

Einsatz moderner Resistenz-Diagnostik für die Generierung repräsentativer Daten als Basis für ein Algorithmen-gestütztes Herbizidmanagement

Use of modern resistance diagnostics for the generation of representative data as the basis for an algorithm-based herbicide management

Jean Wagner^{1*}, Johannes Herrmann², Martin Hess²

¹PlantaLyt GmbH, Hannover

²Agris42 GmbH, Stuttgart

*jean.wagner@plantaLyt.de

DOI: 10.5073/20220124-062909

Zusammenfassung

Herbizidresistenzen nehmen zu und entwickeln sich diffizil. Pauschale Empfehlungen lösen keine Probleme, sondern verschärfen die Problematik vielfach. Es braucht dringend Lösungen auf Basis der einzelbetrieblichen Analyse. Auf Algorithmen basierende Entscheidungshilfen für das Management von Herbizidresistenzen müssen dafür unterschiedlichste Datensätze konsolidieren. Biologische Datensätze können nur durch messbare Parameter erhoben werden. Zur Bewertung der Herbizidwirkung auf Unkräuter liefert der Biotest an Nachkommen von Pflanzen der Feldpopulation bis heute die wichtigsten Daten. So kann eine komplexe Phänologie gut erfasst werden. Der Biotest bleibt aber sehr arbeits- und kostenaufwändig. Gleichzeitig braucht eine zuverlässige Modellierung eine hohe Stichprobenzahl mit möglichst geringer Redundanz der Daten. Die Lösung kann nur in einer qualitativen Erhöhung der Stichprobe bei gleichzeitiger Kostenreduktion liegen. Ein wesentlicher Teil liegt in der Umsetzung wissenschaftlicher Erkenntnis über die Zusammenhänge von Resistenzmechanismen und ihrer Ausprägung im Feld. Eine Bündelung verschiedener Datensätze zeigt: Wiederholende Muster lassen sich durch deutlich weniger Daten abbilden und so Redundanzen vermeiden. Moderne Verfahren zur Hochdurchsatz-Genotypisierung von Populationen eröffnen neue Möglichkeiten: Es werden zukünftig nicht mehr SNPs in einzelnen Pflanzen erfasst, sondern ihr Vorkommen wird prozentual aus Mischproben von 50 oder mehr Pflanzen ermittelt. Dieser Paradigmenwechsel ermöglicht nicht nur eine Reduktion der Kosten pro Datenpunkt, sondern liefert einen deutlich höheren Stichprobenumfang. Damit lassen sich repräsentative Daten mit geringem Aufwand erheben, die wiederum in dynamischen Modellen als Entscheidungshilfen der Praxis zur Verfügung gestellt werden können.

Stichwörter: Ackerfuchsschwanz, *Alopecurus myosuroides* Huds., *Apera spica-venti*, Biotest, digitalisierte Entscheidungshilfen, Hochdurchsatz-Genotypisierung, NTSR, Resistenz-Mechanismen, TSR, Windhalm)

Summary

Herbicide resistance is increasing and developing in a difficult manner. Common recommendations are not able to solve problems, but rather sharpen the problem in many ways. Solutions are needed that are based on individual farm analysis. The algorithm-based decision support for the management of herbicide resistance have to consolidate a wide variety of data sets. Biological data sets can only be collected using measurable parameters. To evaluate the herbicidal effect on weeds, the bioassay testing herbicide resistance in the next generation of plants originating from field population has provided the most important data until today. In this way, a complex phenology can be captured well. But, it remains very labor-intensive and costly and, additionally, reliable modeling requires a high number of samples with the least possible redundancy of the data. The only solution can be to increase the quality of sampling while reducing costs. An essential part of this is the implementation of scientific knowledge about the interrelationships between resistance mechanisms and their development in the field. A clustering of

different data sets shows that the repetitive patterns can be mapped using significantly less data and thus avoid redundancies. Modern methods for high-throughput genotyping of populations open up new possibilities: In the future, SNPs will no longer be recorded in individual plants, but their occurrence will be determined as a percentage from mixed samples of 50 or more plants. This paradigm shift not only enables a reduction in the costs per data point, but also provides a significantly higher sample size. This means that representative data can be collected with little effort, which in turn can be made available in dynamic models as decision-making support in practice.

