

抗苯磺隆猪殃殃乙酰乳酸合成酶的突变研究

孙 健¹, 王金信¹, 张宏军², 刘君良¹, 卞圣楠¹

(¹山东农业大学植物保护学院, 山东泰安 271018; ²农业部农药检定所, 北京 100125)

摘要:【目的】近几年, 中国大部分冬小麦田猪殃殃 (*Galium aparine* L.) 用苯磺隆已无法有效控制。为明确猪殃殃对苯磺隆产生抗药性的分子机制, 本试验从分子水平上开展研究, 以初步明确乙酰乳酸合成酶 (ALS) 氨基酸序列的突变位点。【方法】通过对敏感和抗药性猪殃殃生物型 ALS 基因片段进行扩增、克隆和测序, 比对 2 种生物型的 ALS 序列。【结果】与敏感生物型猪殃殃的 ALS 相比, 抗药性猪殃殃生物型 ALS 有 3 个位点发生突变, 其中位于高度保守区 Domain B 的第 574 位色氨酸被甘氨酸所取代。【结论】该位点的突变可能是猪殃殃对苯磺隆产生抗药性的主要原因。

关键词: 抗药性; 猪殃殃; 乙酰乳酸合成酶; 基因突变

Study on Mutations in ALS of Resistance to Tribenuron-Methyl in *Galium aparine* L.

SUN Jian¹, WANG Jin-xin¹, ZHANG Hong-jun², LIU Jun-liang¹, BIAN Sheng-nan¹

(¹College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong; ²Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, Beijing 100125)

Abstract: 【Objective】 In recent years, *Galium aparine* L. in most winter wheat fields in China could not be controlled by tribenuron-methyl. The objective of this study is to understand the molecular basis of the resistance mechanism to tribenuron-methyl in *G. aparine* and to find the specific mutation sites in amino acid sequence of acetolactate synthase (ALS) in the resistant biotype of *G. aparine*. 【Method】 Fragments encoding the ALS were amplified and cloned from *G. aparine*, susceptible (S) and resistant (R) biotypes to tribenuron-methyl, respectively, and sequenced subsequently. 【Result】 The result showed that the nucleotide sequence of R-biotype of *G. aparine* differed from that of the S biotype with three amino acid substitutions, of which, the amino acid substitution of Trp₅₇₄ (TGG) to Gly (GGG) located in the highly conserved region Domain B. 【Conclusion】 The substitution of Trp₅₇₄ might be responsible for the resistance to tribenuron-methyl in the R-biotype of *G. aparine*.

Key words: resistance; *Galium aparine* L.; acetolactate synthase; gene mutation

0 引言

【研究意义】猪殃殃 (*Galium aparine* L.) 是生长在冬小麦田和冬油菜田的一种恶性茜草科杂草^[1], 危害非常严重。苯磺隆属于乙酰乳酸合成酶 (acetolactate synthase, ALS) 抑制剂类除草剂, 因用量低、低残留、选择性强、杀草谱广以及对哺乳动物安全使之成为用于防除麦田阔叶杂草的重要除草剂^[2-3], 但是, 由于其作用位点单一, 容易产生抗性^[4-5]。近几年, 由于长期

单一使用, 在中国北方大部分冬小麦田, 猪殃殃对苯磺隆产生了不同程度的抗药性^[1]。【前人研究进展】大多数情况下, 杂草对 ALS 抑制剂的抗性是由 ALS 基因一个或几个位点突变所致^[6-7]。1992 年 Guttieri 等^[8]首次报道了从靶标酶基因突变研究抗药性的机理, 研究发现, 毒莴苣 (*Lactuca serriola*) 和地肤 (*Kochia scoparia*) 对 ALS 抑制剂产生抗药性是由 197 位脯氨酸突变所致。此后, 更多杂草或植物的 ALS 基因被相继克隆、测序、分析, 以更好地解释抗药性机理。目

收稿日期: 2009-08-24; 接受日期: 2009-10-21

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划 (2006BAD08A09)

作者简介: 孙 健, 硕士研究生。Tel: 0538-8241114; E-mail: sunrain0309@163.com。通信作者王金信, 教授, 博士。Tel: 0538-8241114; E-mail: Wangjx@sdau.edu.cn

