

7) Clethodim als Baustein zur Bekämpfung von Ackerfuchsschwanz mit dem Leu1781-Allel

Jean WAGNER¹, J. HEISRATH¹, T. OMMEN¹, J. JUISTER¹, A. GÜNNIGMANN²

¹ Plantalyt GmbH, Vahrenwalder Str. 269A, 30179 Hannover

² Cheminova, Stade

E-Mail: jean.wagner@plantalyt.com

Ergebnisse aus laufenden Feldversuchen in Rapsschlägen aus Nord- und Süddeutschland, die durch molekulargenetische Analysen begleitet werden, sollen hier vorgestellt werden.

Es geht um die Anwendung von DIMs in Herbizid-Kombinationen zur Gräserbekämpfung in Schlägen, in denen durch das Vorkommen des Leu1781-Allels in den Ackerfuchsschwanzpopulationen diese nicht mehr mit ACCase-Inhibitoren ausreichend bekämpfbar sind. Clethodim zeigt eine schwache Minderwirkung bei Vorliegen eines Leu1781-Allels, was eine Wirkungsreserve bedeutet. Diese und die Tatsache, dass metabolischen Resistenzen beim Einsatz von DIMs weitgehend ausgeschlossen werden können, bedeutet, dass durch Kombination von Clethodim mit weiteren Herbiziden eine Entlastung des Resistenzdrucks an Extremstandorten herbeigeführt werden kann.

Die Boniturdaten aus den Versuchspartellen werden mit molekulargenetischen Daten von Ackerfuchsschwanzpflanzen vor und nach der Applikation gestützt. Die Ergebnisse werden dargestellt und hinsichtlich der Vorgehensweise zur Unterdrückung der Ausbreitung des am häufigsten vorkommenden Leu1781-Allels bei Ackerfuchsschwanz bewertet.

(DPG AK Herbologie)

8) Genetische Kontrolle der metabolischen Herbizidresistenz bei Ackerfuchsschwanz (*Alopecurus myosuroides* Huds.)

Maria ROSENHAUER¹, Friedrich FELSENSTEIN², Michael HÖFER³, Jan PETERSEN¹

¹ FH Bingen,

² Epilogic,

³ RLP Agrosience

E-Mail: m.rosenhauer@fh-bingen.de

Ackerfuchsschwanz ist seit Jahren aufgrund seiner zunehmenden Resistenzfunde als Problemungras im Winterweizen bekannt. Neben der gut untersuchten Zielortresistenz (TSR), bei der Punktmutationen zu der Unwirksamkeit von Herbiziden führen, tritt häufig die so genannte metabolische Resistenz (= nicht Zielortresistenz) in Erscheinung. Anders als bei der TSR sind hier wirkstoffübergreifende Resistenzen möglich, die durch mehr als ein Gen bedingt sind.

Um die Komplexität der NTSR in Ackerfuchsschwanz besser zu verstehen und einen Hinweis auf die Anzahl beteiligter Gene zu bekommen, wurden Einzelpflanzenkreuzungen zwischen metabolisch resistenten und sensitiven Biotypen erzeugt. Sechs verschiedene Biotypen, die sich anhand ihres Resistenzmusters unterscheiden und nachweislich keine Zielortresistenz besitzen, wurden als Eltern ausgewählt. Die Charakterisierung der F₀-Generation erfolgte über Dosis-Wirkungskurven. Für die Einzelpflanzenkreuzungen wurden diese Biotypen angezogen, durch Herbizidbehandlung selektiert und mit sensitiven Biotypen gekreuzt. Die daraus entstandene F₁-Generation wurde erneut ausgesät und durch Herbizidapplikation selektiert. Eine weitere Einzelpflanzenkreuzung der überlebenden Individuen mit einer sensitiven Pflanze wurde vorgenommen (= F₂-Generation). Die Nachkommen der F₂ wurden dann anhand von Aufspaltungsverhältnissen nach Herbizidbehandlung untersucht. Die sechs verwendeten Wirkstoffe waren: Pinoxaden, Fenoxaprop, Chlortoluron, Mesosulfuron, Flufenacet und Prosulfocarb. Hierfür

