

我国长江中下游稻区稗草对二氯喹啉酸的抗药性研究

马国兰^{1,2} 柏连阳^{1,4,*} 刘都才² 刘雪源² 余柳青^{3,*}

(¹湖南农业大学 生物安全科学技术学院, 湖南 长沙 410125; ²湖南省植物保护研究所, 湖南 长沙 410125; ³中国水稻研究所, 浙江 杭州 310006; ⁴湖南人文科技学院, 湖南 娄底 417000; * 通讯联系人, E-mail: bailianyang2005@yahoo.com.cn)

Resistance of *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. to Quinclorac in the Rice Growing region of the Middle and Lower Reaches of Yangtze River in China

MA Guo-lan^{1,2}, BAI Lian-yang^{1,4,*}, LIU Du-cai², LIU Xue-yuan², YU Liu-qing^{3,*}

(¹College of Biosafety Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410125, China; ²Hunan Plant Protection Research Institute, Changsha 410125, China; ³China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; ⁴Hunan University of Humanities, Science and Technology, Loudi 417000, China; * Corresponding author, E-mail: bailianyang2005@yahoo.com.cn)

MA Guolan, BAI Lianyang, LIU Ducai, et al. Resistance of *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. to quinclorac in the rice growing region of the middle and lower reaches of Yangtze River in China. Chin J Rice Sci, 2013, 27(2): 184-190.

Abstract: The resistance of *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. to quinclorac was determined by using pot planting method with 42 biotypes collected from the rice growing regions in the middle and lower reaches of the Yangtze River in China from 2008 to 2011. The results showed that higher resistance levels were observed in two biotypes of *E. crusgalli* from Yiyang County (R1) and Wangcheng County (R2), Hunan Province with the resistance indexes (RI) of 21.84- and 32.31-fold, respectively. Other biotypes of *E. crusgalli* from Hunan, Jiangsu and Zhejiang Province have developed lower level resistance (1.12–7.32-fold). The 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase (ACS) activity in the two resistance biotypes of *E. crusgalli* (R1 and R2) declined significantly one day after quinclorac treatment, with the RIs of 0.49- and 0.56-fold compared with the contemporary control. Then the activity increased slightly two days after treatment and remained to be lower than the control; however the activity decreased slowly to 0.34- and 0.35-fold relative to the control at four days after treatment. The β -cyanoalanine (β -CAS) activity in R1 and R2 of *E. crusgalli* increased significantly after treated with quinclorac; the maximum were observed five days after treatment, being 1.80- and 2.05-fold, as high as the control, respectively.

Key words: *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.; quinclorac; resistance; mechanism

马国兰, 柏连阳, 刘都才, 等. 我国长江中下游稻区稗草对二氯喹啉酸的抗药性研究. 中国水稻科学, 2013, 27(2): 184-190.

摘 要: 2008 至 2011 年, 采集了我国长江中下游稻区的 42 个稗草 [*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.] 生物型, 采用盆栽法测定了其对二氯喹啉酸的抗药性。结果表明, 湖南省益阳县(R1)和望城县(R2)的稗草生物型的抗性水平最高, 分别达到 21.84 倍和 32.31 倍; 浙江、江苏以及湖南省其他地区稗草生物型的抗性指数均在 1.12~7.32 倍, 抗性较弱。经二氯喹啉酸处理后 1 d, 上述两个抗性生物型稗草(R1、R2)的 1-氨基环丙烷-1-羧酸合成酶(ACS)活性明显下降, 为对照的 49% 和 56%; 2 d 后小幅回升, 并维持在对照之下, 然后继续下降, 处理 4 d 后下降至对照的 34% 和 35%。经二氯喹啉酸处理后, R1 和 R2 的 β -氰丙氨酸合成酶(β -CAS)活性上升; 处理 5 d 后达到最高值, 分别为对照的 1.80 倍和 2.05 倍。

关键词: 稗草; 二氯喹啉酸; 抗药性; 机理

中图分类号: S451.21; S482.4; S511.05.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2013)02-0184-07

稗草 [*Echinochloa. crusgalli* (L.) Beauv.] 是 二氯喹啉酸是水稻田经济、有效、安全防除稗草的除草剂品种之一, 尤其对高龄稗草有特效^[1]。但随着全球分布最广、对水稻产量影响最大的恶性杂草。

收稿日期: 2012-08-01; 修改稿收到日期: 2012-09-26。

基金项目: 国家水稻产业技术体系资助项目 (CARS-01); 国家自然科学基金资助项目 (31201530); 国家公益性行业科研专项 (201303031)。

