

华东部分稻区水稻田千金子对氰氟草酯的抗性

武向文^{*1}, 王法国², 曹 青²

(1. 上海市农业技术推广服务中心, 上海 201103; 2. 青岛清原化合物有限公司, 山东 青岛 266071)

摘 要: 采用整株生物测定法检测了华东部分稻区水稻田千金子 *Leptochloa chinensis* (L.) Nees 对氰氟草酯的抗性水平并初步探讨了其抗性发生的分子机理。结果表明: 与敏感种群 (LC-S) 相比, 采自华东部分稻区水稻田的 25 个千金子种群对氰氟草酯均表现出一定的抗性, 其中 LC-17-276、LC-17-281、LC-17-282、LC-17-283、LC-17-289 和 LC-17-290 种群的抗性水平较高, 抗性指数分别为 16、21、27、30、12 和 15。通过分子手段检测, 首次发现在千金子抗性种群 LC-17-276 中, 乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl CoA carboxylase, ACCase) 的 CT 结构域中的色氨酸 (Trp)-1999 被丝氨酸 (Ser) 取代, 而其他 9 个被检测的千金子抗性种群却并未发现 ACCase 的 CT 结构域位点发生变异。研究表明, 华东部分稻区水稻田千金子对氰氟草酯产生了广泛的抗性, 其中 LC-17-276 中 ACCase 基因的 W1999S 突变很可能是导致该抗性种群对氰氟草酯产生抗性的重要原因之一。

关键词: 稻田; 千金子; 氰氟草酯; 乙酰辅酶 A 羧化酶; 抗性

中图分类号: S481.4; Q945.7 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2019)03-0285-06

Resistance of *Leptochloa chinensis* populations to cyhalofop-butyl in rice fields of eastern China

WU Xiangwen^{*1}, WANG Faguo², CAO Qing²

(1. Shanghai Agricultural Technology Extension Service Center, Shanghai 201103, China;

2. Qingdao Kingagroot Chemical Compound Co., Ltd., Qingdao 266071, Shandong Province, China)

Abstract: Whole-plant bioassay experiments were conducted to investigate the resistance level of *Leptochloa chinensis* (L.) Nees populations to cyhalofop-butyl in rice fields of eastern China. Results showed that population LC-17-276, LC-17-281, LC-17-282, LC-17-283, LC-17-289 and LC-17-290 had evolved high resistance to cyhalofop-butyl, with resistance index of 16, 21, 27, 30, 12 and 15, respectively. Molecular analyses revealed that the *L. chinensis* population LC-17-276 has a tryptophan (Trp)-1999-to-serine (Ser) substitution in the CT domain of the ACCase gene, whereas no mutation was detected for the other 9 resistant populations. To the best of our knowledge, this is the first report of Trp-1999-Ser mutation in *L. chinensis*. These results showed that *L. chinensis* was extensively resistant to cyhalofop-butyl in some paddy fields in eastern China.

Keywords: rice fields; *Leptochloa chinensis*; cyhalofop-butyl; acetyl CoA carboxylase (ACCase); resistance

收稿日期: 2018-08-01; 录用日期: 2019-04-11.

基金项目: 上海市科技兴农推广项目 (沪农科推字 (2016) 第 1-5-3 号, 沪农科推字 (2017) 第 1-2 号).

作者简介: *武向文, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 推广研究员, 长期从事植物保护技术的研究和推广, E-mail: shzbwxxw@163.com

千金子 *Leptochloa chinensis* (L.) Nees 作为水稻田中仅次于稗草 *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. 的第二大恶性禾本科杂草, 遍布于中国水稻种植区, 具有成株率高、分蘖力强且对常用除草剂不敏感等特点, 对水稻生长和产量构成严重威胁^[1-2]。

乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACCase) 抑制剂类除草剂, 主要包括芳氧苯氧基丙烯酸酯类、环己烯酮类及苯基吡唑啉类。氰氟草酯属于芳氧苯氧基丙烯酸酯类抑制剂, 因其对千金子有特效而被广泛应用于水稻田。随着 ACCase 抑制剂类除草剂长期不合理使用, 禾本科杂草对该类除草剂已产生不同程度的抗药性^[3-6]。目前研究者普遍认为, 杂草对 ACCase 抑制剂类除草剂的抗性机制分为靶标抗性和非靶标抗性。非靶标抗性主要与禾本科杂草体内相关酶及其代谢有关。文马强等^[7]通过抗性种群与敏感种群千金子相关酶活力的比较发现, 抗性种群中的谷胱甘肽 *S*-转移酶、超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化物酶活力增强, 进而推断千金子对 ACCase 抑制剂的抗性与相关酶活性有关。靶标抗性作为 ACCase 抑制剂类除草剂的主要抗性机制, 研究者认为可能是由于 ACCase 酶 CT 结构域内单氨基酸发生改变, 进而降低其与除草剂的结合能力而产生抗药性^[8]。目前, 已报道的 ACCase 的 CT 结构域中的突变有: 色氨酸 (Trp)-2027 被半胱氨酸 (Cys) 取代; 异亮氨酸 (Ile)-1781 被缬氨酸 (Val)、亮氨酸 (Leu)、丝氨酸 (Thr) 取代; 色氨酸 (Trp)-1999 被半胱氨酸 (Cys)、亮氨酸 (Leu)、丝氨酸 (Ser) 取代; 异亮氨酸 (Ile)-2041 被天冬酰胺 (Asn)、缬氨酸 (Val) 取代; 天门冬氨酸 (Asp)-2078 被甘氨酸 (Gly) 取代; 半胱氨酸 (Cys)-2088 被精氨酸 (Arg) 取代; 甘氨酸 (Gly)-2096-被丙氨酸 (Ala)、丝氨酸 (Ser) 取代^[9-16]。

目前鲜有关于华东稻区千金子对氰氟草酯抗性水平的报道。本研究拟对采自华东稻区稻田的千金子种群采用整株生物测定法检测, 以明确千金子对氰氟草酯的抗性水平, 并通过分子手段检测靶标酶 ACCase 基因氨基酸变异位点, 旨在为水稻田千金子抗性分子机制研究提供基础, 同时为水稻田千金子的科学防治及抗性治理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试种子 2017 年 9 月, 在华东部分稻区

水稻田中采集成熟的千金子种子 (表 1), 单株采收, 晾干, 于 4 °C 种子室保存。千金子敏感种群 LC-S 采自上海崇明光明农场附近未使用过除草剂的非耕地。

1.1.2 试验设备 GXZ 型智能光照培养箱 (宁波江南仪器厂); 3WP-2000 型行走式喷雾塔 (农业农村部南京农业机械化研究所); 多样品组织研磨仪 (上海净信实业发展有限公司); VORTEX-5 涡旋混匀器 (北京东南仪诚实验室设备有限公司); Eppendorf 5418 小型台式高速离心机 (南京贝登电子商务有限公司); Bio-Rad T100 PCR 仪 (赛默飞世尔仪器有限公司); DYY-7C 电泳仪 (北京六一生物科技有限公司); XZ21K-T 高速冷冻离心机 (长沙湘智离心机仪器有限公司); DK-8D 三温三控水槽 (上海博迅实业有限公司)。

1.1.3 药剂及试剂 10% 氰氟草酯 (cyhalofop-butyl) 乳油 (美国陶氏益农公司); 85% 赤霉素 A₃ 结晶粉 (湖南神隆超级稻丰产生化有限公司); 十六烷基-三甲基-溴化铵 (CTAB)、三 (羟甲基) 氨基甲烷、氯化钠、氢氧化钠、乙二胺四乙酸 (EDTA)、琼脂糖和 4S Red Plus 核酸染色剂 [生工生物工程 (上海) 有限公司]; 其余为国药集团化学试剂有限公司分析纯试剂。

