



郭小桐,郭玉莲,王宇,等. 杂草对乙酰羟氨酸合成酶抑制剂的抗性研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2025(2):101-107.

杂草对乙酰羟氨酸合成酶抑制剂的抗性研究进展

郭小桐,郭玉莲,王宇,罗婵,从克强

(黑龙江省农业科学院 植物保护研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:目前,杂草抗药性已经成为制约农作物生产的主要因素,杂草抗药性机制分为靶标抗性及非靶标抗性。靶标抗性包括靶标基因突变和靶标基因过量表达;非靶标抗性是由杂草对除草剂的吸收传导减弱、屏蔽隔离作用以及杂草对除草剂的代谢解毒能力增强等原因引起,其中以增强杂草对除草剂的代谢为主。为了应对杂草抗性的发展,科学治理抗性杂草,通过简要介绍乙酰羟氨酸合成酶(AHAS)结构及杂草抗性机制,包括杂草抗性情况、靶标抗性、突变对 AHAS 结构及功能的影响、非靶标抗性机制,并对抗性杂草的适合度及其影响因素等相关研究进展进行综述,进一步提出应对抗性杂草治理的建议,以减少对农药的依赖,保障农业的可持续发展。

关键词:靶标抗性;非靶标抗性;乙酰羟氨酸合成酶;适合度

在农业生产中,杂草经过自然选择,已经适应了作物种植的气候、耕作、土壤等生态条件,与作物竞争光照、养分、空间,同时还作为多种病虫害的寄主和媒介,严重制约着作物的优质、高产,增加生产和管理成本^[1]。常见杂草有禾本科的稗草(*Echinochloa crusgalli* L.)、牛筋草(*Eleusine indica* L.);阔叶的藜(*Chenopodium album* L.)、鳢肠(*Eclipta prostrata* L.);莎草科的异型莎草(*Cyperus difformis* L.)、扁秆藨草(*Scirpus planiculmis* Fr. Schmidt)等^[2-3]。杂草种类和数量与作物栽培环境及方式有关,不同生态条件下发生的杂草种类和数量均不同,杂草对环境的高适应性及多种传播途径,导致其在作物生长期间有多个出苗期,生长和竞争能力强^[4]。应用化学除草剂是防控杂草的主要方法,是确保粮食产量的一种重要手段。杂草抗性的发展历程可以追溯到农业发展的早期阶段。从杂草易感时期,到20世纪初农药的广泛使用,一些杂草对农药具有天然抗性,这些抗性基因不断在杂草种群中传播扩散,随着全球化和国际贸易的发展,抗性杂草的种子通过动物、农产品及水流等多种方式传播,导致抗药性在全球扩散。面对杂草抗性增强的问题,农业领域不断探索和研究抗药性管理策略,包括轮作、不同机制除草剂轮换使用及生物控草等多种方式来延缓抗药性发展。杂草抗药性的发展是一个长期、持续的进程,随着抗性杂草的数

量及类型的不断增加,使农业生产面临着严重的挑战。因此,加强抗药性管理和控制措施的研究尤为重要。目前,全球72个国家的100种作物田均出现了抗性杂草,包含155种双子叶和117种单子叶杂草,对21个不同作用位点约168种除草剂均产生抗性^[5]。这些抗性对农作物的生长和发展造成了严重影响,也给农业生产带来了巨大的经济损失。随着农药长期大面积、高剂量、高频率的使用及杂草较强的繁殖力,杂草抗性已经成为全球性的农业难题。为了应对杂草抗性的发展,需要合理使用农药、发展多元化杂草防控手段、监测杂草抗性情况,便于了解抗性分布及演化规律,以期在实践中为科学治理抗性杂草提供依据。

1 杂草乙酰羟氨酸合成酶(AHAS)结构及杂草抗性机制

1.1 AHAS 结构

AHAS(EC2.2.1.6)是由细胞核基因编码,存在于高等植物叶绿体中的一种黄素蛋白,是催化植物和微生物支链氨基酸(亮氨酸 Leu、缬氨酸 Val 和异亮氨酸 Ile)合成中的关键酶^[6]。在支链氨基酸的合成需 AHAS 催化的同时 AHAS 活性也受到支链氨基酸反馈调节的影响。AHAS 抑制剂可通过对 AHAS 活性的抑制,干扰植物支链氨基酸合成,导致相应蛋白无法合成,最终生长受到抑制或死亡。AHAS 催化活性的发挥与其结构密切相关,因此,AHAS 结构的分析有利于杂