使用年限的增加,全球多地区发现稗草对二氯喹啉酸产生了抗药性。1992年,西班牙南部、美国 and 欧洲南部均发现了抗二氯喹啉酸的稗草^[2]。2001年,在南美洲最主要的水稻生产国巴西,二氯喹啉酸抗性杂草泛滥成灾,导致其对稗草已基本失效^[3]。我国从20世纪80年代开始引进二氯喹啉酸至今已连续广泛使用20余年。由于使用年限的增加以及人为过量施用等因素影响,近年来,湖南、浙江、江苏、安徽、上海、辽宁等地区的稻田稗草均已对二氯喹啉酸产生了不同程度的抗药性,且抗性程度日趋严重。部分稻区稗草对二氯喹啉酸的抗药性水平已达高抗水平,少部分地区的抗性指数更是高达718.48倍和695.84倍^[4-7]。

二氯喹啉酸对杂草的作用机理与其体内的1-氨基环丙烷-1-羧酸合成酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase, ACS)的活性、乙烯及氰化物的浓度密切相关^[8-11]。对靶标植物施用二氯喹啉酸后,二氯喹啉酸能快地被植物的芽、根、叶片及嫩枝吸收进入体内并同时向上、向下传导,诱导植株体内ACS的活性。在该酶的催化下,1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)被迅速氧化成乙烯,并产生一种副产物——氰化物,当氰化物快速累积到一定量时,便会使植株中毒死亡。研究表明,二氯喹啉酸对水稻具有高度选择性,一方面由于在水稻植株内,二氯喹啉酸并不能诱导ACS,使其活性升高,即靶标作用位点对于ACS不同的灵敏度造成了二氯喹啉酸在稗草和水稻之间的选择性;另一方面,水稻体内解毒酶 β -氰丙氨酸合成酶(β -cyanoalanine synthase, β -CAS)的活性很高,它能使有毒的氰化物迅速降解^[12-13]。

据Abdallah等^[14]报道,马唐(*Digitaria ischaemum*)对二氯喹啉酸的抗性机理包括两方面:一是由于植株的靶标作用位点ACS对二氯喹啉酸的刺激产生钝化,导致ACS活性下降,从而无法积累足够的氰化物使杂草中毒死亡;二是抗性马唐植株内解毒酶 β -CAS活性升高,由二氯喹啉酸代谢产生的氰化物被 β -CAS迅速降解而解毒,因而产生了抗性生物型马唐。

有鉴于此,笔者对从我国长江中下游地区水稻主产区的湖南、浙江、江苏的部分地区采集到的42个稗草生物型进行了抗药性水平测定,并分析了稗草经二氯喹啉酸处理后体内合成酶ACS对二氯喹啉酸的敏感性及其代谢酶 β -CAS活性的变化,探讨了

稗草对二氯喹啉酸的抗药性生化机理,以期为进一步开展稗草抗二氯喹啉酸的分子机理研究提供实验材料和理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 稗草生物型

供试的稗草分别于2008—2011年采自湖南洞庭湖稻区的沅江、安乡、湘阴等地,浙江的舟山、富阳、临安等地以及江苏的镇江、扬州、徐州等地(表1)。其中,抗药性稗草生物型采自多年使用二氯喹啉酸的稻田,稗草敏感生物型也于同期采自从未使用过二氯喹啉酸的坟场荒地。晒干后储存于冰箱(4 ± 1)℃中备用。

1.1.2 农药

50%二氯喹啉酸可湿性粉剂(WP)由浙江天一农化有限公司生产。

1.1.3 试剂

所用试剂包括二硫苏糖醇(DTT,上海博奥生物科技有限公司)、L-半胱氨酸、磷酸吡哆醛(PLP,上海恒远生物科技发展有限公司)、腺嘌呤(进口分装,杭州昊天生物技术有限公司)、S-腺苷蛋氨酸(SAM, Sigma公司)、考马斯亮蓝G250(进口分装,国药集团化学试剂有限公司)、牛血清蛋白(BAS,上海伯奥生物科技有限公司)等,其余均为常用国产分析纯试剂。

1.1.4 仪器

所用仪器包括3WPSH-500D型生测喷雾塔(农业部南京农业机械化研究所)、HPLC(Agilent 1200,安捷伦科技有限公司)、CR3i型多功能离心机(美国Thermo Fisher科技公司)、HZ-8811K恒温振荡器(金坛市普析科学仪器厂)、756PC型紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

1.2 抗性测定方法

用温室盆栽法测定。在直径为9cm的塑料钵内装入风干、过筛、混匀后的砂土,每盆播露白的稗草种子30粒,出苗后,每盆定苗20株。待稗草长至3~4叶期,用50%二氯喹啉酸(WP)配制的药液按0、3.75、37.5、375.0、3750和37500 g/hm²的剂量施药(有效成分),以450 L/hm²的施药液量进行茎叶喷雾,喷雾压力0.3 MPa。每处理设4次重复。于处理7 d后剪取地上部称重,计算各处理的抑制中浓度ED₅₀,使用DPS9.5软件处理所有数据。

表 1 稗草各生物型的采集地点及使用二氯喹啉酸的背景

Table 1. *E. crusgalli* (L.) Beauv collection sites and quinclorac application.

