

# 抗苄嘧磺隆野慈姑乙酰乳酸合成酶的突变研究

付丹妮, 赵铂锤, 孙中华, 纪明山\*

(沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866)

**摘要** 近年来,野慈姑 *Sagittaria trifolia* L. 在中国东北稻区发生和危害日趋严重,部分稻区使用苄嘧磺隆已无法有效防除该杂草。为了明确野慈姑抗药性发生的根本原因,本试验从分子水平上对野慈姑抗苄嘧磺隆的机理进行了研究。通过对抗药性(H4)和敏感性(S)野慈姑种群靶标酶乙酰乳酸合成酶(ALS)基因片段进行扩增和克隆,比较其 DNA 序列的差异,确定导致抗药性产生的 ALS 氨基酸突变位点。结果表明,与敏感性野慈姑 ALS 基因相比,H4 种群第 197 位脯氨酸(Pro)突变为苏氨酸(Thr),该位点的突变可能是 H4 野慈姑种群对苄嘧磺隆产生抗药性的主要原因。ALS 第 197 位 Pro 突变为 Thr 致使对苄嘧磺隆产生抗药性是第一次在野慈姑种群中报道。

**关键词** 水稻田; 野慈姑; 靶标抗药性

中图分类号: S 481.4 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.2017232

## Mutation in acetolactate synthase of *Sagittaria trifolia* resistant to bensulfuron-methyl

FU Danni, ZHAO Bochui, SUN Zhonghua, JI Mingshan

(College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

**Abstract** In recent years, *Sagittaria trifolia* L. has been a serious problem in paddy fields in northeast of China. It is very difficult to control by bensulfuron-methyl in some areas. The objective of this study is to understand the molecular mechanism of the resistance to bensulfuron-methyl in *S. trifolia* and to find the specific mutation sites in amino acid sequence of acetolactate synthase (ALS) in the resistant *S. trifolia* populations. Fragments encoding the ALS were amplified and cloned from susceptible (S) and resistant (H4) *S. trifolia* populations to bensulfuron-methyl, respectively, and sequenced subsequently. Sequence analysis showed that H4 population had a mutation at position 197(Pro). The mutation was Pro-197-Thr, which may be responsible for the resistance to bensulfuron-methyl in the *S. trifolia* population. Pro-197-Thr mutation conferring resistance to bensulfuron-methyl is reported for the first time in *S. trifolia*.

**Key words** paddy field; *Sagittaria trifolia*; target-site resistance (TSR)

野慈姑 *Sagittaria trifolia* L., 泽泻科慈姑属多年生水生或沼生草本植物,主要分布于热带以及亚洲的温带地区<sup>[1]</sup>,是水稻田常见的阔叶杂草之一,以球茎进行营养繁殖为主。苄嘧磺隆(bensulfuron-methyl)属磺酰脲类除草剂,通过抑制植物体内的乙酰乳酸合成酶 ALS 酶活性,阻止支链氨基酸的合成,从而导致植物蛋白质合成受损,最终杀死植物<sup>[2-3]</sup>。自 20 世纪 80 年代中后期,由于苄嘧磺隆具有活性高、选择性强、毒性低等特点,在我国东北水稻产区开始广泛使用,使野慈姑得到了有效防治。而由于苄嘧磺隆作用位点单一和大量连续使用,导

致了抗苄嘧磺隆的野慈姑大量出现。2000 年前后,苄嘧磺隆对野慈姑的防效明显下降,野慈姑的发生和危害日趋严重<sup>[4]</sup>,相继在吉林省<sup>[5]</sup>和辽宁省<sup>[6]</sup>发现了抗磺酰脲类除草剂的野慈姑种群。

在大多数情况下,杂草对 ALS 抑制剂产生抗药性是由 ALS 基因一个或几个位点突变所引起<sup>[7]</sup>。目前,在抗 ALS 抑制剂的杂草中,靶标酶上已发现有 8 个突变位点(Ala122, Prol97, Ala205, Asp376, Arg377, Trp574, Ser653, Gly654)发生 28 种氨基酸替换,其中任何一个位点发生突变,均可大幅度降低除草剂品种与杂草靶标的亲和力<sup>[8-10]</sup>。Guttieri 等<sup>[11]</sup>在 1992 年

收稿日期: 2017-06-20 修订日期: 2018-01-11

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0200500)

