

河南省麦田荠菜对苯磺隆的抗性及其交互抗性

张乐乐 王倩 李伟 白霜 王金信*

(山东农业大学植物保护学院, 泰安 271018)

摘要: 为明确河南省荠菜 *Capsella bursa-pastoris* 种群对苯磺隆的抗性水平及其可能存在的抗性机理,应用整株法测定了采自驻马店及南阳等6个荠菜发生严重市的10个荠菜种群对苯磺隆的抗性,扩增和比对了荠菜苯磺隆抗性种群及敏感种群之间靶标酶乙酰乳酸合成酶基因 *ALS* 的差异,并使用单剂量法测定了以上种群对双氟磺草胺、啶磺草胺及氟唑磺隆等 *ALS* 抑制剂类除草剂的交互抗性。结果表明,驻马店市的汝南县冯湾村(ZMD-1)及平舆县五里路村(ZMD-3)荠菜种群对苯磺隆的抗性倍数分别为3.1和2.5,表现出低水平抗性;驻马店市汝南县赖楼村(ZMD-2)和周口市川汇区文庄村(ZK-1)荠菜种群对苯磺隆的抗性倍数分别为21.7和57.8,表现出高水平抗性;南阳市唐河县上屯村(NY-2)荠菜种群对苯磺隆的抗性倍数为116.5,表现出极高水平抗性,其它种群对苯磺隆仍然较敏感。NY-2、ZMD-2和ZK-1种群的 *ALS* 基因第197位氨基酸由脯氨酸(CCT)分别突变为丝氨酸(TCT)、丙氨酸(GCT)和亮氨酸(CTT),其它种群中均未发现有突变产生;这3个种群在氟唑磺隆推荐剂量处理下,死亡率仅为18.9%、23.3%和11.1%,说明已对氟唑磺隆产生了较高水平的交互抗性,其中NY-2种群对双氟磺草胺和啶磺草胺产生了低水平交互抗性,推荐剂量下死亡率分别为82.2%和83.1%。表明 *ALS* 基因突变很可能是导致荠菜种群对苯磺隆等 *ALS* 抑制剂类除草剂产生抗性的重要原因。

关键词: 荠菜; 苯磺隆; 乙酰乳酸合成酶; 抗性; 基因突变

Resistance to tribenuron-methyl and cross resistance in shepherd's purse *Capsella bursa-pastoris* from wheat fields in Henan Province

Zhang Lele Wang Qian Li Wei Bai Shuang Wang Jinxin*

(College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong Province, China)

Abstract: In order to examine the resistance level and the potential resistance mechanism to tribenuron-methyl in shepherd's purse, *Capsella bursa-pastoris*, whole-plant dose-response experiments were conducted with ten populations collected from the wheat fields in Zhumadian, Nanyang and other places of Henan Province. *ALS* gene fragments were amplified, sequenced, and compared between the susceptible and resistant populations, and the whole-plant dose-response experiment was conducted to evaluate the cross resistance of shepherd's purse populations to florasulam, pyroxsulam and flucarbazone-Na with single dose. The results showed that the populations collected from Fengwan Village, Runan County of Zhumadian City (ZMD-1) and Wulilu Village, Pingyu County of Zhumadian City (ZMD-3) displayed low-level resistance to tribenuron-methyl with a resistance index of 3.1 and 2.5, respectively; the populations collected from Lailou Village, Runan County of Zhumadian City (ZMD-2) and Wenzhuang Village, Chuanhui County of Zhoukou City (ZK-1) displayed high-level resistance with a resistance index of 21.7 and 57.8, respectively; the populations collected from Shangtun Village, Tanghe County of Nan-

yang City (NY-2) displayed very high resistance with a resistance index of 116.5; the other populations were still susceptible to tribenuron-methyl. Sequencing results showed that the mutation of proline (CCT) to threonine (TCT), alanine (GCT) and leucine (CTT) existed in *ALS* gene of NY-2, ZMD-2 and ZK-1 populations, and no mutations in other populations. The tribenuron-methyl-resistant populations also had high cross-resistance to flucarbazone-Na with a death rate of 18.9%, 23.3% and 11.1%, respectively; NY-2 population showed low-level cross-resistance to florasulam and pyroxsulam with a death rate of 82.2% and 83.1%, respectively, at recommended doses. The *ALS* gene mutations were very likely one of the key reasons resulting in tribenuron-methyl resistance of *C. bursa-pastoris* populations.