采样地点 Collection location	生物型 Biotype	采样时间 Collection time	采样位置 Site	用药年限 Application years
湖南省 Hunan Province				
长沙县春华镇 Chunhua Town, Changsha City	HN-1	2008	直播田 Direct seeding	4
望城县高塘岭 Gaotangling Town, Wangcheng City	HN-2	2009	抛秧田 Broadcasting	3
望城县雷锋镇 Leifeng Town, Wangcheng City	HN-3	2009	抛秧田 Broadcasting	3
望城县新康乡 Xinkang Town, Wangcheng City	HN-4	2009	直播田 Direct seeding	5
宁乡县双江口镇 Shuangjiangkou Town, Ningxiang County	HN-5	2009	抛秧田 Broadcasting	3
浏阳市永安镇 Yong'an Town, Louyang City	HN-6	2010	直播田 Direct seeding	3
湘阴县屈原农场 Qu yuan Farm, Xiangyin County	HN-7	2010	直播田 Direct seeding	2
湘阴县白泥湖镇 Bainihu Town, Xiangyin County	HN-8	2010	直播田 Direct seeding	3
湘阴县农业科学研究所 Xiangyin Institute of Agricultural Sciences	HN-9	2010	直播田 Direct seeding	4
汨罗市屈子祠镇 Quzici Town, Miluo City	HN-10	2010	直播田 Direct seeding	4
华容县三封寺镇 Sanfengsi Town, Huarong County	HN-11	2010	直播田 Direct seeding	4
华容县城关镇 Chengguan Town, Huarong County	HN-12	2010	直播田 Direct seeding	3
安乡县安障乡 Anzhang Town, Anxiang County	HN-13	2009	直播田 Direct seeding	5 ¹⁾
安乡县安福乡 Anfu Town, Anxiang County	HN-14	2009	直播田 Direct seeding	5 ¹⁾
安乡县安康乡 Ankang Town, Anxiang County	HN-15	2009	直播田 Direct seeding	5 ¹⁾
安乡县安德乡 Ande Town, Anxiang County	HN-16	2009	直播田 Direct seeding	5 ¹⁾
安乡县安昌乡 Anchang Town, Anxiang County	HN-17	2009	直播田 Direct seeding	5 ¹⁾
安乡县安生乡 Ansheng Town, Anxiang County	HN-18	2009	直播田 Direct seeding	5 ¹⁾
安乡县安全乡 Anquan Town, Anxiang County	HN-19	2009	直播田 Direct seeding	5 ¹⁾
安乡县陈家嘴镇 Chengji azui Town, Anxiang County	HN-20	2009	直播田 Direct seeding	5 ¹⁾
安乡县下渔口镇 Xiayukou Town, Anxiang County	HN-21	2009	直播田 Direct seeding	5 ¹⁾
常德市石门桥镇 Shimenqiao Town, Changde City	HN-22	2010	抛秧田 Broadcasting	3
汉寿县夹堤农场 Xiati Farm, Hanshou County	HN-23	2010	抛秧田 Broadcasting	5
汉寿县龙阳镇 Longyang Town, Hanshou County	HN-24	2010	抛秧田 Broadcasting	2
沅江市共华镇 Gonghua Town, Yuanjiang City	HN-25	2009	直播田 Direct seeding	8 ²⁾
沅江市草尾镇 Caowei Town, Yuanjiang City	HN-26	2009	直播田 Direct seeding	8 ²⁾
沅江市南大镇 Nanda Town, Yuanjiang City	HN-27	2009	直播田 Direct seeding	8 ²⁾
南县浪拔湖乡 Langbohu Town, Nanxian County	HN-28	2009	抛秧田 Broadcasting	8 ²⁾
桃江县桃花江镇 Taohuajiang Town, Taojiang County	HN-29	2009	移栽田 Transplanted	>3
益阳市芷湖口镇 Zhihukou Town, Yiyang City	HN-30	2010	直播田 Direct seeding	>5
祁东县白帝市镇 Baidishi Town, Qidong County	HN-31	2010	移栽田 Transplanted	4
隆回县六都寨镇 Ludouzhai Town, Longhui County	HN-32	2010	移栽田 Transplanted	2
隆回县六都寨镇 Ludouzhai Town, Longhui County	HN-33	2010	坟场荒地 Cemetery land	从未用药 Never application
浙江省 Zhejiang Province				
中国水稻研究所 China National Rice Research Institute	ZJ-1	2011	移栽田 Transplanted	4
舟山市菜园镇 Caiyuan Town, Zhoushan City	ZJ-2	2011	移栽田 Transplanted	>4
临安县板桥乡 Banqiao Town, Lin'an County	ZJ-3	2011	移栽田 Transplanted	3
绍兴市兰亭镇 Lanting Town, Shaoxing City	ZJ-4	2011	移栽田 Transplanted	2
江苏省 Jiangsu Province				
句容市后白镇 Houbai Town, Jurong City	JS-1	2011	移栽田 Transplanted	>3
江都市吴桥镇 Wuqiao Town, Jiangdu City	JS-2	2011	移栽田 Transplanted	>4
扬州农业科学研究所 Yangzhou Institute of Agricultural Sciences	JS-3	2011	移栽田 Transplanted	3
靖江市西来镇 Xilai Town, Jingjiang City	JS-4	2011	移栽田 Transplanted	4
徐州市新安镇 Xin'an Town, Xuzhou City	JS-5	2011	移栽田 Transplanted	4