1.2 试验方法

1.2.1 供试植物培养 将大田土壤与营养土按照体积比 1 : 1 混匀, 装入直径 8 cm、高 8 cm 的塑料营养钵中。将土壤充分浇水后, 播撒拌土后的千金子种子, 每盆播撒 20 粒左右 (播种前种子用 400 mg/L 的 85% 赤霉素 A₃ 溶液浸泡 24 h), 放入光照培养箱中催芽。催芽条件为 14 h (昼)/10 h (夜), 38 °C (昼)/25 °C (夜)。3 d 后取出, 置于温室培养, 培养温度 35 °C (昼)/20 °C (夜)。

1.2.2 千金子对氰氟草酯抗性水平检测 采用整株生物测定法^[17]: 待千金子生长至 2~3 叶期时, 间苗, 每盆保留 10 株; 于 4 叶期再间苗 1 次, 保留 8 株; 进行喷药处理。10% 氰氟草酯乳油的剂量设为有效成分: 0 (CK)、9.38、18.75、37.5、75、150 和 600 g/hm²; 根据前期试验结果, 敏感种群 (LC-S) 使用 10% 氰氟草酯乳油的剂量设为有效成分: 0 (CK)、2.34、4.69、9.38、18.75、37.5 和 75 g/hm²。每处理 3 次重复, 28 d 后剪取地上部分, 称量鲜物质质量 (*m*), 计算鲜重防效 (*E*)。

表 1 千金子采集地点
Table 1 Collection sites of *L. chinensis*

编号 Code	采集地点 Collection sites	位置 Location
LC-17-272	江苏省太仓市沙溪镇 Shaxi Town, Taicang City, Jiangsu Province	N31°32'33.57" E121°09'46.73"
LC-17-274	上海市崇明县东平镇 Dongping Town, Chongming county, Shanghai City	N31°38'53.55" E121°36'52.65"
LC-17-275	上海市嘉定区外岗镇 Waigang Town, Jiading District, Shanghai City	N31°21'42.95" E121°10'31.84"
LC-17-276	上海市崇明县东平镇 Dongping Town, Chongming county, Shanghai City	N31°31'4.83" E121°54'43.60"
LC-17-278	上海市嘉定区外岗镇 Waigang Town, Jiading District, Shanghai City	N31°21'41.07" E121°09'46.02"
LC-17-279	上海市金山区枫泾镇 Fengjing Town, Jinshan District, Shanghai City	N30°53'1.83" E121°03'52.11"
LC-17-280	上海市金山区枫泾镇 Fengjing Town, Jinshan District, Shanghai City	N30°52'50.62" E121°03'21.21"
LC-17-281	浙江省绍兴市越城区 Yuecheng District, Shaoxing City, Zhejiang Province	N30°03'31.16" E120°43'38.10"
LC-17-282	浙江省绍兴市越城区樊浦村 Fanpu Rural, Yuecheng District, Shaoxing City, Zhejiang Province	N30°03'26.48" E120°43'47.06"
LC-17-283	浙江省绍兴市上虞区松夏村 Songxia Rural, Shangyu District, Shaoxing City, Zhejiang Province	N30°04'13.95" E120°48'33.96"
LC-17-284	上海市金山区亭林镇 Tinglin town, Jinshan District, Zhejiang Province	N30°52'27.23" E121°14'59.75"
LC-17-285	浙江省绍兴市孙端镇 Sunduan town, Shaoxing City, Zhejiang Province	N30°03'28.76" E120°43'47.55"
LC-17-286	浙江省绍兴市陶堰镇 Taoyan Town, Shaoxing City, Zhejiang Province	N30°02'2.28" E120°44'20.58"
LC-17-287	浙江省绍兴市上虞区松夏村 Songxia Rural, Shangyu District, Shaoxing City, Zhejiang Province	N30°04'13.95" E120°48'33.96"
LC-17-288	浙江省绍兴市上虞区 Shangyu District, Shaoxing City, Zhejiang Province	N29°59'30.66" E120°51'21.47"
LC-17-289	浙江省绍兴市钱清镇 Qianqing Town, Shaoxing City, Zhejiang Province	N30°06'45.23" E120°24'34.29"
LC-17-290	浙江省绍兴市上虞区松下镇 Songxia Town, Shangyu District, shaoxing City Zhejiang Province	N30°03'56.65" E120°49'38.21"
LC-17-291	浙江省绍兴市灵芝镇 Lingzhi Town, Shaoxing City, Zhejiang Province	N30°06'5.55" E120°33'3.66"
LC-17-292	上海市崇明县 Chongming County, Shanghai City	N31°40'44.76" E121°32'18.42"
LC-17-293	上海市金山区山阳镇 Shanyang Town, Jinshan District, Shanghai City	N30°44'37.56" E121°20'32.71"
LC-17-294	上海市金山区枫泾镇 Fengjing Town, Jinshan District, Shanghai City	N30°53'5.04" E121°0'53.94"
LC-17-295	上海市浦东新区 Pudong New District, Shanghai City	N30°54'35.18" E121°53'54.20"
LC-17-296	上海市金山区山阳镇 Shanyang town, Jinshan District, Shanghai City	N30°44'44.07" E121°20'0.09"
LC-17-297	江苏省苏州市太仓市沙溪镇 Shaxi Town, Taicang county, Suzhou City, Jiangsu praince	N31°34'35.42" E121°09'38.12"
LC-17-298	上海市金山区亭林镇 Tinglin town, Jinshan District, Shanghai City	N30°52'30.48" E121°14'59.75"