前已发现的 ALS 抑制剂抗性杂草中, 共有 6 个 ALS 基因位点发生了突变, 从而导致 ALS 发生变异。这些位点在拟南芥 ALS 氨基酸序列中相应的位置及表达的氨基酸分别为第 122 位丙氨酸 (Ala₁₂₂), 第 197 位脯氨酸 (Pro₁₉₇), 第 205 位丙氨酸 (Ala₂₀₅), 第 376 位天冬氨酸 (Asp₃₇₆), 第 574 位色氨酸 (Trp₅₇₄) 和第 653 位丝氨酸 (Ser₆₅₃)^[6,9-11]。其中, 有 5 个位点分别位于 Domain C、Domain A、Domain D、Domain B 和 Domain E 5 个保守区中, 第 376 位天冬氨酸被谷氨酸取代是近期发现的一个新的突变位点。目前, 报道最多的是 Domain A 的 Pro₁₉₇ 位点的突变。中国正式报道的有 3 种, 分别是雨久花 (*Monochoria korsakowii*) 对苄嘧磺隆和吡嘧磺隆^[12]、慈姑 (*Sagittaria montevidensis*) 对苄嘧磺隆和吡嘧磺隆^[13]及播娘蒿 (*Descurainia sophia*) 对苯磺隆^[14-15]产生抗药性。【本研究切入点】目前冬小麦田猪殃殃发生严重, 部分地区农业技术员反映使用苯磺隆常规剂量已无法有效控制其发生危害。唐贵章等^[16]发现, 苯磺隆防除麦田猪殃殃不论冬季前施药还是春季施药, 效果均不理想, 但目前未见从分子水平研究猪殃殃对苯磺隆的抗性机制。【拟解决的关键问题】本研究从分子水平研究猪殃殃对苯磺隆的抗性机制, 并初步明确其产生抗药性突变的基因位点。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

供试抗药性猪殃殃种子分别于 2007 年和 2008 年 5 月采自山东省济宁市梁山约有 10 年苯磺隆使用历史的冬小麦田, 室内盆栽经 75% 苯磺隆水分散粒剂 54 g a.i./hm² 处理仍存活, 并继续培养, 单株收集存活猪殃殃种子, 供测试用。

供试敏感型猪殃殃种子采自同一地区的非农田 (从未使用过除草剂), 室内盆栽经 75% 苯磺隆水分散粒剂 18 g a.i./hm² 处理, 16 d 后全部死亡。

1.2 试验方法

1.2.1 温室盆栽法^[17] 每盆面积 100 cm², 对单株收集的猪殃殃种子进行催芽, 播种露白的种子, 每盆 10 粒, 置于温室内培养。温室温度白天 (25±5) °C, 夜间为 (15±5) °C, 光照强度为 15 000—23 500 lx, 相对湿度 (75±5) %。待叶片长至 3—4 轮, 取幼嫩叶片 (0.2 g/包), 经消毒处理后, 放入 -80 °C 冰箱内保存, 备用。

1.2.2 引物的设计与合成 目前已有多种植物的

ALS 基因被克隆和报道, 从 NCBI 的 GenBank 登记的 ALS 基因序列中, 选取拟南芥等 5 种植物的 ALS 氨基酸序列, 找出这几种植物共有的同源保守区 (表 1), 参考其保守区域设计引物, 引物由上海博尚生物技术有限公司合成。

表 1 不同植物的 ALS 基因序列

Table 1 ALS gene sequence identification from various plant species

登录号*	生物	碱基数	氨基酸数
Accession No.	Organism	Nucleotide	Amino acid
AY541454	向日葵 (<i>Helianthus annuus</i> L.)	1959	652
U16279	苍耳 (<i>Xanthium strumarium</i> L.)	1947	649
X07644	烟草 (<i>Nicotiana tabacum</i> L.)	2004	667
X16708	油菜 (<i>B.napus</i> L.)	1896	637
X51514	拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i> L.)	2013	670

* 在 NCBI GenBank 上的登记号 NCBI GenBank accession number

根据上述植物的 ALS 序列保守区设计了 2 对引物 (表 2), 这 2 对引物扩增的片段长度约为 520 bp (没有内含子的情况下), 包含已报道的一个保守区。用温度梯度 PCR 仪 (Biometra T-Gradient Thermoblock) 确定每一对引物的最佳退火温度。

表 2 扩增猪殃殃 ALS 片段的引物

Table 2 Primers designed for *Galium aparine* ALS gene amplification

引物	序列	退火温度
Primer	Sequence (5'-3')	Annealing temperature (°C)
I-F	TTGGGAAGAAAYAARCARCC	53
I-R	TTYCCBARGTAKGTATGWGCC	
II-F	GGAAGAATAARCARCCTCATG	55
II-R	YTCCCAYTGAACMACCATAC	