¹⁾ 近 3 年用五氟磺草胺代替; ²⁾ 近 4 年用五氟磺草胺代替。
¹⁾ Substituted by penoxsuum in recent three years; ²⁾ Substituted by penoxsuum in recent four years.

抗性指数(RI)=抗药性生物型 ED₅₀/敏感型生物型 ED₅₀

1.3 抗药性机理

1.3.1 1-氨基环丙烷-1-羧酸合成酶(ACS)活力测定

1.3.1.1 稗草苗的培养及药剂处理

根据抗性测定的结果,分别选取湖南益阳芷湖口镇和长沙市望城县采集的稗草为抗药性生物型 R1、R2,采自隆回六都寨镇的稗草为敏感生物型

(S)。按 1.2 的方法培养,待稗草苗生长至 3~4 叶时,用 50%二氯喹啉酸 WP 的田间用量 375.0 g/hm²,于定量喷雾塔上进行茎叶喷雾,设清水对照。

1.3.1.2 ACS 的提取

提取方法参考 Tsai 等^[15]和柯德森^[16],分别于处理后 1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d 和 7 d 剪取稗草地上茎叶部分 5 g,剪碎后置于预冷的研钵中,迅速加入液氮于冰浴中充分研磨后,再加入预冷后的 ACS 提取缓冲液提取。

1.3.1.3 ACS 活性测定

利用 HPLC 对酶活性进行定量分析^[17-18]。
蛋白质浓度测定及酶活性分析：以考马斯亮蓝法测定蛋白质浓度。根据酶的比活力计算公式：ACS 比活力=反应生成的腺嘌呤质量浓度/(反应时间×腺嘌呤分子量×ACS 蛋白浓度/2)。其中，腺嘌呤质量浓度以 ng/mL 计，反应时间以小时计，腺嘌呤分子量为 135.1 g/mol，蛋白质浓度以 mg/mL 计。从而可以计算得到 ACS 比活力，试验重复间取平均值。

1.3.2 β-氰丙氨酸合成酶(β-CAS)活性测定

1.3.2.1 酶液的提取

于施药处理后 1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 d 取样。参照 Abdallah^[14]的方法提取。

1.3.2.2 β-CAS 活性的测定

参照 Abdallah^[14]的方法进行测定。

1.3.2.3 [S²⁻]-OD₆₅₀ 标准曲线的制作

取试管分别加入 1.0 mL 不同浓度的 Na₂S 标准溶液，再加入按上述方法配制的显色液 1.0 mL 和 1.0 mL 蒸馏水，混匀后塞上橡皮塞密封后将试管置于 30℃ 恒温水浴中反应 30 min，再测定反应液的 OD₆₅₀ 值，用蒸馏水作为对照。计算出 [S²⁻]-OD₆₅₀ 标准曲线。

1.3.2.4 酶活性的计算

根据所测得的 OD₆₅₀ 值及制作的 [S²⁻]-OD₆₅₀ 标准曲线即可算出反应后 S²⁻ 的量，从而可以计算出 β-氰丙氨酸合成酶活力，可表示为 nmol/(g·min)。