Keywords: *Alopecurus myosuroides* Huds., *Apera spica-venti*, black-grass, biotest, digitized decision support, High throughput genotyping, NTSR, resistance mechanisms, silky bent-grass, TSR)

Einleitung

Die Herbizidresistenz beim Ackerfuchsschwanz (*Alopecurus myosuroides* L.) und weiteren Ungräsern entwickelt sich mit einer komplexen Dynamik gegen die Wirkstoffe der HRAC-Gruppen 1 und 2. Jeder betroffene Standort hat seine eigene Resistenz-Geschichte, die sich auf biologische Faktoren, Standortfaktoren und die Produktionsziele zurückführen lässt. Bei der Biologie spielt die individuelle Ausgangssituation einer Population mit ihren Frequenzen verschiedener Resistenzmechanismen und die Geschichte der Anwendung von Herbiziden im Produktionssystem die größte Rolle. Je nach Ausgangssituation und Herbizidhistorie entwickeln sich die Herbizidresistenzen diffizil. Das stellt die landwirtschaftliche Beratung vor große Herausforderungen die Landwirte/Landwirtinnen mit schlagspezifischen Informationen und vor allem Interpretationen zu unterstützen. Durch die abnehmende Personaldecke in der Beratung sind keine Kapazitäten für die Aufarbeitung und Umsetzung von Wissen vorhanden. Gleichzeitig steigt aber die fachliche Erwartung aus den Betrieben an die Beratung (KNIERIM et al., 2017). Die sich hier anhäufenden Probleme lassen sich in Zukunft aber digital lösen. Das Stichwort lautet „Machine Learning“ als logische Konsequenz der digitalen Transformation. Der Begriff bezeichnet eine künstliche (nicht menschliche) Generierung von Wissen aus Erfahrungen die sich aus der statistischen Auswertung und der anschließenden automatischen von Algorithmen betriebenen Neuanpassung und Prüfung von Modellen ableitet. Die Voraussetzungen dafür ist eine gute Vernetzung der Daten. Und dafür müssen auch systematisch aussagekräftige biologische Daten in ausreichender Menge generiert werden. Mehr Daten führen zu mehr Wissen und mehr Wissen führt zu mehr zielgerichteter Aktivität und damit letztlich zu einer effizienten Nutzung von Herbiziden. Das beinhaltet vor allem das Vermeiden einer beschleunigten Resistenzentwicklung. Es lohnt sich also die Dynamik der Entwicklung von Resistenz durch die drei wichtigsten Faktoren, die drei voneinander unabhängige Datensätze ergeben, näher zu betrachten: (A) Die Frequenz vorhandener Resistenzmechanismen (Mechanismen können nicht neu generiert werden, sondern sind mit einer bestimmten Frequenz vorhanden, die lediglich durch Selektion verschoben wird), (B) die betriebspezifischen Daten der Bewirtschaftung, die einen starken Einfluss auf die Zusammensetzung der Unkrautgesellschaften haben und die Wahl der Herbizide bestimmen (die wiederum die Frequenz vorhandener Resistenzmechanismen beeinflussen) und C) Daten über die natürlichen Standortfaktoren, die einen Einfluss auf die Etablierung und Verbreitung einer Art im Naturraum haben.

Eine auf Algorithmen basierende Entscheidungshilfe wird auf alle diese Datensätze zugreifen müssen. Im Unterschied zu den natürlichen Standortfaktoren und den betriebspezifischen Daten sind biologische Datensätze nicht einfach durch Abfrage zu erheben, sondern müssen anhand von Parametern gemessen werden. Die Erfassung der Herbizidwirkung auf eine Ackerfuchsschwanz-Population gelingt bislang am sichersten über den relativ zeit- und arbeitsaufwändigen Biotest. an Nachkommen von Pflanzen im Feld. Dafür müssen zunächst Samen im Feld gesammelt, aufbereitet (die natürliche primäre Dormanz muss überwunden werden) und nach kurzer Lagerung im Gewächshaus ausgesät werden. Es vergehen also 4 Monate bis zu einem Ergebnis. Das Ergebnis ist ein Resistenz-Profil, also ein Muster aus Reaktionen gegen

30. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und -bekämpfung, 22. – 24. Februar 2022 online

einzelne Herbizide. Was das Reaktionsprofil unentbehrlich macht ist, dass er einen komplexen Sachverhalt unabhängig von vorhandenen Resistenzmechanismen erfasst. Jede andere Methode entfernt sich von der Phänologie und hat dadurch den Nachteil, dass sie nie alle Resistenzphänomene erfassen kann. Die Analyse einer erhöhten Abbaurate eines Wirkstoffes sagt nichts über die mögliche Veränderung am Target aus und umgekehrt sagt der Nachweis eines veränderten Targets nichts über eine mögliche erhöhte Metabolisierung aus. Beim Biotest im Gewächshaus stellt sich die Frage der verfügbaren Kapazitäten und welche bzw. wie viele Analysen gebraucht werden um wichtige Aussagen zu treffen. Wie kann bei steigendem Beratungsbedarf und steigendem Bedarf an Daten eine endlich vorhandene Analysekapazität bestmöglich genutzt werden? Es müssen also Wege gefunden werden den Durchsatz zu erhöhen ohne den Informationsgehalt zu gefährden und die Arbeitsintensität und Kosten zu senken. Dabei sind aus unserer Sicht zwei Aspekte zu berücksichtigen.

1. Die stetig wachsenden wissenschaftlichen Erkenntnisse über die Resistenzmechanismen und ihre Ausprägung helfen die Arbeitsintensität und Datenredundanz zu reduzieren.
2. ein Paradigmenwechsel in der molekulargenetischen Diagnostik von wirkortspezifischer Resistenz (TSR, Target-Site Resistance) mit Hilfe neuer Methoden, die als NGS (Next-Generation Sequencing) zusammengefasst werden.

Reduktion von Arbeitsintensität und Datenredundanz - Beispiel: Der Wirkstoff Cycloxydim des Targets ACCase bei Ackerfuchsschwanz und Windhalm

Am Beispiel der DIMs lässt sich zeigen, wie wissenschaftliche Erkenntnisse über die Resistenzmechanismen und ihre Ausprägung, helfen kann die Arbeitsintensität und Datenredundanz zu reduzieren. Das Wissen über alle vorkommenden Resistenzmechanismen in einer Pflanzenart und die Zusammenhänge mit der Phänologie ist ein ganz wichtiger Baustein, ohne den eine Modellierung von Herbizidresistenz nicht effektiv ist. Die Anzahl der verschiedenen vorkommenden Mechanismen in einer Pflanzenart ist artspezifisch und damit ist die Wahrscheinlichkeit, dass sie auftreten werden, in gewissen Grenzen berechenbar. Für die folgenden Erläuterungen soll der Gemeine Windhalm (*Apera spica-venti* L.) als Beispiel dienen. Bis heute ist eine TSR des ACCase-Proteins durch Substitution von Ile an der Stelle 1781 durch Leu als Resistenzmechanismus nicht beschrieben. Daher kann auf eine Prüfung von schwach metabolisierbaren Herbiziden wie Cycloxydim und Clethodim im Biotest verzichtet werden. Eine SNP-Analyse (SNP=Single Nucleotide Polymorphism) kann den Ausschluss der Wirkortresistenz gegen ACCase-Inhibitoren bestätigen. Eine TSR des ACCase-Proteins durch eine Ile1781Leu-Substitution bewirkt bei Ackerfuchsschwanz die höchste den Autoren bekannte Resistenzausprägung gegen den Wirkstoff Cycloxydim und damit ACCase-Inhibitoren mit einem Resistenz-Faktor (RF) von ca. 136 (WAGNER et al., 2014). RF-Werte sind eine Größe, die dem Praktiker sagt wie stark sich eine Resistenz ausprägen kann. Dies heißt, dass für eine vergleichbare Kontrolle wäre etwa die 136-fache Feldaufwandmenge notwendig. Alle Ackerfuchsschwanz-Pflanzen in unseren Untersuchungen, die nach Behandlung mit der Feldaufwandmenge des Wirkstoffs Cycloxydim resistent waren, zeigten oft eine Ile1781Leu-Substitution, die entweder homozygot oder heterozygot ausgeprägt war. Der Ausschluss von Ile1781 in resistenten Pflanzen (die Variante kommt in sensitiven oder metabolisch resistenten Pflanzen vor) lässt mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit den Schluss zu, dass eine NTSR in Cycloxydim-resistenten Pflanzen nicht die Resistenzursache sein kann. Neben der häufigsten Substitution Leu1781 selektieren Feldaufwandmengen von Cycloxydim (i.d.R. 250 g/ha) die Substitution Gly2078, während andere Substitutionen der TSR des ACCase-Gens sensitiv auf Feldaufwandmengen von Cycloxydim reagieren (DELYE, 2005). Eine genetische Analyse von Pflanzen kann also gezielt zur Vorhersage der Wirksamkeit von Cycloxydim bei Ackerfuchsschwanz (und bei Windhalm) eingesetzt werden und eine arbeits- und zeitaufwändige Prüfung von Pflanzen kann hier entfallen. Der Zusammenhang kann auch umgekehrt nützlich sein: Die phänotypische Resistenz gegen Cycloxydim im Biotest muss nicht mehr

30. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und -bekämpfung, 22. – 24. Februar 2022 online
genetisch untersucht werden. Es ist sehr wahrscheinlich, dass eine TSR vorliegt. Die Ableitung kann somit
helfen die Arbeitsintensität und die Daten-Redundanz zu vermindern.

Reduktion von Arbeitsintensität und Datenredundanz - Beispiel: Resistenz-Cluster

Alle erwähnten Faktoren wie die Frequenz vorhandener Resistenzmechanismen, betriebliche Muster der
Herbizid-Nutzung und der Einfluss natürlicher Standortfaktoren, wirken sich zusammen auf die
Resistenzausprägung aus. So divers die Resistenzen an den Standorten auch sind, können sie doch je nach
Gewichtung der Faktoren durch Clustering in Bezug gesetzt und verglichen werden um sich wiederholende
Muster zu identifizieren. In Abb. 1 ist ein Cluster für Ackerfuchsschwanz verschiedener Betriebe für drei
Herbizide mit ACCase-Inhibitoren dargestellt: Focus Ultra® (100 g/l Cycloxydim), Agil-S® (100 g/l
Propaquizafop) und Axial 50® (50 g/l Pinoxaden). Während Resistenzen gegen Cycloxydim – wie im Kapitel
oben erwähnt – nicht auf eine NTSR beruhen, ist dies bei den Wirkstoffen Propaquizafop und Pinoxaden
möglich. Somit kann Resistenz gegen Cycloxydim nur durch einen Mechanismus (TSR) und gegen
Propaquizafop und Pinoxaden aber durch zwei Mechanismen (TSR und/oder NTSR) bewirkt werden. In Abb.
1 wurden die Frequenzen vorhandener Resistenzmechanismen von 124 Betrieben gewichtet. Standort und
Betriebsform wurden nicht berücksichtigt. Die Betriebe sind nach zunehmender Wirkortresistenz sortiert
(von links nach rechts: Standorte mit überwiegender NTSR und zunehmender TSR). Während bei Pflanzen
mit NTSR in einer Ackerpopulation zunächst die Wirksamkeit von Pinoxaden betroffen ist, nimmt bei
zunehmender Überlappung von NTSR mit einer TSR die Wirkung von Propaquizafop und Cycloxydim ab.