Key words: *Capsella bursa-pastoris*; tribenuron-methyl; ALS; resistance; gene mutation

苯磺隆是由美国杜邦公司开发的一种磺酰脲类选择性内吸传导型除草剂,自1988年在我国正式登记以来,被广泛应用于小麦田防除阔叶杂草,其作用机理是通过作用于乙酰乳酸合成酶(acetolactate synthase, ALS)抑制亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸3种支链氨基酸的合成。ALS抑制剂类除草剂以其高活性、强选择性、广谱性和对哺乳动物的安全性等优点被广泛应用于我国小麦田防除阔叶杂草,目前已研制开发的ALS抑制剂类除草剂共包括5类:磺酰脲类(Chaleff & Mauvais, 1984)、嘧啶硫代苯甲酸酯类(Stidham, 1991)、三唑并嘧啶磺酰胺类(Gerwick et al., 1990)、磺酰胺羰基三唑琳酮类(Santel et al., 1999)、咪唑啉酮类(Shaner et al., 1984)。但由于作用位点单一以及长期大面积的重复使用,其在我国部分小麦主产区对荠菜*Capsella bursa-pastoris*的防治效果已明显下降,表明荠菜已对苯磺隆产生了不同程度的抗性(刘君良, 2011)。自第1个磺酰脲类除草剂氯磺隆在1982年注册登记后,仅使用5年便发现了对其产生抗性的地肤*Kochia scoparia*(Primiari et al., 1990)和野葛苣*Lactuca serriola*(Mallory-Smith et al., 1990)。自此以后,对ALS抑制剂类除草剂产生抗药性的杂草数量增加迅速,截至目前,已有报道包括62种单子叶、97种双子叶,覆盖44个国家,共计159种杂草对ALS抑制剂类除草剂产生了抗性,其中我国已报道了14例(Heap, 2016)。

一般把杂草对除草剂产生抗性的机理分为非靶标抗性和靶标抗性(Powles & Yu, 2010),其中非靶标抗性是指杂草由于新陈代谢作用增强或对除草剂的吸收转运减少,除草剂到达靶标位点的量减少而对除草剂产生的抗性(Yuan et al., 2007; Délye, 2013);靶标抗性作为杂草对除草剂产生抗性的重要原因,主要指由于除草剂作用的特定靶标酶位点氨基酸发生替换,导致杂草对其敏感性降低而产生的抗性。目前,已证实在杂草中有8个ALS基因氨基

酸位点,即第122位丙氨酸、第197位脯氨酸、第205位丙氨酸、第376位天冬氨酸、第377位精氨酸、第574位色氨酸、第653位丝氨酸、第654位甘氨酸上发生共计27种氨基酸替代形式能够导致杂草对ALS抑制剂类除草剂抗药性的产生(Heap, 2016)。

荠菜为十字花科荠菜属草本植物,是我国冬小麦田的主要阔叶杂草,耐低温及干旱,对环境适应性强并具有多实性等竞争优势,作为河南省小麦田的优势杂草,在驻马店、周口、漯河等市小麦主产区危害严重(刘君良等, 2011)。近年来,随着苯磺隆等ALS抑制剂类除草剂在小麦田的持续使用,抗性荠菜防治问题在河南省小麦田日益突出。刘君良等(2011)发现河南省驻马店市采集的荠菜种群已对苯磺隆产生极高水平抗药性,抗性倍数达232.51。明确河南省各地荠菜种群对苯磺隆等麦田阔叶杂草除草剂的抗性水平以及抗性产生的分子机理对除草剂的合理选用及替换具有重要的指导意义。本研究在河南省驻马店、南阳、信阳等市荠菜发生严重区域采集部分荠菜种群,测定其对苯磺隆的敏感性差异,同时扩增比对苯磺隆抗性种群和敏感种群的ALS基因片段,并测定抗性种群对其它除草剂的交互抗性,拟进一步阐明荠菜对ALS抑制剂类除草剂产生抗性的分子机制,以期为除草剂的合理使用及河南省小麦田荠菜的综合治理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

荠菜种子:2015年5月于河南省驻马店市汝南县冯湾村、汝南县赖楼村、平舆县五里路村以及南阳市唐河县的郝庄村和上屯村、信阳市息县的五一村及杨店村、周口市川汇区文庄村、漯河市源汇区清明李村、商丘市虞城县平楼村冬小麦田采集荠菜种子,麦田磺酰脲类除草剂用药历史均在15年以上,分别以采集点所在市的首字母缩写来命名,即ZMD-1、

ZMD-2、ZMD-3、NY-1、NY-2、XY-1、XY-2、ZK-1、LH-1、SQ-1,共10个种群。每个地点采集1个种群,采集地块面积600 m²以上,每个地块采集50~100株,将同一地块所采集的荠菜种子混合作为1个种群。敏感种群ZZ-1采自郑州市中牟县后刘村离农田较远的公路边,未接触过任何除草剂。