Y=C 或 T; R=A 或 G; B=C 或 G 或 T; K=G 或 T; W=A 或 T; M=A 或 C

Y=C/T; R=A/G; B=C/G/T; K=G/T; W=A/T; M=A/C

1.2.3 反转录 (RT) 用 TIANGEN 公司的 RNAsimple Total RNA Kit 试剂盒提取猪殃殃叶片的总 RNA。cDNA 第一链的合成用 TIANGEN 公司的 Quantscript RT Kit 来完成。在 20 μL 的反应体系中包含: 3 μL 的总 RNA, 2 μL 的 10×RT Mix, 2 μL 的 dNTP Mixture (2.5 mmol·L⁻¹ each), 2 μL 的 Oligo-dT₁₅ (10 μmol·L⁻¹), 1 μL 的 Quant Reverse Transcriptase,

10 μL 的 RNase-free 水。反转录条件按照试剂盒说明, 反转录产物立即作为模板进行 PCR 扩增。

1.2.4 ALS 基因片段的克隆 全部 PCR 均使用 TIANGEN 公司的试剂盒 Taq DNA Polymerase 完成。第一轮 PCR 的 50 μL 的反应体系含: 37 μL 的 ddH₂O, 5 μL 的 10 \times Taq Buffer, 1 μL 的 dNTP Mixture (10 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$), 1.5 μL 的 Primer I -F (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 1.5 μL 的 Primer I -R (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 1 μL Taq DNA Polymerase (2.5 U $\cdot\mu\text{L}^{-1}$), 3 μL 的反转录产物为模板。第二轮 PCR 将引物改为 Primer II -F 和 Primer II -R, 将模板改为 2 μL 的第一轮 PCR 产物, 其它成分与第一轮 PCR 的相同。第一轮 PCR 反应条件设定为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min, 然后, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s, 53 $^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 3 min, 共 20 个循环。最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min; 第二轮 PCR 反应条件设定为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min, 然后, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 3 min, 共 30 个循环。最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。扩增产物于琼脂糖凝胶中电泳检测。将扩增产物进行回收, 连接到 pMD18-T 载体, 然后转到大肠杆菌感受态细胞中, 涂布于含有 Ampicilin 和 X-gal/IPTG 的 LB 固体培养基上培养过夜, 挑取白色菌落到含 Ampicilin 的 LB 培养液中震荡培养, 取菌液为模板进行 PCR 鉴定, 得到的阳性克隆送上海生工生物工程技术有限公司测序验证。

1.2.5 生物信息学分析 将测序的序列进行 BLASTx 比对, 得到蛋白序列, 然后用 DNAMAN 软件对扩增出的抗药性和敏感型猪殃殃 ALS 基因的蛋白序列进行比对。

2 结果

2.1 猪殃殃总 RNA 检测结果

在常规琼脂糖凝胶电泳中, 较好的 RNA 产物应该可以看到 2 条明显的优势 rRNA 条带, 分别为 28S rRNA、18S rRNA, 条带亮度比值约为 2:1。图 1 是猪殃殃总 RNA 的常规琼脂糖凝胶电泳检测结果, 发现 RNA 略有降解, 18S rRNA 的亮度高于 28S rRNA, 但不影响下一步试验。

2.2 猪殃殃 ALS 基因片段的克隆

以猪殃殃的 cDNA 为模板, 按上述 PCR 反应条件进行扩增, 得到一条大小约为 500 bp 的基因片段 (图 2), 与预期目的片段 520 bp 的大小一致。将目的片段进行克隆、测序。

2.3 猪殃殃 ALS 基因片段的菌落 PCR 鉴定

将转化后的单克隆菌落于含 Ampicilin 的 LB 液

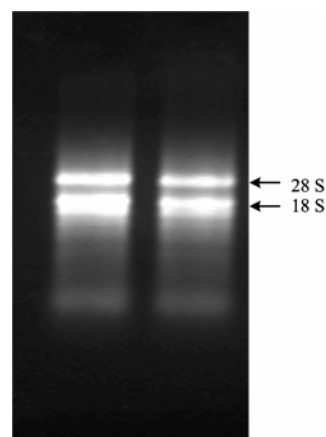
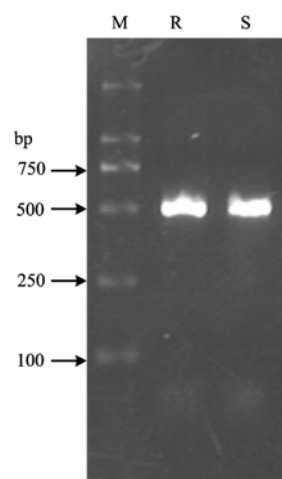


