

杂草对乙酰乳酸合成酶抑制剂的抗药性研究进展

卢宗志^{1,2,3}, 张朝贤², 傅俊范¹, 李贵军³, 李茂海³

(1. 沈阳农业大学 植物保护学院, 辽宁 沈阳 110000; 2. 中国农业科学院 植物保护研究所, 北京 100193;

3. 吉林省农业科学院 植物保护研究所, 吉林 公主岭 136100)

摘要: 综述了有关杂草对乙酰乳酸合成酶(ALS)抑制剂抗性产生的历史与现状、抗性机制、抗性杂草的适合度、抗性基因的利用及抗药性的测定技术, 提出了我国在该类除草剂研究和应用方面存在的问题及今后的研发方向。

关键词: 杂草; 乙酰乳酸合成酶; 抗药性; 抗性基因

中图分类号: S451.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2009)07-0018-05

1982年, 杜邦公司成功开发了第1个磺酰脲类(sulfonylureas)乙酰乳酸合成酶(ALS)抑制剂氯磺隆(chlorosulfuron), 成为杂草防治技术和除草剂发展中的一大突破。该类除草剂的诞生使农田除草剂的用量大为减少, 用量从每公顷数千克缩减为几克至几十克^[1]。因其具有生物活性高、杀草谱广、选择性强、对哺乳动物毒性低等优点, 此后开发以ALS为靶标的除草剂成为研发高效、超低用量除草剂的发展方向。现已开发的ALS抑制剂主要有磺酰脲类(sulfonylureas, SUs)、咪唑啉酮类(imidazolinones, IMIs)、磺酰胺类(sulfonamide)、嘧啶水杨酸类(pyrimidinylsalicylic acids)、三唑并嘧啶类(triazolopyrimidines, TPs)、嘧啶硫代苯甲酸酯类(pyrimidinylthiobenzoates, PTBs)等^[2]。

虽然ALS抑制剂优点突出, 但该类除草剂作用位点单一, 杂草极易对其产生抗药性。随着除草剂的长期、高频率和大面积使用, 随之出现的杂草抗药性问题也日趋严重。并且这类新的除草剂很快成为抗药性上升最快的除草剂种类。截至1997年, 对ALS抑制剂产生抗药性的杂草数量已经超过其他各类除草剂中抗药性杂草数量^[3]而跃居第一。目前, 抗ALS抑制剂的杂草数量已经上升到98种^[4], 其抗药性杂草的数量远远超过其他任何一种除草剂。

杂草抗药性的出现与发展, 使以化学除草剂为主体的杂草综合治理体系受到了新的挑战, 也促使

人们去深入了解和研究杂草抗药性的发生和形成机理, 以便阻止和延缓杂草抗药性的形成以制定安全、合理的抗药性杂草治理策略。许多领域的科学家对杂草的抗药性表现出了极大的关注, 国际上已经把杂草抗药性研究作为当前杂草科学研究中最为重要的综合性研究课题之一。有关杂草对ALS抑制剂的抗药性研究也已经从抗药性杂草的分布、危害、形态学深入到分子抗性机理、抗性基因的利用等诸多方面。现就杂草ALS抗药性的研究进展做一简要介绍。

1 ALS抑制剂的作用特点

乙酰乳酸合成酶是支链氨基酸缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸合成途径中第一阶段的一种关键酶, 它可催化两分子的丙酮酸缩合产生CO₂及 α -乙酰乳酸, 进一步合成缬氨酸与亮氨酸。另外, 可催化一分子丙酮酸与一分子 α -丁酮酸缩合, 产生CO₂与 α -乙酰- α -羟基丁酸, 促使异亮氨酸的合成^[5]。ALS抑制剂是通过对乙酰乳酸合成酶的抑制而阻断支链氨基酸的生物合成, 影响蛋白质的合成, 进一步抑制细胞分裂, 导致植物组织失绿、黄化, 植株生长受到抑制, 最后逐渐死亡, 从而达到化学除草的目的。

另外, 杂草被施用ALS抑制剂后, 杂草体内2-酮丁酸(2-ketobutyrate)的积累干扰了杂草蛋白合成和光合作用产物的运输, 也是导致杂草死亡的一个原因。

收稿日期: 2009-02-20

基金项目: 国家“十一五”科技支撑重大项目(2006BAD08A09)