1.2.3 千金子抗性种群 ACCase 基因分子机理分析

1.2.3.1 引物设计 根据 NCBI 的 GenBank 登记的千金子 ACCase 部分序列 (AY803783.1、AY662693.1) 及序列同源性比对设计引物对 (F: 5'-ATTCTCGTATTGGCTCATCT-3'; R: 5'-CGACTCTTCCCAATCAACAA-3'), 引物包含已报道的 7 个可导致杂草抗药性的氨基酸变异位点。用 TaKaRaLA Taq 酶扩增约 1 300 bp 的目的条带, 扩增条件为: 94 ℃ 3 min; 94 ℃ 1 min, 55 ℃ 30 s, 72 ℃ 1 min, 30 个循环; 72 ℃ 10 min。所得 PCR 产物经电泳分离并切胶纯化回收后用扩增引物进行 DNA 测序。

1.2.3.2 千金子基因组 DNA 的提取 参考王关林的 CTAB(hexadecyl trimethyl ammonium bromide)

法^[18]提取 DNA。每个种群选取 6 个单株, 每个单株选取 100 mg 幼叶, 剪碎置于 2 mL 离心管中, 液氮冻存后, 用组织研磨机破碎 60 s; 加入 65 ℃ 预热的 2 × CTAB 裂解液 (质量分数 2% 的 CTAB, 40 mmol/L β-巯基乙醇, 0.1 mol/L 的 Tris-HCl, 1.4 mol/L NaCl, 10 mmol/L EDTA, pH 8.0) 500 μL, 快速颠倒混匀后在 65 ℃ 水浴放置 1~2 h, 其间上下颠倒混匀数次; 加入等体积苯酚-氯仿-异戊醇 (25: 24: 1), 混匀, 于 12 000 r/min 离心 10 min; 取上清液, 加入等体积氯仿, 颠倒混合, 12 000 r/min 离心 10 min; 取上层液相, 加入 1/10 体积 3 mol/L 的醋酸钠 (pH 5.2) 调节 pH 值, 充分沉降 DNA; 加入等体积、-20 ℃ 预冷的异丙醇, 颠倒混匀, 12 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液; 用 -20 ℃ 预冷的 70% 乙醇洗涤 DNA, 12 000 r/min 离心

5 min; 弃上清液, 晾干, 加入 30 μ L TE 溶解。

1.2.3.3 DNA 浓度和纯度的确定 采用吸光光度法测定样品的 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值, 衡量所提取 DNA 的纯度 (若该比值 > 1.9, 表明有 RNA 污染; 若比值 < 1.6, 表明有蛋白质、酚等污染)。