wurden jeweils 100 F₂-Pflanzen für ca. 8 Wochen im Gewächshaus kultiviert bis sie 7–8 Bestockungstrieb aufwiesen. Durch die Teilung der einzelnen Pflanzen in ihre Bestockungstrieb (= Klone) war die parallele Testung aller genannten Herbizide möglich. Jeder Klon wurde mit einem Herbizid behandelt. Eine Woche nach der Teilung wurden für die blattaktiven Wirkstoffe folgende Dosierungen mit einem Spritzautomat der Firma Schachtner appliziert: 1,2 l/ha Axial 50, 2,4 l/ha Ralon Super, 24,0 l/ha Lentipur 700 und 500 g/ha Atlantis WG. Die beiden bodenaktiven Wirkstoffe Flufenacet und Prosulfocarb wurden in Agar gemischt in den die Klone direkt pikiert wurden. Die Aufwandmengen waren hier 0,05 µM Cadou SC und 25,0 µM Boxer. Die Wirkungsböschung erfolgte vier Wochen nach der Applikation anhand von Wirkungsgradschätzungen.

Die Aufspaltungsverhältnisse von resistenten zu sensitiven Pflanzen ergaben für eine Resistenz bis zu vier beteiligte Geneorte (χ^2 -Test). Dabei zeigten sich sowohl zwischen den Herbiziden wie auch zwischen den Biotypen Unterschiede. Je mehr Geneorte an der Resistenzausprägung der Ausgangseltern beteiligt sind, desto seltener ist diese Resistenzkombination und -stärke in der F₂-Generation zu finden. Eine unabhängige Vererbung der Gene kann angenommen werden. Neben besonders häufigen Resistenzkombinationen (z.B. Lentipur- und Cadou-Resistenz) zeigte sich eine hohe Komplexität der Resistenzmuster, die auf individueller Ebene variierten. Klare Kreuzresistenzen ließen sich bisher nicht detektieren, wodurch die große Variabilität zwischen den Biotypen nochmals deutlich wird.

(DPG AK Herbologie)

9) Chlorophyll fluorescence imaging micro-screening: Eine neue Methode zur Früherkennung von Herbizidresistenz in Unkräutern

Alexander MENEGAT, Yasmin KAISER, Roland GERHARDS

Universität Hohenheim, Fachgebiet Herbologie, 70593 Stuttgart

E-Mail: alexander.menegat@uni-hohenheim.de

Auf Grund der weltweit steigenden Zahl herbizidresistenter Unkrautpopulationen wächst der Bedarf an verlässlichen Schnelltestverfahren zur Detektion von Herbizidresistenz in Unkräutern. Schnelltestverfahren sollen sowohl innerhalb der laufenden, als auch zwischen den Anbauperioden verwendet werden können. Des Weiteren sollen die Verfahren schnell, zuverlässig und einfach in der Handhabung sein. Die Ergebnisse müssen innerhalb weniger Tage zur Verfügung stehen, um eine Anpassung der Herbizidstrategie innerhalb der Saison zu ermöglichen.

In dieser Studie wird ein neues Verfahren auf Basis der bildgebenden Messung der Chlorophyll Fluoreszenz vorgestellt. Das Pflanzenmaterial wird hierfür auf Nährmedien kultiviert, welche mit den zu testenden Herbiziden versetzt sind. Für Tests innerhalb der Saison können hierfür Keimpflanzen direkt auf Verdachtsflächen entnommen werden. Für Tests zwischen den Anbauperioden können Samen von Verdachtspopulationen verwendet werden.

Als Parameter zur Bestimmung der Herbizidwirkung wird die maximale Quanteneffizienz des Photosystems II herangezogen (Fv/Fm). Versuche mit resistenten und sensitiven Unkrautpopulationen haben gezeigt, dass auf diesem Weg Herbizidresistenzen gegenüber den Wirkmechanismen PSII, ACCase, ALS und EPSPS detektiert werden können. Darüber hinaus ermöglicht das Verfahren eine quantitative Beurteilung des Grades der Herbizidresistenz in Form eines Resistenzfaktors. Alle Testergebnisse wurden durch Gewächshaus-Biotests als auch durch molekularbiologische Untersuchungen bestätigt.