2 结果与分析

2.1 稗草对二氯喹啉酸的抗药性

试验结果表明(表 2)，HN-30(湖南益阳芷湖口镇，R1) 和 HN-4(望城县，R2) 的 2 个稗草生物型对二氯喹啉酸产生了较高水平的抗药性，抗性指数高达 21.84 倍和 32.31 倍。其 ED₅₀ 分别为 1651.4857 和 2443.4517 g/hm²。浙江、江苏省稗草对二氯喹啉酸的抗性较弱，抗性指数均在 1.30~7.32 倍。因此，确定 HN-30 和 HN-4 两稗草生物型为抗性生物型(R)。其他采集点的稗草对二氯喹啉酸的抗药性指数在 1.10~7.32 倍，对二氯喹啉酸的抗药性较弱。HN-33(隆回县六都寨镇)稗草生物型采自从未使用过二氯喹啉酸的非耕地，对二氯喹啉酸的相对抗性值最低，因此，确定该稗草生物型为敏

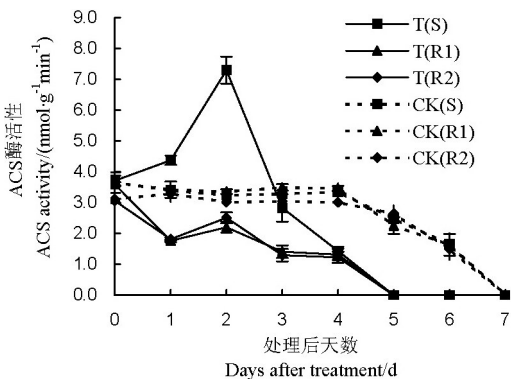
感(S)生物型。

2.2 二氯喹啉酸对不同生物型稗草 ACS 活性的影响

二氯喹啉酸处理 1 d 后，两种抗性生物型稗草的 ACS 活性明显下降，相对酶活性为同期对照的 49% 和 56%；2 d 后 ACS 活性小幅回升，但仍然维持在对照水平之下，分别为对照的 84% 和 61%。3 d 后 ACS 活性继续下降，4 d 后下降至对照的 34% 和 35%。而处理后 5 d、6 d 和 7 d 的稗草样品中检测不到腺嘌呤的存在，ACS 活性为 0。在敏感生物型稗草中，处理后 1 d ACS 活性明显升高，2 d 后达到最高值，为对照的 1.96 倍；但随后开始回落，3 d 后为对照的 76%，处理后的前 3 d 敏感生物型稗草 ACS 活性一直明显高于两种抗性生物型稗草(图 1)。

2.3 二氯喹啉酸对不同生物型稗草 β-CAS 活性的影响

二氯喹啉酸处理后，两种抗性生物型稗草的 β-CAS 活性明显升高，5 d 后 β-CAS 活性达最高值，分别为同期对照的 1.80 倍和 2.05 倍；随后开始下降，9 d 后下降至对照水平。而敏感生物型稗草的 β-CAS 活力先呈小幅下降，5 d 后降到最低，为同期对照的 74%，之后开始上升，6 d 后趋于平稳并一直维持在对照水平(图 2)。处理后 8 d 内两种抗性生物型稗草的 β-CAS 活力一直高于敏感生物型。



T(S)－二氯喹啉酸处理敏感生物型；T(R1)－二氯喹啉酸处理抗性生物型 R1；T(R2)－二氯喹啉酸处理抗性生物型 R2。
T(S)，Susceptible biotype treated with quinclorae；T(R1)，Resistant biotype R1 treated with quinclorae；T(R2)，Resistant biotype R2 treated with quinclorae。
图 1 二氯喹啉酸对稗草不同生物型 ACS 活性的影响
Fig. 1. Effect of quinclorae treatment on ACS activity in different biotypes of *E. crusgalli*(L.) Beauv.

表 2 不同稗草生物型对二氯喹啉酸的抗性水平

Table 2. Resistance level of different biotypes of *E. crusgalli* (L.) Beauv to quinclorac.