\* 通信作者 E-mail: jimingshan@163.com

报道了毒莴苣 *Lactuca seriola* 和地肤 *Kochia scoparia* 对 ALS 抑制剂的抗性是由 197 位脯氨酸突变所引起,首次从分子水平上研究了杂草抗药性机理。随着研究技术的发展,更多杂草的 ALS 基因被克隆、测序、分析,抗药性机理得到更好的解释。

我国东北地区使用苄嘧磺隆防治水稻田杂草具有较早的历史,根据田间调查和农民的反映,大多数稻田的野慈姑已经对苄嘧磺隆产生了抗药性。研究野慈姑对苄嘧磺隆的抗药性问题,对抗药性野慈姑的治理以及指导农民正确使用除草剂具有重要意义。本研究从分子水平上确定野慈姑对苄嘧磺隆的抗药性是由于 ALS 基因突变所引起,并初步明确其产生抗药性突变的基因位点。为延缓野慈姑抗药性种群的发展提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

抗药性野慈姑球茎(H4)于 2015 年 5 月采自黑龙江省双鸭山市宝清县方盛村多年连续使用磺酰脲类除草剂苄嘧磺隆的稻田,野慈姑已对苄嘧磺隆产生抗药性。将采集的球茎种植于无孔的塑料花盆内(23 cm×15 cm),置于室外正常水分管理,待其长至 2~3 叶期用 30% 苄嘧磺隆可湿性粉剂(上海杜邦农化有限公司)120 g/hm<sup>2</sup> 茎叶喷雾处理,处理后存活的植株继续培养。

对照敏感性野慈姑幼苗(S)于 2015 年 6 月采自辽宁省沈阳市棋盘山风景区远离稻田的湖边(未使用过除草剂)。将采集的幼苗种植于无孔的塑料花盆内(23 cm×15 cm),置于室外正常水分管理。随

机挑选 20 株用 30% 苄嘧磺隆可湿性粉剂 30 g/hm<sup>2</sup> 茎叶喷雾处理,21 d 后全部死亡,未处理植株继续培养。2015 年 11 月上旬从花盆中挖出抗药性和敏感性球茎分别保存于 4℃ 冰箱中,待用。

取冰箱中保存的大小一致的抗药性(H4)和敏感性(S)野慈姑球茎分别放置于装有清水的培养皿中,在 28℃ 光照培养箱内催芽 3 d 后,每盆 3 个球茎,分别种植于无孔的塑料盆内(23 cm×15 cm)。种植深度 3 cm,保持水层 3~5 cm。试验用土为未使用过除草剂的稻田土。放置于温室中,生长条件为白天(25±5)℃,夜间(14±5)℃。待植株长至 3~4 叶期,取幼嫩叶片,放入-80℃ 冰箱中保存,待用。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 野慈姑 DNA 的提取

用 Tiangen 生化科技(北京)有限公司的 DNasecure Plant Kit 提取抗药性(H4)和敏感性(S)野慈姑的 DNA,各取 10 个叶片进行提取。用紫外分光光度计法检测 DNA 的浓度和纯度。用 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 衡量 DNA 纯度,比值大于 1.9,表明有 RNA 污染;小于 1.6,表明有蛋白质、酚等污染。

#### 1.2.2 野慈姑 ALS 基因片段的扩增和克隆

用表 1 所列两对引物分别扩增 H4 和 S 野慈姑 DNA,产物包含已报道的 8 个突变位点。25 μL 的 PCR 反应体系包括:叶片总 DNA(60 ng/μL)1.0 μL,上游和下游引物(10 μmol/L)各 1.0 μL,2×Es Taq-MasterMix(Dye)12.5 μL,ddH<sub>2</sub>O 9.5 μL。PCR 扩增反应条件为:94℃ 预变性 4 min,然后 94℃ 变性 30 s,在每个引物的最佳退火温度下退火 30 s(表 1),72℃ 延伸 90 s,共 35 个循环;最后 72℃ 延伸 10 min。

表 1 扩增野慈姑 ALS 基因片段的引物

Table 1 Primers used for amplification of acetolactate synthase gene in *Sagittaria trifolia*

引物 Primer	序列(5'-3') Sequence	退火温度/℃ Annealing temperature	扩增片段大小/bp Amplicon size	已报道的突变位点 Targeted mutation
F1	AGAGGGAGGGTGTCAAAGACG	64	926	Ala122, Pro197, Ala205, Asp376, Arg377
R1	TTTCAGGTCGCCACAGATAGAG			
F2	TCTGTGGCGACCTGAAACTG	62	734	Trp574, Ser653, Gly654
R2	ACCTCCACTCGGAATCATCG			