除草剂:75%苯磺隆(tribenuron-methyl)水分散粒剂,上海杜邦农化有限公司;50 g/L双氟磺草胺(florasulam)悬浮剂,山东绿霸化工股份有限公司;7.5%啶磺草胺(pyroxsulam)水分散粒剂,上海陶氏益农公司;70%氟唑磺隆(flucarbazone-Na)水分散粒剂,上海爱利思达生物化学有限公司。

试剂及培养基:植物基因组DNA提取试剂盒(DP305),天根生化科技(北京)有限公司;EasyTaq DNA Polymerase、EasyTaq Buff、dNTPs、EasyPure PCR Purification Kit、TransScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis Super Mix、Trans1-T1 Phage Resistant Chemically Competent Cell,北京全式金生物技术有限公司。LB(Luria-Bertani)固体培养基:胰蛋白胨10 g、酵母提取物5 g、NaCl 10 g、琼脂20 g、蒸馏水1 L;LB液体培养基:LB固体培养基中不添加琼脂。

仪器:RXZ型人工气候箱,宁波江南仪器厂;ASS-4型自动控制农药喷洒系统,北京盛恒天宝科技有限公司;T100梯度PCR仪,美国Bio-Rad公司;DYY-6C电泳仪,北京六一仪器厂;ChampGel 6000紫外凝胶成像系统,北京赛智创业科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 不同荠菜种群对苯磺隆的抗性水平测定

采用温室盆栽整株水平测定法(Ryan, 1970)。从荠菜各种群中分别选取籽粒饱满一致的种子,置于保持湿润的2层滤纸铺垫的直径9 cm培养皿中,于光照培养箱中在光周期L/D=12 h/12 h、温度白天20℃/夜晚15℃条件下催芽至露白,以每盆15粒的

密度移植至装有壤土的直径12 cm塑料花盆中,常规培养于温度18~33℃、相对湿度53%~76%、自然光照的可控日光温室内。待幼苗生长至2~3片叶后进行间苗,每盆保留10株分布平均、长势基本一致的荠菜植株。至荠菜3~4叶期采用ASS-4型自动定量喷雾系统进行茎叶喷雾处理,设定喷液压力为0.275 MPa,喷液量为450 L/hm²。在初步筛选结果的基础上,设定苯磺隆有效成分(下同)施用剂量为:抗性种群ZMD-2、NY-2和ZK-1:0、0.01、0.1、1、10、100及1 000 g/hm²;相对敏感种群ZMD-1、ZMD-3、NY-1、XY-1、XY-2、LH-1、SQ-1和敏感种群ZZ-1:0、0.001、0.01、0.1、1、10及100 g/hm²。每处理3盆,试验重复3次。处理21 d后剪取地上部分,于恒温干燥箱内70℃烘干72 h至恒重后,称量干重并记录。通过双逻辑非线性回归模型 $y=C+(D-C)/[1+(x/GR_{50})^b]$ 计算抑制50%杂草生长所需的除草剂浓度(GR_{50})。式中: y 为除草剂不同使用剂量下所测的杂草地上部分干重占对照的百分比, x 为除草剂使用剂量; D 为剂量反应上限; C 为剂量反应下限; b 为斜率。抗性倍数=抗性种群 GR_{50} /敏感种群 GR_{50} 。抗性分级标准参考Beckie & Tardif(2012)以抗性指数(resistance index, RI)来判断:敏感:RI < 2;低水平抗性:RI = 2~5;中等水平抗性:RI = 6~10;高水平抗性:RI = 11~100;极高水平抗性:RI > 100。

1.2.2 不同荠菜种群ALS基因的测序分析

根据NCBI GenBank中登记的荠菜ALS基因序列(HQ880660.1),使用Primer Premier 5.0软件设计2对扩增引物Forward 1/Reverse 1和Forward 2/Reverse 2用于荠菜ALS基因的扩增检测,扩增的基因序列不包括内含子,同时覆盖已报道的所有ALS抗性突变位点。另外,为提高测序精度,设计1条上游引物Forward 3用于第2条扩增片段的测序(表1)。试验所用引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表1 荠菜ALS基因扩增及测序引物

Table 1 Primers designed for *Capsella bursa-pastoris* ALS gene amplification and sequencing