作者简介: 卢宗志(1969-), 男, 吉林延吉人, 副研究员, 博士, 主要从事农田杂草研究工作。

通讯作者: 张朝贤(1955-), 男, 河南郑县人, 研究员, 博士, 主要从事杂草科学研究。

2 抗 ALS 抑制剂杂草的产生与发展

抗磺酰脲类除草剂的杂草生物型首次发现是在美国爱达荷州的一个农场中, 1983—1984 年, 该农场在冬小麦生长季节使用甲磺隆 (metsulfuron-methyl) 和氯磺隆防除莠苣属杂草刺莠 (*Lactuca scariola* L.), 防效高达 100%, 但在 1986 年秋季冬小麦田使用氯磺隆和甲磺隆混剂时, 对刺莠无效^[6]。1987 年, Primiani 等在堪萨斯州也发现地肤 (*Kochia scoparia*) 对氯磺隆产生了抗药性^[7]。我国应用 ALS 抑制剂已有 20 年历史, 有关抗 ALS 抑制剂杂草的报道不多, Cui 等从国内 11 个省份麦田采集了 100 多个播娘蒿种群, 发现有 4 个种群对苯磺隆产生了抗药性^[8]。另有报道, 吉林省各主要水稻产区的雨久花、矮慈姑普遍存在对苄嘧磺隆的抗药性^[9]。彭学岗等测定了猪殃殃对苯磺隆抗药性水平, 结果发现, 北方麦田猪殃殃对苯磺隆均产生了不同程度的抗药性^[10]。抗 ALS 抑制剂杂草的发展速度很快, 而且这些抗性杂草并不是孤立存在的, 以至于给 ALS 抑制剂的继续应用提出挑战。例如, 在美国的伊利斯诺州, 由于当地发生的水麻 [*Amaranthus rudis* Sauer and *A. tuberculatus* (Moq.)] 对 ALS 抑制剂产生抗药性, 使得该类除草剂已不再被推荐使用^[11]。

杂草对 ALS 抑制剂抗性进化的最重要原因是杂草变异的发生频率。在除草剂的选择下, 抗性的 ALS 等位基因是显性的, 虽然这种优势程度依不同的杂草种类而变化, 但在杂合体的情况下, ALS 是表现为抗性的。这与二硝基苯类除草剂的靶点抗性不同, 因为二硝基苯类的抗性基因是隐性的, 抗性表现型只有在纯合体中才能表现出来。ALS 基因是一核基因, 遵循孟德尔遗传规律, 抗性基因可以通过花粉和种子传播。因此, 杂草对 ALS 抑制剂抗药性的遗传是由一个单一的、显性的、核编码的基因所控制, 这就是杂草对 ALS 抗性比其他除草剂发生频率高的原因^[11]。Gardner 等估计, ALS 基因每代每个碱基对的突变率约为 $10^{-8} \sim 10^{-10}$ ^[12]。正是因为这些原因, 促使了抗性遗传基因的扩散, 从而使抗药性迅速发展。

3 杂草对 ALS 抑制剂的抗药性机制

杂草对除草剂的抗药性机制主要分为两类, 即排除抗性 (exclusionary resistance) 和作用位点的抗性 (site of action resistance)。前者主要包括杂草对

除草剂的吸收差异、传导差异、隔离作用以及对除草剂的解毒代谢作用^[13]。后者主要是由于作用位点发生突变, 从而使除草剂的靶标与除草剂不能结合而导致抗药性。

ALS 抑制剂是一类选择性、内吸传导型除草剂。它可由植物的根、茎、叶等部位吸收, 并且吸收后在植物体内可上、下传导。用¹⁴C 标记的 ALS 抑制剂对多种杂草的抗性生物型和敏感性生物型进行吸收和传导方面的研究, 结果表明, 吸收与传导不是杂草对 ALS 抑制剂选择性的基础, 除草剂在植物体内的代谢机制及靶标酶活性的变化才是杂草对 ALS 抑制剂产生抗药性的根本原因^[14, 15]。

