

# 我国抗除草剂水稻种质创制研究进展

吴云雨<sup>1,2</sup>, 肖宁<sup>1,2</sup>, 余玲<sup>1</sup>, 蔡跃<sup>1,2</sup>, 潘存红<sup>1</sup>, 李育红<sup>1,2</sup>, 张小祥<sup>1,2</sup>,  
黄年生<sup>1,2</sup>, 周长海<sup>1,2</sup>, 季红娟<sup>1,2</sup>, 戴正元<sup>1,2</sup>, 李爱宏<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>江苏里下河地区农业科学研究所, 扬州 225007; <sup>2</sup>扬州大学/江苏省粮食作物现代产业技术协同创新中心, 扬州 225009;

<sup>3</sup>扬州大学/江苏省作物基因组学和分子育种重点实验室, 扬州 225009)

**摘要:** 水稻是我国最重要的粮食作物之一, 稻田杂草是影响水稻产量和品质的主要因素。随着水稻直播稻等轻简化栽培种植面积的日益扩大, 各种除草剂的应用日益普遍, 除草剂的用量也逐渐增大, 稻田抗性杂草及土壤高残留问题也日益严重。因此, 加快各类除草剂抗性水稻种质创制与利用具有重要的意义。本文从除草剂的类型及其作用机理、我国抗除草剂水稻种质创制及应用等方面进行了综述, 指出了我国抗除草剂水稻种质创制及应用过程中存在的问题, 并对今后抗除草剂水稻种质创制及应用的可能发展方向进行了探讨。

**关键词:** 水稻; 除草剂; 抗性种质; 创制

## Research Progress in Herbicide-resistant Rice Germplasm Innovation in China

WU Yun-yu<sup>1,2</sup>, XIAO Ning<sup>1,2</sup>, YU Ling<sup>1</sup>, CAI Yue<sup>1,2</sup>, PAN Cun-hong<sup>1</sup>, LI Yu-hong<sup>1,2</sup>, ZHANG Xiao-xiang<sup>1,2</sup>,  
HUANG Nian-sheng<sup>1,2</sup>, ZHOU Chang-hai<sup>1,2</sup>, JI Hong-juan<sup>1,2</sup>, DAI Zheng-yuan<sup>1,2</sup>, LI Ai-hong<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>Jiangsu Lixiahe Institute of Agricultural Sciences, Yangzhou 225007; <sup>2</sup>Yangzhou University/ Jiangsu Co-Innovation

Center for Modern Industrial Technology of Grain Crops, Yangzhou 225009; <sup>3</sup>Yangzhou University/ Jiangsu

Key Laboratory of Crop Genomics and Molecular Breeding, Yangzhou 225009)

**Abstract:** Rice is one of the most important grain crops in China, and weeds in paddy fields are the main factors affecting the yield and quality of rice. With the increase of planting areas of direct-seeded rice and light and simplified cultivation, the application of various herbicides has become increasingly common, the application rates of the herbicides have gradually increased, and the problems of resistant weeds and high residues in paddy fields have become increasingly serious. Therefore, it is of great significance to accelerate the innovation and utilization of various herbicide-resistant rice germplasms. In this paper, the types and mechanisms of herbicides, the research progress on herbicide-resistant rice germplasm innovation and application in China are reviewed, with existing problems and possible development direction discussed.

**Key words:** rice; herbicide; resistant germplasm; innovation

水稻是我国乃至世界上最重要的粮食作物之一。近年来, 随着国民经济的迅速发展和产业结构调整, 农村劳动力不断往城市转移, 我国水稻生产也在向规模化、集约化、机械化发展, 因此机插秧、

直播等轻简化栽培措施已成为发展趋势<sup>[1]</sup>。然而随着直播栽培面积的不断扩大, 稻田草害的问题也越来越严重。我国稻田杂草有 400 余种, 发生普遍且最常见的有 40 多种, 其中稗草、千金子、异型莎

收稿日期: 2020-11-03 修回日期: 2020-12-07 网络出版日期: 2020-12-22

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20201103002>

第一作者研究方向为水稻遗传育种, E-mail: wuyunyuyu@163.com

通信作者: 李爱宏, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: yzlah@126.com

基金项目: 江苏省农业科技自主创新项目 (CX(19)3050)

Foundation project: Jiangsu Agricultural Science and Technology Innovation Fund (CX(19)3050)

草、萤蔺、牛毛毡、水莎草、陌上菜、节节草、矮慈姑、鸭舌草、鲤肠、水苋菜和丁香蓼等对水稻危害较严重<sup>[2]</sup>。杂草不仅与水稻争夺阳光、养料、水分和生存空间,同时还作为病虫中间寄主,促进水稻病虫害的发生,严重影响水稻的产量和品质<sup>[3]</sup>。

当前,田间除草的主要方法是利用除草剂进行化学防治,具有高效、经济、省力等优点<sup>[4]</sup>。然而,大多使用效果好的除草剂为杀生性类型,施用不当常常会对水稻造成不同程度的药害,影响其生长发育以及产量。因此,培育具有除草剂抗性的水稻品种是防治稻田杂草危害最为经济、有效的措施<sup>[5]</sup>。本文从除草剂类型及其作用机理,我国抗除草剂水稻种质创制及应用等方面进行综述,指出其存在的问题,并对未来发展方向进行了探讨。

## 1 水稻除草剂的类型及其作用机理

除草剂被杂草根、芽和叶片等吸收后,通过破坏或干扰杂草的一个或多个重要的生理代谢过程(如

光合作用、氨基酸或蛋白质合成、脂肪合成、色素合成等)来杀死杂草<sup>[6]</sup>。这些代谢过程均由不同的酶系统来催化,因此除草剂开发的主要靶标就是杂草体内多种生物合成的酶,通过对靶标酶的抑制,最终干扰杂草的代谢途径从而达到杀灭杂草的目的<sup>[7]</sup>。随着人们环保意识的日益增强,高效低毒、除草广谱、对环境污染小的除草剂研发逐渐成为主流。目前水稻除草剂的靶标主要有5-烯醇丙酮酸莽草酸-3-磷酸酯合成酶(EPSPS, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase)、乙酰辅酶A羧化酶(ACCCase, acetyl-coA carboxylase)、乙酰乳酸合成酶(ALS, acetolactate synthase)及对羟苯基丙酮酸双氧化酶(HPPD, 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase)等,下面主要介绍以这4类靶标开发的抑制剂类除草剂以及它们的作用机理(表1)。