引物 Primer	序列(5'-3') Sequence (5'-3')	扩增长度 Amplicon size (bp)	覆盖突变位点 Covering the confirmed point mutations
Forward 1	ATTCGTCTCCCGATTGTC	1 196	Ala122, Pro197, Ala205
Reverse 1	GCCCCACACCAGTGCTTAT		
Forward 2	GGTATCCCTGTTGCGAGTA	1 081	Asp376, Arg377, Trp574, Ser653, Gly654
Reverse 2	GCATACAAAGACCGTTTA		
Forward 3	GCTATTGGAGCGTCAGTT	-	-

待荠菜生长至4叶期后,分别随机剪取每个抗

性种群和敏感种群10株约0.1 g幼嫩叶片,按植物基

因组 DNA 提取试剂盒说明书对每个单株进行 DNA 提取。提取后的总 DNA 立即用于后续 PCR 扩增或储存于 -20°C 冰箱备用。25 μL PCR 扩增反应体系: ddH₂O 17.25 μL 、2.5 U/ μL EasyTaq DNA Polymerase 0.25 μL 、10 EasyTaq Buffer 2.5 μL 、10 $\mu\text{mol/L}$ 正反向引物各 1 μL 、2.5 mmol/L dNTP Mixture 2 μL 、基因组 DNA 模板 1 μL 。扩增反应条件: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 56°C 退火 40 s, 72°C 延伸 90 s, 34 个循环; 72°C 再延伸 10 min; 4°C 保存。扩增分 2 个反应进行, 序列 1 长度为 1 196 bp, 序列 2 长度为 1 081 bp, 2 组扩增反应条件一致。

于 PCR 反应结束后, 取 10 μL 扩增产物在 1% 的琼脂糖凝胶中进行电泳, 对电泳后的阳性目的条带进行回收。将回收后的 DNA 条带连接到 pEASY-T1 载体上, 转移到大肠杆菌 *Escherichia coli* 感受态细胞 Trans1-T1 中, 于 37°C 恒温培养 2 h 后, 涂布于 LB 固体培养基 (含 X-gal/IPTG 和氨苄青霉素) 上, 37°C 恒温培养过夜。随后挑取培养基中白色菌落至含氨苄青霉素的 LB 液体培养基中振荡培养, 以培养后的菌液为模板进行二次 PCR 扩增反应, 将得到的目的条带委托生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行测序 (袁国徽等, 2016)。

1.2.3 荠菜对其它除草剂的敏感性测定

为测定河南省所采集的不同荠菜种群对另外 3 种 ALS 抑制剂类除草剂双氟磺草胺、啶磺草胺和氟唑磺隆的敏感性, 以及抗性种群是否对其产生了一定水平的交互抗性, 本研究采用整株法测定荠菜种群对 3 种 ALS 类除草剂的敏感性, 方法同 1.2.1。3 种除草剂施用剂量均为大田推荐剂量, 有效成分

分别为双氟磺草胺 3.75 g/hm^2 、啶磺草胺 10.55 g/hm^2 、氟唑磺隆 31.50 g/hm^2 。荠菜在温室培养至 3~4 叶期进行茎叶喷雾处理, 处理 30 min 后将荠菜移回温室培养, 按需每隔 1 d 加水 1 次。处理 21 d 后记录荠菜植株死亡数, 荠菜死亡判定依据为叶片褪绿、黄化、干枯, 无生长趋势, 有返青现象即为存活。剪取植株地上部分称量干重, 计算不同荠菜种群的死亡率和不同处理的干重抑制率。死亡率 = (对照杂草存活株数 - 处理杂草存活株数) / 对照杂草存活株数 $\times 100\%$; 干重抑制率 = (对照杂草干重 - 处理杂草干重) / 对照杂草干重 $\times 100\%$ 。

1.3 数据分析

试验数据采用 SPSS 20.0 软件以单因素方差分析法进行统计分析, 使用 SigmaPlot 12.5 软件中的非线性回归模型进行剂量反应曲线拟合, 计算荠菜各种群对苯磺隆的 GR_{50} 。

2 结果与分析

2.1 不同荠菜种群对苯磺隆的抗性水平

河南省各地采集的荠菜种群对苯磺隆产生了不同程度的抗性。驻马店市汝南县冯湾村 ZMD-1 种群和平舆县五里路村 ZMD-3 种群对苯磺隆表现出低水平抗性, 其抗性倍数分别为 3.1 和 2.5。驻马店市汝南县冯湾村 ZMD-2 种群及周口市川汇区文庄村 ZK-1 种群对苯磺隆产生了高水平抗性, 其抗性倍数达 21.7 和 57.8。南阳市唐河县上屯村 NY-2 种群对苯磺隆的抗性倍数高达 116.5, 已产生极高水平抗性, 其它荠菜种群对苯磺隆依然比较敏感, 抗性倍数在 1.1~1.7 之间 (表 2)。