生物型	毒力回归方程	<i>b</i> 值的标准误	ED ₅₀	抗性指数
Biotype	Toxic regression equation	Standard error of <i>b</i>	/(g·hm ⁻²)	Resistance index(RI)
湖南省 Hunan Province				
HN-1	<i>y</i> =2.9881+0.8768 <i>x</i>	0.0888	197.0949	2.61
HN-2	<i>y</i> =2.9541-0.9921 <i>x</i>	0.1107	115.4096	1.53
HN-3	<i>y</i> =2.9633+0.9843 <i>x</i>	0.1042	117.2755	1.55
HN-4	<i>y</i> =3.0603+0.5727 <i>x</i>	0.0526	2443.4517	32.31
HN-5	<i>y</i> =3.1631+0.7909 <i>x</i>	0.0756	210.1910	2.78
HN-6	<i>y</i> =2.9675+0.9950 <i>x</i>	0.0878	110.3613	1.46
HN-7	<i>y</i> =3.3032+0.8729 <i>x</i>	0.0568	87.8667	1.16
HN-8	<i>y</i> =3.2507+0.9083 <i>x</i>	0.1395	84.3257	1.12
HN-9	<i>y</i> =2.8093-1.0218 <i>x</i>	0.1131	139.3121	1.84
HN-10	<i>y</i> =0.8404+3.0908 <i>x</i>	0.0700	187.0010	2.47
HN-11	<i>y</i> =0.6680-0.9911 <i>x</i>	0.1150	174.5337	2.31
HN-12	<i>y</i> =2.9054+0.9588 <i>x</i>	0.1266	152.9817	2.02
HN-13	<i>y</i> =2.5989-1.1040 <i>x</i>	0.1052	149.5598	1.98
HN-14	<i>y</i> =2.8977+0.9791 <i>x</i>	0.0726	140.3317	1.86
HN-15	<i>y</i> =2.7196+1.0283 <i>x</i>	0.1177	165.0990	2.18
HN-16	<i>y</i> =2.8428-0.9988 <i>x</i>	0.0979	144.5232	1.91
HN-17	<i>y</i> =3.0181+0.9026 <i>x</i>	0.0718	156.9341	2.07
HN-18	<i>y</i> =2.7966-1.0282 <i>x</i>	0.0971	139.0709	1.81
HN-19	<i>y</i> =3.2534-0.7371 <i>x</i>	0.0535	234.2242	3.10
HN-20	<i>y</i> =3.2152+0.7519 <i>x</i>	0.0813	236.4515	3.13
HN-21	<i>y</i> =3.3903+0.6207 <i>x</i>	0.0680	392.1505	5.19
HN-22	<i>y</i> =1.0579-0.8591 <i>x</i>	0.0738	109.2396	1.51
HN-23	<i>y</i> =3.1049+0.8475 <i>x</i>	0.0865	172.2548	2.28
HN-24	<i>y</i> =3.4160+0.7529 <i>x</i>	0.0867	127.0148	1.68
HN-25	<i>y</i> =2.9043+0.9596 <i>x</i>	0.1034	152.6910	2.02
HN-26	<i>y</i> =3.4129+0.7282 <i>x</i>	0.0673	151.1647	2.00
HN-27	<i>y</i> =3.1382+0.8316 <i>x</i>	0.0455	173.2951	2.29
HN-28	<i>y</i> =3.4254+0.7953 <i>x</i>	0.0586	95.4839	1.26
HN-29	<i>y</i> =2.9512+1.0053 <i>x</i>	0.1125	109.1232	1.44
HN-30	<i>y</i> =3.3720+0.5059 <i>x</i>	0.0321	1651.4857	21.84
HN-31	<i>y</i> =2.6658-0.9619 <i>x</i>	0.0900	267.0389	3.53
HN-32	<i>y</i> =3.2455+0.7658 <i>x</i>	0.0556	195.5422	2.59
HN-33	<i>y</i> =3.3282+0.8899 <i>x</i>	0.0872	75.6313	1.00
浙江省 Zhejiang Province				
ZJ-1	<i>y</i> =3.4232+0.7282 <i>x</i>	0.0750	146.3323	1.93
ZJ-2	<i>y</i> =3.0932+0.6951 <i>x</i>	0.0764	553.3633	7.32
ZJ-3	<i>y</i> =3.1399+0.9327 <i>x</i>	0.1044	98.6874	1.30
ZJ-4	<i>y</i> =3.5123+0.7051 <i>x</i>	0.0868	128.7933	1.71
江苏省 Jiangsu Province				
JS-1	<i>y</i> =3.1972+0.7633 <i>x</i>	0.0781	230.0416	3.04
JS-2	<i>y</i> =3.1790+0.8607 <i>x</i>	0.1055	130.5240	1.73
JS-3	<i>y</i> =2.9847+0.9314 <i>x</i>	0.1075	145.8064	1.92
JS-4	<i>y</i> =3.5262+0.9820 <i>x</i>	0.0822	97.8194	1.29
JS-5	<i>y</i> =3.5615+0.7169 <i>x</i>	0.0846	101.5010	1.34

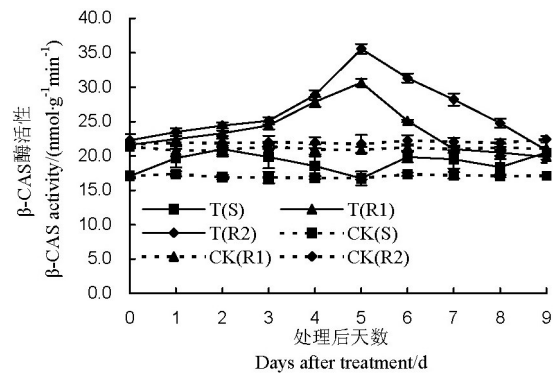
ED₅₀ 值为除草剂鲜重防效 50% 的剂量；RI= 抗药性生物型的 ED₅₀/敏感型生物型的 ED₅₀。

ED₅₀, Effective concentration of herbicide causing 50% inhibition to fresh weight. RI= ED₅₀ of resistant biotype/ ED₅₀ of susceptible biotype.