图 1 猪殃殃总 RNA 电泳检测

Fig. 1 The total RNA of *Galium aparine*



M: DNA marker D2000; R: 抗性猪殃殃; S: 敏感猪殃殃

M: DNA marker D2000; R: Resistant *Galium aparine* biotype; S: Susceptible *Galium aparine* biotype

图 2 抗药性、敏感生物型猪殃殃 ALS 基因的扩增

Fig. 2 Amplification of ALS fragments from resistant and susceptible *Galium aparine* biotype

体培养液中震荡培养, 以菌液为模板进行 PCR 鉴定, 2 种生物型均扩增出目的片段 (图 3)。

2.4 猪殃殃 ALS 基因片段的生物信息学分析

与敏感生物型相比, 抗性生物型猪殃殃 ALS 编码区共有 3 个氨基酸残基发生突变 (表 3), 即第 457 位苏氨酸突变为丝氨酸, 第 573 位谷氨酰胺突变为丝氨酸, 第 574 位色氨酸突变为甘氨酸。其中, 只有第 574 位氨基酸的突变位于高度保守区 Domain B 处, 第 457 位、573 位氨基酸突变位于非保守区。

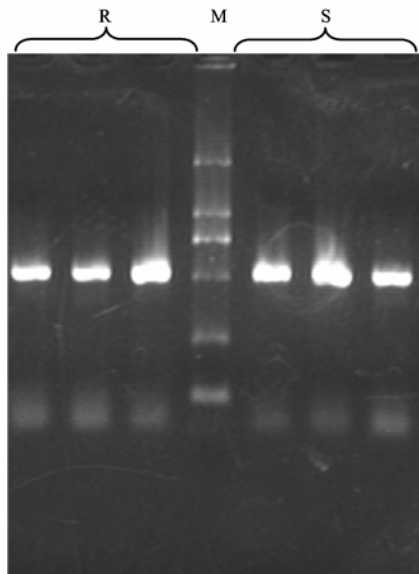
表 3 抗性生物型与敏感生物型猪殃殃 ALS 基因片段及氨基酸的比较

Table 3 The comparison of mutant parts of ALS gene and amino acid sequences from the resistant and susceptible *Galium aparine* biotypes

生物型	氨基酸的位置和对应碱基及氨基酸序列										
Populations	The amino acid position, relative sequence of nucleotide and amino acid										
	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	
S	AAG	TAT	CCG	CTG	AGC	TTC	AAG	ACC	TTT	GGC	
S	K	Y	P	L	S	F	K	T	F	G	
R	AAG	TAT	CCG	CTG	AGC	TTC	AAG	TCC	TTT	GGC	
R	K	Y	P	L	S	F	K	S	F	G	
A	AAG	TTT	CCG	TTG	AGC	TTT	AAG	ACG	TTT	GGG	
A	K	F	P	L	S	F	K	T	F	G	
	565	566	567	568	569	570	571	572	573	574	
S	AAC	CAG	CAC	CTT	GGT	ATG	GTT	GTT	CAG	TGG	
S	N	Q	H	L	G	M	V	V	Q	W	
R	AAC	CAG	CAC	CTT	GGT	ATG	GTT	GTT	AGT	GGG	
R	N	Q	H	L	G	M	V	V	S	G	
A	AAC	CAG	CAT	CTT	GGC	ATG	GTT	ATG	CAA	TGG	
A	N	Q	H	L	G	M	V	M	Q	W	

R: 抗药性猪殃殃 ALS DNA 序列及对应氨基酸序列; S: 敏感性猪殃殃 ALS DNA 序列及对应氨基酸序列; A: 拟南芥 ALS DNA 序列及对应氨基酸序列。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。加粗字体为突变位点

R: ALS DNA and corresponding amino acid sequence from resistant *Galium aparine* biotype; S: ALS DNA and corresponding amino acid sequence from susceptible *Galium aparine* biotype; A: ALS DNA and corresponding amino acid sequence from *Abrabidopsis thaliana*. The numbers of amino acid and DNA base are based on the numbers of that from *Abrabidopsis thaliana*. The bold letters indicate the mutant sites



M: DNA marker D2000; R: 抗性猪殃殃; S: 敏感猪殃殃
M: DNA marker D2000; R: Resistant *Galium aparine* biotype; S: Susceptible *Galium aparine* biotype