表 2 河南省不同荠菜种群对苯磺隆的抗性水平

Table 2 Resistance levels to tribenuron-methyl in different populations of *Capsella bursa-pastoris*

种群 Population	回归方程参数 Regression parameter			GR_{50} (g/hm^2)	抗性倍数 Resistance index
	<i>C</i>	<i>D</i>	<i>b</i>		
ZMD-1	17.5 \pm 1.4	95.1 \pm 1.0	-0.7 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1	3.1
ZMD-2	16.3 \pm 2.9	99.0 \pm 2.4	-0.6 \pm 0.1	5.0 \pm 1.0	21.7
ZMD-3	21.1 \pm 3.2	95.8 \pm 0.7	-0.8 \pm 0.2	0.6 \pm 0.1	2.5
NY-1	22.4 \pm 0.9	94.8 \pm 0.9	-0.9 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1	1.7
NY-2	12.1 \pm 2.2	97.9 \pm 0.8	-0.6 \pm 0.1	26.8 \pm 3.1	116.5
XY-1	18.2 \pm 2.8	99.5 \pm 2.6	-0.6 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1	1.6
XY-2	16.3 \pm 7.1	102.8 \pm 6.9	-0.5 \pm 0.1	0.3 \pm 0.2	1.4
ZK-1	14.9 \pm 5.0	98.7 \pm 2.6	-0.6 \pm 0.1	13.3 \pm 3.8	57.8
LH-1	17.1 \pm 2.8	99.1 \pm 3.1	-0.6 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	1.1
SQ-1	16.2 \pm 6.6	101.2 \pm 6.8	-0.5 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	1.3
ZZ-1	15.6 \pm 3.3	99.5 \pm 3.9	-0.5 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	1.0

表中数据为平均数 \pm 标准差。Data in the table are mean \pm SD.

2.2 荠菜不同种群的ALS基因分析

对荠菜不同种群单株提取DNA后进行ALS基因片段扩增,得到长度为1 196 bp和1081 bp的片段,拼接后长度为1 795 bp,与GenBank中的荠菜ALS基因序列(HQ880660.1)比对结果显示,其同源性达99.9%以上。参照拟南芥ALS基因序列,将拼接后的抗性种群及敏感种群ALS基因序列进行比对,发

现在对苯磺隆产生极高抗性的NY-2种群中,ALS氨基酸序列的第197位氨基酸密码子由CCT突变为TCT,导致脯氨酸突变为丝氨酸;高抗种群ZMD-2和ZK-1中第197位氨基酸密码子由CCT分别突变为GCT和CTT,导致脯氨酸突变为丙氨酸和亮氨酸(图1)。其它低抗种群及敏感种群中均未发现已证实的ALS基因突变。

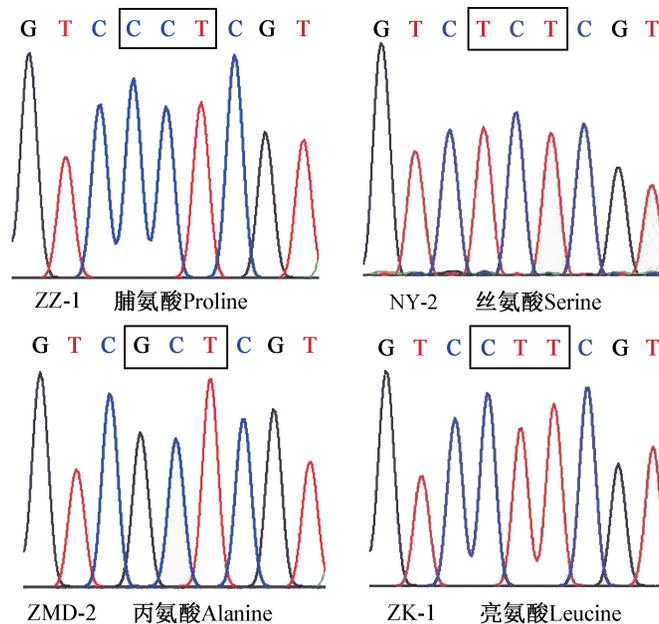


图1 不同荠菜种群ALS基因第197位点的碱基序列

Fig. 1 Position 197 of ALS gene from different *Capsella bursa-pastoris* populations

