf dem Wirkungsniveau ED50 (Abb. 1).

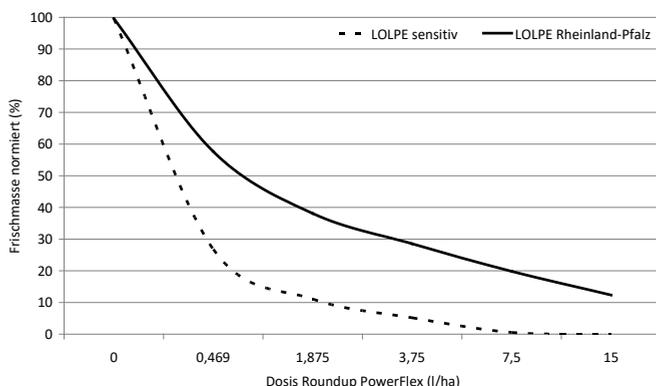


Abb. 1 Dosis-Wirkungsverlauf der Weidelgras-Herkünfte WG 1 und der sensitiven LOLPE Sorte „Discus“ nach Behandlung mit Roundup PowerFlex (Glyphosat).

Fig. 1 Dose-response curves of the two perennial ryegrass biotypes WG 1 and sensitive LOLPE variety „Discus“ treated with Roundup PowerFlex (glyphosate).

Diskussion

Aus Vorversuchen ist bekannt, dass sensitive Herkünfte des Deutschen Weidelgrases mit einer Aufwandmenge von etwa 720 g Glyphosat/ha sicher kontrolliert werden können. Bei der geprüften Verdachtsherkunft WG 1 ist eine erheblich höhere Aufwandmenge erforderlich um eine deutliche Herbizidwirkung zu erzielen. Der Resistenzmechanismus muss noch durch zusätzliche Untersuchungen analysiert werden. Die Analyse der Herbizidhistorie des Schlages, von dem die Herkunft WG 1 stammt, zeigt, dass Glyphosat ab 2003 in den Baumzeilen eingesetzt wurde. Ab 2008 wurden meist zwei blattaktive Gräsermittel eingesetzt. Neben Glyphosat kam noch Glufosinat zum Einsatz.

In bestimmten Jahren (2010, 2013) war mit einer Glyphosat-Behandlung eine ausreichende Wirkung zu erzielen. Dafür sind unterschiedliche Ursachen vorstellbar. Witterungsbedingt könnte in der zweiten Jahreshälfte der beiden betreffenden Jahre der Auflauf des Weidelgrases in den Baumreihen verringert gewesen sein. 2017 waren sogar drei Glyphosat-Behandlungen in der

Vegetationsperiode erforderlich um eine akzeptable Wirkung auf das Deutsche Weidelgras zu erzielen.

An der Abfolge der Herbizidanwendungen wird deutlich, dass insbesondere in Dauerkulturen mehrere Wirkmechanismen verfügbar sein müssen, um eine Resistenzentwicklung aufzuhalten. In Dauerkulturen hat in dieser Hinsicht der Wegfall von Glufosinat sicherlich Vorschub geleistet. Momentan konzentriert sich die Unkrautbekämpfung in Dauerkulturen auf den letzten breit wirksamen, blattaktiven Wirkstoff Glyphosat. Daher ist mit einer weiteren Zunahme der Resistenzentwicklung zu rechnen. Durch Integration zusätzlicher, gräserwirksamer Wirkstoffe, wie beispielsweise Propyzamid, kann dieser Prozess zumindest bei den im Wirkungsspektrum enthaltenen Arten verlangsamt werden.

Tab. 5 Schlaghistorie der geprüften Weidelgrasherkunft WG 1.

Tab. 5 Field history of the investigated perennial ryegrass population WG 1.

Jahr	Maßnahme bzw. Herbizideinsatz (Aufwandmenge/ha)
2001	Pflanzung der Obstanlage (3,5 ha)
2003	Einsaat der Fahrwege: Deutsches Weidelgras (10 %), Rotschwingel, Wiesenrispe Jährlicher Glyphosateinsatz in der Baumzeile
....	
2008	Roundup Ultra 4,0 l Basta 5,0 l
2009	Roundup Ultra Max 3,0 l Basta 5,0 l
2010	Glyphos 4,0 l
2011	Clinic 4,0 l Clinic 4,0 l
2012	Glyphos 4,0 l Basta 5,0 l
2013	Glyphos 4,0 l
2014	Glyphos 4,0 l Kyleo 5,0 l
2015	Glyphos Supreme 3,0 l Basta 5,0 l
2016	Glyphos Supreme 3,0 l Glyphos Supreme 3,5 l
2017	Glyphos Classic 4,0 l Kyleo 5,0 l Roundup Rekord 2,5 kg
2018	Clinic 4,0 l Kerb flo. 5,0 l

Das Unkrautmanagement in Dauerkulturen ist durch den alleinigen Einsatz von Herbiziden mittel- und langfristig nicht nachhaltig zu gestalten, weil eine Resistenzentwicklung kaum zu vermeiden ist. Dafür sind kombinierte Verfahren erforderlich (Bodenabdeckung, Mechanik, Thermik), die den Selektionsdruck erheblich senken.

Literatur

- AUGUSTIN, B., 2008: Erster Nachweis von Resistenz gegen ACCase-Inhibitoren bei Ackerfuchsschwanz in Rheinland-Pfalz. J. Plant Diseases and Protection **XXI**, 21-24.
- AUGUSTIN, B., 2010: Windhalm-Herkunft aus Rheinland-Pfalz mit multipler Herbizidresistenz. Julius-Kühn-Archiv **428**, 271-272.
- AUGUSTIN, B., H.J. MENNE, 2014: Herbizidresistenz von Flughafenerkünften aus Rheinland-Pfalz. Julius-Kühn-Archiv **443**, 320-323.
- CLARKE, J.H., A.M. BLAIR, S.R. MOSS, 1994: The testing and classification of herbicide resistant *Alopecurus myosuroides* (black-grass). Aspects of Applied Biology **37**, 181-188.
- ISTA, 2015: International Rules for Seed Testing 2015. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
- SAS® VISUAL ANALYTICS 7.2, 2015: User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 706 p.
- SEEFELDT, S.S., J.E. JENSEN, E.P. FUERST, 1995: Log-Logistic Analysis of Herbicide Dose-Response Relationships. Weed Technology **9**, 218-227.
- UNISTAT® LIMITED, 2015: SAS User's Guide, Version 6.5. London, UK, 1244 P.