

· 专论与综述 ·

杂草对 AHAS抑制剂的抗药性分子机理研究进展

隋标峰, 张朝贤*, 崔海兰, 张猛, 黄红娟, 魏守辉

(中国农业科学院植物保护研究所, 杂草鼠害生物学与治理重点开放实验室, 北京 100193)

摘要: 除草剂在田间的重复及不合理使用, 导致了杂草抗药性的发生和发展。其中 AHAS 抑制剂由于靶标单一, 抗性发展十分迅速。截至 2009 年, 已有 103 种杂草对 AHAS 抑制剂产生了抗药性, 占 19 类化学除草剂总抗药性杂草生物型的近 1/3。从 AHAS 基因突变位点及种类与杂草抗药性水平的关系、AHAS 基因突变与 AHAS 酶活性的关系、AHAS 基因拷贝数与杂草抗药性的关系以及 AHAS 酶与除草剂结合前后的三维结构等方面, 综述了杂草对 AHAS 抑制剂产生抗药性的机理, 旨在为 AHAS 抑制剂抗性研究提供参考。并对自然种群目标基因的等位基因检测技术 (ECOTILLING) 和衍生型酶切扩增多态性序列 (dCAPS) 两种通过检测等位基因多态性的手段快速诊断抗药性杂草的新技术进行了介绍, 讨论了延缓杂草抗药性发生和发展的策略。

关键词: AHAS 抑制剂; 杂草; 抗药性; 机制; 快速检测和诊断

DOI 10.3969/j.issn.1008-7303.2009.04.01

中图分类号: S481.4 S482.4

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2009)04-0399-08

Advances in Molecular Mechanism of AHAS-inhibiting Herbicides Resistance

SUI Biao-feng ZHANG Chao-xian*, CUI Hai-lan ZHANG Meng
HUANG Hong-juan WEI Shou-hui

(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Weed and Rodent Biology and Management, CAAS, Beijing 100193, China)

Abstract Repeated and unreasonable field application of herbicides have resulted in the evolution of resistant weed species. AHAS is the target site of AHAS-inhibiting herbicides. By 2009, 103 weed biotypes have showed resistance to AHAS-inhibiting herbicides, accounting for nearly 1/3 of total weed biotypes resistant to 19 chemical groups. The relationship between AHAS gene mutation sites/types and the level of herbicide resistance, AHAS gene mutations and AHAS activity, AHAS gene number and herbicide resistance, and the 3D structure of AHAS before and after binding with AHAS-inhibiting herbicides were reviewed. ECOTILLING and dCAPS, two new techniques for rapidly diagnosing herbicide resistance by detecting SNP were brought forward and potential management strategy for preventing and delaying the herbicide resistance evolution in weeds was also discussed.

Key words AHAS-inhibiting herbicides; weed resistance; mechanism; rapid diagnosis and detecting

收稿日期: 2009-02-27 修回日期: 2009-06-15

作者简介: 隋标峰 (1981-), 男, 山东东营人, 博士研究生, 主要从事杂草抗药性研究, E-mail: biaoengsu@tom.com; * 通讯作者 (Author for correspondence): 张朝贤 (1955-), 男, 河南人, 研究员, 博士, 主要从事杂草科学研究, 联系电话: 010-62815937, E-mail: cxzhang@wssc.org.cn

基金项目: “十一五”国家科技支撑重大项目 (2006BAD08A09) 资助。

乙酰羟酸合成酶 (acetohydroxyacid synthase AHAS, EC 2.2.1.6) 与乙酰乳酸合成酶 (acetolactate synthase ALS, EC 4.1.3.18) 催化支链氨基酸——亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸生物合成的第一步反应, 形成乙酰羟基丁酸或者乙酰乳酸^[1]。由于抑制乙酰乳酸合成酶的除草剂也抑制乙酰羟酸合成酶, 因此, 往往将这一大类除草剂统称为 AHAS 抑制剂或 ALS 抑制剂。目前, 全球除草剂市场上的 AHAS 抑制剂家族主要有以下 5 大类: 磺酰脲类 (sulfonylureas, SU)^[2]、咪唑啉酮类 (imidazolinones, MI)^[3]、嘧啶硫代苯甲酸酯类 (pyrimidinylthiobenzoates, PTB)^[4]、三唑并嘧啶类 (triazolopyrimidines, TP)^[5] 和磺酰胺羰基三唑啉酮类 (sulfonylaminocarbonyltriazolinones, SCT)^[6]。

随着除草剂的广泛使用, 杂草抗药性问题越来越严重, 已成为农田中杂草防除的一个重大问题。笔者统计了过去 5 年发表在《Weed Science》《Weed Research》《Weed Technology》和《Weed Biology and Management》中有关杂草对除草剂产生抗药性的文章, 目前已达 200 篇以上, 其中对 AHAS 抑制剂抗药性的报道亦有 52 篇之多, 为各类除草剂之首, 是全球杂草抗药性研究的热点。

杂草对 AHAS 抑制剂的抗性机理主要包括两个方面: 多数情况下抗性的发生是由于 AHAS 基因保守区中某个位点的突变, 使得 AHAS 分子结构发生改变, 导致靶标酶对 AHAS 抑制剂的敏感性降低^[7-10], AHAS 的过量表达目前仅在抗性的玉米自交系和西亚大蒜芥 *Sisymbrium orientale* 中被发现^[11-12]; 而非靶标位点的抗性则主要是由于代谢酶活性的增强^[13-14], 但是一般很难形成较高的抗性^[15]。近几年来, 国内外多数学者关于杂草抗 AHAS 抑制剂的研究主要集中在基因水平和靶标酶晶体结构上, 因此, 笔者重点从除草剂靶标酶 AHAS 基因位点突变、AHAS 基因拷贝数和 AHAS 三维结构等方面就杂草对 AHAS 抑制剂抗药性分子机理的研究进展作一扼要介绍, 以期对 AHAS 抑制剂抗性的深入研究和新型 AHAS 抑制剂的开发提供参考。