### 1.1 EPSPS 抑制剂类除草剂

EPSPS 抑制剂类除草剂主要为草甘膦,为有机磷类除草剂。该类除草剂主要作用机理是磷酸烯醇

表1 水稻除草剂主要靶标、作用机理及主要类型

Table 1 Main targets, mechanisms and types of herbicides for rice weeds

作用靶标 Target	作用机理 Mechanism	除草剂主要类型 Type of herbicides	主要代表 Representative herbicides	应用范围 Application
5-烯醇式丙酮酸莽草酸-3-磷酸酯合成酶 EPSPS	抑制氨基酸合成	有机磷类	草甘膦	水稻、玉米、大豆、小麦、棉花等地的一年生与多年生的禾本科、双子叶杂草以及藻类、灌木等
乙酰辅酶A羧化酶 ACCase	抑制类脂合成	芳氧苯氧基丙酸酯类	禾草灵、噁唑酰草胺等	水稻田苗后茎叶防除一年生禾本科杂草,特别对千金子具有较好的防治效果
		环己烯酮类	禾草灭	水稻、油菜、大豆、棉花、玉米等地的禾本科杂草、阔叶杂草
乙酰乳酸合成酶 ALS	抑制氨基酸合成	磺酰脲类	甲嘧磺隆,烟嘧磺隆等	水稻、玉米、大豆、油菜、甜菜、甘蔗等地的禾本科杂草以及阔叶杂草
		咪唑啉酮类	咪唑乙烟酸,咪唑烟酸等	水稻、小麦、大豆、花生等地的一年与多年生禾本科杂草及阔叶杂草
		三唑并嘧啶类	唑嘧磺酰胺,双氯磺草胺等	水稻、麦田、草坪等地的禾本科杂草以及阔叶杂草
		水杨酸嘧啶类	嘧啶脲草醚,双草醚等	水稻、棉花、小麦等地的一年生、多年生禾本科杂草、阔叶杂草、莎草等
对羟苯基丙酮酸双氧化酶 HPPD	抑制色素合成	吡唑类	苄草唑,氯吡嘧磺隆等	水稻、麦田、玉米等地的阔叶杂草、禾本科杂草、莎草等
		三酮类	磺草酮,硝磺草酮等	水稻、大豆、棉花、玉米等地的禾本科杂草、阔叶杂草
		异噁唑类	异噁唑草酮,异噁唑草酮等	水稻、玉米、甘蔗等地的阔叶杂草、禾本科杂草等

EPSPS: 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, ACCCase: acetyl-coA carboxylase, ALS: acetolactate synthase, HPPD: 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase

式丙酮酸竞争性地与莽草酸途径的关键酶 EPSPS 结合,进而抑制该酶的活性,阻断芳香族氨基酸的合成途径,造成植物体内芳香族氨基酸如苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的缺乏,植物最终因失绿而死亡<sup>[8]</sup>。但由于草甘膦对水稻同样具有毒害作用,导致其仅局限于稻田苗前处理使用。因此急需开发抗草甘膦水稻,拓宽稻田除草剂使用种类,促进轻简化水稻栽培技术的发展。

### 1.2 ACCase 抑制剂类除草剂

ACCase 是调节植物脂肪酸生物合成的一种关键酶。以 ACCase 作为靶标的除草剂主要有芳氧苯氧丙酸类 (APP, aryloxyphenoxypropionates) 和环己二酮类 (CHD, cyclohexanediones) 2 种类型。ACCase 除草剂通过抑制乙酰辅酶 A 的羧化反应,使植物的脂肪酸合成受到抑制,导致其细胞膜的完整性受到破坏,造成相关代谢产物渗漏,最终导致植物死亡<sup>[9]</sup>。ACCase 抑制剂类除草剂具有高效低毒、施用期长、对后茬作物安全等优点,但是研究发现 ACCase 的靶标位点相对单一,随着该类除草剂的单一和广泛使用,目前已在稻田中出现了多种对该类除草剂产生不同程度抗性的杂草,严重影响了对稻田杂草的治理<sup>[10-11]</sup>。

### 1.3 ALS 抑制剂类除草剂

ALS 是植物支链氨基酸如缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成过程中的关键酶。ALS 抑制剂类除草剂以乙酰乳酸合成酶为作用靶标,通过与植物体内的乙酰乳酸合成酶形成复合物阻断底物进入酶活性位点通路,使支链氨基酸合成受阻,导致蛋白质的合成受到抑制,最终致使植物生长和发育停止、直至死亡<sup>[12]</sup>。ALS 酶只存在于植物和微生物体内,因此 ALS 抑制剂类除草剂对哺乳动物具有高安全性;相对草甘膦和乙酰辅酶 A 羧化酶抑制剂类除草剂等使用量低;同时还具有选择性强、除草广谱等优点<sup>[13]</sup>,现已开发包括磺酰脲类 (SU, sulfonylureas)、咪唑啉酮类 (IMI, imidazolinones)、三唑并嘧啶类 (TP, triazolopyrimidines) 和水杨酸嘧啶类 (PTB, pyrimidylxybenzoates) 为主要代表的多种除草剂<sup>[14]</sup>。

### 1.4 HPPD 抑制剂类除草剂

HPPD 是生物体内酪氨酸代谢过程中的关键酶。20 世纪 90 年代, HPPD 首次被确定为除草剂作用靶标,该类除草剂的作用机理是竞争性地与 HPPD 结合,阻断植物体内对羟基苯丙酮酸 (HPPA, 4-hydroxyphenylpyruvic acid) 向尿黑酸 (HGA, homogentisic acid) 的转变过程,间接抑制类胡萝卜素

的生物合成,从而导致植物的叶绿素光氧化能力减弱,进而影响植物的光合作用,促使植物产生白化症状而死亡<sup>[15]</sup>。HPPD 抑制剂类除草剂具有高效低毒、除草广谱、作物安全性高、不易产生抗性、环境相容性好以及对后茬作物安全等一系列优点<sup>[16]</sup>,从而使其成为化学除草剂研发一个新的热点,目前已开发出吡唑类、三酮类和异噁唑类等多种类型除草剂,其中多个除草剂在稻田进行测试和应用<sup>[17]</sup>。

## 2 抗除草剂水稻种质创制研究进展

近年来,随着不同类型除草剂在直播稻田的大量应用,抗除草剂水稻种质创制也取得了一定进展,利用转基因、化学诱变及 CRISPR/Cas9 基因编辑等技术创制出了系列针对各类除草剂抗性的水稻种质 (表 2)。

### 2.1 抗草甘膦水稻种质创制

通常情况下水稻对草甘膦比较敏感,而 EPSPS 作为草甘膦的靶标位点,改良后可导致 EPSPS 与草甘膦的结合力降低,从而达到增强水稻抗性的目的。目前利用 EPSPS 基因开展抗草甘膦水稻创制主要有以下 3 种途径:(1) 通过转基因方式在水稻中导入外源 EPSPS 基因。Zhao 等<sup>[18]</sup>将 *Pseudomonas putida* 来源的 G6 EPSPS 转入粳稻品种秀水 110 中,创制的转基因水稻株系在喷施 47.32 mmol/L 草甘膦的情况下可以存活。2014 年,王云鹏等<sup>[19]</sup>建立了草甘膦污染土壤的宏基因组文库并成功克隆了 1 个新的抗草甘膦的 EPSPS 基因 *soil EPSPS*,并通过农杆菌介导法将 *soil EPSPS* 在粳稻吉农大 878 中异源表达,获得的转基因水稻株系能够耐受高达 500 mmol/L 的草甘膦。Tian 等<sup>[20]</sup>将 *Vitis vinifera* 来源突变的 *VvEPSPS<sub>mutant</sub>* 基因转入水稻,转基因水稻株系可以耐受 1000 mmol/L 草甘膦。Cui 等<sup>[21]</sup>从 *Isoptericola variabilis* 中克隆到抗草甘膦基因 *I. variabilis-EPSPS* 并将其转入籼稻恢复系品种明恢 86 中,培育的株系可以耐受 10 倍商业推荐使用剂量的草甘膦处理,且主要农艺性状未发生改变。Dong 等<sup>[22]</sup>将 *Pseudomonas fluorescens* 来源的 G2-EPSPS 转入水稻中花 11 中,转基因株系较未转化对照耐受草甘膦的能力提高了 100 倍以上。(2) 通过化学诱变方式创制 *OsEPSPS* 水稻突变体。戴焱等<sup>[23]</sup>利用 EMS 诱变贵州地方稻种黎平杂边禾,筛选获得了抗草甘膦的水稻突变体 *osgr-1*,测序分析发现其 *OsEPSPS* 基因不同位点碱基突变导致了草甘膦抗性的产生。(3) 通过 CRISPR/Cas9 基因