收稿日期:2024-11-12

基金项目:黑龙江省创新跨越工程优秀青年基金项目(CX22YQ16);黑龙江省创新跨越工程农业关键技术科技创新重点攻关项目(CX23GG14)。

第一作者:郭小桐(1996—),女,硕士,助理研究员,从事杂草抗药性机制研究。E-mail:xtg96318@163.com。

通信作者:郭玉莲(1970—),女,博士,研究员,从事农田杂草防除、除草剂应用技术及药害研究。E-mail:ylguo70@163.com。

草对 AHAS 抗性机制的深入研究。大肠杆菌 AHAS 的结构研究是最早的也是目前最清晰的。研究表明,早在 1979 年就在大肠杆菌中发现了四聚体 AHAS,包括分子质量约为 10~20 kDa 小亚基及 60 kDa 大亚基^[7-8]。在不同物种中,大亚基结构相似,一般约 65 kDa,但序列和质量均有差异,一般约 9~54 kDa^[9]。大亚基为含有完整催化中心的催化亚基,也是活性中心,小亚基为调节亚基,无催化活性,但可促进催化亚基发挥活性,二者在 AHAS 发挥活性时缺一不可^[10]。研究表明,大肠杆菌同工酶中 α 和 γ 结构域的重组可以使 AHAS 完成催化反应, β 结构域可使 AHAS 活性提高,其对 AHAS 活性的调节具有重要作用^[11]。由于 AHAS 抑制剂与 AHAS 辅因子、底物或变构因子(缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸)等在化学结构方面没有明显相似性,因此,AHAS 和其抑制剂结合部位不是 AHAS 中催化或调节功能性部位^[12]。酵母 AHAS 二聚体晶体结构在 2002 年被报道,其与磺酰脲类抑制剂络合的晶体结构在 3 年后被报道;在 2006 年,拟南芥与 1 种咪唑啉酮类和 5 种磺酰脲类抑制剂结合的晶体结构被报道,是 4 个单体组成的四聚体,每个单体包括 α 、 β 和 γ 结构域,还包含 AHAS 抑制剂分子及发挥催化活性的金属离子和辅因子^[13-15]。

1.2 杂草抗性机制

随着 AHAS 抑制剂广泛使用,目前已经有上百种抗 AHAS 抑制剂的杂草,远高于 ACCase、EPSPS 等抑制剂^[5]。杂草抗性机制分为靶标抗性和非靶标抗性机制。靶标抗性包含靶标基因突变及过量表达,其中氨基酸突变会影响 AHAS 结构和活性,导致 AHAS 对其抑制剂敏感性降低,产生抗性。靶标基因过量表达也可赋予杂草抗性。靶标基因过量表达指杂草基因组拷贝数增多,靶标酶基因表达增加,靶标蛋白量增多,对除草剂耐受能力增强。非靶标抗性是指除草剂的吸收和传导减少或受阻、代谢酶(P450s、GSTs 等)能力提高、进而发挥屏蔽和隔离作用,使靶标接触的除草剂有效量降低,不能有效防除杂草^[16]。

1.2.1 杂草的靶标抗性机制 在抗性机制的研究中,已有许多研究证实了抗性杂草对乙酰羟酸合成酶抑制剂的抗性主要是由于靶点位点突变所致。每年累计新发现的 AHAS 突变逐年递增,根据突变的氨基酸类型将不同物种归类,Pro197 是目前突变频率最高的位点^[5]。第一篇从分子水平阐述杂草对 AHAS 抑制剂抗性机制的报道是 1992 年对抗性毒莴苣(*Lactuca virosa* L.)和地肤

(*Kochia scoparia* L.)的报道,也是第一次发现杂草对 AHAS 抑制剂产生抗性是由于 AHAS 上 197 位点脯氨酸发生了突变^[17]。此后,随着分子技术和相关仪器的不断发展,杂草对除草剂的抗性机制通过基因克隆和测序分析等手段得以更好地阐释。AHAS 氨基酸突变会导致 AHAS 结构变化,直接或间接地影响 AHAS 与除草剂分子或底物分子的结合,这也是杂草进化出对 AHAS 抑制剂抗性的基础^[18-19]。研究表明,AHAS 发生突变的氨基酸主要位于植物体内 AHAS 上 Domain A-F 六个保守区域的 122(Ala)、197(Pro)、205(Ala)、206(Phe)、376(Asp)、377(Arg)、574(Trp)、653(Ser)和 654(Gly)共 9 个位点上^[20-21]。有报道称 Trp574 突变改变了除草剂与 AHAS 结合位点的形状,赋予了杂草抗性^[22]。如长芒苋(*Amaranthus palmeri* S.) AHAS 基因发生 Trp574Leu 及 Ser653Asn 突变后,对咪唑乙烟酸、氯嘧磺隆及双氟磺草胺均产生了抗性^[23-24]。AHAS 基因 197 位 Pro 被 Ser 取代的荠菜(*Capsella bursa-pastoris* L.)及萤蔺分别对双氟磺草胺和苄嘧磺隆产生了抗性^[25-26]。AHAS 发生 Pro197Ser/Ala 及 Asp376Glu 突变的加拿大飞蓬(*Conyza canadensis* L.)对氯酯磺草胺、氯嘧磺隆及双草醚均产生抗性^[27]。