1 杂草对 AHAS 抑制剂抗性的发生与发展

AHAS 抑制剂作用位点单一, 极易产生抗药性。第一个对 AHAS 抑制剂产生抗药性的杂草毒莠苣 *Lactuca serriola*, 是在磺酰脲类除草剂应用后

第 5 年即 1987 年被发现的^[16-17]。AHAS 抑制剂自 20 世纪 80 年代使用以来, 其抗药性杂草生物型迅速形成, 数量逐年递增 (图 1)。从 1987 年到 2000 年短短 13 年的时间, 其杂草抗药性生物型迅速增加到 70 多个, 截止到 2009 年 10 月, 34 个国家和地区已有 103 种杂草对 AHAS 抑制剂产生了抗药性, 涉及禾本科、十字花科、菊科、藜科、苋科、蓼科、莎草科、石竹科、千屈菜科、泽泻科、旋花科、雨久花科等植物, 占 19 类化学除草剂总抗药性杂草生物型的近 1/3。其中 39 种发生在美国, 20 种在澳大利亚, 19 种在加拿大, 9 种在日本^[18]。中国正式报道的有 3 种, 分别是雨久花 *Monochoria korsakowii*、慈姑 *Sagittaria montevidensis* 对苄嘧磺隆和吡嘧磺隆^[19-20] 及播娘蒿 *Descurainia sophia* 对苯磺隆^[7, 21] 的抗药性。2008 年全球新增加的抗 AHAS 抑制剂杂草种类有芥菜 *Capsella bursa-pastoris* 和不实野燕麦 *Avena sterilis*^[18]。

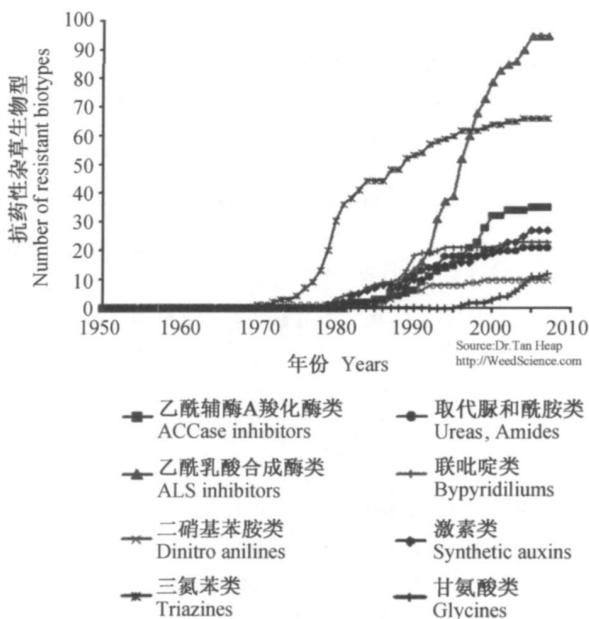


图 1 对不同类除草剂产生抗药性的杂草生物型^[18]

Fig 1 Resistant weed biotypes to various herbicides^[18]

2 AHAS 氨基酸突变与杂草抗药性

目前, 通过实验室和自然选择, 在植物、酵母和细菌中已经鉴定出 17 种氨基酸的取代与 AHAS 抑制剂抗药性有关^[22] (图 2)。

有关杂草对 AHAS 抑制剂的抗性主要是由于编码 AHAS 催化亚基基因保守区中以下 6 个氨基

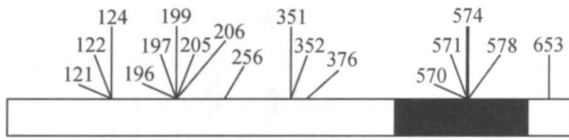


图 2 AHAS基因的编码序列^[9, 23]

Fig 2 Coding sequence of the AHAS gene based on that of *Arabidopsis*^[9, 23]

注: 数字表示真核和原核生物中与杂草抗药性相关的 17 个密码子的氨基酸位置(氨基酸位数以拟南芥 *Arabidopsis thaliana* AHAS 氨基酸序列为标准); 黑色部分代表原核生物分析区域。

Note: Upper numbers indicate the amino acid position of 17 codons known to influence herbicide resistance among eukaryotic and prokaryotic organism (coding sequence of the AHAS gene based on that of *Arabidopsis*); black shading indicates the region for phylogenetic analysis

酸位点中的一个或多个被取代所致: 丙氨酸 Ala122, 脯氨酸 Pro197, 丙氨酸 Ala205, 天冬氨酸 Asp376, 色氨酸 Trp574 和丝氨酸 Ser653^[8-9, 24-26], 即 122 位的丙氨酸被苏氨酸取代, 197 位的脯氨酸被组氨酸或苏氨酸、精氨酸、亮氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、丙氨酸、异亮氨酸取代, 205 位的丙氨酸被缬氨酸取代, 376 位的天冬氨酸被谷氨酸取代, 574 位的色氨酸被亮氨酸取代, 653 位的丝氨酸被苏氨酸或天冬酰胺取代。这些位点氨基酸的取代导致除草剂与杂草 AHAS 亲和力下降, 而抗药性程度则取决于 AHAS 上氨基酸取代位点及种类^[25], 如 Trp574Leu 与杂草对所有种类 AHAS 抑制剂的交互抗性有关, Ala122Thr 仅与 MI 类除草剂抗药性有关, 而 Ala205Val 与 Trp574Leu 对抗性产生的作用类似^[27]。