杂草对 ALS 抑制剂的抗药性机制主要有代谢增强和靶标酶的活性降低 2 个原因。Cotterman 等发现了抗禾草灵的瑞士黑麦草对氯磺隆的交互抗药性, 其产生的原因是由于植物体对氯磺隆代谢能力的提高, 即氯磺隆在植物体内形成的羟基氯磺隆 (hydroxy-chlorosulfuron) 和葡萄糖共轭结合的增强^[16]。鼠尾看麦娘对氯磺隆产生抗药性则是通过 N-脱烃作用和细胞色素 P₄₅₀ 有联系的环烷基氧化过程, 使得除草剂迅速降解^[17]。耐药大豆体内快速降解氯嘧磺隆的主要代谢途径是与同源谷胱甘肽的缀合, 其次是脱酯作用, 2 种代谢都使 ALS 完全失去活性^[18]。ALS 抑制剂被植物吸收后, 将其代谢为无除草活性的代谢产物, 这是作物和杂草产生选择性的生理基础。不同种类植物对其耐药性的差异是由于不同种类植物对其代谢降解速度的差异而产生的。Devine 等认为, 由于杂草代谢增强导致的抗药性对不同作用方式的除草剂一般很难形成较高的抗性, 往往形成低程度的 (小于 10 倍) 交互抗性^[19, 20]。

杂草对 ALS 抑制剂产生抗药性主要是由于除草剂的作用位点发生改变, 靶标酶活性降低而形成的。通过实验室有目的的选择和田间抗性杂草鉴定, 发现有 17 个位置的氨基酸若发生替换, 将导致杂草或其他生物对 ALS 抑制剂产生抗药性^[11]。Cui 等研究证明, 播娘蒿对苯磺隆的抗药性是 Pro197 突变为亮氨酸和苏氨酸所致^[8]。截至目前, 已有 6 个位置氨基酸的突变在田间抗性杂草中得到验证, 按照拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* L.) ALS 氨基酸的排列顺序, 这 6 个氨基酸分别是 Ala122、Pro197、Ala205、Asp376、Trp574、Ser653^[8, 21, 22]。但是苍耳 (*Common cocklebur*) 和豚草 (*Common ragweed*) 在 653 位是一个丙氨酸 (Ala), 而非色氨酸

(Ser)^[23, 24]。

不同结构的 ALS 抑制剂往往导致不同位置的氨基酸突变, 从而对不同类别的 ALS 抑制剂产生交互抗性。一般按其交互抗性可划分为 SU 和 TP 类, IMI 和 PTB 类^[12]。Ala122 和 Ser653 的突变可使杂草对 IMI 产生抗性, 而对 SU 抗性较低^[23-25]。Pro197 的突变可使杂草对 SU 产生抗性, 而对 IMI 抗性较低^[26], Ala205、Asp376 与 Trp574 的位点突变可使杂草产生广谱抗药性^[19, 21, 23, 29]。每一种杂草的 ALS 发生突变, 都会对某一类或几类 ALS 抑制剂产生抗药性, 但对各类 ALS 抑制剂的交互抗性大小不尽相同。

4 抗 ALS 抑制剂杂草的适合度

在三氮苯类杂草的生物型中, 除草剂对 D-1 蛋白的亲和力下降, 同时也减少了光合系统 II 的电子流, 而这种变化降低了杂草的适合度^[28]。杂草的适合度影响着抗药性杂草的进化速度。杂草适合度越高, 抗药性杂草的进化速度就越快。有学者发现, ALS 发生突变, 对植物的生长和发育影响很小, 没有降低杂草的适合度。对地肤的抗药性和敏感性 2 种生物型进行比较, 结果发现两者的生物生长量、种子产量和竞争力都没有不同^[29]。对刺莨苣的 2 种生物型进行比较, 发现两者的竞争力相同, 但敏感性生物型刺莨苣的地上生物产量比抗性的要多 31%^[30]。对一些转基因的抗 ALS 抑制剂的作物进行比较, 发现这些抗性作物与敏感的作物在生长特点和产量上都没有不同^[31, 32]。由上面的研究可以看出, 对 ALS 抑制剂的靶标抗性在某些条件下可能对杂草的适合度有影响, 但对抗 ALS 抑制剂杂草的适合度的影响远远没有抗三氮苯类杂草适合度的影响大。

5 杂草抗 ALS 抑制剂基因的应用

杂草对 ALS 抑制剂的抗药性主要是通过靶标酶基因突变造成的, 因此, 通过对疑似种群中基因型的检测就可以快速鉴定杂草是否已成为抗性种群。目前, 通过应用基因型检测技术对抗药性害虫和抗药性病原真菌的检测已经十分普遍^[33, 34]。相信在不远的将来, 通过对突变基因检测来鉴定抗药性杂草的技术也会很快发展起来。