1.2.2 突变对 AHAS 结构影响 不同 AHAS 抑制剂与 AHAS 结合时构象变化会随着除草剂芳香环和杂环不同而变化^[28]。AHAS 发生突变后,不仅影响除草剂与 AHAS 结合,同时也会影响底物进入 AHAS 催化中心。以常见的 197、376 及 574 位点发生不同突变为分析,由于 AHAS 上的 196Val 二级结构为不规则卷曲,该位点前一段序列为 β -折叠,而 197Pro 位于通道入口处,是一类侧链为环形饱和烃并对蛋白质空间结构有一定限制的氨基酸,197Pro 之后为 β -转角,因此 197 位点是处于重要位置的氨基酸,当其被取代后,可能对通道入口产生不同程度的影响^[29]。有报道称 Arg 可能在与嘧啶环上含甲氧基的化合物结合时产生额外的氢键作用,这种作用反而对 AHAS 活性的抑制作用降低,从而导致抗性的产生^[30]。在 197Pro 分别被 Thr、Ala 和 Ser 取代后,突变为 Ala 后的通道入口扩展程度最大,突变为 Thr 后的入口扩展程度最小,其中 Pro197Ala 和 Pro197Ser 产生抗性主要是由于突变后,两种突变型的 AHAS 部分活性位点的残基被转移到活性位点之外,导致活性位点入口的扩展程度增加^[31]。有报道发现,Asp376Glu 突变型的侧链由于与除草剂形成 4 个氢键而发生方向改

变,其与 192~198 位点形成一个环路,方便底物的进入^[32]。有报道称 574Trp 突变不仅可以除除草剂锚定到 AHAS 上,且其位于通道入口中部,在确定底物通道的形状上也具有重要作用^[15]。

1.2.3 突变对 AHAS 功能影响 突变通过影响 AHAS 结构进一步影响其酶活力、与底物及除草剂的结合及对支链氨基酸反馈抑制的敏感性。在酵母 AHAS 的晶体结构中存在 C 终端和移动回路,主要负责活性二聚体与辅助因子 TPP 的结合和稳定,而除草剂的结合位点和活性位点均位于催化亚基界面上,AHAS 与除草剂的结合可能改变了活性位点的几何形状导致酶活力的改变^[33]。有报道称,在光果龙葵中发生 Ala205Val 突变后,酶活力增加,对反馈抑制敏感性降低;在播娘蒿中,Pro197Leu/His/Ser/Thr 等突变型酶活力均显著降低,而 Trp574Leu 突变型酶活力增加,Asp376Glu 突变型酶活力没有显著变化;在看麦娘中,Pro197Tyr 及 Trp574Leu 突变型的酶活力均未发生显著变化^[34-36]。AHAS 发生基因突变后还会对动力学产生影响。AHAS 不同突变对其与底物亲和力的影响不同。在鹅肠菜(*Stellaria aquatica* L.)AHAS 中,Pro197 突变为 Ser 后米氏常数(K_m ,代表 AHAS 与底物的亲和力)降低, V_{max} (AHAS 发挥催化作用时的最大反应速度)升高,与底物亲和力增加^[37]。黑麦草(*Lolium perenne* L.)AHAS 上由 Pro197 突变为 Ala/Gln 及看麦娘(*Alopecurus aequalis* Sobol.)AHAS 由 Trp574 突变为 Leu 后 K_m 均降低, V_{max} 升,而 Pro197 突变为 Arg 后导致黑麦草和看麦娘 AHAS 的 K_m 升高, V_{max} 下降^[36,38]。但也存在一些突变并未改变 V_{max} ,例如:在播娘蒿中 Pro197 突变为 Ser 和 Leu 时, V_{max} 没有显著变化,这可能是由于突变并未显著地改变 AHAS 与底物之间的结合^[35]。因此,突变对 AHAS 功能的影响也可能因物种不同而存在差异,但这种与其他突变的区别需要进一步研究来确定是否对植物的适合度有不利的影

响。靶标基因过量表达也是杂草对除草剂产生抗性的原因之一。靶标基因过量表达一般在耐氯磺隆和草甘膦等除草剂的杂草中比较常见。抗草甘膦的长芒苋(*Amaranthus palmeri*)是因其体内的 5-烯醇丙酮莽草酸-3-磷酸合成酶(EPSPS)过量表达所致^[39]。