最近, Sales 等^[28]在研究稻田杂草红稻 *Oryza sativa* 对咪唑乙烟酸的抗药性问题时鉴定出两个新的突变位点 Gly654Glu 和 Val669Met 并认为这两个位点的突变是红稻对咪唑乙烟酸产生抗药性的主要原因。

AHAS 基因突变与抗性和敏感杂草生物型本身 AHAS 酶活性的高低没有相关性。为了确定 Ala205Val 是龙葵 *Solanum ptychanthum* R 生物型产生抗药性的原因, Ashigh^[11]分别提取和测定了抗性生物型 R1 和敏感生物型 S2 中 AHAS 酶的比活力, 结果表明, R1 中 AHAS 酶的比活力比 S2 低 47%; Eberlein 等^[29-30]在研究毒莴苣和莴苣 *Lactuca sativa* 抗性 (Pro197His) 和敏感生物型时也得出同样的结论。而 Yu 等^[25]在研究野萝卜 *Raphanus raphanistrum* 抗性和敏感生物型时发现

所有抗性生物型 AHAS 比活力比敏感生物型高 3 ~ 5 倍, 但是 Northern 杂交分析显示了抗性和敏感生物型具有相似的 AHAS mRNA 水平, 这可能与 AHAS 酶翻译和翻译后调节有关。

3 AHAS 基因拷贝数与杂草抗药性

在很多生物物种中, AHAS 基因都以基因家族的形式出现。一般在一种生物体中可能存在多个与 AHAS 基因同源性很高的基因, 但不是每个基因都能发挥与 AHAS 相应的功能, 不同的生物体内 AHAS 基因的拷贝数也不同, 有的只有 1 个拷贝, 有的却存在着多个拷贝。比如酵母中就只存在 1 个有功能的 AHAS 基因^[31]。以酵母的 AHAS 基因作探针, 首先从拟南芥和烟草 *Nicotiana tabacum* 的基因组文库中克隆获得了 AHAS 基因^[32]。比较发现, 烟草和拟南芥的 AHAS 基因大约有 75% 的相似性, 所编码的成熟蛋白的相似性达 85%, 而在蛋白 N 端引导蛋白向叶绿体转移的信号肽间同源性则很低。拟南芥和烟草 AHAS 基因均无内含子, AHAS 基因在拟南芥中有 1 个拷贝, 在烟草中则有 2 个拷贝^[32]。

用拟南芥的 AHAS 基因作探针, Rutledge 等人^[33]通过控制 Southern 杂交条件, 在甘蓝型油菜 *Brassica napus* 基因组内发现存在 5 个 AHAS 基因拷贝 (AHAS1-5)。他们的研究表明, 芸苔属植物中 AHAS 基因以多基因家族的形式存在, 其多样性超过烟草和拟南芥。DNA 序列分析表明, AHAS1 和 AHAS3 有着广泛的同源性, 它们可能编码植物生长和发育所必须的 AHAS 酶; AHAS2 与 AHAS1 和 AHAS3 在 DNA 序列上差异较大, 并在成熟蛋白编码区、N 端叶绿体转运肽的编码区及基因上游非编码区均具有独特的特征, 表明 AHAS2 酶可能具有不同的功能; AHAS4 和 AHAS5 的编码区被打断, 可能是缺失的 AHAS 基因。Ohsako 等^[34]的研究表明, 鸭舌草 *Monochoria vaginalis* 基因组中存在 6 个同源的 AHAS 基因, 其中已经鉴定出 AHAS1、AHAS2、AHAS3 和 AHAS4 的功能, 但是只有 AHAS1 和 AHAS3 中氨基酸位点突变与抗药性有关。

为了检验抗药性杂草生物型本身较高的 AHAS 活力是否与 AHAS 基因的过量表达有关, Yu 等^[25]利用 Northern 杂交的方法分析了野萝卜抗性和敏感生物型 AHAS 基因的转录水平, 结果

发现两种生物型 AHAS mRNA 的量并没有明显的差异。相反,在转基因烟草中转入的拟南芥野生型 AHAS 基因的表达使 AHAS mRNA 的量增加了 25 倍,但是其 AHAS 比活力只增加了 2 倍,这表明 AHAS 活性水平与 AHAS mRNA 的量没有相关性^[35]。AHAS 的过量表达仅在抗性的玉米自交系和西亚大蒜芥中被发现^[11-12]。

目前,有关植物体内 AHAS 基因拷贝数与杂草抗药性关系的研究较少。Southern 杂交技术和实时荧光定量 PCR 技术是获取植物体内基因拷贝数的常用方法。笔者认为,通过确定植物体内 AHAS 基因拷贝数和发挥 AHAS 基因功能的 AHAS 基因的数目,从而揭示其与抗药性程度的关系值得深入研究。

4 AHAS 三维结构与杂草抗药性

AHAS 基因及其编码的蛋白首先在大肠杆菌 *E. coli* 中被发现。大肠杆菌 AHAS 酶是由两个催化亚基和两个调节亚基组成的四聚体,其中调节亚基与 AHAS 酶活性和支链氨基酸的生物合成有关^[36]。目前已经知道,AHAS 系核编码、固定于高等植物叶绿素中的一种黄素蛋白^[22-37]。