2.3 不同荠菜种群对除草剂的敏感性

采自河南省的荠菜种群中,抗性种群NY-2对双氟磺草胺和啶磺草胺产生了较低水平的抗药性,对上述2种除草剂的死亡率分别为82.2%和83.1%,干重抑制率分别为71.1%和75.4%。其它种群对双氟磺草胺和啶磺草胺的死亡率分别为91.1%~100.0%和90.0%~92.2%,干重抑制率分别为91.1%~100.0%和90.2%~92.3%。高抗种群ZMD-2、ZK-1和极高抗性种群NY-2均对氟唑磺隆产生了较高水平的交互抗性,其死亡率分别为23.3%、11.1%和18.8%,干重抑制率分别为30.5%、10.2%和21.2%,其中ZK-1种群对氟唑磺隆产生的抗性水平最高。其它种群对氟唑磺隆死亡率及干重抑制率为93.3%~100.0%和70.1%~76.0%(表3)。

3 讨论

荠菜种群对苯磺隆抗性的产生可能与苯磺隆的用药历史相关,据Rubin(1996)及张朝贤等(2009)报道,ALS抑制剂类除草剂连续重复使用3~5年以

上就能够导致杂草对其产生抗药性。在本研究中,抗性种群所在地区已连续使用苯磺隆防治荠菜等阔叶杂草多年,如驻马店市汝南县冯湾村和平舆县五里路村采集点的荠菜种群ZMD-1和ZMD-3已对苯磺隆表现出低水平抗性;驻马店市汝南县赖楼村和周口市川汇区文庄村采集点的荠菜种群ZMD-2和ZK-1已对苯磺隆产生了高水平抗性;南阳市唐河县上屯村采集点的荠菜种群NY-2已对苯磺隆产生极高抗性。因此苯磺隆在抗性种群采集地块已经失去应用价值或防效已下降,应及时更换或混配不同作用机理的除草剂,以防止荠菜抗性种群的进一步恶化及蔓延。

本研究中,NY-2和ZK-1荠菜种群的ALS基因Domain A区域197位点碱基序列CCT突变为TCT和CTT,导致该位点脯氨酸突变为丝氨酸和亮氨酸;Jin et al.(2011)报道了荠菜ALS氨基酸序列197位脯氨酸(CCT)突变为丝氨酸(TCT);Cui et al.(2012)发现荠菜ALS氨基酸序列197位脯氨酸(CCT)突变为苏氨酸(ACT)、组氨酸(CAT)、亮氨酸(CTT)及丝

酸(TCT)是其对 ALS 抑制剂类除草剂苯磺隆产生抗性的重要原因,证实上述突变方式能够导致荠菜种群对苯磺隆等 ALS 抑制剂类除草剂产生抗药性。ZMD-2 种群中 ALS 基因的 197 位点碱基序列 CCT 突变为 GCT,导致脯氨酸突变为丙氨酸。Pro197Ala 突变在地肤(Guttieri et al., 1995)、野萝卜 *Raphanus raphanistrum* (Yu et al., 2012)、播娘蒿 *Descurainia sophia* (Cui et al., 2011) 等多种杂草中已有报道,可使杂草对 ALS 抑制剂类除草剂产生高水平或极高

水平抗药性。因此,本研究中抗性种群对苯磺隆抗药性的产生可能与其 ALS 基因发生突变相关。虽然自驻马店市采集的 ZMD-1 及 ZMD-3 种群已对苯磺隆产生了低水平抗性,但是并未发现其 ALS 基因发生突变,因此可能还存在不同的抗性机制。本研究仅从靶标抗性方面对种群抗性的产生机理进行了分析,今后有必要从抗性种群本身对除草剂的吸收、传导及新陈代谢等非靶标机理角度对其抗性机理的产生进行进一步的探究。

表3 三种除草剂推荐剂量下荠菜种群的死亡及抑制情况

Table 3 The death and suppression rates of *Capsella bursa-pastoris* populations under recommend doses of three herbicides %