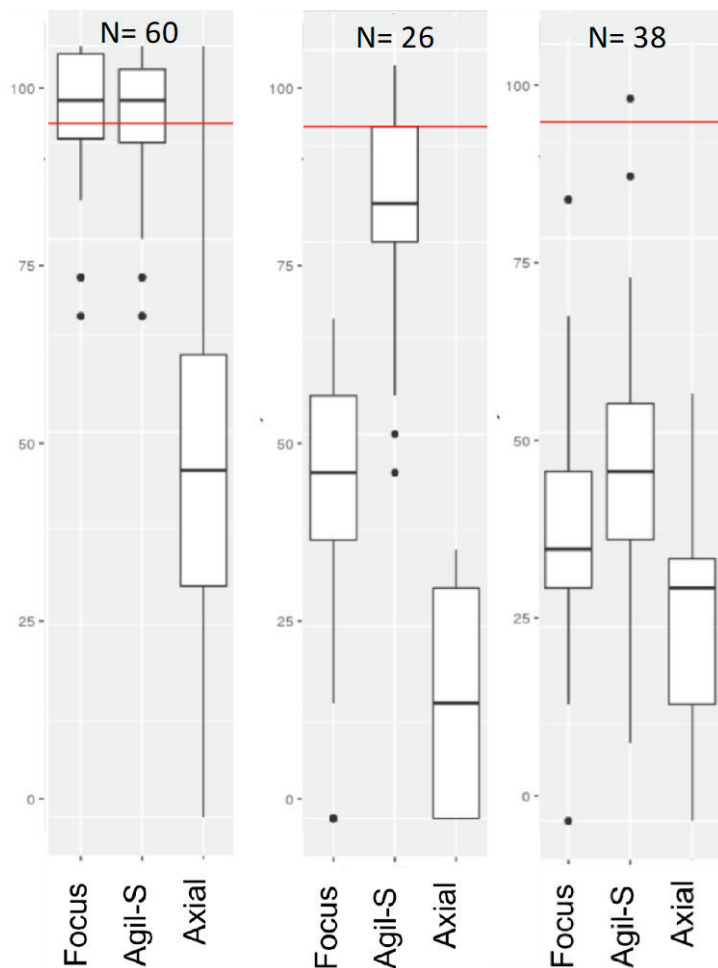


Abbildung 1 Ergebnis eines Clusterings von Ackerfuchsschwanz von 124 Betrieben. Die Betriebe wurden sortiert nach Vorkommen von NTSR mit zunehmenden Anteil von TSR. Dargestellt ist die Wirkungsbonitur im Gewächshaus. Schwächstes Glied in diesem Clustering ist das Pinoxaden im Getreide-Herbizid Axial®, gefolgt von Propaquizafop (Agil-S®). Am stärksten wirkt ein Cycloxydim (Focus Ultra®) an Standorten mit überwiegend NTSR (ganz links) und verliert an Wirkung bei zunehmender TSR (Mitte und rechts).

Figure 1 Results of clustering the black-grass samples from 124 farms. The farms were sorted according to occurrence of NTSR with an increasing proportion of TSR in the plants. The values are based on visual ratings in greenhouse. The weakest herbicide in this clustering was the cereal herbicide a.i. Pinoxaden (Axial®), followed by Propaquizafop (Agil-S®). Focus Ultra® (Cycloxydim) was the strongest herbicide to control black-grass from sites with predominantly metabolic resistance and loses its effect with increasing TSR (middle and right).

Die beiden Wirkstoffe Pinoxaden und Cycloxydim lassen sich als Marker für die beiden Extreme nutzen (NTSR vs. TSR). So lassen sich Fälle mit unterschiedlichen Anteilen einer NTSR und TSR korrelieren. Sobald auch die genetischen Zusammenhänge der NTSR vollkommen entschlüsselt sind können Resistenzmuster auf der Basis weniger Marker-Herbizide und der Quantifizierung von TSR (siehe folgendes Kapitel) eingesetzt werden um die Wirkung von Herbiziden und die Folgen der Herbizid-Wahl zu modellieren.

Reduktion von Datenredundanz und Kosten - Beispiel: Paradigmenwechsel in der SNP-Analyse: Von der Einzelpflanzen-Analyse zu den Pool-Sequencing-Technologien

Die SNP-Analysen (SNP= Single Nucleotide Polymorphism, Variation einer einzelnen Basen-Positionen im Gen, die für die TSR verantwortlich sind) leisten einen elementaren Anteil zum Verständnis der Resistenzen. SNP-Analysen taugen bislang nur für die Diagnose von TSR. Zahlreiche Methoden sind dafür verfügbar. Labormethoden wie die PASA (PCR Amplification of Specific Alleles, DELYE et al., 2002) oder die dCAPS

(KAUNDUN & WINDASS, 2005) gehören zu den Standard-Werkzeugen zum Nachweis der Wirkortresistenz in den Unkrautwissenschaften. Beide gehören zu den nicht-sequenzierenden Methoden. Nicht-sequenzierende SNP-Analysen liefern binäre Informationen und können lediglich zwischen zwei Zuständen unterscheiden (z.B. nicht-mutiert und mutiert). Das hat für das Daten-Management Vorteile, weil die Datensätze sehr vereinfacht sind. Im Kontrast dazu steht die klassische DNA-Sequenzierung (Sanger-Sequenzierung). Hier werden Sequenz-Daten generiert, die dann gesichtet werden um die SNPs zu identifizieren. Sequenzdaten erhöhen den Aufwand, aber haben den Vorteil, dass neue Varianten in unbekanntem Material entdeckt werden können. Die SNPs und ihre Umgebung sind in einer Sequenz eingebettet. Bei Änderungen oder beim Auftreten neuer Varianten lassen sich diese direkt aus den Sequenzdaten herauslesen. Das ist mit den nicht-sequenzierenden SNP-Analysen nicht möglich.