随着化学分析技术的飞速发展,澳大利亚昆士兰大学的 Duggleby 教授^[38-40]通过 X-射线晶体衍射技术获得了酵母和拟南芥 AHAS 酶的 3D 结构。拟南芥 AHAS 酶 (AtAHAS) 的 3D 结构显示其由 4 个相同的亚基组成,每个亚基包括 3 个区域: α 区 (第 86~280 个氨基酸残基)、 β 区 (第 281~451 个氨基酸残基)、 γ 区 (第 463~639 个氨基酸残基) 加上一个 C 末端尾巴区 (第 646~668 个氨基酸残基)^[41] (图 3)。到目前为止,有关植物 AHAS 酶 C 末端的晶体结构还未见报道^[28]。当缺少 AHAS 抑制剂时,酵母 AHAS 酶 (ScAHAS) 的 γ 区和 C 末端区是混乱的^[38-41],而当磺酰脲类抑制剂存在时,酵母 AHAS 酶的 γ 区形成一个“可移动的环”使 C 末端区覆盖住活性位点^[39,42] (图 4, 5)。

AtAHAS 酶的 3D 结构解释了 AHAS 保守区中 6 个氨基酸位点突变情况与杂草抗药性的关系。其中 Trp574 位点的突变能够使杂草对 SU 类和 MI 类抑制剂均产生抗性,其原因一方面是 Trp574 残基决定着 AHAS 酶活性位点通道的形状,另一方面 Trp574 在 SU 类和 MI 类抑制剂与酶的结合中起着重要作用。目前已知 Pro197 突变为 8 种不同的氨基酸与杂草抗药性有关^[19-22]。虽

然 Pro197 被这 8 种不同氨基酸中的任何一种取代都能引起杂草对 SU 类抑制剂的抗性,但是只有当 Pro197 被 Leu 取代时,杂草对 MI 类抑制剂才表现出非常强的抗药性^[43]。Pro197 位于 AHAS 酶活性位点通道入口 α 螺旋的一端,它可与 SU 类抑制剂的芳香环结合,但与 MI 类抑制剂咪唑喹啉酸 (mazaquin, Q) 无直接作用, Q 仅结合在 AHAS 酶活性位点通道的中间位置。由于此原因,Pro197 只有被大的氨基酸残基取代时才能阻碍 MI 类抑制剂的进入,而 Pro197 被上述 8 种氨基酸中任一种取代都能阻止 SU 类抑制剂与 AHAS 酶的结合^[41]。

Ser653 被 Asn 取代和 Ala122 被 Thr 取代可使杂草对 M 类抑制剂产生很强的抗性,但是对 SU 类抑制剂的抗性并不强^[44-45]。Ala122 与二氢咪唑啉酮环的甲基和异丙基间有着重要的疏水衔接,如果 Ala122 突变为极性较大的氨基酸如苏氨酸时,抑制剂将很难接近 AHAS 酶的活性位点;而 Ala122 只与氯嘧磺隆 (chlorimuron-ethyl CE) 结构中大的乙酯取代基相互作用,与其他的 SU 类抑制剂中的乙酯取代基则没有相互作用。如果侧链方位正确,Ser653 突变为天冬酰胺不会影响 AHAS 酶与 SU 类抑制剂的结合,如果 Ser653 被较大的氨基酸取代则会明显削弱 MI 类抑制剂与 AHAS 酶的结合,因为其将占据咪唑啉酮芳香环所需的空位^[41]。

除草剂与靶标酶 AHAS 结合后的 3D 结构解析可帮助我们直观地解释发生突变的杂草或植物是如何对除草剂产生抗性的,这为进一步揭示杂草对 AHAS 抑制剂的抗药性机理以及新型除草剂的设计提供了帮助^[23,46]。

5 杂草抗药性研究新技术

AHAS 抑制剂是目前最容易产生抗药性的除草剂种类之一,抗药性杂草的快速诊断和检测对于经济而有效地控制 AHAS 抑制剂抗性杂草的发生和发展非常重要。

最近几年在杂草抗药性研究方面涌现出了几种新技术,自然种群目标基因的等位基因检测技术 (ECOTILLING) 便是其中之一,它是利用反向遗传学的方法由定向诱导基因组局部突变 (TILLING) 技术发展起来的快速检测自然群体中等位基因多态性的一种新技术。其原理是:提取

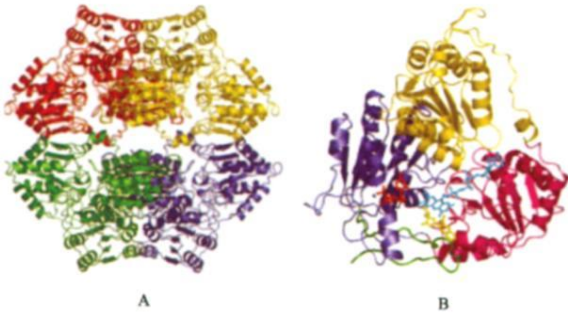


图 3 拟南芥 AHA S折叠结构^[41]

Fig 3 The overall fold of AHA S^[41]

注: (A)四聚体(每个单体用不同颜色表示)。 (B)单个亚基。其中 α 区(86~280), β 区(281~451), γ 区(463~639)分别用金黄色、红色和蓝色部分表示。C末端尾巴区(646~668)用绿色部分表示。焦磷酸硫胺素(ThDP)、 Mg^{2+} 、黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)和 Q 用球-棒模型表示,分别为红色、深蓝色、青色和黄色部分。

Note (A) The tetrameric structure with each monomer colored separately. (B) A single subunit. The individual domains α (86-280), β (281-451), and γ (463-639) are colored in gold, red and blue, respectively. The C-terminal tail (646-668) is colored green. ThDP, Mg^{2+} , FAD, and Q are shown as ball-and-stick models and are colored red, dark blue, cyan, and yellow, respectively.