Die durchgeführten Experimente demonstrieren das große Potential dieser Methode für die Früherkennung von Herbizid-

resistenz in Unkräutern. Auf Grund des geringen Zeitbedarfs, der geringen Kosten und der einfachen Handhabung eignet sich das vorgestellte Verfahren besonders als Vortest für nachfolgende molekularbiologische Untersuchungen und somit als gute Alternative zu klassischen Gewächshaustests.

(DPG AK Herbologie)

10) Bundesweites Resistenzmonitoring bei Kamille gegenüber ALS-Inhibitoren – Ergebnisse aus molekulargenetischen Untersuchungen

Bernhard JASER¹, Eva M. SVOBODA¹, Lena ULBER², Friedrich FELSENSTEIN¹

¹ Epilogic Freising

² Julius Kühn-Institut (JKI), Braunschweig

E-Mail: bernhard.jaser@epilogic.de

In einem ersten Monitoring zur Erfassung der aktuellen Resistenzsituation bei Kamille gegenüber Acetolactatsynthase-Inhibitoren wurden im Jahr 2011 Proben von Echter und Geruchloser Kamille (*Matricaria recutita* L. und *Matricaria inodora* L.) aus ganz Deutschland gesammelt, ohne dabei bewusst den Schwerpunkt auf gezielte Verdachtsproben zu legen. Zur Prüfung auf Target-site Resistenzen an der Position Pro197 des ALS-codierenden Gens, jener Domäne mit einer bereits bekannten Aminosäuresubstitution bei *M. recutita*, wurden für beide Kamille-Arten etwaige Mutationen durch Pyrosequenzierung bestimmt. Mit gleicher Technik erfolgte eine Artenbestimmung bzw. bei Artenmischungen eine Quantifizierung des Artenanteils für jede Probe zur genaueren Verrechnung des jeweiligen Mutationsanteils in der Gesamtprobe. Knapp 20% der 164 untersuchten Proben zeigten einen deutlich nachweisbaren Anteil an Pro197-Mutationen. Dabei fand sich für *M. recutita* die bereits beschriebene Pro197-Thr in drei Fällen (Schleswig-Holstein und Niedersachsen) wieder, in einer Probe (Schleswig-Holstein) wurde sie auch für *M. inodora* nachgewiesen. In drei Proben (Niedersachsen) wurde für *M. inodora* erstmalig eine Pro197-Gln ermittelt. Zudem wies eine Probe mit *M. inodora* aus Schleswig-Holstein ein weiteres neues Allel mit einer Pro197-Ser Mutation auf. Alle diese Mutationen lagen in den meisten Fällen zu relativ hohen Anteilen in der jeweiligen Gesamtprobe vor (20,3 bis 68,0%, Ausnahme: eine Pro197-Thr bei *M. recutita* mit 7,8%). Bei weiteren 24 Proben (Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Brandenburg, Thüringen und Bayern) wurden Pro197-Ser Mutationen auch für *M. recutita* detektiert, die sich allerdings in meist etwas geringeren Anteilen in den jeweiligen Gesamtpuben widerspiegeln (0,4 bis 7,4%, Ausnahme: eine Probe mit 13,5%).

Kamille mit Resistenzmutation wurde in all jenen Bundesländern gefunden, die sich mit einer ausreichend hohen Probenanzahl (> 10) am Monitoring beteiligt hatten. Nur in Bundesländern mit geringerer Stichprobenzahl konnte keine Mutation nachgewiesen werden. Bei der Verteilung der Mutationen ist keine ausgeprägte regionale Differenzierung erkennbar, die auf gebietspezifische Gegebenheiten zurückzuführen wäre, welche den Selektionsdruck und die damit einhergehende Akkumulation resistenter Biotypen beeinflussen. Vielmehr muss davon ausgegangen werden, dass eine Target-site Resistenz mittlerweile nahezu überall im Land zu finden sein dürfte, sofern die Probenzahl entsprechend hoch liegt. Allerdings ist auch anzumerken, dass die vorliegenden molekularen Erhebungen für einige norddeutsche Gebiete (Nordseeküste, östliches Niedersachsen im Raum Hannover-Braunschweig) eine doch relativ weiter fortgeschrittene Resistenzsituation bzw. gewisse ‚Hotspots‘ in der Resistenzentwicklung anzeigen. Diese liegen auch relativ deckungsgleich mit den Untersuchungsergebnissen der biologischen Analysen am JKI. Die derzeitige Resistenzsituation bei