1.2.4 杂草的非靶标抗性机制 杂草非靶标抗性机制包括增加除草剂的代谢、减少除草剂的吸收和转运以及屏蔽、隔离作用等,其中主要以增加

除草剂代谢为主。在由代谢引起的非靶标抗性也可导致杂草对不同作用机制的除草剂产生抗性。例如,在抗 2,4-D 的水麻(*Debregeasia orientalis* C. J. Chen)种群中,其对 2,4-D 的代谢速度明显高于敏感种群^[40]。同样,在来自西班牙的两个抗 2,4-D 的罂粟(*Papaver somniferum* L.)种群中,发现了其对 2,4-D 的代谢增强^[41]。在日本看麦娘(*Alopecurus japonicus* Steud.)中,用马拉硫磷或 PBO 等 CYP450s 抑制剂处理杂草后可降低其对 ACCase 抑制剂的抗性,这也说明 P450s 在增强杂草对除草剂代谢抗性中的作用^[42]。由于代谢酶参与了豚草(*Ambrosia artemisiifolia* L.)、长芒苋和野萝卜(*Raphanus raphanistrum* L.)对 PS-II 抑制剂的代谢而导致其抗性的产生^[43-46]。GSTs 参与杂草对 PS-II 抑制剂的代谢,如抗阿特拉津的长芒苋种群通过增强 GSTs 活性,使其与阿特拉津结合的速度比敏感种群快 24 倍^[44]。在抗性黑麦草种群中也发现了 GSTs 代谢活性增强^[47]。另一种参与解毒过程的葡萄糖基转移酶(GTs)可以在次生代谢中发挥作用,通过形成水溶性结合物,再由位于膜上的转运蛋白进行隔离,GTs 还可将经过细胞色素 P450 酶代谢的外源性物质进一步代谢^[48]。ABC 转运蛋白(ATP-binding cassette transporters)也参与了杂草对除草剂的解毒过程,全名为腺苷三磷酸结合盒转运蛋白,具有多种功能,如可以对次级代谢产物起到隔离作用,将有毒化合物排掉,还可以转运脂肪和磷脂酸等物质,同样也能转运一些重金属离子和激素等来维持植株体细胞内环境的稳态^[49]。

由吸收和转运引起的杂草抗性主要是对除草剂吸收或者转运能力下降,从而导致除草剂在杂草体内无法正常运输到靶标部位,进而使杂草存活下来。但减少杂草对除草剂的吸收只是一个次要机制,并且这种机制也已经被证明只在较少种类的杂草中产生抗性,如带刺莠苣^[50]。除草剂向杂草靶标位点的运输减少是较常见的。在一些种类的杂草中,如在野萝卜中发现了因除草剂在杂草体内向靶标部位运输的减少而引起了抗性^[51]。在杂草对灭生性除草剂草甘膦的抗性中,通过减少草甘膦向杂草体内分生组织的运输就是最常见的一种 NTSR 机制。在长芒苋、硬直黑麦草(*Lolium rigidum* Gaudich.)和水麻中都已经报道了这一机制^[40,44-45,52-53]。但除草剂从施用部位运输到植物生长点的转运过程十分重要,如果除草剂的转运过程受到任何因素的干扰或限制,则除草剂的控制效果将明显降低。

杂草对除草剂的屏蔽或隔离也是引起杂草抗性原因之一,这种抗性机制主要表现在改变除草剂在杂草中的运输方向,使其无法到达靶标部位,且除草剂在杂草体内的存留与吸收无明显关系。通过将除草剂隔离或运输至杂草体内代谢较弱的部位来减少杂草受到的损伤。但实际上对于接触性除草剂,尽管其转运过程受到了限制,但是仍有足够量的除草剂可到达杂草的靶标部位,从而起到杀死杂草的作用。因此,此机制不是主要的非靶标抗性机制。

2 抗性杂草的适合度

2.1 适合度概念

适合度有狭义和广义两种概念,狭义适合度就如达尔文的“适者生存”的观点,可作为生物体存活和繁殖的指标,一般表示为适合度越高,生物体成功存活和繁殖的可能性也越大^[54]。广义则不强调存活或繁殖,而更注重生物体传递基因给后代的能力。适合度也可作为一种标准,通过某个特定指标来评判生物体对环境的适应性,尤其在自然选择作用下,适合度对杂草抗性的进化有着重要的影响^[55]。

2.2 适合度影响因素

杂草适合度会随环境的变化而不同。在不同的环境条件下,如面对环境压力、种植密度、竞争作用和亲本效应等环境时,同一种杂草的适合度也存在差异^[56]。适合度代价是指抗性生物型在适合度上的劣势,因此也称作抗性代价,即在除草剂选择下,抗性生物型比敏感生物型更具竞争优势,但不存在除草剂时,抗性生物型相对敏感生物型则处于劣势^[57]。有报道称杂草产生抗性后,会影响其与周围环境的互作,进而产生抗性代价^[58]。如研究证明硬直黑麦草和假高粱(*Pseudosorghum fasciculare* Roxb.)对草甘膦的抗性会受到温度的影响^[59]。目前对于抗性代价的解释有靶标基因突变、资源限制和干扰代谢平衡 3 种。其中,靶标基因突变会影响靶标酶的催化活性及与底物的结合。有报道发现一些生物型在产生抗性的同时,会伴随适合度降低的现象^[54,60]。有报道称圆叶牵牛(*Ipomoea purpurea* L.)抗草甘膦生物型的种子量少于敏感生物型^[61]。但也有研究表明由靶标基因突变导致的抗性杂草并未产生适合度代价^[62-63]。如地肤抗性生物型的种子量、植株生物量及竞争力均与敏感生物型没有明显差异^[64-65]。这可能是因为 AHAS 与其抑制剂的结合位点与活性位点相距较远,因此,在突变后并未

