

我国杂草科学 发展现状与思考

——学科发展报告-杂草科学部分

樊龙江、吴建强、柏连阳、强胜
王金信、李美、张朝贤
2017年





杂草生物学、生态学研究是认知杂草的重要基础

杂草致灾机制、杂草抗药性机制、杂草防控方法研究是建立杂草防控技术体系的重要依据

杂草防控技术体系的建立是农业产业持续健康发展的重要保障



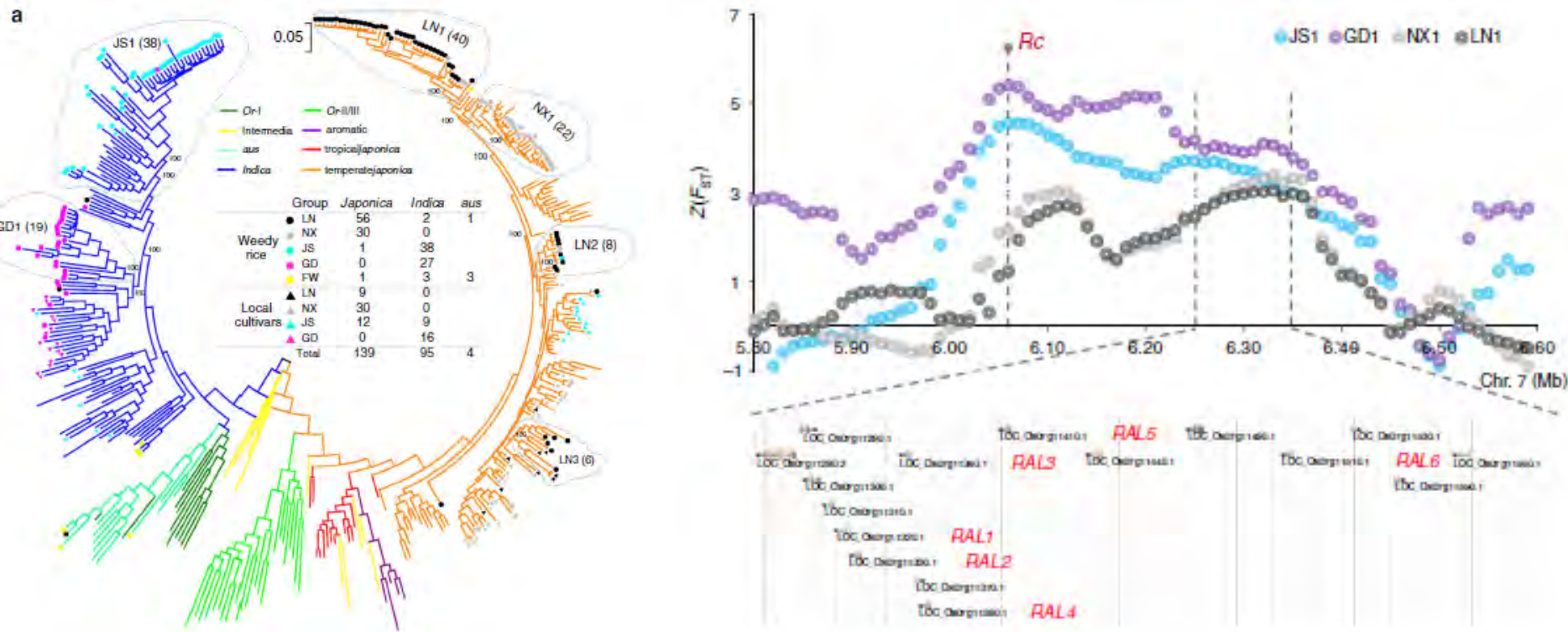
在“863”、国家自然科学基金、科技支撑计划、公益性行业（农业）科研专项等科技项目的支持下，2011年-2017年间，我国杂草科学在基础和应用基础研究、杂草防控技术研发等方面取得了重要进展。



中国农业科学院植物保护研究所杂草鼠害与草地植保研究室

Department of Weed Science Rodent Biology and Rangeland Protection, IPP, CAAS

杂草生物学和生态学



栽培水稻及其去驯化水稻(杂草稻)系统发生树(a)和重要趋同进化环境适应基因位点(b)