PCR 反应结束后,取 5 μL 产物,用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测。采用生工生物工程(上海)股份有限公司 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒对 PCR 产物进行回收纯化,将回收片段与 pUC-T 载体连接,然后转到大肠杆菌感受态细胞 DH5α 中,均匀涂布

于含有 X-gal/IPTG 的氨苄青霉素抗性的 LB 固体培养基上培养过夜,选择白色菌落挑至含氨苄青霉素的液体培养基,振荡培养过夜,用生工生物工程(上海)股份有限公司 SanPrep 柱式质粒 DNA 小量抽提试剂盒提取质粒。对重组质粒按上述 PCR 条件进行扩

增,并进行电泳检测,出现目的片段的为阳性克隆。

### 1.2.3 测序及序列分析

阳性克隆的序列测定采用美国 ABI 公司的 3730XL 测序仪和双脱氧链终止法进行,由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。每个种群选取 10 株单个植株用做突变检测,每个片段测序 5 个阳性克隆。将测序的序列进行 BLASTx 比对,然后用 DNAMAN 8.0 对抗药性和敏感性野慈姑 ALS 基因片段序列进行比对。

## 2 结果与分析

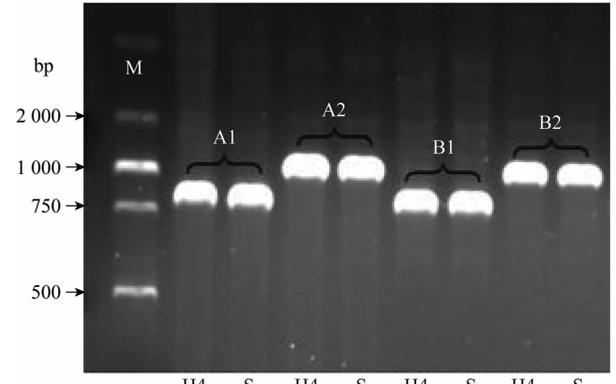
### 2.1 ALS 基因片段的扩增与克隆

提取的野慈姑 H4 和 S 种群的 DNA 经紫外分光光度计检测,OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 在 1.7~1.9 范围内,表明 DNA 的纯度达到了要求。用两对引物扩增野慈姑不同种群的 DNA,分别得到大约 920 bp 和 730 bp 的片段(图 1)。对 PCR 产物进行切胶回收后的产物与 pUC-T 载体连接、转化,对重组的质粒进行 PCR 鉴定,获得的片段与最初的两个 PCR 产物大小相同。

### 2.2 ALS 基因片段测定结果

用 DNAMAN 8.0 将测序后的两段序列拼接,得到的序列总长度为 1 634 bp,编码 547 个氨基酸,在 NCBI 中进行 BLAST,与已经登记的野慈姑 ALS 基因序列同源性达到 99%,证明扩增得到的野慈姑 ALS 基因序列是正确的。这段序列中不存在内含子,并且包含了在其他杂草中已经报道的 8 个氨基酸突变位点。将得到的抗药性和敏感性野慈姑 ALS

基因片段和拟南芥 ALS 基因片段用 DNAMAN 8.0 进行对比,结果(表 2)显示,与敏感性野慈姑种群 S 相比,抗药性种群 H4 在第 197 位脯氨酸都发生了突变,此位点由 CCC 突变成 ACC(图 2),编码苏氨酸(Thr),所测得的 10 个植株在 Pro197 位都有相同的突变,在已经报道的 Ala122、Ala205、Asp376、Arg377、Trp574、Ser653、Gly654 位点均没有产生突变。



A1~A2: 抗药性(H4)和敏感性(S)野慈姑ALS基因片段PCR扩增; B1~B2: 抗药性(H4)和敏感性(S)ALS基因片段的质粒PCR鉴定; M: DNA Marker DL2000

A1~A2: Amplification of ALS fragments from resistant (H4) and susceptible (S) *Sagittaria trifolia* populations; B1~B2: Identification of the insertion of ALS fragments from resistant (H4) and susceptible (S) *S. trifolia* populations by PCR; M: DNA Marker DL2000

图 1 两对引物扩增与克隆抗药性和敏感性野慈姑种群 ALS 基因片段

Fig. 1 Amplification and clone of ALS fragments from resistant and susceptible *Sagittaria trifolia* populations by two pairs of primers