1.3 统计分析

试验重复 3 次, 使用 DPS 统计软件几率值分析法分别求出千金子敏感种群和抗性种群的毒力回归方程、GR₅₀、相关系数和抗性指数 (抗性种群 GR₅₀/敏感种群 GR₅₀)。DNA 测序结果由北京擎科新业生物技术有限公司青岛测序部完成, 用 DNA 测序分析软件 Chromas v2.6.5 分析 7 个氨基酸变异位点。

2 结果与分析

2.1 千金子种群对氰氟草酯的抗性水平

参照 Beckie 等^[19]的研究报道, 就采自华东部分稻区 25 个千金子种群对氰氟草酯的抗性水平进行了分级评价。结果 (表 2) 表明: 与温室敏感种群 LC-S 相比, 25 个稻区千金子种群对氰氟草酯均产生了一定水平的抗性。其中, LC-17-276、LC-17-281、LC-17-282、LC-17-283、LC-17-289 和 LC-17-290 种群的抗性水平较高, GR₅₀ 分别为有效成分 132、229、184、277、175 和 240 g/hm², 抗性指数分别为 16、21、27、30、12 和 15; 其余种群具有中低水平抗性。

表 2 不同千金子种群对氰氟草酯的抗性水平

Table 2 Resistance levels of different <i>L. chinensis</i> populations to cyhalofop-butyl						
种群 Populations	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient, <i>r</i>	GR ₅₀ , a.i./ (g/hm ²)	95% 置信区间 95% Confidence interval/(g/hm ²)	抗性指数 Resistance index (RI)	抗性水平 Resistance level
LC-S	y= 3.222 6 + 1.848 3x	0.922 1	9.2	7.84~10.7	1	S
LC-17-272	y= - 0.998 0 + 4.109 7x	0.911 8	28.8	14.5~57.3	3	LR
LC-17-274	y= - 0.628 1 + 3.944 2x	0.900 5	26.7	12.6~56.6	3	LR
LC-17-275	y= - 0.521 4 + 4.028 9x	0.939 5	23.4	13.1~42.3	3	LR
LC-17-276	y= 3.299 7 + 0.783 2x	0.976 2	148	103~211	16	HR
LC-17-278	y= 1.983 4 + 1.632 0x	0.982 8	70.5	54.7~90.9	8	LR
LC-17-279	y= 1.738 3 + 1.720 0x	0.993 7	78.8	67.5~91.9	9	LR
LC-17-280	y= 1.228 7 + 2.028 9x	0.967 1	72.2	50.6~103	8	LR
LC-17-281	y= 2.073 9 + 1.276 2x	0.955 8	196	113~339	21	HR
LC-17-282	y= 2.338 9 + 1.112 1x	0.976 1	247	160~380	27	HR
LC-17-283	y= 2.232 9 + 1.133 2x	0.989 1	276	202~274	30	HR
LC-17-284	y= 2.071 1 + 1.618 2x	0.979 3	64.6	48.9~85.2	7	LR
LC-17-285	y= - 0.850 2 + 3.684 9x	0.971 3	38.7	27.4~54.6	4	LR
LC-17-286	y= - 0.211 7 + 3.383 3x	0.962 8	34.7	23.1~52.0	4	LR
LC-17-287	y= - 0.322 8 + 3.454 4x	0.970 4	34.7	24.3~49.7	4	LR
LC-17-288	y= 2.700 8 + 1.395 8x	0.964 3	44.4	30.4~64.6	5	LR
LC-17-289	y= 3.407 0 + 0.967 8x	0.970 4	119	80.6~176	12	HR
LC-17-290	y= 2.622 2 + 1.109 8x	0.979 8	138	101~192	15	HR
LC-17-291	y= 2.501 9 + 1.296 6x	0.994 5	84.5	72.9~97.7	9	LR
LC-17-292	y= 0.149 2 + 3.049 7x	0.896 9	39.0	18.0~76.1	4	LR
LC-17-293	y= 2.954 1 + 1.091 8x	0.979 7	74.8	56.7~98.7	8	LR
LC-17-294	y= 2.701 3 + 1.202 5x	0.987 1	81.6	65.2~102	9	LR
LC-17-295	y= - 0.539 7 + 3.517 0x	0.947 8	37.6	20.9~60.5	4	LR
LC-17-296	y= 2.488 4 + 1.566 2x	0.969 9	42.5	30.1~60.2	5	LR
LC-17-297	y= 0.388 0 + 3.048 6x	0.916 6	32.5	17.2~61.6	4	LR
LC-17-298	y= 2.341 8 + 1.644 4x	0.976 5	41.4	30.4~56.2	5	LR