影响 AHAS 功能,杂草仍可生长。因此,在不存在除草剂的选择压力时,杂草抗性基因可能在一定时间内持续存在于杂草种群中^[66]。同时,还有报道称靶标基因突变赋予杂草抗性的同时,也提高了杂草的适合度^[67-68]。由此可见,靶标基因突变是否会对适合度产生影响可能与多种因素有关。其次,参照资源的分配理论,杂草获得抗性的同时,可能打乱了其生长、繁殖和防御之间的平衡。而对于由代谢酶活性增强而导致获得非靶标抗性的杂草来说,代谢酶活性的增强可能会使杂草在生长和繁殖等方面的能源减少而导致适合度代价的产生。如在 2009 年报道的由 P450s 介导的对 ACCase、AHAS、PSII 抑制剂类的代谢抗性的黑麦草在生长力和繁殖力方面均产生了适合度代价^[69]。有研究表明由靶标基因过量表达引起的抗性也会影响其适合度^[39]。

抗性杂草的产生除了与除草剂的选择压等环境因素相关外,与杂草自身的生物学特性也有一定的联系。突变在赋予杂草对除草剂抗性的同时会产生适合度代价,即对杂草生长和适应环境的能力产生消极影响^[38,69]。杂草突变后产生适合度代价主要可能因为氨基酸突变后对酶功能产生了一定程度的影响,如使酶活力发生变化、改变底物与酶之间的亲和力或影响氨基酸对酶的反馈抑制等方面,最终出现生成产物过量或不足的结果。但也有报道称,突变并未引起适合度代价。有报道发现,5 种 AHAS 突变类型的抗性硬直黑麦草在生长过程中与敏感型并无显著差异,这可能是因为这五种突变型对酶功能并未产生影响^[38]。

3 结论

综上所述,当前杂草抗性的研究方法涵盖了野外调查、除草剂抗性检测、PCR、RT-PCR 和基因组测序等分子生物学方法以及利用计算机技术对靶标蛋白模拟建模并与除草剂分子对接来研究其抗性机制,而通过综合运用这些方法可以全面深入地研究杂草的抗性机制及演化机制。当前杂草抗性的研究已经从分子迈入结构方面,在总结现有研究的基础上,可以发现杂草的抗性问题是—个复杂的系统工程,需要综合运用生物学、遗传学、分子生物学等多个学科的知识加以解决。后续关于杂草抗性,可以探究不同地区、不同种类杂草的抗性差异,分析不同杂草基因组和遗传特性的多样性,了解抗性机制的多样性及进化过程,多集中在研究杂草种群动态、生态位和种内竞争等生态学特点来明确其演化机制。实际上,当前大

部分杂草抗性研究还停留在理论层面,如何将杂草抗性研究的相关理论知识结合到实践应用中还需要进一步思考。且当前多种政策的焦点多集中在病虫防控方面,对杂草的关注相对较少,以上因素也会导致抗性杂草治理进展缓慢,而新的抗性杂草不断产生,尽管科学家们在不断研究和开发新的除草剂,但仍然存在除草剂滥用和缺乏有效替代品等问题。因此,抗性杂草的治理仍然需要继续研究和改进管理方法,以有效地控制其发展。同时,为了对抗性杂草治理困难的问题,可以从以下几个方面出发:(1)采取轮作、种植抗性品种、生物防治等多种措施综合防控;(2)积极研发新的除草剂或除草剂组合;(3)科学合理地使用除草剂;(4)加强对农民宣传教育和除草剂应用技术指导。总之,杂草抗性对农业生产带来了严重的影响,未来需要农民、科研机构 and 政府部门共同努力,从多个方面入手,采取综合措施,以减少对农药的依赖,保障农业的可持续发展。

参考文献:

- [1] 孙方胜. 水稻田杂草化学防除技术探析[J]. 现代农业科技, 2020(9):122,125.
- [2] 李政. 异型莎草(*Cyperus difformis*)对乙酰羟酸合成酶抑制剂的抗性靶标机制[D]. 北京:中国农业科学院,2020.
- [3] 周燕芝,王文霞,陈丽明,等. 直播稻田杂草发生与防除研究进展[J]. 作物杂志,2019(4):1-9.
- [4] 刘琳. 砒嘧磺隆等6种除草剂防除玉米田杂草的研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2017.
- [5] HEAP I. The international herbicide-resistant weed database [DB/OL]. [2024-10-15]. <http://www.weedscience.org>.
- [6] DUGGLEBY R G, McCOURT J A, GUDDAT L W. Structure and mechanism of inhibition of plant acetohydroxyacid synthase[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2008, 46 (3): 309-324.
- [7] LAWTHORP R P, NICHOLS B, ZURAWSKI G, et al. The nucleotide sequence preceding and including the beginning of the *ilvE* gene of the *ilvGEDA* operon of *Escherichia coli* K12[J]. Nucleic Acids Research, 1979, 7 (8): 2289-2301.
- [8] SCHLOSS J V, van DYK D E, VASTA J F, et al. Purification and properties of *Salmonella typhimurium* acetolactate synthase isozyme II from *Escherichia coli* HB101/pDU9 [J]. Biochemistry, 1985, 24(18): 4952-4959.
- [9] 谢永辉,祁豪曼,文欣,等. ACT 结构域与乙酰羟酸合成酶催化亚基的相互作用研究[C]//第十届全国化学生物学学术会议论文集. 武汉,2017:378.
- [10] 邓维. 抗苯磺隆播娘蒿抗性机理及抗性突变对乙酰乳酸合成酶功能影响[D]. 北京:中国农业大学,2017.
- [11] 赵冬梅,谢永辉,牛聪伟,等. β 结构域对乙酰羟酸合成酶的催化活性调控研究[C]//第十一届全国化学生物学学术会议论文集. 广州,2019:355.
- [12] OTWINOWSKI Z, MINOR W. Processing of X-ray diffraction data collected in oscillation mode [J]. Methods in Enzymology, 1997, 276: 307-326.
- [13] PANG S S, DUGGLEBY R G, GUDDAT L W. Crystal structure of yeast acetohydroxyacid synthase: a target for herbicidal inhibitors 1 1 edited by R. Huber[J]. Journal of Molecular Biology, 2002, 317(2): 249-262.
- [14] McCOURT J A, PANG S S, GUDDAT L W, et al. Elucidating the specificity of binding of sulfonylurea herbicides to acetohydroxyacid synthase[J]. Biochemistry, 2005, 44 (7): 2330-2338.
- [15] McCOURT J A, PANG S S, KING-SCOTT J, et al. Herbicide-binding sites revealed in the structure of plant acetohydroxyacid synthase [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(3): 569-573.
- [16] DÉLYE C. Unravelling the genetic bases of non-target-site-based resistance (NTSR) to herbicides: a major challenge for weed science in the forthcoming decade[J]. Pest Management Science, 2013, 69(2): 176-187.
- [17] GUTTIERI M J, EBERLEIN C V, MALLORY-SMITH C A, et al. DNA sequence variation in domain a of the acetolactate synthase genes of herbicide-resistant and-susceptible weed biotypes[J]. Weed Science, 1992, 40 (4): 670-677.
- [18] GAINES T A, DUKE S O, MORRAN S, et al. Mechanisms of evolved herbicide resistance[J]. Journal of Biological Chemistry, 2020, 295(30): 10307-10330.
- [19] 赵宇,郭文磊,李伟,等. 抗精噁唑禾草灵和甲基二磺隆看麦娘 ACCase 和 ALS 基因突变[J]. 植物保护学报,2017, 44(5):833-840.
- [20] MATZRAFI M, LAZAR T W, SIBONY M, et al. *Conyza* species; distribution and evolution of multiple target-site herbicide resistances[J]. Planta, 2015, 242(1): 259-267.
- [21] VARANASI V K, GODAR A S, PETERSON D E, et al. A target-site point mutation in henbit (*Lamium amplexicaule*) confers high-level resistance to ALS-inhibitors[J]. Weed Science, 2016, 64(2): 231-239.
- [22] VERCELLINO R B, PANDOLFO C E, BRECCIA G, et al. AHAS Trp574Leu substitution in *Raphanus sativus* L.: screening, enzyme activity and fitness cost [J]. Pest Management Science, 2018, 74(7): 1600-1607.
- [23] LARRAN A S, PALMIERI V E, PEROTTI V E, et al. Target-site resistance to acetolactate synthase (ALS)-inhibiting herbicides in *Amaranthus palmeri* from Argentina [J]. Pest Management Science, 2017, 73(12): 2578-2584.
- [24] 吉美静,黄兆峰,崔海兰,等. 靶标基因突变导致入侵性杂草长芒苋对咪唑乙烟酸产生抗性[J]. 植物保护,2022,48 (1):173-178.
- [25] 李琦,于金萍,郭文磊,等. 基于 Pro-197-Ser 突变的抗双氟磺草胺芥菜的快速检测[J]. 杂草学报,2021,39(2):14-19.
- [26] 汪涛,邓云艳,杜颖,等. 稻田杂草萤蔺对苄嘧磺隆的抗药性机理[J]. 农药,2021,60(3):230-234.
- [27] ZHENG D M, KRUGER G R, SINGH S, et al. Cross-resistance of horseweed (*Conyza canadensis*) populations with three different ALS mutations[J]. Pest Management