表 2 抗药性与敏感性野慈姑 ALS 基因及其氨基酸的比较<sup>1)</sup>

Table 2 Comparison of the ALS gene and amino acid sequences from the resistant and susceptible *Sagittaria trifolia* populations

种群 Population	氨基酸的位置和碱基及相应的氨基酸序列 Amino acid position, relative sequence of nucleotide and derived amino acid							
	122	197	205	376	377	574	653	654
A*	GCA	CCT	GCG	GAT	CGT	TGG	AGT	GGT
	Ala	Pro	Ala	Asp	Arg	Trp	Ser	Gly
S	GCG	CCC	GCG	GAT	CGC	TGG	AGT	GGA
	Ala	Pro	Ala	Asp	Arg	Trp	Ser	Gly
H4	GCG	ACC	GCG	GAT	CGC	TGG	AGT	GGA
	Ala	Thr	Ala	Asp	Arg	Trp	Ser	Gly

1) A\* 拟南芥; 文中所有氨基酸和基因碱基的编码皆以拟南芥氨基酸和基因碱基编码为标准。

A\* *Arabidopsis thaliana*; Reference sequence for nucleotide and codon numbering is the coding sequence of *Arabidopsis thaliana* ALS gene (NM 114714. 2).

## 3 结论与讨论

目前,被研制开发出来的不同结构的 ALS 抑制

剂类除草剂最主要有五大类,即磺酰脲类(sulfonylurea, SU)、咪唑啉酮类(imidazolinone, IMI)、嘧啶硫代苯甲酸酯类(pyrimidinyl-thiobenzoate, PTB)、三唑

并嘧啶类(triazolopyrimidine, TP)和磺酰胺羰基三唑啉酮类(sulfonylamino-carbonyl-triazolinone, SCT),其中磺酰胺类、三唑并嘧啶类和咪唑啉酮类品种多,被广泛推广和应用<sup>[12-15]</sup>。由于该类除草剂作用位点单一和大量的重复使用,抗该类除草剂杂草大量出现<sup>[16]</sup>。截至目前,世界各地已有 159 种杂草对 ALS 抑制剂类除草剂产生了抗药性<sup>[17]</sup>。

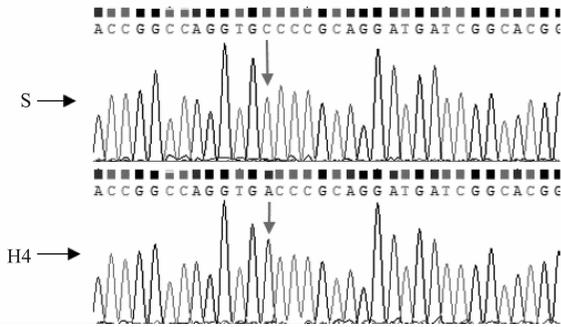


图2 抗药性和敏感性野慈姑种群测序峰图

Fig. 2 Corresponding sequence chromatograms of resistant and susceptible *Sagittaria trifolia* populations

国内外有关野慈姑对 ALS 抑制剂类除草剂抗性机制的研究主要集中在高水平抗性的靶标位点突变上。Iwakami 等<sup>[18]</sup>研究发现,日本秋田县野慈姑 R1 和 R2 两个种群对磺酰胺类除草剂产生了抗药性,R1 和 R2 对苄嘧磺隆及 R1 对吡嘧磺隆均表现高抗,其中抗药性野慈姑种群 R1 与敏感性种群 S1 相比,ALS 基因第 197 位氨基酸由脯氨酸(CCC)突变为丝氨酸(TCC),属于靶标抗药性(target-site resistance, TSR)。Wei 等<sup>[6]</sup>测定了东北地区两个水稻田野慈姑种群对苄嘧磺隆的抗药性水平,并通过与敏感种群 ALS 基因序列进行比较,确定 ALS 基因 Pro-197-Leu 和 Pro-197-Ser 突变引起抗药性野慈姑 ALS 对该药剂的敏感性降低,是引起其产生抗药性的原因。