注: S = 敏感 (RI< 2), LR = 低抗 (2≤RI≤10), HR = 高抗 (RI> 10)。
Note: S = Sensitive (RI< 2), LR = Low resistance (2≤RI≤10), HR = Highly resistance (RI> 10).

2.2 千金子 ACCase 基因差异性分析

对 10 个抗性种群的 CT 结构域进行扩增, 获得 1 359 bp 片段(图 1), 该区域包含了 1 744~2 196 位氨基酸序列。以大穗看麦娘 *Alopecurus myosuroides* 作为模式植株, 考虑到稗草 *E. crus-galli* 与千金子非常相似, 用于比较。通过氨基酸序列比较分析发现, LC-17-276 种群 6 个单株的 CT 结构域中的色氨酸 (Trp)-1999 都被丝氨酸 (Ser) 所取代(表 3), 即 LC-17-276 种群的 ACCase 酶 1999 位氨基酸编码碱基序列由 TGG 变异为 TCG(表 4); 其他 9 个种群未见 ACCase 酶的 CT 结构域位点变异。

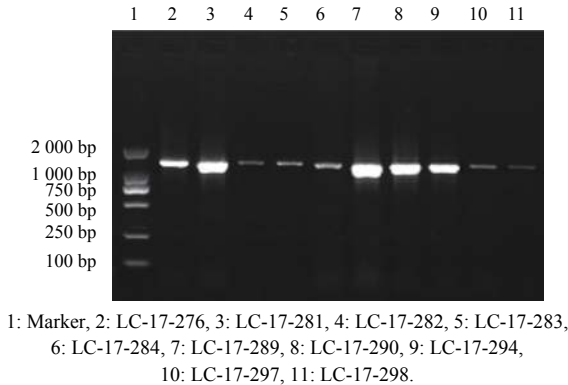


图 1 10 个千金子种群 CT 区 PCR 扩增
Fig. 1 PCR amplification of CT region in 10 species

表 3 不同千金子种群 ACCase 基因 CT 结构域氨基酸差异比对

Table 3 Amino acid substitution in the CT domain of ACCase gene from different <i>L. chinensis</i>							
种群 Populations	I 1781	W 1999	W 2027	I 2041	D 2078	C 2088	G 2096
LC-S	I	W	W	I	D	C	G
LC-17-276	I	S	W	I	D	C	G

表 4 ACCase CT 区域氨基酸序列比对

Table 4 Amino acid sequence alignment of ACCase CT region							
位点 Position	1991	1993	1995	1997	1999	2001	2003
大穗看麦娘 <i>A. myosuroides</i>	C G G T C T G T T C C T C G T G C T G G G C A A G T T T G G T T T C C A G A T T C T G C T	R S V P R A G Q V W F P D S A					
稗草 <i>E. crus-galli</i>	C G A T C T G T T C C T C G T G C T G G A C A A G T G T G G T T C C C A G A T T C T G C A	R S V P R A G Q V W F P D S A					
LC-S	A G A T C T G T T C C T C G G G C T G G A C A A G T G T G G T T C C C A G A T T C A G C A	R S V P R A G Q V W F P D S A					
LC-17-276	A G A T C T G T T C C T C G G G C T G G A C A A G T G T C G T T C C C A G A T T C A G C A	R S V P R A G Q V S F P D S A					