Kamille in Deutschland lässt somit bereits ein gewisses Gefährdungspotenzial erkennen. Künftige Entwicklungen sollten aufmerksam beobachtet werden. Damit einhergehend müssen Antiresistenzmanagementstrategien besondere Beachtung finden, um die Leistungsfähigkeit der zur Verfügung stehenden ALS-Wirkstoffe möglichst langfristig zu erhalten.

(DPG AK Herbologie)

11) Bundesweites Resistenzmonitoring bei Kamille gegenüber ALS-Inhibitoren – Ergebnisse aus Biotests

Lena ULBER, Peter ZWARGER

Julius-Kühn-Institut, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig

E-Mail: lena.ulber@jki.bund.de

Im Jahr 2011 wurde vom Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland des Julius Kühn-Instituts (JKI) in Zusammenarbeit mit der Firma EpiGene GmbH ein bundesweites Resistenz-Monitoring bei Kamille-Arten initiiert. Dazu wurden im Sommer 2011 explizit nicht nur Resistenz-Verdachtsflächen sondern auch zufällig ausgesuchte Flächen mit einem entsprechenden Besatz an Kamille-Pflanzen beprobt. Die Samenproben aus dem Monitoring wurden am JKI in Braunschweig in einem standardisierten Biotestverfahren in Klimaschränken getestet. Dabei wurden die Populationen mit den folgenden zwei Wirkstoffen der HRAC-Gruppe B (ALS-Inhibitoren) auf verminderte Sensitivität getestet: Tribenuron-Methyl (Pointer SX) und Florasulam (Primus) [jeweils 6,25% und 50% der zugelassenen Aufwandmenge]. Bei einer beobachteten reduzierten Empfindlichkeit wurden die Populationen zudem mit 100% der zugelassenen Aufwandmenge untersucht.

Untersucht wurden 78 Proben der Geruchlosen Kamille (*Tripleurospermum perforatum*) und 24 Proben der Echten Kamille (*Matricaria recutita*). Dabei wurde im Biotest bei 9% der Populationen eine Resistenz gegen Tribenuron-Methyl bei 100% der zugelassenen Aufwandmenge festgestellt. In Dosis-Wirkungs-Versuchen konnte auch mit einer 4fachen Aufwandmenge keine ausreichende Bekämpfung dieser Populationen erreicht werden. Die als resistent eingestuft Populationen zeigten auch gegenüber Florasulam eine etwas geringere Empfindlichkeit, die aber nur nach einer Behandlung mit reduzierten Aufwandmengen beobachtet werden konnte. Zudem wurden bei einigen resistenten Populationen Kreuzresistenzen gegenüber weiteren Sulfonylharnstoffen wie Metsulfuron und Tritosulfuron beobachtet. Die Mehrzahl der resistenten Populationen stammte aus Schleswig-Holstein (Westküste) bzw. aus Niedersachsen (Elberegion), einzelne Proben auch aus Südniedersachsen. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Resistenz gegenwärtig bei der Geruchlosen Kamille etwas häufiger auftritt als bei der Echten Kamille.

(DPG AK Herbologie)

12) Die Verbreitung von herbizidresistenten *Chenopodium album* Biotypen

Antje-Viola KALFA¹, Heike THIEL², Mark VARRELMANN²

¹ Feinchemie Schwebda GmbH, Edmund-Rumpler-Str. 6, 51149 Köln, Germany

² Institut für Zuckerrübenforschung, Abteilung Phytomedizin, Holtenser Landstr. 77, 37079 Göttingen, Germany

E-Mail: antje.kalfa@fcs-feinchemie.com

Die Verbreitung von *Chenopodium album* Biotypen mit verschiedenen „target site“ Mutationen gegenüber Herbiziden mit PSII-Inhibitorwirkung wurde in einem Monitoring in sieben euro-