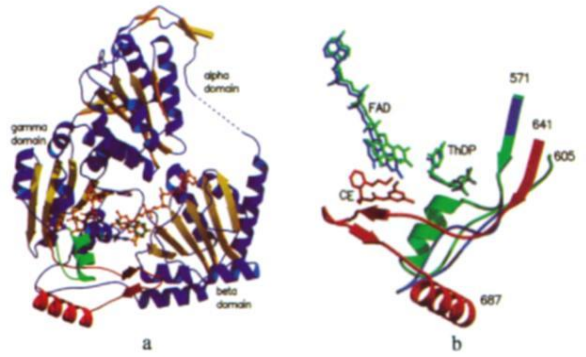


图 4 酵母 AHA S-CE 复合物中单体 B 结构 (a)和酵母 AHA S在有/无 CE时的结构差异 (b)^[39]

Fig 4 Structure of monomer B in the ScAHA S-CE complex (a) and major differences in the structure of yeast AHA S in the presence and absence of CE (b)^[39]

注: (a)自由酶结构中未观察到的氨基酸残基用绿色(可移动的环)和棕色(C末端尾部)表示。ThDP和 FAD用棕褐色的球-棒模型表示。CE用多色的球-棒模型表示。(b)CE存在时,可移动的环、FAD和 ThDP用绿色部分表示;CE不存在时,用蓝色部分表示。C末端尾部和 CE用棕色部分表示。

Note (a) The amino acid residues that are not observed in the structure of the free enzyme are colored green (the mobile loop) and brown (the C-terminal tail). ThDP and FAD are displayed as tan-colored ball-and-stick models. CE is depicted as a multi-colored ball-and-stick model. (b) The mobile loop region, FAD, and ThDP are shown in green (with CE) and blue (without CE). The C-terminal tail and CE are shown in brown.

一定数量待检测对象的单株 DNA 与标准样品 DNA 1:1混合,置于 96孔微量滴定板中,用标记有荧光染料的特异性引物扩增目的基因,扩增产物变性退火形成异源双链核酸分子,再用一种特异的切割错配碱基的内切酶酶切。酶切产物经变

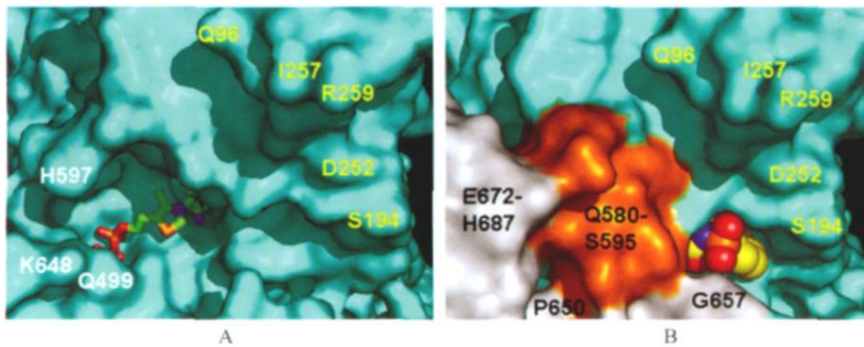


图 5 与除草剂结合前(A)后(B)酵母 AHA S中催化亚基结构比较^[42]

Fig. 5 Comparison of the structure of the catalytic subunit of ScAHA S before (A) and after (B) binding with herbicide^[42]

注: (A)与除草剂结合前, ThDP(A图中棒状模型)暴露在溶剂中; (B)与除草剂结合后,橙色(580~595)和灰色(650~687)区域变得有序,并且遮住了 ThDP和部分氨基酸残基(如 Q 499, H 597和 K 648)。B图中球状结构代表磺酰脲类除草剂 CE从橙色和灰色区域残基形成的通道顶部伸出。

Note (A) Prior to herbicide binding ThDP (shown as a stick model) is exposed to the solvent. (B) After herbicide binding the orange region (580-595) and the grey region (650-687) become ordered burying ThDP and residues such as Q 499, H 597 and K 648. The solid spheres represent the sulfonyl urea (CE) protruding from the top of the tunnel created by the ordering of the residues colored in orange and grey.

性聚丙烯酰胺凝胶电泳,即可检测到在不同错配位置切端的 DNA 片断。最后经过测序,验证错配碱基及其位置,证实等位基因的多态性。Wang 等^[27]利用 ECOTILLING 技术快速有效地检测出了抗 SU 类抑制剂的不同种群鸭舌草 AHAS 基因保守区 Domain A 中的 Pro197 分别突变为 His 和 Ser。传统的基因突变检测方法,如变性梯度凝胶电泳 (denaturing gradient gel electrophoresis DGGE) 和单链构象多态性 (single strand conformation polymorphism, SSCP) 都不能确定 DNA 片段中单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 的位置和类型;等位基因特异 PCR (allele-specific PCR, A SPCR) 只能检测已知的突变。而 ECOTILLING 技术既能检测已知的突变位点又能检测新的突变位点,并且由于其价格低廉、省时和可用于高通量测定,已经成为杂草科学研究中的重要方法。