3 讨论

通过对华东部分稻区千金子进行整株生物测定, 发现该稻区千金子对氰氟草酯已普遍产生抗药性, 其中 LC-17-276、LC-17-281、LC-17-282、LC-17-283、LC-17-289 和 LC-17-290 种群具有高水平抗性, 占种群总数的 24%, 其他 19 个种群具有中低水平抗性, 占 76%。

近年来, 随着氰氟草酯被普遍用于千金子等禾本科杂草的防治, 有关千金子对氰氟草酯产生抗性的报道不断增加。文马强等报道湖南稻田千金子对氰氟草酯的抗性指数为 1.2~11^[7]; Riahman 等报道马来西亚稻田的千金子对氰氟草酯已普遍产生抗性^[20]; 2016 年 Yu 等报道采自浙江余杭的千金子种群对氰氟草酯具有高水平抗性, 并揭示了其抗性机制^[21]。本研究结果表明, 华东部分稻

区水稻田千金子对氰氟草酯也产生了广泛的抗性, 这与生产实践中千金子的防除难度越来越大的现状相一致。

本研究首次报道了抗性千金子种群 ACCase CT 结构域中的色氨酸 (Trp)-1999 被丝氨酸 (Ser) 取代的变异类型, 与之前多花黑麦草 ACCase CT 结构域中的色氨酸 (Trp)-1999 被丝氨酸 (Ser) 取代而产生抗性的报道相一致, 因此该突变很可能是导致千金子对氰氟草酯产生抗性的重要原因之一^[12]。

目前, 华东部分稻区水稻田千金子对氰氟草酯的抗性还处于起始或发展阶段, 本研究发现抗性千金子 ACCase CT 结构域中的色氨酸 (Trp)-1 999 被丝氨酸 (Ser) 取代的新变异类型, 对预防和控制抗性的过快发展, 为寻求延缓抗性快速发展的策略, 以及水稻田千金子的科学防治及抗性治理均

具有重要意义。

参考文献 (Reference):

[1] 董立尧, 武淑文, 高同春, 等. 千金子发生特点与危害及其防除研究进展[J]. *中国农学通报*, 2003, 19(1): 55-61.
DONG L Y, WU S W, GAO T C, et al. Advances in the research on occurrence characteristics and damages of *Leptochloa chinensis* (L.) Nees. and its control[J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2003, 19(1): 55-61.

[2] 魏守辉, 朱文达, 杨小红, 等. 湖北省水稻田杂草的种类组成及其群落特征[J]. *华中农业大学学报*, 2013, 32(2): 44-49.
WEI S H, ZHU W D, YANG X H, et al. Species composition and characterization of weed community in rice fields in Hubei Province[J]. *J Huazhong Agric Univ*, 2013, 32(2): 44-49.

[3] 夏向东, 马洪菊, 许孟涵, 等. 杂草对芳氧苯氧丙酸类 (APPs) 除草剂的抗性分子机理研究进展[J]. *农药学学报*, 2013, 15(6): 609-614.
XIA X D, MA H J, XU M H, et al. Research progress on molecular mechanism of resistant weeds to aryloxyphenoxypionate herbicides[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2013, 15(6): 609-614.

[4] LIU W, HARRISON D K, CHALUPSKA D, et al. Single-site mutations in the carboxyltransferase domain of plastid acetyl-CoA carboxylase confer resistance to grass-specific herbicides[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2007, 104(9): 3627-3632.

[5] YU Q, COLLAVO A, ZHENG M Q, et al. Diversity of acetyl-coenzyme A carboxylase mutations in resistant *Lolium populations*: evaluation using clethodim[J]. *Plant Physiol*, 2007, 145(2): 547-558.

[6] PETIT C, BAY G, PERNIN F, et al. Prevalence of cross- or multiple resistance to the acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors fenoxaprop, clodinafop and pinoxaden in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) in France[J]. *Pest Manag Sci*, 2009.