表 2 创制成功的除草剂抗性种质部分实例

Table 2 Successful examples of herbicide-resistant rice germplasm innovation

靶标基因 Target gene	受体材料 Receptor	类型 Type of rice	创制方式 Method	抗性获得位点及来源 Resistance loci and source	除草剂抗性 Herbicide resistance	参考文献 Reference
<i>EPSPS</i>	秀水 110	粳型	转基因	<i>G6 EPSPS</i>	草甘膦	[ 18 ]
<i>EPSPS</i>	吉农大 878	粳稻	转基因	<i>soil EPSPS</i>	草甘膦	[ 19 ]
<i>EPSPS</i>	—	粳稻	转基因	<i>VvEPSPS<sub>mutant</sub></i>	草甘膦	[ 20 ]
<i>EPSPS</i>	明恢 86	籼型	转基因	<i>I. variabilis-EPSPS</i>	草甘膦	[ 21 ]
<i>EPSPS</i>	中花 11	粳稻	转基因	<i>G2-EPSPS</i>	草甘膦	[ 22 ]
<i>EPSPS</i>	黎平杂边禾	粳型	EMS 诱变	76 ( Pro → Ala ), 101 ( Ala → Ser ), 104 ( Glu → Ala )	草甘膦	[ 23 ]
<i>EPSPS</i>	日本晴	粳型	CRISPR/Cas9	173 ( Thr → Ile ), 177 ( Pro → Ser )	草甘膦	[ 24 ]
<i>ACCcase</i>	镇糯 19	粳型	EMS 诱变	1796 ( Ile → Leu ), 2015 ( Ala → Val ), 2038 ( Trp → Cys ), 2052 ( Ile → Asp ), 2089 ( Asp → Gly )	喹禾灵	[ 25 ]
<i>ACCcase</i>	嘉花 1 号	粳型	EMS 诱变	1796 ( Ala → Gly )	喹禾灵	[ 26 ]
<i>ACCcase</i>	嘉花 1 号	粳型	EMS 诱变	1731 ( Arg → Cys ), 2276 ( Tyr → Asp )	盖草能	[ 27 ]
<i>ALS</i>	黄华占	籼型	EMS 诱变	548 ( Try → Met )	灭草烟	[ 28 ]
<i>ALS</i>	华航 31	籼型	EMS 诱变	179 ( Ala → Val ), 627 ( Ser → Asn ), 628 ( Gly → Glu ), 643 ( Val → Met )	咪唑乙烟酸	[ 29 ]
<i>ALS</i>	镇稻 18	粳型	EMS 诱变	136 ( Gly → Thr ), 179 ( Ala → Val )	百垄通	[ 30-31 ]
<i>ALS</i>	扬州恢复系	籼型	EMS 诱变	627 ( Ser → Asn ), 628 ( Gly → Glu )	百垄通	[ 32 ]
<i>ALS</i>	合肥不育系	籼型	EMS 诱变	171 ( Pro → His ), 351 ( Asp → Glu )	百垄通	[ 33 ]
<i>ALS</i>	金粳 818	粳型	自然变异	627 ( Ser → Asn )	咪唑乙烟酸	[ 34 ]
<i>ALS</i>	—	籼稻	自然变异	627 ( Ser → Asn )	咪唑乙烟酸	[ 35 ]
<i>ALS</i>	日本晴	粳型	CRISPR/Cas9	548 ( Try → Met ), 627 ( Ser → Asn )	双草醚	[ 36 ]
<i>ALS</i>	南粳 9108	粳型	CRISPR/Cas9	628 ( Gly → Try )	咪唑乙烟酸	[ 37 ]
<i>HPPD</i>	—	—	转基因	<i>Pa-HPPD</i>	异噁唑草酮	[ 38 ]
<i>HPPD</i>	—	—	转基因	<i>Pp-HPPD</i>	异噁唑草酮	[ 39 ]
<i>HPPD</i>	—	—	转基因	<i>Ct2-HPPD</i>	异噁唑草酮	[ 40 ]

-: 未知

-: unknown

编辑技术对水稻内源 *OsEPSPS* 基因进行定点编辑。2016 年, Li 等<sup>[24]</sup>利用该技术对水稻内源 *OsEPSPS* 基因的核苷酸进行定点替换,降低了对草甘膦的亲合性,从而获得草甘膦抗性的水稻种质。

## 2.2 抗 ACCase 抑制剂类除草剂型水稻种质创制

农作物对 ACCase 抗性种质材料创制大多集中在燕麦和大麦上<sup>[41-42]</sup>。近年来,江苏省农科院张保龙团队利用 EMS 诱变镇糯 19,筛选获得了 ACCase 抗性突变体材料。进一步分析发现 *ACCcase* 基因不同外显子单碱基的变异导致了相应氨基酸的变化,

从而使水稻具有抗 2 倍推荐使用浓度的喹禾灵的特性<sup>[25]</sup>。此外他们同时通过 EMS 诱变嘉花 1 号,也创制出了一批具有生产应用潜力的抗性突变体种质<sup>[26-27]</sup>。

## 2.3 抗 ALS 抑制剂类除草剂型水稻种质创制

水稻 *OsALS* 基因编码区序列全长为 1935 bp, 仅有一个外显子,编码 644 个氨基酸<sup>[43]</sup>。目前水稻中已报道能产生除草剂抗性的突变位点主要为第 95、96、122、171、197、376、548、627 和 628 位氨基酸,这些位点主要分布在 ALS 蛋白的 5 个高度保