抗性杂草 AHAS 等位基因检测是诊断杂草对 AHAS 抑制剂是否产生抗药性的最快速和最准确的方法^[47]。衍生型酶切扩增多态性序列 (the derived cleaved amplified polymorphic sequence, dCAPS) 是另一种通过等位基因检测快速准确诊断 AHAS 抑制剂抗性杂草的方法。利用 dCAPS 技术在引物中导入错配碱基,使扩增的序列在一个生物型中具有限制性酶切位点,而在另一生物型中没有,PCR 产物经限制性内切酶酶切,通过限制性图谱分析可知 SNP 的存在与否,从而检测出某个位点的突变^[48]。dCAPS 也可用于识别 SNP 的类型,而限制性片段长度多态性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 和 A SPCR 技术则不能。

6 结语

杂草能够对不同类型的除草剂产生抗性而使抗性杂草的种类和数量不断增加,其原因归根结底是由于杂草潜在的遗传多样性^[49]。有关除草剂靶标酶分子生物学和三维结构的深入研究,将为科学使用和保护 AHAS 抑制剂类除草剂及开发新型该类除草剂提供理论基础。抗性杂草,尤其是以相同或不同的抗性机制对作用机制相同或完全不同的除草剂产生交互抗性和多抗性的杂草,向当今过分依赖化学除草剂的杂草治理方式提出了严峻的挑战,给杂草的有效治理和现代农

业生产造成了巨大威胁^[50]。现阶段,我国农田杂草治理仍以化学除草为主,且处于快速发展阶段。与发达国家相比,我国杂草抗药性研究起步较晚,研究技术和仪器设备相对落后,正式报道的抗药性杂草种类不多。我国除草剂混剂应用占有较大比例,这在一定程度上延缓了杂草抗药性的发展。同时我们不得不意识到,相对滞后的杂草抗药性研究也一定程度地掩盖了我国杂草抗药性程度的真相。因此,必须高度关注我国杂草抗药性的发展,尤其应格外关注多位点突变引起的杂草抗药性研究。必须针对我国杂草抗药性现状,借鉴国外先进的抗药性研究及监控技术,建立抗药性杂草预测预报、快速检测和治理的综合体系,并在杂草治理中充分发挥农艺措施、生态调控等综合措施的作用,科学合理应用除草剂,延缓杂草抗药性的发生,延长除草剂的使用寿命,以保障杂草的有效治理和农业可持续发展。

参考文献:

- [1] ASHIGH J, TARDIF F J. An Ala205Val Substitution in Acetylhydroxyacid Synthase of Eastern Black Nightshade (*Solanum ptychanthum*) Reduces Sensitivity to Herbicides and Feedback Inhibition [J]. *Weed Sci*, 2007, 55: 558-565.
- [2] RAY T B. Site of Action of Chlorsulfuron [J]. *Plant Physiology*, 1984, 75: 827-831.
- [3] SHANER D L, ANDERSON P C, STIDHAM M A. Imidazolinones: Potential Inhibitors of Acetylhydroxyacid Synthase [J]. *Plant Physiology*, 1984, 76: 545-546.
- [4] TAKAHASHI S, SHIGEMATSU S, MORITA A. KH-2031, a New Herbicide for Cotton [C]. Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference, Farnham, UK: Brighton Crop Protection Council, 1991: 57-62.
- [5] GERWICK B C, SUBRAMANIAN M V, LONEY-GALLANT V L. Mechanism of Action of the 1, 2, 4-Triazolo [1, 5- α] pyrimidines [J]. *Pestic Sci*, 1990, 29: 357-364.
- [6] VENCILL W K. Herbicide Handbook [K]. Lawrence, KS: Weed Science Society of America, 2002: 369.
- [7] CUI H L, ZHANG C X, ZHANG H J et al. Confirmation of Flaxweed (*Descurainia sophia*) Resistance to Tribenuron in China [J]. *Weed Sci*, 2008, 56: 775-779.
- [8] TRANEL P J, WRIGHT T R. Resistance of Weeds to ALS-inhibiting Herbicides: What Have We Learned? [J]. *Weed Sci*, 2002, 50: 700-712.
- [9] TRANEL P J, WRIGHT T R, HEAP I M. ALS Mutations from Herbicide-resistant Weeds [DB/OL]. (2008-01). URL: <http://www.weedscience.org>
- [10] BOU TSALIS P, KAROTAM J, FOWLES S B. Molecular Basis of Resistance to Acetolactate Synthase-inhibiting Herbicides in