3 讨论

自 20 世纪 80 年代以来,二氯喹啉酸因对稗草防效好,尤其对高龄稗草有特效,在全国水稻主产区的应用面积很大。然而,21 世纪初许多水稻主产区的农户反映,使用二氯喹啉酸后稗草不会死亡,增加

使用剂量也很难奏效,说明稗草已经对二氯喹啉酸产生了抗药性。本研究发现在我国长江中下游的湖南洞庭湖稻区益阳芷湖口镇和望城县的稗草生物型对二氯喹啉酸的抗性水平最高,它们的相对抗性指数分别达到 20.52 倍和 32.43 倍;而湖南省其他稻区以及浙江、江苏的稗草生物型的抗性指数在1.10



T(S)－二氯喹啉酸处理敏感生物型；T(R1)－二氯喹啉酸处理抗性生物型 R1；T(R2)－二氯喹啉酸处理抗性生物型 R2。

T(S), Susceptible biotype treated with quinclorac; T(R1), Resistant biotype R1 treated with quinclorac; T(R2), Resistant biotype R2 treated with quinclorac.

图 2 二氯喹啉酸对稗草不同生物型 β -CAS 活性的影响
Fig. 2. Effect of quinclorac treatment on β -CAS activity in different biotypes of *E. crus-galli*(L.) Beauv.

~7.32 倍，抗药性较弱。这一研究结果为当地农技员和农民选择合适的除草剂防治稻田稗草及其群落提供了依据。

在本研究结果中,2009 年采自湖南安乡的 9 个稗草生物型(HN13~HN21)的抗性指数在 1.81~5.19 倍。其抗药性程度与李拥兵^[4]、吴声敢^[5]报道的研究结果存在很大差异。其可能的原因有:1)供试稗草生物型的来源不同,不同农户的用药品种及用药水平存在一定的差异;2)不同作用机理、不同作用靶标除草剂的轮换使用导致了二氯喹啉酸对稗草的抗药性逐渐降低。湖南安乡为双季稻区,也是湖南省直播稻的发源地,常年种植水稻,每年使用除草剂至少 2 次。自 1991 年起,二氯喹啉酸在该地区大面积推广使用,至 2002 年,据当地农户反映,二氯喹啉酸对稗草的防效急剧下降,翻倍增加使用剂量也很难奏效。所以二氯喹啉酸逐渐被美国陶氏益农的五氟磺草胺所替代。近 5 年内该地区农户使用五氟磺草胺来防除稻田稗草。是否是由于不同作用靶标除草剂的轮换使用导致了二氯喹啉酸对稗草的敏感性又升高了,具体原因还有待于进一步研究验证。

在本研究中,抗性生物型稗草在二氯喹啉酸使用后,ACS 活性明显下降,处理后 2 d 虽有小幅回升,但始终维持在同期对照水平之下。 β -CAS 活性明显升高,处理后的 9 d 内一直保持在敏感生物型的水平之上。ACS 是高等植物乙烯合成途径中的

限速酶^[20],ACS 基因的表达受不同外界环境(如机械损伤、冷害、高温、化学毒害等)和生长时期信号控制。二氯喹啉酸进入敏感生物型稗草体内,诱导 ACS 活性增强,产生的代谢产物氰化物能使稗草植株中毒死亡^[11]。而 β -CAS 是植物体内自行降解氰化物的关键性的解毒酶, β -CAS 的活性越高,氰化物代谢越快。据 Abdallah 等^[14]报道,抗性生物型马唐用二氯喹啉酸处理后 2 d,抗性生物型马唐 ACS 活性比敏感生物型低,而解毒酶 β -CAS 活性比敏感生物型高 4 倍多。本研究结果显示,稗草抗药性生物型的产生与其体内的合成酶 ACS 及解毒酶 β -CAS 活性变化紧密相关。抗性生物型稗草用二氯喹啉酸处理后,体内 ACS 活性不仅没有被诱导,酶活性反而降低,虽然处理后 2 d 稍有回升,但始终低于同期对照。这可能是稗草对二氯喹啉酸产生抗性的主要生理机制之一。经二氯喹啉酸处理后,抗性生物型稗草体内解毒酶 β -CAS 被诱导,酶活性显著提高,在施用二氯喹啉酸后 9 d 内均维持较高的活性,从而导致稗草体内因二氯喹啉酸作用而产生的氰化物被 β -CAS 降解而解毒,稗草不致死亡。这对于抗性稗草生物型的产生也起到了重要作用。处理后 6 d β -CAS 活性又开始缓慢下降,到 10 d 下降至对照水平。这可能是由于二氯喹啉酸在稗草体内作用一段时间后,酶基因的表达量又恢复正常。因此,从现有结果看,1-氨基环丙烷-1-羧酸合成酶(ACS)和解毒酶 β -氰丙氨酸合成酶(β -CAS)与稗草对二氯喹啉酸的抗性密切相关,但究竟哪一种是导致稗草对二氯喹啉酸产生抗药性的主要机制,还需进一步从分子机理方面进行研究。