守结构域中<sup>[44-45]</sup>。利用 *OsALS* 基因开展抗 ALS 抑制剂类除草剂水稻创制同样有以下 3 种途径:(1) 利用化学诱变创制 *OsALS* 水稻突变体。2012 年,深圳兴旺生物种业有限公司利用 EMS 诱变处理优质籼稻品种黄华占,通过苗期大规模咪唑啉酮类除草剂的筛选,获得一批抗性突变体材料,测序发现其中一个突变体的 *OsALS* 基因第 1642~1643 位碱基 TG 突变为 AT,导致其第 548 位的色氨酸突变为甲硫氨酸,这是我国首次在水稻中创制具有自主知识产权的抗 ALS 抑制剂类除草剂种质材料<sup>[28]</sup>。2017 年,湖南杂交水稻研究中心利用 EMS 诱变籼稻品种华航 31,创制出 *OsALS*-179(丙氨酸突变为缬氨酸)、*OsALS*-627(丝氨酸突变为天冬酰胺)、*OsALS*-628(甘氨酸突变为谷氨酸)、*OsALS*-643(缬氨酸突变为甲硫氨酸)等突变体材料,这些材料对咪唑乙烟酸具有良好的抗性<sup>[29]</sup>。与此同时,张保龙等<sup>[30-33]</sup>利用 EMS 诱变镇稻 18、扬州恢复系及合肥不育系等材料,创制出 *OsALS*-136(甘氨酸突变为苏氨酸)、*OsALS*-171(脯氨酸突变为组氨酸)、*OsALS*-179(丙氨酸突变为缬氨酸)、*OsALS*-351(天冬氨酸突变为谷氨酸)、*OsALS*-627(丝氨酸突变为天冬酰胺)、*OsALS*-628(甘氨酸突变为谷氨酸)等突变体材料,这些突变体材料对咪唑啉酮类除草剂具有良好的抗性。(2) 筛选发掘自然 *OsALS* 等位变异抗性材料。2018 年,王芳权等<sup>[34]</sup>从 7000 多份水稻品种资源材料中筛选获得一个抗咪唑乙烟酸除草剂材料金粳 818,对金粳 818 中 *OsALS* 基因的测序分析发现,其 *OsALS* 基因第 1880 位碱基 G 突变为 A,导致其第 627 位氨基酸由丝氨酸突变为天冬酰胺。同样地,2020 年,上海市农业生物基因中心罗利军研究团队通过喷施咪唑乙烟酸除草剂,从 30570 份水稻种质资源中获得了 1 份抗咪唑啉酮类除草剂的水稻新种质,测序发现该材料的第 1880 位碱基 G 突变为 A,导致其第 627 位氨基酸由丝氨酸突变为天冬酰胺<sup>[35]</sup>。(3) 通过 CRISPR/Cas9 基因编辑技术对水稻 *OsALS* 基因的核苷酸进行定点编辑。2015 年,中国农业科学院作物科学研究所的夏兰琴研究团队利用该技术在日本晴品种中定点突变 *OsALS* 基因,使 *OsALS* 的第 548 位色氨酸突变为亮氨酸及第 627 位丝氨酸突变为异亮氨酸,突变株系对水杨酸嘧啶类除草剂双草醚表现良好抗性<sup>[36]</sup>。2020 年,Wang 等<sup>[37]</sup>同样利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术在南粳 9108 中定点突变 *OsALS* 基因,测序发现其 *OsALS* 基因的第 1882 位碱基 G 突

变为 T,致使其第 628 位甘氨酸突变为色氨酸。该突变材料不仅抗咪唑啉酮类除草剂,同时其他农艺性状基本与野生型南粳 9108 一致,具有较强的生产应用潜力。

## 2.4 抗 HPPD 抑制剂类除草剂型水稻种质创制

迄今为止,已经鉴定和克隆了多个 *HPPD* 基因,例如来自黄连的 *CjHPPD*(对苯并双环素有抗性)、荧光假单胞杆菌的 *HPPD*(*G336W*)(对异噁唑草酮有抗性)、燕麦的 *AvHPPD-03*(对甲基磺草酮有抗性)和来自土壤宏基因组分析获得的 *mHPPD*(耐磺脲三酮)等<sup>[46-47]</sup>。含有这些 *HPPD* 基因的转基因植物对相应的 *HPPD* 抑制剂除草剂也显示出较强的除草剂抗性<sup>[47]</sup>。在水稻 *HPPD* 除草剂抗性种质创制方面,北京未名凯拓作物设计中心有限公司分别将铜绿假单胞菌(*Pseudomonas asruginea*)的 *Pa-HPPD* 基因、恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)的 *Pp-HPPD* 基因及鞣醌丛毛单胞菌(*Comamonas testosteroni*)的 *Ct-HPPD* 基因导入水稻中,这些转基因水稻株系都可以耐受 5 mmol/L 的异噁唑草酮而存活<sup>[38-40]</sup>。此外,近期日本科学家通过正向遗传学方法在粳稻品种中克隆了一个具有双环磺草酮除草剂抗性的基因 *HIS1*,该基因编码 351 个氨基酸的 Fe(II)/2-酮戊二酸依赖型加氧酶蛋白,序列分析发现双环磺草酮敏感型品种的第 IV 外显子缺失 28 bp,造成无义突变,且研究表明 *his1*(28 bp 缺失)来源于籼稻品种 Peta,且主要存在于现代籼稻品种中,而大多数的粳稻品种携有 *HIS1* 基因,表明大多数粳稻品种对双环磺草酮等三酮类 *HPPD* 除草剂具有一定的基础抗性<sup>[48]</sup>。

## 3 存在的主要问题

### 3.1 抗性杂草问题

随着直播稻等轻简化栽培种植面积的日益扩大,各种除草剂的应用日益普遍,除草剂的用量也逐渐增大,但同时也带来一些问题,即在除草剂选择压力作用下,杂草对除草剂的抗性也得到了增强。杂草抗性一般有 2 种表现形式:一种是交互抗性,一种是复合抗性。交互抗性指杂草对某一种除草剂产生抗性后,它对具有同样除草剂抗性机理或相同作用位点的其他类除草剂也产生了抗性。例如直播稻田牛筋草对噁唑草酮(一种 ACCase 抑制剂)具有抗性,同时对其他种类的 ACCase 抑制剂类除草剂也有抗性<sup>[49]</sup>。复合抗性指杂草对具有不同作用机理的除草剂同时具有抗性,如研究发现美

国加利福尼亚稗草可同时对 ACCase 抑制剂类除草剂及 ALS 类除草剂产生抗性<sup>[50]</sup>。抗性杂草的发生在全球呈逐年上升趋势,目前广泛使用的主流化学除草剂如草甘膦<sup>[51]</sup>、ACCase 抑制剂类除草剂<sup>[11]</sup>及 ALS 抑制剂类除草剂<sup>[52]</sup>皆有抗性杂草发生。特别是 ACCase 抑制剂类除草剂,由于其靶标位点单一,抗性杂草问题尤为严重。从杂草对禾草灵产生抗性以来,至 2014 年已产生抗性的杂草有接近 50 种之多,广泛分布于世界各地<sup>[53]</sup>。根据 Gressel 对除草剂抗性风险的分类中,ACCase 抑制剂类除草剂中的 APP 类和 CHD 类除草剂已属于中到高风险级别<sup>[54]</sup>。而在我国水稻直播田中,已有多种稻田杂草如稗草<sup>[10]</sup>、牛筋草<sup>[49]</sup>、千金子<sup>[55]</sup>等对该类除草剂产生抗性。此外,ALS 类除草剂抗性杂草问题也不容忽视,自 ALS 抑制剂类除草剂水稻推广种植以来,各国都有抗性杂草发生的报道<sup>[54,56]</sup>。迄今已在 159 种杂草中都发现过 ALS 类除草剂抗性,如常见稻田杂草的稗草、鸭舌草、千金子、萤蔺等<sup>[57-58]</sup>。

### 3.2 农药残留问题

不同除草剂在土壤的半衰期不一致,部分除草剂半衰期长,易对后茬敏感作物造成严重药害,其中最为严重的是咪唑啉酮类除草剂,它们在土壤中主要通过水解和微生物降解失去活性,在碱性土壤中降解速度较快,但在长期偏干旱的土壤中降解速度较慢,在土壤中半衰期和残留期长,残留期甚至可达 2~3 年。过量或连年使用,易对后茬小麦、油菜、番茄、马铃薯、高粱等轮作作物造成药害,导致产量降低甚至绝产<sup>[59]</sup>。如甲咪唑啉酮在土壤中残留会导致后茬小麦干物质积累减少、根冠比下降、光合速率降低<sup>[60]</sup>,给长江下游稻麦轮作区安全生产带来了极大的风险。我国农业用地紧张,复种指数高,轮作作物多样,如何克服或者规避咪唑啉酮类除草剂的土壤高残留问题,是抗咪唑啉酮类水稻能否在我国大面积推广应用的关键。