- Science, 2011, 67(12): 1486-1492.
- [28] GARCIA M D, NOUWENS A, LONHIEENNE T G, et al. Comprehensive understanding of acetohydroxyacid synthase inhibition by different herbicide families[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2017, 114(7): E1091-E1100.
- [29] 杨冬臣, 霍静倩, 张哲, 等. 反枝苋乙酰乳酸合成酶与烟嘧磺隆分子结合模式分析及抗性位点预测[J]. 农药学报, 2019, 21(1): 26-34.
- [30] JAÑA G A, DELGADO E J, MEDINA F E. How important is the synclinal conformation of sulfonylureas to explain the inhibition of AHAS: a theoretical study[J]. Journal of Chemical Information and Modeling, 2014, 54(3): 926-932.
- [31] CHOE M, CHOE W, LEE I, et al. Computational analysis of mutated AHAS in response to sulfonylurea herbicides[J]. Weed Research, 2015, 55(4): 359-369.
- [32] GARCIA M D, CHUA S M H, LOW Y S, et al. Commercial AHAS-inhibiting herbicides are promising drug leads for the treatment of human fungal pathogenic infections[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(41): E9649-E9658.
- [33] KIM J, BEAK D G, KIM Y T, et al. Effects of deletions at the C-terminus of tobacco acetohydroxyacid synthase on the enzyme activity and cofactor binding[J]. Biochemical Journal, 2004, 384(Pt 1): 59-68.
- [34] ASHIGH J, TARDIF F J. An Ala₂₀₅ Val substitution in acetohydroxyacid synthase of eastern black nightshade (*Solanum ptychanthum*) reduces sensitivity to herbicides and feedback inhibition[J]. Weed Science, 2007, 55(6): 558-565.
- [35] YANG Q, DENG W, WANG S P, et al. Effects of resistance mutations of Pro197, Asp376 and Trp574 on the characteristics of acetohydroxyacid synthase (AHAS) isozymes[J]. Pest Management Science, 2018, 74(8): 1870-1879.
- [36] ZHAO N, YAN Y Y, DU L, et al. Unravelling the effect of two herbicide resistance mutations on acetolactate synthase kinetics and growth traits [J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(12): 3535-3542.
- [37] LIU W T, BAI S, JIA S S, et al. Comparison of ALS functionality and plant growth in ALS-inhibitor susceptible and resistant *Myosoton aquaticum* L. [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2017, 142: 111-116.
- [38] YU Q, HAN H P, VILA-AIUB M M, et al. AHAS herbicide resistance endowing mutations: effect on AHAS functionality and plant growth[J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(14): 3925-3934.
- [39] GAINES T A, ZHANG W L, WANG D F, et al. Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(3): 1029-1034.
- [40] FIGUEIREDO M R, LEIBHART L J, REICHER Z J, et al. Metabolism of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid contributes to resistance in a common waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) population[J]. Pest Management Science, 2018, 74(10): 2356-2362.
- [41] TORRA J, ROJANO-DELGADO A M, REY-CABALLERO J, et al. Enhanced 2, 4-D metabolism in two resistant *Papaver rhoeas* populations from Spain [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1584.
- [42] FENG Y J, GAO Y, ZHANG Y, et al. Mechanisms of resistance to pyroxsulam and ACCase inhibitors in Japanese foxtail (*Alopecurus japonicus*) [J]. Weed Science, 2016, 64(4): 695-704.
- [43] SIMARD M J, LAFOREST M, SOUFIANE B, et al. LINURON resistant common ragweed (*AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA*) populations in Quebec carrot fields: presence and distribution of target site and non-target site resistant biotypes[J]. Canadian Journal of Plant Science, 2017: CJPS-2017-0163.
- [44] NAKKA S, GODAR A S, THOMPSON C R, et al. Rapid detoxification *via* glutathione S-transferase (GST) conjugation confers a high level of atrazine resistance in Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) [J]. Pest Management Science, 2017, 73(11): 2236-2243.
- [45] CHAHAL P S, JUGULAM M, JHALA A J. Mechanism of atrazine resistance in atrazine- and HPPD inhibitor-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri* S. Wats.) from Nebraska [J]. Canadian Journal of Plant Science, 2019, 99(6): 815-823.
- [46] LU H, YU Q, HAN H P, et al. Metribuzin resistance in a wild radish (*Raphanus raphanistrum*) population *via* both psbA gene mutation and enhanced metabolism[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(5): 1353-1359.
- [47] DÜCKER R, ZÖLLNER P, PARCHARIDOU E, et al. Enhanced metabolism causes reduced flufenacet sensitivity in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) field populations [J]. Pest Management Science, 2019, 75(11): 2996-3004.
- [48] YUAN J S, TRANEL P J, STEWART C N. Non-target-site herbicide resistance: a family business[J]. Trends in Plant Science, 2007, 12(1): 6-13.
- [49] 张腾. 日本看麦娘(*Alopecurus japonicas*)抗精噁唑禾草灵相关代谢酶机理的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2017.
- [50] RIAI D S, BURKE I C, YENISH J P, et al. Inheritance and physiological basis for 2, 4-D resistance in prickly lettuce (*Lactuca serriola* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(17): 9417-9423.
- [51] GOGGIN D E, CAWTHRAY G R, POWLES S B. 2, 4-D resistance in wild radish: reduced herbicide translocation *via* inhibition of cellular transport [J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(11): 3223-3235.
- [52] BOSTAMAM Y, MALONE J M, DOLMAN F C, et al. Rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) populations containing a target site mutation in EPSPS and reduced glyphosate translocation are more resistant to glyphosate[J]. Weed