种群 Population	3.75 g/hm ² 双氟磺草胺 3.75 g/hm ² florasulam		10.55 g/hm ² 啶磺草胺 10.55 g/hm ² pyroxsulam		31.50 g/hm ² 氟唑磺隆 31.50 g/hm ² flucarbazone-Na	
	死亡率 Mortality rate	干重抑制率 Inhibition rate of dry weight	死亡率 Mortality rate	干重抑制率 Inhibition rate of dry weight	死亡率 Mortality rate	干重抑制率 Inhibition rate of dry weight
ZMD-1	100.0±0.0 a	91.0±3.2 a	100.0±0.0 a	90.2±2.1 a	93.3±2.4 a	70.1±1.3 a
ZMD-2	91.1±1.3 a	90.0±2.3 a	91.1±2.3 b	90.5±2.5 a	23.3±0.9 b	30.5±0.7 b
ZMD-3	100.0±0.0 a	91.9±1.9 a	100.0±0.0 a	91.5±3.1 a	95.5±4.7 a	70.5±1.2 a
NY-1	100.0±0.0 a	91.9±2.4 a	100.0±0.0 a	92.3±3.3 a	100.0±0.0 a	74.2±1.8 a
NY-2	82.2±1.9 b	83.1±1.1 b	71.1±1.7 c	75.4±1.6 b	18.8±0.4 b	21.2±0.2 c
XY-1	100.0±0.0 a	91.9±1.7 a	100.0±0.0 a	92.0±1.4 a	100.0±0.0 a	74.0±0.9 a
XY-2	100.0±0.0 a	91.8±2.5 a	100.0±0.0 a	92.1±2.6 a	100.0±0.0 a	75.3±1.3 a
ZK-1	93.3±0.8 a	90.2±4.1 a	93.3±2.3 b	90.2±3.8 a	11.1±0.3 c	10.2±0.3 d
LH-1	100.0±0.0 a	91.4±3.2 a	100.0±0.0 a	91.5±5.1 a	100.0±0.0 a	74.2±1.4 a
SQ-1	100.0±0.0 a	91.6±3.6 a	100.0±0.0 a	90.7±2.3 a	100.0±0.0 a	76.0±1.5 a
ZZ-1	100.0±0.0 a	92.2±2.7 a	100.0±0.0 a	91.2±3.7 a	100.0±0.0 a	75.2±2.2 a

表中数据为平均数±标准误。同列数据后不同字母表示经 Duncan 新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

本研究发现,3个苯磺隆抗性荠菜种群均对同为磺酰脲类除草剂的氟唑磺隆产生了交互抗性,这与 Powles & Yu(2010)和 Yu & Powles(2014)研究中磺酰脲类除草剂抗性杂草能够对同类型除草剂产生交互抗性的结论相一致。本试验从河南省采集的荠菜种群中多数对双氟磺草胺和啶磺草胺依然敏感,麦田荠菜仍可以使用这2种除草剂进行防除。抗性种群 ZMD-2、ZK-1 和 NY-2 对苯磺隆产生高水平抗性的同时,对氟唑磺隆也产生了交互抗性,氟唑磺隆已不能有效防除上述抗性种群。苯磺隆的施用历史已近40年,加上其作用位点单一,全球已有89例苯磺隆抗性杂草报道发生(Heap, 2016)。为延缓荠菜抗药性的发生及蔓延,在生产实践中应选择不同作用机理的替代药剂合理混用及轮换使用,避免单一药剂长期连续使用而使荠菜种群对其产生抗药性。

本研究从整株水平生物测定、靶标基因突变分析和多种除草剂交互抗性初测等常规角度入手,明确了河南省6个市冬小麦田荠菜种群对苯磺隆的抗性水平、抗性机理及交互抗性,后续试验中有待于进一步扩大荠菜种群的采集范围及种群数量,为麦田抗性荠菜的区域性研究及综合防治奠定良好的基础。同时,有关荠菜本身解毒酶、代谢酶活性与其所展现出的抗药性之间的关系以及采用转录组测序、Southern blot 等新型技术揭示荠菜 ALS 基因拷贝数等抗性产生机理仍需进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- Beckie HJ, Tardif FJ. 2012. Herbicide cross resistance in weeds. *Crop Protection*, 35: 15–28
- Chaleff RS, Mauvais CJ. 1984. Acetolactate synthase is the site of action of two sulfonyleurea herbicides in higher plants. *Science*, 224