图 3 抗性、敏感性生物型猪殃殃 ALS 基因片段的菌液 PCR 鉴定

Fig. 3 Identification of ALS fragments from susceptible and resistant *Galium aparine* types by PCR

3 讨论

杂草对 ALS 抑制剂抗性机理主要包括 2 个方面: 一方面是由于 ALS 基因保守区中某个位点的突变^[18]; 另一方面是由于 ALS 基因的过量表达^[19-20]。已知对 ALS 抑制剂产生抗性的机制主要是 ALS 基因的变异^[21-23]。

基因突变可导致杂草抗药性的产生, 在有关抗磺酰脲类除草剂的杂草报道中, ALS 基因的 4 个特殊氨基酸位点中任何一个突变都可以使杂草产生对磺酰脲类除草剂的抗药性。其中 Trp₅₇₄ 位点的突变能够使杂草对磺酰脲类 (SU) 和咪唑啉酮类 (IMI) 抑制剂均产生抗性, 进一步研究显示 Trp₅₇₄ 残基决定着 ALS 酶活性位点通道的形状, 而且在 SU 类和 IMI 类抑制剂与酶的结合中起着重要作用。因此 Trp₅₇₄ 残基的突变改变了酶与抑制剂结合位点的形状, 从而导致杂草抗药性的发生^[2]。

本研究中, 仅扩增出 ALS 基因部分片段, 其中只包含能使猪殃殃对苯磺隆产生抗药性的一个突变位点 Trp₅₇₄, 研究证实, 这种突变是导致反枝苋 (*Amaranthus retroflexus*) 和长芒苋 (*Amaranthus tuberculatus*) 对磺

酰胺类除草剂产生抗药性的分子基础^[24-25]。因此,该突变可能是猪殃殃对苯磺隆产生抗药性的重要原因。而发生在第 457 位和第 573 位的氨基酸突变是否也会导致猪殃殃对苯磺隆产生抗药性还需进一步研究。本试验尚未扩增出 ALS 基因的全长序列,特别是报道最多的第 197 位氨基酸是否发生变异还不清楚,因此有必要获取 ALS 基因全长,以便全面了解猪殃殃对苯磺隆的抗性机制。

4 结 论

通过 PCR 技术,克隆出麦田恶性杂草猪殃殃 ALS 基因的部分片段,该片段共有 3 处位点发生了突变,其中 Trp₅₇₄ 的突变有可能是导致猪殃殃产生抗药性的重要原因之一。