- Sisymbrium Orientale and Brassica Toumefortii [J]. Pestic Sci, 1999, 55: 507- 516.
- [11] FORLANIG, NIELSEREN F, LANDI P, et al Chbrosulfuron Tolerance and Acetolactate Synthase Activity in Com (Zea mays L.) Inbred Lines [J]. Weed Sci, 1991, 39: 553- 557.
- [12] BOUTSALIS P, KAROTAM J, POWLES S B. Molecular Basis of Resistance to Acetolactate Synthase-inhibiting Herbicides in Sisymbrium orientale and Brassica toumefortii [J]. Pestic Sci, 1999, 55: 507- 516.
- [13] SU Biao-feng (隋标峰), WANG Jin-xin (王金信), PENG Xue-gang (彭学岗), et al 麦田不同杂草对苯磺隆敏感性差异的分子机制 [J]. Acta Phytophycaica Sinica (植物保护学报), 2007, 34(2): 204- 208.
- [14] CHRISTOPHER J T, POWLES S B, HOLTUM J A M. Resistance to Acetolactate Synthase-inhibiting Herbicides in Annual Ryegrass (Lolium rigidum) Involves at Least Two Mechanisms [J]. Plant Physiol, 1992, 100: 1909- 1913.
- [15] DEVNEM D. Mechanisms of Resistance to Acetyl-coenzyme A Carboxylase Inhibitors: a Review [J]. Pestic Sci, 1997, 51: 259- 264.
- [16] MALLORY-SMITH C A, THILL D C, DIAL M J. Identification of Herbicide Resistant Prickly Lettuce (Lactuca serriola) [J]. Weed Technol, 1990, 4: 163- 168.
- [17] PARK K W, MALLORY-SMITH C A. Physiological and Molecular Basis for ALS Inhibitor Resistance in Bromus Tectorum Biotypes [J]. Weed Res, 2004, 44: 71- 77.
- [18] HEAP I. International Survey of Herbicide Resistance Weeds [EB/OL]. [2009-06]. URL <http://www.weedscience.org>
- [19] WU Ming-gen (吴明根), CAO Feng-qiu (曹凤秋), LIU Liang (刘亮). 磺酰脲类除草剂对抗、感性雨久花乙酰乳酸合成酶活性的影响 [J]. Acta Phytophycaica Sinica (植物保护学报), 2007, 34(5): 545- 548.
- [20] WU Ming-gen (吴明根), WU Song-quan (吴松权), PIAO Ren-zhe (朴仁哲), et al 磺酰脲类除草剂对抗、感性慈姑ALS活性的影响 [J]. Agrochemicals (农药), 2007, 46(10): 701- 703.
- [21] XU Xian (许贤), WANG Gui-qi (王贵启), ZHANG Hong-jun (张宏军), et al 河北省境内播娘蒿对苯磺隆抗药性研究初报 [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica (西北农业学报), 2008, 17(2): 270- 273.
- [22] DUGGLEBY R G, PANG S S. Acetylhydroxyacid Synthase [J]. Biochem Mol Biol, 2000, 33: 1- 36.
- [23] ZHOU Q Y, LIU W P, ZHANG Y S et al. Action Mechanism of Acetolactate Synthase-inhibiting Herbicides [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2007, 89: 89- 96.
- [24] WHALEY C M, WILSON H P, WESTWOOD J H. A New Mutation in Plant ALS Confers Resistance to Five Classes of ALS-inhibiting Herbicides [J]. Weed Sci, 2007, 55: 83- 90.
- [25] YU Q, HASHEM A, POWLES S B, et al. ALS Gene Proline (197) Mutations Confer ALS Herbicide Resistance in Eight Separated Wild Radish (Raphanus raphanistrum) Populations [J]. Weed Sci, 2003, 51: 831- 838.
- [26] YU Q, HAN H, POWLES S B. Mutations of the ALS Gene Endowing Resistance to ALS-inhibiting Herbicides in Lolium rigidum Populations [J]. Pest Management Science, 2008, 64: 1229- 1236.
- [27] WANG G X, TAN M K, RAKSHIT S, et al. Discovery of Single-nucleotide Mutations in Acetolactate Synthase Genes by Eco-tilling [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2007, 88: 143- 148.
- [28] SALES M A, SHIVRAN V K, BURGOS N R, et al. Amino Acid Substitutions in the Acetolactate Synthase Gene of Red Rice (Oryza sativa) Confer Resistance to Imazethapyr [J]. Weed Sci, 2008, 56: 485- 489.
- [29] EBERLEIN C V, GUTTIERI M J, BERGER P H, et al. Physiological Consequences of Mutation for ALS-inhibitor Resistance [J]. Weed Sci, 1999, 47: 383- 392.
- [30] EBERLEIN C V, GUTTIERI M J, MALLORY-SMITH C A, et al. Altered Acetolactate Synthase Activity in ALS-inhibitor Resistant Prickly Lettuce (Lactuca serriola) [J]. Weed Sci, 1997, 45: 212- 217.
- [31] FALCOS C, DUMAS K D. Genetic Analysis of Mutants of Saccharomyces Cerevisiae Resistant to the Herbicide Sulfometuron-methyl [J]. Genetics, 1985, 109: 21- 35.
- [32] MAZUR B J, CHUI C F, SMITH J K. Isolation and Characterization of Plant Genes Coding for Acetolactate Synthase the Target Enzyme for Two Classes of Herbicides [J]. Plant Physiol, 1987, 85: 1110- 1117.
- [33] RUTLEDGE R G, QUELLET T, HATTORI J et al. Molecular Characterization and Genetic Origin of the Brassica napus Acetylhydroxyacid Synthase Multigene Family [J]. Mol Gen Genet, 1991, 229: 31- 40.
- [34] OHSAKO T, TOMINAGA T. Nucleotide Substitutions in the Acetolactate Synthase Genes of Sulfonylurea-resistant Biotypes of Monochoria vaginalis (Pontederiaceae) [J]. Genes and Genetic Systems, 2007, 82: 207- 215.
- [35] ODELL J T, CAMIPG, YADAV N S, et al. Comparison of Increased Expression of Wild-type and Herbicide-resistant Acetolactate Synthase Genes in Transgenic Plants and Indication of Posttranscriptional Limitation on Enzyme Activity [J]. Plant Physiol, 1990, 94: 1647- 1654.
- [36] LEE K Y, TOWNSEND J, TEPPERMAN J et al. The Molecular Basis of Sulfonylurea Herbicide Resistance in Tobacco [J]. The EMBO Journal, 1988, 7: 1241- 1248.
- [37] CHIPMAN D, BARAK Z, SCHLOSS J V. Biosynthesis of 2-Acetyl-2-hydroxy Acids: Acetolactate Synthases and Acetylhydroxyacid Synthases [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1998, 1385(3): 401- 419.
- [38] PANG S S, DUGGLEBY R G, GUDDAT L W. Crystal Structure of Yeast Acetylhydroxyacid Synthase: a Target for Herbicidal Inhibitors [J]. Mol Biol, 2002, 317: 249- 262.
- [39] PANG S S, DUGGLEBY R G, GUDDAT L W. Molecular Basis of Sulfonylurea Herbicide Inhibition of Acetylhydroxyacid Synthase [J]. Biol Chem, 2003, 278: 7639- 7644.