[7] 文马强, 周小毛, 刘佳, 等. 直播水稻田千金子对氟氯草酯抗性测定及抗性生化机理研究[J]. *南方农业学报*, 2017, 48(4): 647-652.
WEN M Q, ZHOU X M, LIU J, et al. Resistance of *Leptochloa chinensis* (L) Nees. to cyhalofop-butyl in rice field of direct seeding and resistance biochemical mechanism research[J]. *J South Agric*, 2017, 48(4): 647-652.

[8] COLLAVO A, PANOZZO S, LUCCHESI G, et al. Characterisation and management of *Phalaris paradoxa* resistant to ACCase-inhibitors[J]. *Crop Prot*, 2011, 30(3): 293-299.

[9] LI L X, BI Y L, LIU W T, et al. Molecular basis for resistance to fenoxaprop-*p*-ethyl in American sloughgrass (*Beckmannia syzigachne* Steud.)[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2013, 105(2): 118-121.

[10] KAUNDUN S S, HUTCHINGS S J, DALE R P, et al. Role of a novel

I1781T mutation and other mechanisms in conferring resistance to acetyl-CoA carboxylase inhibiting herbicides in a black-grass population[J]. *Plos One*, 2013, 8(7): e69568.

[11] XU H L, LI J, ZHANG D, et al. Mutations at codon position 1999 of acetyl-CoA carboxylase confer resistance to ACCase-inhibiting herbicides in Japanese foxtail (*Alopecurus japonicus*)[J]. *Pest Manag Sci*, 2014, 70(12): 1894-1901.

[12] KAUNDUN S S, BAILLY G C, DALE R P, et al. A novel W1999S mutation and non-target site resistance impact on acetyl-CoA carboxylase inhibiting herbicides to varying degrees in a UK *Lolium multiflorum* population[J]. *Plos One*, 2013, 8(2): e58012.

[13] TANG H W, LI J, DONG L Y, et al. Molecular bases for resistance to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitor in Japanese foxtail (*Alopecurus japonicus*)[J]. *Pest Manag Sci*, 2012, 68(9): 1241-1247.

[14] TANG W, ZHOU F Y, CHEN J, et al. Resistance to ACCase-inhibiting herbicides in an Asia minor bluegrass (*Polypogon fugax*) population in China[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2014, 108: 16-20.

[15] CRUZ-HIPOLITO H, OSUNA M D, DOMÍNGUEZ-VALENZUELA J A, et al. Mechanism of resistance to ACCase-inhibiting herbicides in wild oat (*Avena fatua*) from Latin America[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(13): 7261-7267.

[16] CRUZ-HIPOLITO H, DOMÍNGUEZ-VALENZUELA J A, OSUNA M D, et al. Resistance mechanism to acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides in *Phalaris paradoxa* collected in Mexican wheat fields[J]. *Plant Soil*, 2012, 355(1-2): 121-130.

[17] 王庆亚, 董立尧, 娄远来, 等. 农田杂草抗药性及其检测鉴定方法[J]. *杂草科学*, 2002, 20(2): 1-5.
WANG Q Y, DONG L Y, LOU Y L, et al. Review on the herbicide resistance of weeds in crop and its checking and determining methods[J]. *Weed Sci*, 2002, 20(2): 1-5.

[18] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程 [M]. 北京: 科学出版社, 2016.
WANG G L, FANG H J. Plant gengtic engineering[M]. Beijing: Science Press, 2016.

[19] BECKIE H J, TARDIF F J. Herbicide cross resistance in weeds[J]. *Crop Prot*, 2012, 35: 15-28.

[20] RAHMAN M M, ISMAIL S, SOFIAN-AZIRUN M. Identification of resistant biotypes of *Leptochloa chinensis* in rice field and their control with herbicides[J]. *Afr J Biotechnol*, 2011, 10(15): 2904-2914.

[21] YU J X, GAO H T, PAN L, et al. Mechanism of resistance to cyhalofop-butyl in Chinese sprangletop (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees)[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2017, 143: 306-311.

(责任编辑: 金淑惠)