## 4 我国抗除草剂水稻创制发展方向

目前,解决杂草抗性及土壤高残留的重要措施是除草剂轮换使用及种植相应除草剂抗性水稻品种。但长期、大面积采用靶标相同或近似的除草剂轮换,则会使杂草抗性及土壤高残留问题日益突出。因此,寻找新的作用靶标及开发相应除草剂抗性水稻品种及多抗性水稻品种才是预防和解决这些问题的关键。

### 4.1 加强抗 HPPD 除草剂水稻种质创制

HPPD 抑制剂作为一种新型除草剂可有效防除多种阔叶杂草和禾本科恶性杂草。相对 ALS 抑制剂类除草剂来说,其在土壤中能够被微生物迅速降解,在正常农作条件下半衰期只有几天到几十天,吡唑类除草剂苄草唑的半衰期甚至只有 8~10 d,一般不会对后茬作物造成不良影响<sup>[61]</sup>。此外,由于 HPPD 抑制剂类除草剂在我国稻区几乎没有使用的历史,因此与其他类除草剂不存在交互和复合抗性。所以 HPPD 抑制剂类除草剂有望成为解决抗性杂草最有潜力的产品。如果在水稻种植时将 HPPD 除草剂与相应抗性水稻配套使用,可有效杀灭稻田杂草,同时解决农药残留对后茬作物的影响以及抗性杂草的问题。但是普通水稻对 HPPD 抑制剂类除草剂极为敏感,一旦喷施,水稻苗就会因发生白化而死亡。目前尚没有抗 HPPD 抑制剂类除草剂的自然水稻种质,相关抗性基因发掘研究也较少,一般认为对 HPPD 抑制剂类除草剂产生抗性的是 HPPD 基因<sup>[43-44]</sup>,但对水稻 *OsHPPD* 基因的研究并不多见,鲜有因基因位点突变而产生抗性的报道。但相关研究分析表明,HPPD 蛋白 C 端活性门控区域 H11 氨基酸位点对底物的亲和力至关重要,这些位点的突变可能导致水稻产生抗性<sup>[62]</sup>。利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术,对水稻基因组中的 *OsHPPD* 基因进行高效、精准地基因敲除、插入或单碱基替换等,可能会创制出抗 HPPD 除草剂水稻种质。

### 4.2 加强多抗及复合抗性水稻种质创制

植物对除草剂的抗性并非总是由靶标抗性机制所致,越来越多的研究发现,很多植物对除草剂抗性含有非靶标抗性机制<sup>[63-64]</sup>。非靶标抗性机制是指植物通过降低除草剂的吸收和转运,限制其到达作用部位以及提高与除草剂代谢相关酶类如细胞色素 P450 单加氧酶、过氧化物歧化酶、谷胱甘肽还原酶等含量和活性,使植物对除草剂进行脱毒代谢的能力增强<sup>[57]</sup>。其中最为重要的是细胞色素 P450 (CYP, cytochrome P450 superfamily) 家族蛋白,它们不仅参与激素、脂类及次生物质等的内源代谢,在除草剂的代谢和解毒过程中也发挥重要作用,能够将除草剂在到达作用位点之前即被脱毒代谢变成低毒、无毒物质,从而提高植物对多种除草剂的交互和复合抗性<sup>[65]</sup>。Kawahigashi 等<sup>[66]</sup>将人的 P450 基因 *CYP1A1* 导入水稻中,转基因水稻对秀去津、氯磺酮、达草灭等除草剂表现出交互抗性。Inui 等<sup>[67]</sup>同样

将人的细胞色素 P450 基因 *CYP2C19* 在水稻中过表达,转基因株系对苯噻酰草胺、异丙甲草胺、吡草伏以及稗草畏具有交互抗性。刘明宏<sup>[68]</sup>在中华结缕草 (*Zoysia sinica*) 中克隆了一个细胞色素 P450 基因 *KC3-1*,将其在水稻品种秀水 134 中过表达,转基因植株表现对除草剂烟嘧磺隆和硝磺草酮的复合抗性。同样地,郑挺等<sup>[69]</sup>从甘蔗中克隆到了 1 个细胞色素 P450 基因,转基因植株同样表现为对除草剂烟嘧磺隆和硝磺草酮的复合抗性。以上这些水稻抗性种质都是基于转基因技术获得的,由于我国转基因政策法规的限制,还不能直接进行推广应用,而水稻中有多达 450 多个细胞色素 P450 基因<sup>[70]</sup>,必须加强发掘水稻自身抗性基因,创制可为育种利用的多抗及复合抗性水稻种质。如研究发现籼稻对除草剂双草醚具有抗性,而粳稻品种则对此敏感,图位克隆与互补试验发现籼稻对双草醚的抗性是由 1 个新的细胞色素 P450 基因 *CYP72A31* 控制<sup>[71]</sup>,而且 *CYP72A31* 转基因水稻能够同时提高对双草醚和吡嘧磺隆的复合抗性,表明 *CYP72A31* 基因是多抗性除草剂水稻种质创制的一个潜在遗传基因资源,为水稻田间杂草防治研究提供了新的方向。