References

- [1] 彭学岗,王金信,段敏,杨纪辉. 中国北方部分冬麦区猪殃殃对苯磺隆的抗性水平. 植物保护学报, 2008, 35(5): 459-462.
Peng X G, Wang J X, Duan M, Yang J H. The resistance to tribenuron-methyl in *Galium aparine* in winter wheat fields in northern China. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2008, 35(5): 459-462. (in Chinese)
- [2] Duggleby R G, Pang S S. Acetohydroxyacid synthase. *Biochemistry and Molecular Biology*, 2000, 33: 1-36.
- [3] Tan S Y, Evans R R, Dahmer M L, Singh B K, Shaner D L. Imidazolinone-tolerant crops: History, current status and future. *Pest Management Science*, 2005, 61: 246-257.
- [4] Sibony M, Michel A, Haas H U, Rubin B, Hukle K. Sulfometuron-resistant *Amaranthus retroflexus*: Cross-resistance and molecular basis for resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides. *Weed Research*, 2001, 41: 509-522.
- [5] Durán-Prado M, Osuna M D, de Prado R, Franco A R. Molecular basis of resistance to sulfonylureas in *Papaver rhoeas*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2004, 79(1): 10-17.
- [6] Tranel P J, Wright T R. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: What have we learned? *Weed Science*, 2002, 50: 700-712.
- [7] 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. *Plant Physiology*, 1992, 100: 1909-1913.
- [8] Guttieri M J, Eberlein C V, Thill D C. Diverse mutations in the acetolactate synthase gene confer chlorsulfuron resistance in kochia (*Kochia scoparia*) biotypes. *Weed Science*, 1995, 43 (2): 175-178.
- [9] Tranel P J, Wright T R, Heap I M. ALS mutations from herbicide-resistant weeds. URL <http://www.weedscience.org>. Accessed: January 2008.
- [10] YU Q, Zhang X Q, Hashem A, Walsh M J, Powles S B. ALS gene proline (197) mutations confer ALS herbicide resistance in eight separated wild radish (*Raphanus raphanistrum*) populations. *Weed Science*, 2003, 51: 831-838.
- [11] YU Q, Han H, Powles S B. Mutations of the ALS gene endowing resistance to ALS-inhibiting herbicides in *Lolium rigidum* populations. *Pest Management Science*, 2008, 64: 1229-1236.
- [12] 吴明根,曹凤秋,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. 植物保护学报, 2007, 34(5): 545-548.
Wu M G, Cao F Q, Liu L. Effect of sulfonylurea herbicides on the acetolactate synthase activity between resistant and susceptible of *Monochoria korsakowii*. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2007, 34(5): 545-548. (in Chinese)
- [13] 吴明根,吴松权,朴仁哲,傅民杰,曹凤秋. 磺酰脲类除草剂对抗感性慈姑 ALS 活性的影响. 农药, 2007, 46(10): 701-703.
Wu M G, Wu S Q, Piao R Z, Fu M J, Cao F Q. Effect of sulfonylurea herbicides on acetolactate synthase activity of resistant and susceptible biotypes of arrowweed. *Agrochemicals*, 2007, 46(10): 701-703. (in Chinese)
- [14] 许贤,王贵启,张宏军,樊翠芹,李乘华,苏立军,王建平. 河北省境内播娘蒿对苯磺隆抗药性研究初报. 西北农业学报, 2008, 17(2): 270-273.
Xu X, Wang G Q, Zhang H J, Fan C Q, Li B H, Su L J, Wang J P. Preliminary study on the resistance of *Descurainia sophia* to tribenuron-methyl in Hebei province. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2008, 17(2): 270-273. (in Chinese)
- [15] Cui H L, Zhang C X, Zhang H J, Liu X, Liu Y, Wang G Q, Huang H J, Wei S H. Confirmation of flaxweed (*Descurainia sophia*) resistance to tribenuron in China. *Weed Science*, 2008, 56: 775-779.
- [16] 唐贵章,许永久,梁龙坦,王长征,李古彬. 除草剂防除麦田猪殃殃试验. 安徽农业科学, 2006, 34(8): 1627, 1653.
Tang G Z, Xu Y J, Liang L T, Wang C Z, Li G B. The test of herbicide control *Galium aparine* in wheat field. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2006, 34(8): 1627, 1653. (in Chinese)
- [17] 王庆亚,董立尧,娄远来,张守栋. 农田杂草抗药性及其检测鉴定方法. 杂草科学, 2002, 2: 1-5.
Wang Q Y, Dong L Y, Lou Y L, Zhang S D. Rapid reliable test for screening resistance within weed. *Weed Science*, 2002, 2: 1-5. (in Chinese)
- [18] Boutsalis P, Karotam J, Powles S B. Molecular basis of resistance to

- acetolactate synthase-inhibiting herbicides in *Sisymbrium orientale* and *Brassica tournefortii*. *Pesticide Science*, 1999, 55: 507-516.
- [19] Forlani G, Nielseen F, Landi P, Tuberosa R. Chlorsulfuron tolerance and acetolactate synthase activity in corn (*Zea mays* L.) inbred lines. *Weed Science*, 1991, 39: 553-557.
- [20] Veldhuis L J, Hall L M, O'Donovan J T, Dyer W, Hall J C. Metabolism-based resistance of a wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) biotype to ethametsulfuron-methyl. *Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48: 2986-2990.
- [21] Eberlein C V, Guttieri M J, Mallory-Smith C B, Thill D C, Baerg R J. Altered acetolactate synthase activity in als-inhibitor resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Science*, 1997, 45: 212-217.
- [22] Sibonym, Rubin B. Molecular basis for multiple resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides and trazine in *Amaranthus blitoides* (Prostrate Pigweed). *Planta*, 2003, 216: 1022-1027.
- [23] McCourt J A, Pang S S, King-scott J, Guddat L W, Duggleby R G. Herbicide-binding sites revealed in the structure of plant acetohydroxyacid synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2006, 103: 569-573.
- [24] McNaughton K E, Letarte J, Lee E A, Tardif F. Mutations in ALS confer herbicide resistance in redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) and Powell amaranth (*Amaranthus powellii*). *Weed Science*, 2005, 53(1): 17-22.
- [25] Patzoldt W L, Tranel P J. Multiple ALS mutations confer herbicide resistance in waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*). *Weed Science*, 2007, 55: 421-428.

(责任编辑 李 莉)