杂草对除草剂产生抗性后不久, 人们开始研究作物对除草剂的抗性, 早期的研究主要是利用传统育种方法将抗性基因通过杂交导入作物中, 如抗三

氮苯除草剂的油菜品种的选育。从 20 世纪 80 年代初期开始研究转基因抗除草剂作物。因为创制一个抗除草剂作物品种的费用仅相当于开发一个新除草剂品种费用的 1%~5%, 而通过抗除草剂作物品种的推广, 可以扩大一些高效、广谱、选择性差的除草剂的应用范围。这就是近 20 年来, 抗除草剂作物品种创制兴旺而迅速发展的重要原因^[35]。

目前, 抗 ALS 抑制剂的作物主要限于抗咪唑啉酮类和抗磺酰脲类。其中所有抗咪唑啉酮的作物均是通过诱变与组织培养而成, 而非外源基因的导入。因此, 人们对其接受程度较好。目前, 在抗咪唑啉酮除草剂作物中, 大面积种植的有抗咪唑啉酮玉米、油菜与甜菜, 特别是抗咪唑啉酮类水稻于 2002 年商品化种植后, 成功地解决了美国南部地区最难治的杂草赤稻及其他禾本科与阔叶杂草, 2005 年种植面积超过 24 万 hm^2 , 占美国水稻种植面积的 17%^[36, 37]。

抗磺酰脲类作物的选育主要是通过将拟南芥及烟草等的 ALS 突变基因导入作物中, 目前已创制出了抗磺酰脲油菜、烟草、亚麻、玉米、水稻等多种作物的抗性品系, 但目前尚无成功的抗磺酰脲作物在农业生产中大面积种植的事例^[35]。

种植抗除草剂作物的结果是更加依赖除草剂, 这更加恶化了杂草对除草剂的抗药性问题。所以在生产中, 种植抗除草剂作物只能作为杂草治理中的一个方法而不能取代除草剂的轮换使用和非化学的除草手段。

6 杂草对 ALS 抑制剂抗药性的测定

ALS 的活性是鉴定杂草抗药性的一个生化指标, 许多研究表明, 杂草对 ALS 抑制剂产生抗药性是由于 ALS 对除草剂的活性改变而引起的。对抗药性和敏感性鸭舌草 (*Monochoria vaginalis*) 的 ALS 活性进行分析, 结果发现, 抗性生物型的 ALS 对 ALS 抑制剂不敏感, 两者的抗性系数一般为 10 到数十倍^[38, 39]。Peter 等也发现, 在 *Sisymbrium orientale* 和 *Brassica tourneforti* 的抗药性和敏感性生物型中, ALS 抑制剂的活性不同, 抗药性的生物型对 ALS 抑制剂不敏感, 一般情况下抗药性生物型的 IC_{50} 是敏感性生物型的十几倍至上百倍^[40]。因此, 对抗 ALS 抑制剂的杂草进行抗药性鉴定, 一般通过对其 ALS 的活性测定就可以确定该杂草是否已发生抗药性^[41]。

杂草对 ALS 抑制剂抗药性的测定除了测定 ALS 抑制剂的活性外, 还有地面部分再生法、发根

法、等^[42-44]。发根法主要是将测试杂草的2种生物型在成株期拔出洗净,然后把根从距离茎基部1cm处剪断,放到含有不同磺酰脲类除草剂浓度的MS培养液中进行培养。一般在14d左右时检查根的长度和数量,一般抗药性杂草生物型的根会很快发出来,而敏感性生物型根的生长则会受到抑制。地面部分再生法和发根法原理相同,只是利用植物的器官不同。一般地面再生法有切株测定法、切割顶芽测定法和不同剂量供试药剂测定法等。

7 小结

ALS抑制剂是世界上应用最广泛的高效除草剂,杂草对抗ALS抑制剂的抗药性无疑对农药生产商、杂草防治的专业人员和生产者提出了抗性管理和预防的挑战。除草剂的合理使用以及改进现有的耕作栽培制度,选育抗药性的作物品种等是预防抗药性杂草的发生和控制抗药性杂草的必要手段。