Egal ob nicht-sequenzierend oder sequenzierend: In beiden Fällen entspricht jede Probe i.d.R. einem Individuum. Der Aufwand steigt mit der Anzahl Proben pro Biotyp. Daher stellt sich die Frage immer wieder, wie viele Proben analysiert werden sollen, um zu einer aussagekräftigen Diagnose zu kommen. Dies hängt auch davon ab, ob es sich um Proben direkt aus dem Feld oder aus Gewächshausversuchen handelt.

Ein Paradigmenwechsel in der SNP-Analyse wird aktuell durch die Methode des Pool-Sequencings herbeigeführt. Grundlage sind die nanotechnologiegetriebenen Next Generation Sequencing Technologien wie Illumina® oder Oxford Nanopore®. Sie haben – wie auch die zahlreichen weiteren Methoden auf dem Markt – die Grundlagenforschung revolutioniert. Gemein ist Ihnen, dass sie von Nanotechnologien getrieben und die parallele Sequenzierung von einigen hunderttausend bis mehrere Millionen DNA-Fragmenten ermöglichen. Diese neuen Technologien finden derzeit Eingang in die Herbologie und werden die Erforschung der NTSR (MAROLI et al., 2018) und die TSR-Analytik revolutionieren (DELYE et al., 2020). Dabei werden deutlich mehr Daten (und ergo auch mehr Wissen) über SNPs in Pflanzen-Arten und -Populationen generiert, als mit bisherigen Mitteln möglich ist. Es werden viele Analysen einzelner Individuen in einfachen Datensätzen zusammengefasst und so Aussagekraft und Durchsatz der SNP-Analysen dramatisch erhöht. Zwei Arbeitsgruppen beschäftigen sich mit dem Aufbau einer Plattform zur Identifizierung von Herbizidresistenz in Unkräutern: C. DÉLYE vom INRA in Dijon (Nationales Institut für Agronomieforschung) und U. Lutz am Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie in Tübingen (mündliche Kommunikation Dr. U. LUTZ). DELYE et al. (2020) verwendeten die Illumina® Technologie für die parallele Sequenzierung des ALS-Gens in mehreren Biotypen der Art *Senecio vulgaris* und *Ambrosia artemisiifolia*. Von jedem Biotyp wurden bis zu 50 Pflanzen gemeinsam aufgearbeitet und analysiert. Das Ergebnis der SNP-Analyse ist eine Frequenz aller vorkommenden SNPs auf Basis der 50 Individuen. Die Analysendurchsätze sind so effizient, dass mit knapp 200 DNA-Extraktionen und 1700 PCRs rund 10.000 individuelle Pflanzen analysiert werden konnten. Würde man klassisch vorgehen und wie bisher SNP-Analysen betreiben so müssten auf 10.000 DNA-Extraktionen mindestens 10.000 PCRs und mindestens ebenso viele DNA-Sequenzierungen oder SNP-Analysen folgen, was Kosten, Kapazitäten und Zeitschiene sprengen würde. Hochdurchsatz statt Einzelpflanze - dieser Paradigmenwechsel ermöglicht nicht nur eine Reduktion der Kosten pro Datenpunkt, sondern liefert auch einen deutlich höheren Stichprobenumfang. So lassen sich repräsentative Daten mit deutlich geringerem Aufwand erheben und das Wissen um die Ausbreitung von Resistenzmechanismen präzisieren. Unberücksichtigt sind hier die wissenschaftlichen Erkenntnisse der NTSR, die sich in Zukunft in vergleichbaren Plattformen mit der SNP-Analytik der TSR vereinen lässt. Die Selektion von Resistenzmechanismen durch die einzelnen Wirkstoffe lässt sich so besser verstehen (Jeder Mechanismus wird unterschiedlich stark in Abhängigkeit von Wirkstoff und Biotyp selektiert). Dieses Wissen kann in Entscheidungsmodellen berücksichtigt werden.