- Science, 2012, 60(3): 474-479.
- [53] ADU-YEBOAH P, MALONE J M, GILL G, et al. Reduced glyphosate translocation in two glyphosate-resistant populations of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) from fence lines in South Australia[J]. Weed Science, 2014, 62(1): 4-10.
- [54] PARK K W, MALLORY-SMITH C A, BALL D A, et al. Ecological fitness of acetolactate synthase inhibitor-resistant and-susceptible downy brome (*Bromus tectorum*) biotypes [J]. Weed Science, 2004, 52(5): 768-773.
- [55] 付丹妮. 野慈姑 *Sagittaria trifolia* L. 对苯嘧磺隆抗药性机理及适合度代价的初步研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017.
- [56] DI K, STEWART C N J, WEI W, et al. Fitness and maternal effects in hybrids formed between transgenic oilseed rape (*Brassica napus* L.) and wild brown mustard [*B. juncea* (L.) Czern et Coss.] in the field[J]. Pest Management Science, 2009, 65(7): 753-760.
- [57] 张彬. 抗高效氟吡甲禾灵日本看麦娘生态适应性及其机制的初步研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [58] STRAUSS S Y, RUDGERS J A, LAU J A, et al. Direct and ecological costs of resistance to herbivory[J]. Trends in Ecology & Evolution, 2002, 17(6): 278-285.
- [59] VILA-AIUB M M, GUNDEL P E, YU Q, et al. Glyphosate resistance in *Sorghum halepense* and *Lolium rigidum* is reduced at suboptimal growing temperatures [J]. Pest Management Science, 2013, 69(2): 228-232.
- [60] MASSINGA R A, AL-KHATIB K, ST AMAND P, et al. Relative fitness of imazamox-resistant common sunflower and prairie sunflower[J]. Weed Science, 2005, 53(2): 166-174.
- [61] BAUCOM R S, MAURICIO R. Fitness costs and benefits of novel herbicide tolerance in a noxious weed [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(36): 13386-13390.
- [62] LI M, YU Q, HAN H P, et al. ALS herbicide resistance mutations in *Raphanus raphanistrum*: evaluation of pleiotropic effects on vegetative growth and ALS activity[J]. Pest Management Science, 2013, 69(6): 689-695.
- [63] PAPAPANAGIOTOU A P, PARESIDOU M I, KALOUMENOS N S, et al. ACCase mutations in *Avena sterilis* populations and their impact on plant fitness[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2015, 123: 40-48.
- [64] THOMPSON C R, THILL D C, SHAFII B. Growth and competitiveness of sulfonylhrea-resistant and-susceptible *Kochia* (*Kochia scoparia*) [J]. Weed Science, 1994, 42(2): 172-179.
- [65] CHRISTOFFOLETI P, WESTRA P, MOORE F. Growth analysis of sulfonylurea-resistant and-susceptible *Kochia* (*Kochia scoparia*) [J]. Weed Science, 1997, 45: 691-695.
- [66] YU Q, POWLES S B. Resistance to AHAS inhibitor herbicides: current understanding [J]. Pest Management Science, 2014, 70(9): 1340-1350.
- [67] 杜龙. 基于蒺藜草 ACCase 等位基因突变的适合度代价研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
- [68] WANG T, PICARD J C, TIAN X, et al. A herbicide-resistant ACCase 1781 *Setaria* mutant shows higher fitness than wild type [J]. Heredity, 2010, 105(4): 394-400.
- [69] VILA-AIUB M M, NEVE P, POWLES S B. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants[J]. New Phytologist, 2009, 184(4): 751-767.

Research Progress on Weed Resistance to Acetohydroxyacid Synthases Inhibitors

GUO Xiaotong, GUO Yulian, WANG Yu, LUO Chan, CONG Keqiang

(Institute of Plant Protection, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: The weed resistance has become the major factor restricting crop production, and the mechanism of weed resistance is divided into target resistance (TSR) and non-target resistance (NTSR). Target resistance includes target gene mutation and target gene overexpression. Non-target resistance is caused by the reduced absorption and conduction of weed to herbicide, the shielding and isolation, and the enhanced detoxification ability of weed to herbicide, in which the enhancement of weed metabolism is the primary reason. In order to cope with the development of weed resistance and scientifically control resistant weeds, the structure of acetohydroxyacid synthase (AHAS) and weed resistance mechanism were briefly introduced, including weed resistance, target resistance, effects of mutation on structure and function, non-target resistance mechanism, and relevant research progress on the suitability and influencing factors of resistant weeds. In order to reduce the dependence on pesticides and ensure the sustainable development of agriculture, some suggestions on the management of resistant weeds were put forward.

Keywords: target resistance; non-target resistance; acetohydroxyacid synthases; fitness