- (4656): 1443–1445
- Cui HL, Li XJ, Wang GQ, Wang JP, Wei SH, Cao HY. 2012. Acetolactate synthase proline (197) mutations confer tribenuron-methyl resistance in *Capsella bursa-pastoris* populations from China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 102(3): 229–232
- Cui HL, Zhang CX, Wei SH, Zhang HJ, Li XJ, Zhang YQ, Wang GQ. 2011. Acetolactate synthase gene proline (197) mutations confer tribenuron-methyl resistance in flixweed (*Descurainia sophia*) populations from China. *Weed Science*, 59(3): 376–379
- Délye C. 2013. Unravelling the genetic bases of non-target-site based resistance (NTSR) to herbicides: a major challenge for weed science in the forthcoming decade. *Pest Management Science*, 69(2): 176–187
- Gerwick BC, Subramanian MV, Loney-gallant VI. 1990. Mechanism of action of the 1,2,4-triazolo[1,5- α] pyrimidines. *Journal of Pesticide Science*, 29(3): 357–364
- Guttieri MJ, Eberlein CV, Thill DC. 1995. Diverse mutations in the acetolactate synthase gene confer chlorsulfuron resistance in kochia (*Kochia scoparia*) biotypes. *Weed Science*, 43(2): 175–178
- Heap I. 2016. The international survey of herbicide resistant weeds. [2016-9-10]. <http://weedsociety.org>
- Jin T, Liu JL, Huan ZB, Wu CX, Bi YL, Wang JX. 2011. Molecular basis for resistance to tribenuron in shepherd's purse (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100(2): 160–164
- Liu JL. 2011. The resistance of *Capsella bursa-pastoris* to tribenuron-methyl in winter wheat fields in northern China. Master Thesis. Tai'an: Shandong Agricultural University (in Chinese) [刘君良]. 2011. 中国北方部分地区麦田杂草荠菜对苯磺隆的抗性研究. 硕士学位论文. 泰安: 山东农业大学
- Liu JL, Wang JX, Liu WT, Jin T, Li XF, Bi YL. 2011. Resistance level of *Capsella bursa-pastoris* to tribenuron-methyl in winter wheat fields in northern China. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 13(4): 347–353 (in Chinese) [刘君良, 王金信, 刘伟堂, 金涛, 李小芳, 毕亚玲]. 2011. 中国北方部分地区麦田荠菜对苯磺隆的抗性水平. *农药学报*, 13(4): 347–353
- Mallory-Smith CA, Thill DC, Dial MJ. 1990. Identification of sulfonylurea herbicide-resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Technology*, 4(1): 163–168
- Powles SB, Yu Q. 2010. Evolution in action: plants resistant to herbicides. *Annual Review of Plant Biology*, 61: 317–347
- Primiani MM, Cotterman JC, Saari LL. 1990. Resistance of kochia (*Kochia scoparia*) to sulfonylurea and imidazolinone herbicides. *Weed Technology*, 4(1): 169–172
- Rubin B. 1996. Herbicide-resistant weeds – the inevitable phenomenon: mechanisms, distribution and significance. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Sonderheft*, 15: 17–32
- Ryan GF. 1970. Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. *Weed Science*, 18(5): 614–616
- Santel HJ, Boeden BA, Sorensen VM, Mueller KH, Reynolds J. 1999. Flucarbazone-sodium – a new herbicide for the selective control of wild oat and green foxtail in wheat. *Weed Science Society of America*, 1: 23–28
- Shaner DL, Anderson PC, Stidham MA. 1984. Imidazolinones: potential inhibitors of acetohydroxyacid synthase. *Plant Physiology*, 76(2): 545–546
- Stidham MA. 1991. Herbicides that inhibit acetohydroxyacid synthase. *Weed Science*, 39(3): 428–434
- Yu Q, Han H, Li M, Purba E, Walsh MJ, Powles SB. 2012. Resistance evaluation for herbicide resistance-endowing acetolactate synthase (ALS) gene mutations using *Raphanus raphanistrum* populations homozygous for specific ALS mutations. *Weed Research*, 52(2): 178–186
- Yu Q, Powles SB. 2014. Resistance to AHAS inhibitor herbicides: current understanding. *Pest Management Science*, 70(9): 1340–1350
- Yuan GH, Wang HZ, Zhao N, Lu XT, Liu WT, Wang JX. 2016. Resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides in *Pseudosclerochloa kengiana* and its molecular resistance mechanism. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 18(3): 304–310 (in Chinese) [袁国徽, 王恒智, 赵宁, 路兴涛, 刘伟堂, 王金信]. 2016. 耿氏硬草对乙酰辅酶A羧化酶类除草剂抗性水平及分子机制初探. *农药学报*, 18(3): 304–310
- Yuan JS, Tranel PJ, Stewart CN Jr. 2007. Non-target-site herbicide resistance: a family business. *Trends in Plant Science*, 12(1): 6–13
- Zhang CX, Ni HW, Wei SH, Huang HJ, Liu Y, Cui HL, Sui BF, Zhang M, Guo F. 2009. Current advances in research on herbicide resistance. *Scientia Agricultura Sinica*, 42(4): 1274–1289 (in Chinese) [张朝贤, 倪汉文, 魏守辉, 黄红娟, 刘延, 崔海兰, 隋标峰, 张猛, 郭峰]. 2009. 杂草抗药性研究进展. *中国农业科学*, 42(4): 1274–1289

(责任编辑:李美娟)