Wie kann ein von Algorithmen gestütztes Herbizidmanagement der Zukunft aussehen?

Es ist eine logische Konsequenz der digitalen Transformation, dass Daten systematisch erhoben und vernetzt werden. Algorithmen werden zukünftig Landwirte/Landwirtinnen stärker bei ihrer Planung ihrer Herbizidmaßnahmen unterstützen. In einer elektronischen Ackerschlagkartei könnten in Zukunft auch biologische Daten z.B. über das Vorkommen schwierig zu kontrollierender Arten und Ergebnisse einer Resistenzprüfung hinterlegt werden. Diese werden dann mit zunehmenden Wissen stärker Berücksichtigung bei der Auswahl der Herbizide finden. Wenn Landwirte/Landwirtinnen dann den Erfolg und den Misserfolg von Maßnahmen dokumentieren und es anonymisiert zu einer Vernetzung der Ackerschlagkarteien zwischen den Betrieben käme, dann kann künstliche Intelligenz helfen zu verstehen ob und warum sich die Frequenzen von Resistenzmechanismen in Abhängigkeit von Biologie, Standort und Betriebsaktivität verschieben und welche Maßnahmen erfolgreich eine Zunahme und Ausbreitung verhindern. So könnten gerade Betriebe, die bislang von einer ausgeprägten Resistenzsituation verschont geblieben sind, profitieren.

Literatur

- DELYE, C., A. MATEJICEK, J. GASQUEZ, 2002: PCR-based detection of resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) and ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.). *Pest Manag Sci.* **58**, 474–478.
- DELYE, C., 2005: Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: an update. *Weed Sci.* **53**, 728-746.
- DELYE, C., S. MICHEL, F. PERNIN, V. GAUTIER, M. GISLARD, C. PONCETB, V. LE CORREA, 2020: Harnessing the power of next-generation sequencing technologies to the purpose of high-throughput pesticide resistance diagnosis. *Pest Manag Sci.* Feb; **76**(2), 543-552.
- FRANCO-ORTEGA, S., A. GOLDBERG-CAVALLERI, A. WALKER, M. BRAZIER-HICKS, N. ONKOKESUNG, R. EDWARDS. 2021: Non-target Site Herbicide Resistance Is Conferred by Two Distinct Mechanisms in Black-Grass (*Alopecurus myosuroides*). *Plant Metabolism and Chemodiversity*, **12**.
- GAINES, T.A, S.O. DUKE, S. MORRAN, C.A.G. RIGON, P.J. TRANEL, A. KÜPPER, F.E. DAYAN, 2020: Mechanisms of evolved herbicide resistance. *J Biol Chem.* **24**; 295(30):10307-10330.
- KAUNDUN, S.S., J.D. WINDASS, 2005: Derived cleaved amplified polymorphic sequence, a simple method to detect a key point mutation conferring acetyl CoA carboxylase inhibitor herbicide resistance in grass weeds. *Weed Research* **46**, 34–39.
- KNIERIM, A., A. THOMAS; S. SCHMITT, 2017: Agrarberatung im Wandel. In: *B&B Agrar* **4-2017**, S. 27–32.
- MAROLI, A., T.A. GAINES, M.E. FOLEY, S.O. DUKE, M. DOĞRAMACI, J.V. ANDERSON, D.P. HORVATH, W.S. CHAO, N. THARAYIL, 2018: Omics in Weed Science: A Perspective from Genomics, Transcriptomics, and Metabolomics Approaches. *Weed Science* **6**, 681-695.
- WAGNER, J., J. HEISRATH, J. JUISTER, T. OMMEN, A. GÜNNIGMANN, 2014: Senkung des Selektionsdruck von Herbiziden – Möglichkeiten und Grenzen eines Managements von Acker - Fuchsschwanz mit Clethodim in Raps bei Vorkommen des Haplotyps Leu1781. Tagungsbeitrag zur 26. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und –bekämpfung, 11.-13. März 2014, Braunschweig. *Julius-Kühn-Archiv* **443**, 261-267. DOI: [HTTPS://DOI.ORG/10.5073/JKA.2014.443.032](https://doi.org/10.5073/JKA.2014.443.032).