参考文献:

[1] Yukari S, Hiroshi M. Oxidative injury induced by the herbicide quinclorac on *Echinochloa crus-galli* Vasing and the involvement of antioxidative ability in its highly selective action in grass species. *Plant Sci*, 2004,167:597-606.
[2] Nuria L M, George M,Rafael D P. Resistance of barnyardgrass(*Echinochloa crus-galli*)to atrazine and quinclorac. *Pestic Sci*, 1997, 51:171-175.
[3] Ronald E T, Nilda R B. History and management of herbicide-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in arkansas rice. *Weed Technol*, 2007, 21:423-431.
[4] 李拥兵,王小玲,夏阳,等. 湖南稻区稗草对二氯喹啉酸的抗药性研究. *植物保护*,2004,3(30):48-52.
[5] 吴声敢,王强,赵学平,等. 浙江省稻田稗草对二氯喹啉酸的抗药性. *农药*,2006,12(45): 859-861.

- [6] 陆保理, 张建新, 王玉香, 等. 直播稻田稗草对二氯喹啉酸抗性研究. *杂草科学*, 2008(4): 31-32.
- [7] 李拥兵, 黄华枝, 黄炳球, 等. 我国中部和南方稻区稗草对二氯喹啉酸的抗药性研究. *华南农业大学学报*, 2002, 23(2): 33-36.
- [8] Nuria L M, Richard H S, Rafael D P. Effect of quinclorac on auxin-induced growth, transmembrane proton gradient and ethylene biosynthesis in *Echinochloa* spp. *Plant Physiol*, 1998, 25: 851-857.
- [9] Klaus G, Jacck K. The mechanism of quinclorac selectivity in grasses. *Pestic Biochem Physiol*, 2000, 66(2): 83-91.
- [10] Lovelace M L, Talbert R E, Hoagland R E, et al. Quinclorac Absorption and Translocation Characteristics in quinclorac- and propanil-resistant and susceptible barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) biotypes. *Weed Technol*, 2007, 1(3): 683-687.
- [11] Grossmann K. Auxin herbicides: Current status of mechanism and mode of action. *Pest Manag Sci*, 2010, 66: 113-20.
- [12] Suk J K, Joseph C N, Joseph M D. Mechanism of action and selectivity of quinclorac in grass roots. *Pestic Biochem Physiol*, 1997, 57(1): 44-53.
- [13] Grossmann K, Florene S. Selective induction of 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic Acid (ACC) synthase activity is involved in the selectivity of the auxin herbicide quinclorac between barnyardgrass and rice. *Pestic Biochem Physiol*, 1997, 58(2): 145-153.
- [14] Abdallah A, Fischer A J, Elmore C L, et al. Mechanism of resistance to quinclorac in smooth crabgrass (*Digitaria ischaemum*). *Pestic Biochem Physiol*, 2006, 84: 38-48.
- [15] Tsai D S, Arteca R N, Bachman J M. Purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase from etiolated mung bean hypocotyls. *Arch Biochem Biophys*, 1988, 64(2): 632-640.
- [16] 柯德森, 孙谷畴. 超氧阴离子自由基对绿豆黄化幼苗 ACC 合酶的影响. *热带亚热带植物学报*, 2004, 12(6): 495-500.
- [17] 关永贺, 杨君, 包永明, 等. 高效液相色谱法检测大豆 1-氨基环丙烷-1-羧酸合成酶活性的研究. *分析化学*, 2005, 35(3): 355-359.
- [18] 关永贺. 大豆 ACC 合酶的活性与纯化研究. 大连: 大连理工大学, 2006.
- [19] 吴进, 许俊峰, 冯绪猛, 等. 稻田常用农药对水稻 3 个品种生理生化的影响. *中国农业科学*, 2003, 36(5): 536-541.
- [20] Khan N A. Activity of 1-aminocyclopropane carboxylic acid synthase in two mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars differing in photosynthetic capacity. *Photosynthetica*, 2004, 42(3): 477-480.