本研究通过对抗药性及敏感性野慈姑 ALS 基因进行扩增、测序和对比后发现,抗药性 H4 野慈姑种群的 ALS 基因第 197 位脯氨酸(Pro)被苏氨酸(Thr)取代,这是第一次在野慈姑种群中被发现。ALS 基因 Pro-197-Thr 取代导致杂草对 ALS 抑制剂类除草剂产生抗药性在前人的研究中已得到证实。例如:野萝卜 *Raphanus raphanistrum* L.、萤蔺 *Scirpus juncooides* (Roxb.)、播娘蒿 *Descurainia sophia* L. 和看麦娘 *Alopecurus aequalis* Sobol. 等,该突变是其对磺酰胺类除草剂产生抗药性的分子基础<sup>[19-22]</sup>。因

此,Pro-197-Thr 是导致 H4 野慈姑种群对苄嘧磺隆产生抗药性的重要原因之一。

## 参考文献

- [1] 汪小凡,陈家宽. 野慈姑自然群体异交率的定量估测[J]. 遗传, 2000, 22(5): 316-318.
- [2] 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.
- [3] DUGGLEBY R G, PANG S S. Acetohydroxyacid synthase [J]. *BMB Reports*, 2000, 33(1): 1-36.
- [4] 陈丽丽,何付丽,范丹丹,等. 黑龙江省野慈姑对吡嘧磺隆的敏感性测定[J]. *植物保护*, 2013, 39(6): 120-123.
- [5] 吴明根,曹凤秋,杜小军,等. 延边地区稻田抗药性杂草的研究[J]. *杂草科学*, 2005(1): 14-15.
- [6] WEI Songhong, LI Pingsheng, JI Mingshan, et al. Target-site resistance to bensulfuron-methyl in *Sagittaria trifolia* L. populations [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2015, 124: 81-85.
- [7] 张朝贤,倪汉文,魏守辉,等. 杂草抗药性研究进展[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(4): 1274-1289.
- [8] CUI Hailan, ZHANG Chaoxian, ZHANG Hongjun, et al. Confirmation of flixweed (*Descurainia sophia*) resistance to tribenuron in China [J]. *Weed Science*, 2008, 56(6): 775-779.
- [9] YU Q, POWLES S B. Resistance to AHAS inhibitor herbicides: current understanding [J]. *Pest Management Science*, 2014, 70(9): 1340-1350.
- [10] 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.
- [11] GUTTIERI M J, EBERLEIN C V, THILL D C. Diverse mutations in the acetolactate synthase gene confer chlorsulfuron resistance in kochia (*Kochia scoparia*) biotypes [J]. *Weed Science*, 1995, 43(2): 175-178.
- [12] CHALEFF R S, MAUVAIS C J. Acetolactate synthase is the site of action of two sulfonylurea herbicides in higher plants [J]. *Science*, 1984, 224: 1443-1446.
- [13] SHANER D L, ANDERSON P C, STIDHAM M A. Imidazolones: Potent inhibitors of acetohydroxyacid synthase [J]. *Plant Physiology*, 1984, 76(2): 545-546.
- [14] GERWICK B C, Subramanian M V, Loney-Gallant V I, et al. Mechanism of action of the 1,2,4-triazolo [1,5- $\alpha$ ] pyrimidines [J]. *Pest Management Science*, 1990, 29(3): 357-364.
- [15] STIDHAM M A. Herbicides that inhibit acetohydroxyacid synthase [J]. *Weed Science*, 1991, 39(3): 428-434.
- [16] 卢宗志,张朝贤,傅俊范,等. 抗苄嘧磺隆雨久花 ALS 基因突变研究[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(10): 3516-3521.

对花生叶部病害的抗性<sup>[15]</sup>,袁虹霞等测定了河南 13 个花生品种(系)对褐斑病、黑斑病和网斑病的抗性<sup>[16]</sup>,结果均表明供试品种中缺乏免疫和高抗花生网斑病的花生品种(系)。近年来,花生网斑病的发生危害规模逐渐增大,危害程度逐年加深,加之抗性品种(系)相对缺乏,因此生产上急需一批抗性良好的花生品种(系)来改善花生生产现状。本文结合花生网斑病病斑类型分布特点,分病斑类型进行花生抗性品种(系)的筛选,将为花生抗性品种(系)选育及品种推广提供一种新的思路。

本文研究结果明确了田间花生网斑病的 3 种不同病斑类型以及其在河南省各地区的分布情况,这极大地方便了花生网斑病的田间识别调查。同时还创造性地对 3 种不同病斑类型病原菌菌株开展了致病力差异研究,为更好地研究花生网斑病发生发展规律、田间防治及花生品种推广提供了重要的理论依据。

## 参考文献

- [1] 刘博文,刘晓庚. 浅谈中国花生产业发展的优势与策略[J]. 粮食科技与经济,2011,36(1):9-11.
- [2] 中华人民共和国农业部. 中国农业年鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2001-2015.
- [3] 中华人民共和国统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京:中国统计出版社,2011-2016.
- [4] 李君彦,李有志. 陕西省花生网斑病病原菌的研究[J]. 花生科技,1991,9(1):1-6.
- [5] 徐秀娟,石延茂. 不同时期使用农抗 120 控制花生网斑病侵染

的试验研究[J]. 生物防治通报,1993,9(4):167-169.