我国有关ALS抑制剂杂草抗药性方面的报道较少,从事的研究主要限于对抗药性杂草的鉴定和防治方面^[9,10]。对抗药性杂草的遗传学、生理学、靶标酶的分子生物学、抗除草剂基因利用等方面的研究都不多。国外对抗除草剂基因的利用早已进入了应用阶段^[35-37],我国在这方面还相对滞后,今后应该加强对杂草抗药性机理的研究,特别是对靶点抗性机理的研究,这不仅有利于防止或延缓抗药性杂草的发生,而且对开发新型ALS抑制剂和培育、筛选抗除草剂的作物品种至关重要。随着杂草对除草剂抗药性机理和抗性分子生物学研究的不断深入,抗性基因的克隆和在转基因作物中的应用将会成为作物育种的一个方向。

参考文献:

- [1] Bellinder R R, G Gummesson, C Karlsson. Percentage driven government mandates for pesticide reduction: the Swedish model [J]. Weed Technol, 1994, 8: 350-359
- [2] 崔海兰, 陶岭梅, 刘学, 等. ALS抑制剂的杂草抗性概述[J]. 农药科学与管理, 2007, 28(10), 47-52
- [3] Heap I M. The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide[J]. Pesticide Science 1997, 51: 235-243
- [4] Heap I M. The international survey of herbicide resistant weeds[EB/OL]. [2009-04-17]. <http://www.weedscience.com>.
- [5] Umbarger H E. Amino acid biosynthesis and its regulation [J]. Annu Rev Biochem, 1978, 47: 533-606

- [6] Mallory-Smith C A, Thill D C, Dial M J. Identification of sulfonylurea herbicide-resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*) [J]. Weed Technol, 1990, (4): 163-168
- [7] Primiani M M, Cotterman J C, Gaari L L. Resistance of kochia(*Kochia scoparia*) to sulfonylurea and imidezolinone herbicides[J]. Weed Technology, 1990, 4: 169-172
- [8] Cui H L, Zhang C X, Zhang H J, et al. Confirmation of flixweed(*Descurainia sophia*) resistance to tribenuron in China[J]. Weed Science, 2008, 56: 775-779.
- [9] 中国科学技术协会. 植物保护学学科发展报告[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2008: 82-83
- [10] 彭学岗, 王金信, 段敏. 中国北方部分冬麦区猪殃殃对苯磺隆的抗药性水平[J]. 植物保护学报, 2008, 35(5): 457-462
- [11] Patrick J Tranel, Terry R Wright. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned [J]. Weed Science, 2002, 50: 700-712
- [12] Gardner E J, D P Snustad. Principles of genetics[M]. New York: J Wiley Press, 1984.
- [13] Tharayil-Santhakumar N. Mechanism of herbicide resistance in weed[EB/OL]. On line book "Mechanism of herbicide resistance in weed." Weed Science Society of America, [2009-05-06]. <http://www.weedscience.com>.
- [14] Maria D Osuna, Albert J Fischer, Rafael De Prado. Herbicide resistance in aster squamatus conferred by a less sensitive form of acetolactate synthase[J]. Pest Management Science, 2003, 59: 1210-1216
- [15] 黄建中. 农田杂草抗药性[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995
- [16] Cotterman J G, Sarri L L. Rapid metabolic inactivation is the basis for cross-resistance to ryegrass(*Lolium rigidum*) biotype [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 1992, 43(3): 182-192
- [17] 钱希. 杂草抗药性研究的进展[J]. 生态学杂志, 1997, 16(3): 58-62
- [18] 艾应伟, 范志金, 钱传范. 磺酰脲类除草剂特点及其环境归趋[J]. 沈阳农业大学学报, 1999, 30(5): 539-543
- [19] Hall L M, J A M Holtum, Powles S B. Mechanisms responsible for cross resistance and multiple resistance [C] // Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry. Ann Arbor, MI: Lewis, 1994
- [20] Devine M D, M A S Marles, L M Hall. Inhibition of acetolactate synthase in susceptible and resistant biotypes of *Stellaria media* [J]. Pestic Sci, 1991, 31: 273-280