#### 参考文献

- [1] 张洪程,龚金龙. 中国水稻种植机械化高产农艺研究现状及发展探讨. 中国农业科学, 2014, 47(7): 1273-1289  
Zhang H C, Gong J L. Research status and development discussion on high-yielding agronomy of mechanized planting rice in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(7): 1273-1289
- [2] 温莉娴,周菲,邹玉兰. 抗除草剂转基因水稻的研究进展. 植物保护学报, 2018, 45(5): 954-960  
Wen L X, Zhou F, Zou Y L. The research progress on herbicide resistant transgenic rice development. *Journal of Plant Protection*, 2018, 45(5): 954-960
- [3] Akbar N, Ehsanullah, Jabran K, Ali M A. Weed management improves yield and quality of direct seeded rice. *Australian Journal of Crop Science*, 2011, 5(6): 688-694
- [4] Antralina M, Istina I N, Yuwariah Y, Simarmata T. Effect of different weed control methods to yield of lowland rice in the SOBARI. *Procedia Food Science*, 2015, 3: 323-329
- [5] 李燕敏,祁显涛,刘昌林,刘方,谢传晓. 除草剂抗性农作物育种研究进展. 作物杂志, 2017(2): 1-6  
Li Y M, Qi X T, Liu C L, Liu F, Xie C X. Progress of crop breeding on resistance to herbicides. *Crops*, 2017(2): 1-6
- [6] 苏少泉. 除草剂开发面临的问题及发展趋势. 现代化农业, 2002(1): 5-8  
Su S Q. The problems and trend of herbicide development. *Modern Agriculture*, 2002(1): 5-8
- [7] Ohkawa H, Miyagawa H, Lee P W. Pesticide chemistry: crop protection, public healthy, environmental safety. Wiley-VCH: Weinheim, 2007: 13-22
- [8] 王宏伟,梁业红,史振声,张世煌. 作物抗草甘膦转基因研究概况. 作物杂志, 2007(4): 9-12  
Wang H W, Liang Y H, Shi Z S, Zhang S H. Review of study on transgenic crop resistance to glyphosate. *Crops*, 2007(4): 9-12
- [9] Délye C. Weed resistance to acetyl coenzyme a carboxylase inhibitors: an update. *Weed Science*, 2005, 53(5): 728-746
- [10] 左平春,纪明山,臧晓霞,陈仕红,杜颖. 稻田稗草对噻唑草胺的抗药性水平和 ACCase 活性. 植物保护学报, 2017, 44(6): 1040-1045  
Zuo P C, Ji M S, Zang X X, Chen S H, Du Y. The resistance level and acetyl co-enzyme a carboxylase activity of *Echinochloa phyllopogon* populations to metamifop in paddies. *Journal of Plant Protection*, 2017, 44(6): 1040-1045
- [11] Yu J X, Gao H T, Pan L, Yao Z W, Dong L Y. Mechanism of resistance to cyhalofop-butyl in Chinese sprangletop (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2017, 143: 306-311
- [12] 任洪雷. 乙酰乳酸合成酶及 ALS 基因研究概述. 中国农学通报, 2016, 32(26): 37-42  
Ren H L. Acetolactate synthase and ALS gene research. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, 32(26): 37-42
- [13] 高建芹,浦惠明,戚存扣,张洁夫,龙卫华,胡茂龙,陈松,陈新军,陈锋,顾慧. 抗咪唑啉酮油菜种质的发现与鉴定. 植物遗传资源学报, 2010, 11(3): 369-373  
Gao J Q, Pu H M, Qi C K, Zhang J F, Long W H, Hu M L, Chen S, Chen X J, Chen F, Gu H. Identification of imidazolidone resistant oilseed rape mutant. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2010, 11(3): 369-373
- [14] 辛洁,徐小博,王磊,朱晔荣,王勇. ALS 抑制剂类除草剂的抗性研究概述. 安徽农业科学, 2019, 47(4): 18-21  
Xin J, Xu X B, Wang L, Zhu Y R, Wang Y. Study on the resistance of ALS inhibitor herbicides. *Anhui Agriculture Science*, 2019, 47(4): 18-21
- [15] Ahrens H, Lange G, Muller T, Rosinger C, Willms L, van Almsick A. 4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors in combination with safeners: solutions for modern and sustainable agriculture. *Angewandte Chemie International Edition*, 2013, 52(36): 9388-9398
- [16] 周蕴赟,李正名. HPPD 抑制剂类除草剂作用机制和研究进展. 世界农药, 2013, 35(1): 1-7  
Zhou Y Y, Li Z M. Mechanism and research progress of HPPD-inhibiting herbicides. *World Pesticides*, 2013, 35(1): 1-7
- [17] 刘洋. HPPD 抑制剂类除草剂在水稻上的开发与应用. 农药市场信息, 2017(4): 24-27  
Liu Y. Development and application of HPPD-inhibiting herbicides on rice. *Pesticide Market Information*, 2017(4): 24-27
- [18] Zhao T, Lin C Y, Shen Z C. Development of transgenic glyphosate-resistant rice with G6 gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Agricultural Sciences in China*, 2011, 10(9): 1307-1312
- [19] 王云鹏,马景勇,马瑞,马建,刘文国. 土壤宏基因组中抗草甘膦新基因的克隆与转化水稻的研究. 作物学报, 2014, 40(7): 1190-1196

- Wang Y P, Ma J Y, Ma R, Ma J, Liu W G. Cloning of new herbicide resistant gene in soil metagenomics and generation of transgenic rice plants. *Acta Agronomica Sinica*, 2014, 40 ( 7 ) : 1190-1196
- [ 20 ] Tian Y S, Xu J, Xing X J, Zhao W, Fu X Y, Peng R H, Yao H Q. Improved glyphosate resistance of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Vitis vinifera* in transgenic *Arabidopsis* and rice by DNA shuffling. *Molecular Breeding*, 2015, 35 : 148
- [ 21 ] Cui Y, Huang S Y, Liu Z D, Yi S Y, Zhou F, Chen H, Lin Y J. Development of novel glyphosate-tolerant japonica rice lines: a step towards commercial release. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7 : 1218
- [ 22 ] Dong Y F, Jin X, Tang Q L, Zhang X, Yang J T, Liu X J, Cai J F, Zhang X B, Wang X J, Wang Z X. Detection of transgenic glyphosate-resistant rice expressing the *G2-EPSPS* gene. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8 : 885
- [ 23 ] 戴颖,赵德刚. 抗草甘膦水稻突变体 *osgr-1 EPSPS* 基因克隆及生物信息学分析. 种子, 2018, 37 ( 3 ) : 1-6, 11  
Dai Y, Zhao D G. Bioinformatic analysis of *EPSPS* gene from the rice resistant mutant *osgr-1* of glyphosate. *Seed*, 2018, 37 ( 3 ) : 1-6, 11
- [ 24 ] Li J, Meng X B, Zong Y, Chen K L, Zhang H W, Liu J X, Li J Y, Gao C X. Gene replacements and insertions in rice by intron targeting using CRISPR-Cas9. *Nature Plants*, 2016, 2 ( 10 ) : 16139
- [ 25 ] 张保龙,王金彦,凌溪铁. 使植物具有除草剂抗性的 ACCase 突变型蛋白及其应用: CN108369646A. 2018-08-03  
Zhang B L, Wang J Y, Ling X T. ACCase mutant protein and application thereof for making plants have herbicide resistance: CN108369646A. 2018-08-03
- [ 26 ] 张保龙,王金彦,凌溪铁,郭冬妹. 具有除草剂抗性的 ACCase 突变型基因和蛋白及其应用: CN109082416A. 2018-12-25  
Zhang B L, Wang J Y, Ling X T, Guo D S. ACCase mutant protein, gene and application thereof for making plants have herbicide resistance: CN109082416A. 2018-12-25
- [ 27 ] 张保龙,王金彦,凌溪铁. 一种水稻 ACCase 突变型基因及其在植物抗除草剂中的应用: CN109371000A. 2019-02-22  
Zhang B L, Wang J Y, Ling X T. Rice ACCase mutant gene and its application in plant herbicide resistance: CN109371000A. 2019-02-22
- [ 28 ] 陈竹锋,王承旭,柳威,唐晓艳,邓兴旺. 水稻抗除草剂蛋白及其在植物育种中的应用: CN201210037789.9. 2013-04-17.  
Chen Z F, Wang C X, Liu W, Tang X X, Deng X W. Rice herbicide resistant protein and application thereof in plant breeding: CN201210037789.9. 2013-04-17
- [ 29 ] 赵炳然,袁定阳,韶也,毛毕刚,袁智成,胡远艺,彭彦,罗武中. 一种水稻抗除草剂蛋白与基因及其应用: CN106867977A. 2017-06-20  
Zhao B R, Yuan D Y, Shao Y, Mao B G, Yuan Z C, Hu Y Y, Peng Y, Luo W Z. Application of rice herbicide-resistant protein and gene: CN106867977A. 2017-06-20
- [ 30 ] 张保龙,陈天子,王金彦,凌溪铁. 粳稻 ALS 突变型基因及其蛋白在抗除草剂方面的应用: CN106868027A. 2017-06-20  
Zhang B L, Chen T Z, Wang J Y, Ling X T. Application of Japonica rice ALS mutant gene and its protein in herbicide resistance: CN106868027A. 2017-06-20
- [ 31 ] 张保龙,陈天子,王金彦,凌溪铁. 粳稻的 ALS 突变型基因及其蛋白和应用: CN106868028A. 2017-06-20  
Zhang B L, Chen T Z, Wang J Y, Ling X T. Application of japonica rice ALS mutant gene and its protein: CN106868027A. 2017-06-20
- [ 32 ] 张保龙,凌溪铁,王金彦,陈天子,邓惠清. 使植物具有除草剂抗性的水稻 ALS 突变型蛋白、基因及其应用: CN107090447A. 2017-08-25  
Zhang B L, Ling X T, Wang J Y, Chen T Z, Deng H Q. Rice ALS mutant protein, gene and application thereof for making plants have herbicide resistance: CN107090447A. 2017-08-25
- [ 33 ] 张保龙,王金彦,凌溪铁,陈天子,邓惠清,吴魁. 使植物具有除草剂抗性的水稻 ALS 突变型蛋白及其应用: CN108004224A. 2018-05-08  
Zhang B L, Wang J Y, Ling X T, Chen T Z, Deng H Q, Wu K. Rice ALS mutant protein and application thereof for making plants have herbicide resistance: CN108004224A. 2018-05-08
- [ 34 ] 王芳权,杨杰,范方军,李文奇,王军,许扬,朱金燕,费云燕,仲维功. 水稻抗咪唑啉酮类除草剂基因 *ALS* 功能标记的开发与应用. 作物学报, 2018, 44 ( 3 ) : 324-331  
Wang F Q, Yang J, Fan F J, Li W Q, Wang J, Xu Y, Zhu J Y, Fei Y Y, Zhong W G. Development and application of the functional marker for imidazolinone herbicides resistant *ALS* gene in rice. *Acta Agronomica Sinica*, 2018, 44 ( 3 ) : 324-331
- [ 35 ] 毕俊国,谭金松,刘毅,张安宁,王飞名,刘国兰,余新桥,罗利军. 抗咪唑啉酮类除草剂水稻种质的筛选鉴定. 植物遗传资源学报, 2020, 21 ( 4 ) : 804-808  
Bi J G, Tan J S, Liu Y, Zhang A N, Wang F M, Liu G L, Yu X Q, Luo L J. Screening and identification of rice germplasm resistant to imidazolinone herbicide. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21 ( 4 ) : 804-808
- [ 36 ] Sun Y W, Zhang X, Wu C Y, He Y B, Ma Y Z, Hou H, Guo X P, Du W M, Zhao Y D, Xia L Q. Engineering herbicide resistant rice plants through CRISPR /Cas9-mediated homologous recombination of acetolactate synthase. *Molecular Plant*, 2016, 9 ( 4 ) : 628-631
- [ 37 ] Wang F Q, Xu Y, Li W Q, Chen Z H, Wang J, Fan F J, Tao Y J, Jiang Y J, Zhu Q H, Yang J. Creating a novel herbicide-tolerance *OsALS* allele using CRISPR/Cas9-mediated gene editing. *The Crop Journal*, 2021, 9 ( 2 ) : 305-312
- [ 38 ] 徐海英,何峰,初宇,陈磊,张冉. 一种来源于铜绿假单胞菌的抗 HPPD 抑制剂基因及其应用: CN105543245A. 2016-05-04  
Xu H Y, He F, Chu Y, Chen L, Zhang R. An HPPD-inhibiting gene derived from *Pseudomonas aeruginosa* and its application: CN105543245A. 2016-05-04
- [ 39 ] 徐海英,何峰,初宇,陈磊,张冉. 一种来源于恶臭假单胞菌的抗 HPPD 抑制剂基因及其应用: CN105567706A. 2016-05-11  
Xu H Y, He F, Chu Y, Chen L, Zhang R. An HPPD-inhibiting gene derived from *Pseudomonas putida* and its application: CN105567706A. 2016-05-11
- [ 40 ] 徐海英,何峰,初宇,陈磊,张冉. 一种抗 HPPD 抑制剂基因及其应用: CN105567707A. 2016-05-11  
Xu H Y, He F, Chu Y, Chen L, Zhang R. An HPPD-inhibiting gene and its application: CN105567707A. 2016-05-11
- [ 41 ] Yu Q, Ahmad-Hamdani M S, Han H, Christoffers M J, Powles