- [6] 徐秀娟,石延茂. 花生网斑病主要发生因子的关联性研究[J]. 山东农业大学学报,1992,23(4):430-434.
- [7] MARASAS W F O, PAUER G D, BOEREMA G H. A serious leaf blotch disease of groundnuts (*Arachis hypogaea* L.) in Southern Africa caused by *Phoma arachidicola* sp. nov [J]. *Phytophylactica*, 1974, 6(3):195-202.
- [8] AVESKAMP M M, DE GRUYTER J, WOUDEBERG J H C, et al. Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterise *Phoma* and related pleosporalean genera [J]. *Studies in Mycology*, 2010, 65:1-60.
- [9] 郭英兰,刘锡璠. 中国真菌志(第二十卷)[M]. 北京:科学出版社,2003.
- [10] KEITH S, GARETH M J, WALTER G, et al. The genera of Hyphomycetes[M]. The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center; 2011: 145-147, 303-304, 331-332.
- [11] 郭小强,李翔,赵志强,等. 不同杀菌剂对花生叶斑病防治效果及产量影响的研究[J]. 花生学报,2014, 43(1): 56-60.
- [12] THOMPSON J D, GIBSON T J, PLEWNIAC F, et al. The CLUSTAL\_X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(24):4876-4882.
- [13] 徐秀娟. 中国花生病虫鼠害(第二章)[M]. 北京:中国农业出版社,2009.
- [14] VAN WYK P S, DE JONG F M, MARASAS W F O, et al. Ultrastructure of ascus development in the teleomorph of *Phoma arachidicola* [J]. 1987, 89(2):260-263.
- [15] 董炜博,石延茂,赵志强. 花生品种(系)叶部病害综合抗性鉴定[J]. 中国油料作物学报,2000,22(3):71-74.
- [16] 袁虹霞,孙炳剑,李洪连,等. 花生品种(系)对叶斑病的抗性鉴定[J]. 河南农业科学,2004(12):35-38.

(责任编辑:杨明丽)

(上接 145 页)

- [17] HEAP I. International survey of herbicide resistant weeds [DB/OL]. (2017-6-20), <http://www.weedscience.org/>.
- [18] IWAKAMI S, WATANABE H, MIURA T, et al. Occurrence of sulfonylurea resistance in *Sagittaria trifolia*, a basal monocot species, based on target-site and non-target-site resistance [J]. *Weed Biology and Management*, 2014, 14(1): 43-49.
- [19] YU Q, HAN H, LI M, et al. Resistance evaluation for herbicide resistance-endowing acetolactate synthase (ALS) gene mutations using *Raphanus raphanistrum* populations homozygous for specific ALS mutations [J]. *Weed Research*, 2012, 52(2): 178-186.
- [20] SADA Y, IKEDA H, KIZAWA S. Resistance levels of sulfonylurea-resistant *Schoenoplectus juncooides* (Roxb.) Palla with various Pro197 mutations in acetolactate synthase to imazosulfuron, bensulfuron-methyl, metsulfuron-methyl and imazaquin-

ammonium [J]. *Weed Biology and Management*, 2013, 13(2): 53-61.

- [21] DENG Wei, YANG Qian, ZHANG Yongzhi, et al. Cross-resistance patterns to acetolactate synthase (ALS)-inhibiting herbicides of flixweed (*Descurainia sophia* L.) conferred by different combinations of ALS isozymes with a Pro-197-Thr mutation or a novel Trp-574-Leu mutation [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2017, 136:41-45.
- [22] XIA Wenwen, PAN Lang, LI Jun, et al. Molecular basis of ALS-and/or ACCase-inhibitor resistance in shortawn foxtail (*Alopecurus aequalis* Sobol.) [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2015, 122:76-80.

(责任编辑:杨明丽)