- [21] William L. Patzoldt, Patrick J Tranel. Multiple ALS mutations confer herbicide resistance in waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) [J]. Weed Science, 2007, 55: 421—428
- [22] Takanori Ohsako, Tohru Tominaga. Nucleotide substitutions in the acetolactate synthase genes of sulfonylurea-resistant biotypes of *Monochoria vaginalis* (Pontederiaceae) [J]. Genes Genet Syst, 2007, 82: 207—215
- [23] Bernasconi P, A R Woodworth, Rosen B A, *et al.* A naturally occurring point mutation confers broad range tolerance to herbicides that target acetolactate synthase [J]. Biol Chem, 1995, 270: 17381—17385
- [24] Patzoldt W L, P J Tranel. ALS mutations conferring herbicide resistance in waterhemp [J]. Weed Science, 2001, 48: 508—513
- [25] Devine M D, C V Eberlein. Physiological, biochemical and molecular aspects of herbicide resistance based on altered target sites [C] // Herbicide Activity: Toxicology, Biochemistry and Molecular Biology. Amsterdam. The Netherlands Press, 1997: 159—185
- [26] Guttieri M J, C V Eberlein, C A Mallory-Smith, *et al.* DNA sequence variation in domain A of the acetolactate synthase gene of herbicide resistant and susceptible weed biotypes [J]. Weed Science, 1992, 40: 670—676
- [27] Woodworth A R, Rosen B A, Bernasconi P. Broad range resistance to herbicides targeting acetolactate synthase (ALS) in a field isolate of *Amaranthus* sp. is conferred by a *Trp* to *Leu* mutation in the ALS gene [J]. Plant Physiol, 1996, 111: 1353
- [28] Cory M Whaley, Henry P Wilson, James H. A new mutation in plant ALS confers resistance to five classes of ALS-inhibiting herbicides [J]. Weed Science, 2007, 55: 83—90
- [29] Christoffoleti P J, Westra P, Moore F. Growth analysis of sulfonylurea-resistant and-susceptible kochia (*Kochia scoparia*) [J]. Weed Sci, 1997, 45: 691—695
- [30] Alcocer-Ruthling M, Thill D C, Shafii B. Differential competitiveness of sulfonylurea resistant and susceptible prickly lettuce (*Lactuca serriola*) [J]. Weed Technol, 1992, 6: 303—309
- [31] Blackshaw R E, Kanashiro D, Moloney M M, *et al.* Growth, yield and quality of caonla expresistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides [J]. Plaant Sci, 1994, 74: 745—751
- [32] McHughen A, Holm F. Herbicide-resistant transgenic flax field test: agronomic performance in normal and sulfonylurea-containing soils [J]. Euphytica, 1991, 55: 49—56
- [33] 尚金燕, 唐振华, 张传溪. 靶标抗性点突变基因型检测技术 [J]. 农药学报, 2005, 7(3): 193—200
- [34] 曹晓梅, 赵彤言. 害虫抗药性分子检测技术发展现状 [J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2006, 13(1): 57—63
- [35] 苏少泉. 抗除草剂作物的发展 [J]. 农药研究与应用, 2008, 12(5): 1—6
- [36] 苏少泉. 转基因除草剂作物与除草剂开发及应用 [J]. 农药, 2002, 41(7): 3—7
- [37] Rood M A. Herbicide resistance [J]. Rice J, 2000, 103: 8—10
- [38] Hwang I T, K H Lee, S H Park, *et al.* Resistance to acetolactate synthase inhibitors in a biotype of *Monochoria vaginalis* discovered in Korea [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2001, 71: 69—76
- [39] Yong In Kuk, Ha Il Jung, Oh Do Kwon, *et al.* Rapid diagnosis of resistance to sulfonylurea herbicides in monochoria (*Monochoria vaginalis*) [J]. Weed Science, 2003, 51: 305—311
- [40] Peter Boutsalis Jill Karotam, Stephen B Powles. Molecular basis of resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in *Sisymbrium orientale* and *Brassica tournefortii* [J]. Pesticide Science, 1999, 55: 507—516
- [41] 陈以峰, 李宜慰, 汤日圣, 等. 乙酰乳酸合成酶活性的简易测定方法建立 [J]. 江西农业大学学报, 1996, 18(2): 213—217
- [42] 倪长春. 测定抗磺酰脲类除草剂水田杂草方法的建立——乙酰乳酸合成酶法 [J]. 世界农药, 2003, (25) 3: 33—34
- [43] 倪长春. 磺酰脲类除草剂抗性的简易评价测定法——地面部分再生法 [J]. 世界农药, 2005, 27(6): 33—35
- [44] Kenshiro Hamamura, Tetsuro Muraoka, Jinichi Hashimoto, *et al.* Identification of sulfonylurea-resistant biotypes of paddy field weeds using a novel method based on their rooting responses [J]. Weed biology and Management, 2003, 3: 242—246.