- [40] PANG S S, GUDDAT L W, DUGGLEBY R G. Crystallization of Arabidopsis thaliana Acetohydroxyacid Synthase in Complex with the Sulfonylurea Herbicide Chlormuron-ethyl [J]. *Acta Cryst*, 2004, D60: 153- 155.
- [41] MCCOURT JA, PANG S S, KING-SCOTT J et al Herbicide-binding Sites Revealed in the Structure of Plant Acetohydroxyacid Synthase [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2006, 103: 569- 573.
- [42] DUGGLEBY R G, MCCOURT JA, GUDDAT L W. Structure and Mechanism of Inhibition of Plant Acetohydroxyacid Synthase [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2008, 46(3): 309- 324.
- [43] SIBONY M, MICHEL A, HAAS H U, et al. Sulfamuron-resistant *Amaranthus retroflexus* Cross-resistance and Molecular Basis for Resistance to Acetolactate Synthase-inhibiting Herbicides [J]. *Weed Res*, 2001, 41: 509- 522.
- [44] BERNASCONI P, WOODWORTH A R, ROSEN B A, et al. A Naturally Occurring Point Mutation Confers Broad Range Tolerance to Herbicides that Target Acetolactate Synthase [J]. *Biochem*, 1995, 270: 17381- 17385.
- [45] HATTORI J, RUTLEDGE R, LABBE H, et al. Multiple Resistance to Sulfonylureas and Imidazolinones Conferred by an Acetohydroxyacid Synthase Gene with Separate Mutations for Selective Resistance [J]. *Mol Gen Genet*, 1992, 232: 167- 173.
- [46] XIZhen (席真), NUCongwei (牛聪伟), LIQingxia (李庆霞), et al. 除草剂靶酶——AHAS酶及基因突变体与除草剂设计(I)野生型和突变型 *E. coli* AHAS II 酶动力学性质的系统研究 [J]. *Chin J Pestic Sci (农药学报)*, 2005, 7(3): 215- 220.
- [47] CORBETT C A L, TARDIFF J D. Detection of Resistance to Acetolactate Synthase Inhibitors in Weeds with Emphasis on DNA-based Techniques: a Review [J]. *Pest Management Science*, 2006, 62: 584- 597.
- [48] DELYE C, BOUCANSAUD K. A Molecular Assay for the Proactive Detection of Target Site-based Resistance to Herbicides Inhibiting Acetolactate Synthase in *Alopecurus myosuroides* [J]. *Weed Res*, 2008, 48: 97- 101.
- [49] GRESSEL J. Evolution of Resistance to Herbicides [M] // GRESSEL J. *Molecular Biology of Weed Control*. Taylor & Francis London and New York, 2002: 78- 121.
- [50] ZHANG Chaoxian (张朝贤), NI Hanwen (倪汉文), WEI Shouhui (魏守辉), et al. 抗药性杂草研究进展 [J]. *Scientia Agricultura Sinica (中国农业科学)*, 2009, 42(4): 1274- 1289.

(Ed TANG J)

欢迎订阅 2010年《农药学学报》

邮发代号 2-949 A4开本 彩色四封

《农药学学报》是由中国农业大学主办、国内外公开发行的农药学综合性学术期刊，“中国精品科技期刊”、“中国科技核心期刊”、“中文核心期刊要目总览(2008版)”入编期刊、“中国科技引文数据库”源刊。主要面向农药和植保专业科研工作者及大专院校师生，旨在及时、全面报道农药学各分支学科有创造性的最新研究成果与综合评述，是了解我国农药学研究动态的理想园地。

本刊现设4个栏目：专论与综述、研究论文、研究简报及相关信息。所发表的论文几乎涵盖了农药学所有分支领域，主要包括合成与构效关系、分析与残留、环境与毒理、作用机制研究、制剂加工及应用等。

本刊现已被美国《化学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、英国《动物学记录》以及汤姆森科技信息集团(Thomson Scientific)等10家国外重要检索机构收录，同时是《中国科学引文数据库》等多家国内重要数据库的来源期刊。曾荣获教育部科技司“全国高校优秀期刊评比·优秀编辑出版质量奖”、“中国科技论文在线优秀期刊·二等奖”及“第四届全国优秀农业期刊评选·学术类期刊二等奖”等。

《农药学学报》现为A4开本，全国统一邮政发行(邮发代号2-949)，国内定价为25元/期，全年4期共100元。订户可通过当地邮局订阅，也可直接汇款到本刊编辑部订购(1999-2009年已出版期刊，本编辑部还有少量库存，欢迎购买)。

汇款地址：北京海淀区圆明园西路2号 中国农业大学 理学院《农药学学报》编辑部

邮 编：100193 联系人：唐 静 电话(传真)：010-62733003 E-mail: nyxuebao@263.net

网 址：http://www.nyxxh.com.cn

欢迎单位和个人踊跃订阅!