- S B. Herbicide resistance-endowing ACCase gene mutations in hexaploid wild oat (*Avena fatua*): insights into resistance evolution in a hexaploid species. *Heredity*, 2013, 110 (3): 220-231
- [42] Shergill L S, Malone J, Boutsalis P, Preston C, Gill G. Target-site point mutations conferring resistance to ACCase-inhibiting herbicides in smooth barley (*Hordeum glaucum*) and hare barley (*Hordeum leporinum*). *Weed Science*, 2015, 63 (2): 408-415
- [43] 宋贵生,冯德江,魏晓丽,唐家斌,朱桢. 水稻乙酰乳酸合成酶基因的克隆和功能分析. *中国农业科技导报*, 2007, 9 (3): 66-72
- Song G S, Feng D J, Wei X L, Tang J B, Zhu Z. Isolation and functional analysis of rice acetolactate-synthase (ALS). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2007, 9 (3): 66-72
- [44] Han H P, Yu Q, Purba E, Li M, Walsh M, Friesen S, Powles S B. A novel amino acid substitution Ala-22-Tyr in ALS confers high-level and broad resistance across ALS-inhibiting herbicides. *Pest Management Science*, 2012, 68: 1164-1170
- [45] Powles S B, Yu Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61: 317-347
- [46] Liang Y, Minami H, Sato F. Isolation of herbicide-resistant 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase from cultured *Coptis japonica* cells. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2008, 72: 3059-3062
- [47] Hawkes T R, Langford M P, Viner R, Blain R E, Callaghan F M, Mackay E A, Hogg B V, Singh S, Dale R P. Characterization of 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenases, inhibition by herbicides and engineering for herbicide tolerance in crops. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2019, 156: 9-28
- [48] Maeda H, Murata K, Sakuma N, Takei S, Yamazaki A, Karim M R, Kawata M, Hirose S, Kawagishi-Kobayashi M, Taniguchi Y, Suzuki S, Sekino K, Ohshima M, Kato H, Yoshida H, Tozawa Y. A rice gene that confers broad-spectrum resistance to  $\beta$ -triketone herbicides. *Science*, 2019, 365 (6451): 393-396
- [49] 袁国徽,田志慧,李涛,钱振官,高萍,刘实兵,沈国辉. 直播稻田牛筋草对乙酰辅酶A羧化酶类除草剂抗性水平及其分子机制. *农药学报*, 2019, 21 (2): 151-157
- Yuan G H, Tian Z H, Li T, Qian Z G, Gao P, Liu S B, Shen G H. Resistance of *Eleusine indica* to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides in direct-seeded rice and its molecular mechanism. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2019, 21 (2): 151-157
- [50] Iwakami S, Kamidate Y, Yamaguchi T, Ishizaka M, Endo M, Suda H, Nagai K, Sunohara Y, Toki S, Uchino A, Tominaga T, Matsumoto H. CYP81A P450s are involved in concomitant cross-resistance to acetolactate synthase and acetyl-CoA carboxylase herbicides in *Echinochloa phyllopogon*. *New Phytologist*, 2019, 221: 2112-2122
- [51] 俞蕴馨,伏建国,李井干,徐海滨. 全球抗草甘膦杂草的发生概况与检疫思考. *植物检疫*, 2020, 34 (5): 21-27
- Yu Y X, Fu J G, Li J G, Xu H B. Global occurrence of glyphosate-resistant weeds and quarantine thoughts. *Plant Quarantine*, 2020, 34 (5): 21-27
- [52] Busconi M, Rossi D, Lorenzoni C, Baldi G, Fogher C. Spread of herbicide-resistant weedy rice (red rice, *Oryza sativa* L.) after 5 years of Clearfield rice cultivation in Italy. *Plant Biology*, 2012, 14: 751-759
- [53] 苏少泉. ACCase抑制除草剂及杂草对其抗性的发展与治理. *农药*, 2015, 54 (6): 391-393
- Su S Q. ACCase-inhibiting herbicides and development resistance, management of weeds. *Agrochemicals*, 2015, 54 (6): 391-393
- [54] 黄世霞,王庆亚,董立尧,娄远来. 乙酰辅酶A羧化酶抑制剂类除草剂与杂草的抗药性. *杂草科学*, 2003 (2): 1-5
- Huang S X, Wang Q Y, Dong L Y, Lou Y L. ACCase-inhibiting herbicides and weed resistance. *Weed Science*, 2003 (2): 1-5
- [55] 张怡,陈丽萍,徐笔奇,宋雯,姚晓明,高吉良,吴长兴. 浙江稻区千金子对氟氟草酯和噁唑酰草胺的抗药性及其分子机制研究. *农药学报*, 2020, 22 (3): 447-453
- Zhang Y, Chen L P, Xu B Q, Song W, Yao X M, Gao J L, Wu C X. Resistance of *Leptochloa chinensis* (L.) Nees to cyhalofop-butyl and metamifop in rice fields of Zhejiang province and involved molecular mechanism. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2020, 22 (3): 447-453
- [56] Burgos N R, Norsworthy J K, Scott R C, Smith K L. Red rice (*Oryza sativa*) status after 5 years of imidazolinone-resistant rice technology in Arkansas. *Weed Technology*, 2008, 22: 200-208
- [57] 陈涛,张善磊,赵凌,张亚东,朱镇,赵庆勇,周丽慧,姚妹,赵春芳,梁文化,王才林. ALS抑制剂类除草剂抗性水稻功能标记的开发与验证. *中国水稻科学*, 2018, 32 (2): 137-145
- Chen T, Zhang S L, Zhao L, Zhang Y D, Zhu Z, Zhao Q Y, Zhou L H, Yao S, Zhao C F, Liang W H, Wang C L. Development and verification of a functional marker associated with resistance to ALS inhibitor herbicide. *Chinese Journal of Rice Science*, 2018, 32 (2): 137-145
- [58] 刘亚光,魏超月,张正南,朱金文,吴绘鹏. 黑龙江省部分稻田萤蔺种群对吡嘧磺隆的抗药性分析. *南方农业学报*, 2019, 50 (3): 570-577
- Liu Y G, Wei C Y, Zhang Z N, Zhu J W, Wu H P. An analysis on the resistance of some *Scirpus juncooides* Roxb. populations in rice fields from Heilongjiang province to pyrazosulfuron-ethyl. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, 50 (3): 570-577
- [59] 王险峰,范志伟,胡荣娟,邹伟,全育存. 除草剂药害新进展与解决方法. *农药*, 2009, 48 (5): 384-388
- Wang X F, Fan Z W, Hu R J, Zou W, Tong Y C. Progress and solution of herbicide phytotoxicity. *Agrochemicals*, 2009, 48 (5): 384-388
- [60] 苏旺苍,孙兰兰,张强,吴仁海,王恒亮,鲁传涛,张永超. 甲咪唑烟酸在土壤中的残留对后茬小麦幼苗生长和光合作用的影响. *麦类作物学报*, 2013, 33 (6): 1226-1231
- Su W C, Sun L L, Zhang Q, Wu R H, Wang H L, Lu C T, Zhang Y C. Effects of imazapic residues on the growth and photosynthetic parameters of wheat seedlings as succeeding crop. *Journal of Triticeae Crops*, 2013, 33 (6): 1226-1231
- [61] 何波,王大伟,杨文超,陈琼,杨光富. 对羟基苯丙酮酸双加氧酶 (HPPD) 的结构及其吡唑类除草剂的最新研究进展. *有机化学*, 2017 (37): 2895-2904
- He B, Wang D W, Yang W C, Chen Q, Yang G F. Advances in research on 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD) structure and pyrazole-containing herbicides. *Chinese Journal of*

- Organic Chemistry, 2017( 37 ): 2895-2904
- [ 62 ] Fritze I M, Linden L, Freigang J, Auerbach G, Huber R, Steinbacher S. The crystal structures of *Zea mays* and *Arabidopsis* 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *Plant Physiology*, 2004, 134( 4 ): 1388-1400
- [ 63 ] Rey-Caballero J, Menéndez J, Osuna M D, Salas M, Torra J. Target-site and non-target-site resistance mechanisms to ALS inhibiting herbicides in *Papaver rhoeas*. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 2017, 138: 57-65
- [ 64 ] Mei Y, Si C, Liu M, Qiu L, Zheng M. Investigation of resistance levels and mechanisms to nicosulfuron conferred by non-target site mechanisms in large crabgrass (*Digitaria sanguinalis* L.) from China. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 2017, 141: 84-89
- [ 65 ] Oliveira M C, Gaines T A, Dayan F E, Patterson E L, Jhala A J, Knezevic S Z. Reversing resistance to tembotrione in an *Amaranthus tuberculatus* ( var. *rudis* ) population from Nebraska, USA with cytochrome P450 inhibitors. *Pest Management Science*, 2018, 74( 10 ): 2296-2305
- [ 66 ] Kawahigashi H, Hirose S, Ohkawa H, Ohkawa Y. Herbicide resistance of transgenic rice plants expressing human CYP1A1. *Biotechnology Advances*, 2007, 25: 75-84
- [ 67 ] Inui H, Shiota H, Ido Y, Inoue T, Hirose S, Kawahigashi H, Ohkawa Y, Ohkawa H. Herbicide metabolism and tolerance in the transgenic rice plants expressing human CYP2C9 and CYP2C19. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2001, 71( 3 ): 156-169
- [ 68 ] 刘明宏. 耐二种除草剂转基因水稻研究. 杭州: 浙江大学, 2012
- Liu M H. Development of transgenic rice tolerant to two herbicides. Hangzhou: Zhejiang University, 2012
- [ 69 ] 郑挺, 沈志成. 一种抗除草剂基因及其应用: CN110106183A. 2019-08-09
- Zheng T, Shen Z C. A herbicide-resistant gene and its application: CN110106183A. 2019-08-09
- [ 70 ] Nelson D R, Schuler M A, Paquette S M, Werck-Reichhart D, Bak S. Comparative genomics of rice and Arabidopsis. Analysis of 727 cytochrome P450 genes and pseudogenes from a monocot and a dicot. *Plant Physiology*, 2004, 135( 2 ): 756-772
- [ 71 ] Saika H, Horita J, Taguchi-Shiobara F, Nonaka S, Nishizawa-Yokoi A, Iwakami S, Hori K, Matsumoto T, Tanaka T, Itoh T, Yano M, Kaku K, Shimizu T, Toki S. A novel rice cytochrome P450 gene, *CYP72A31*, confers tolerance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in rice and *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2014, 166: 1232-1240