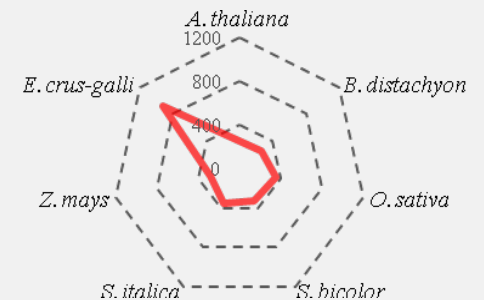
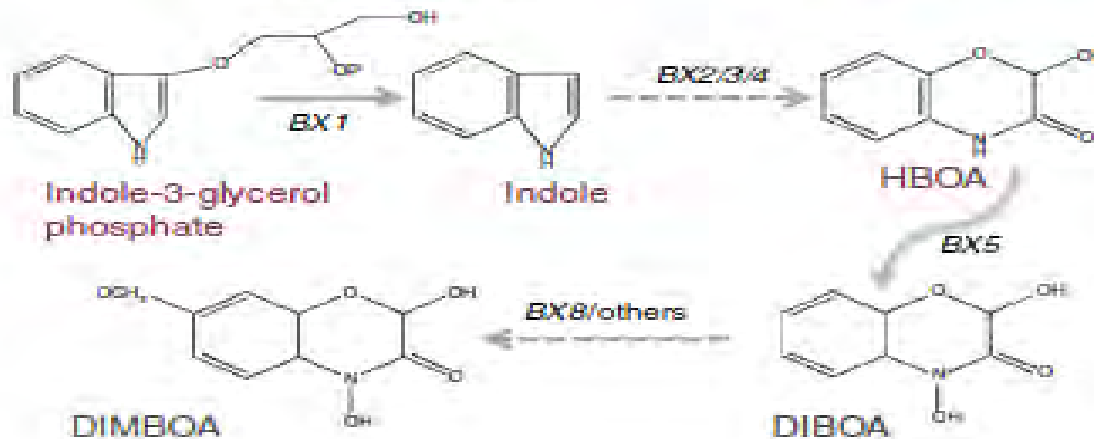
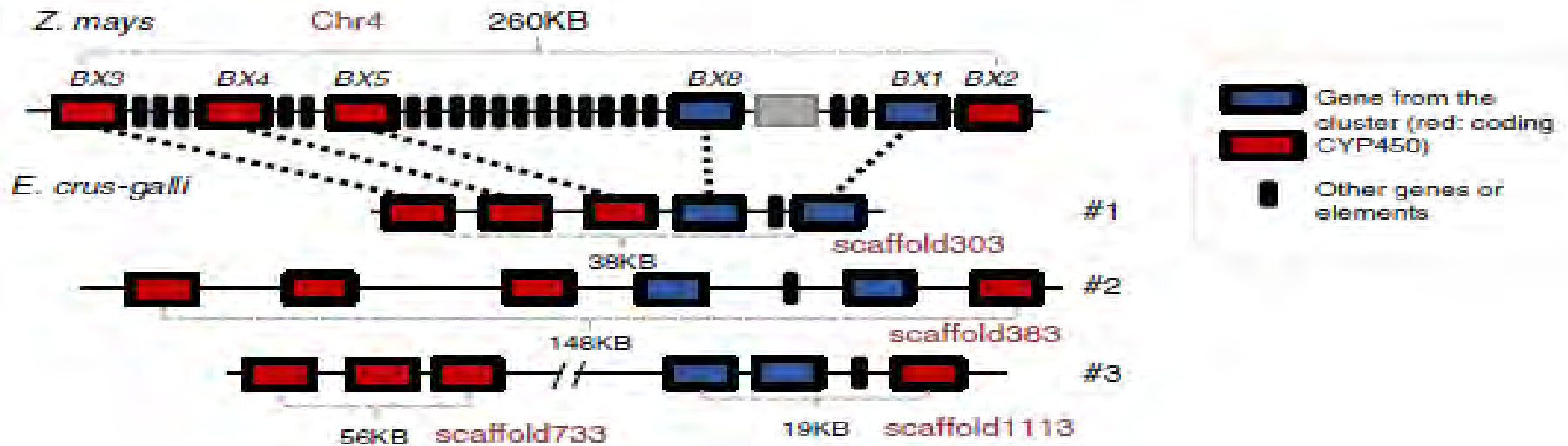
基因组重测序及其群体遗传学分析，揭示了水稻去驯化过程遗传变化、杂草稻起源及其环境适应的进化机制

Nature Communications, 2017



复旦大学卢宝荣团队和南京农业大学强胜团队发现栽培稻的基因渗入对杂草稻种群的遗传分化、杂草稻适应性进化起着重要作用。人类活动对杂草稻适应性突变和突变的积累起到了至关重要的作用。

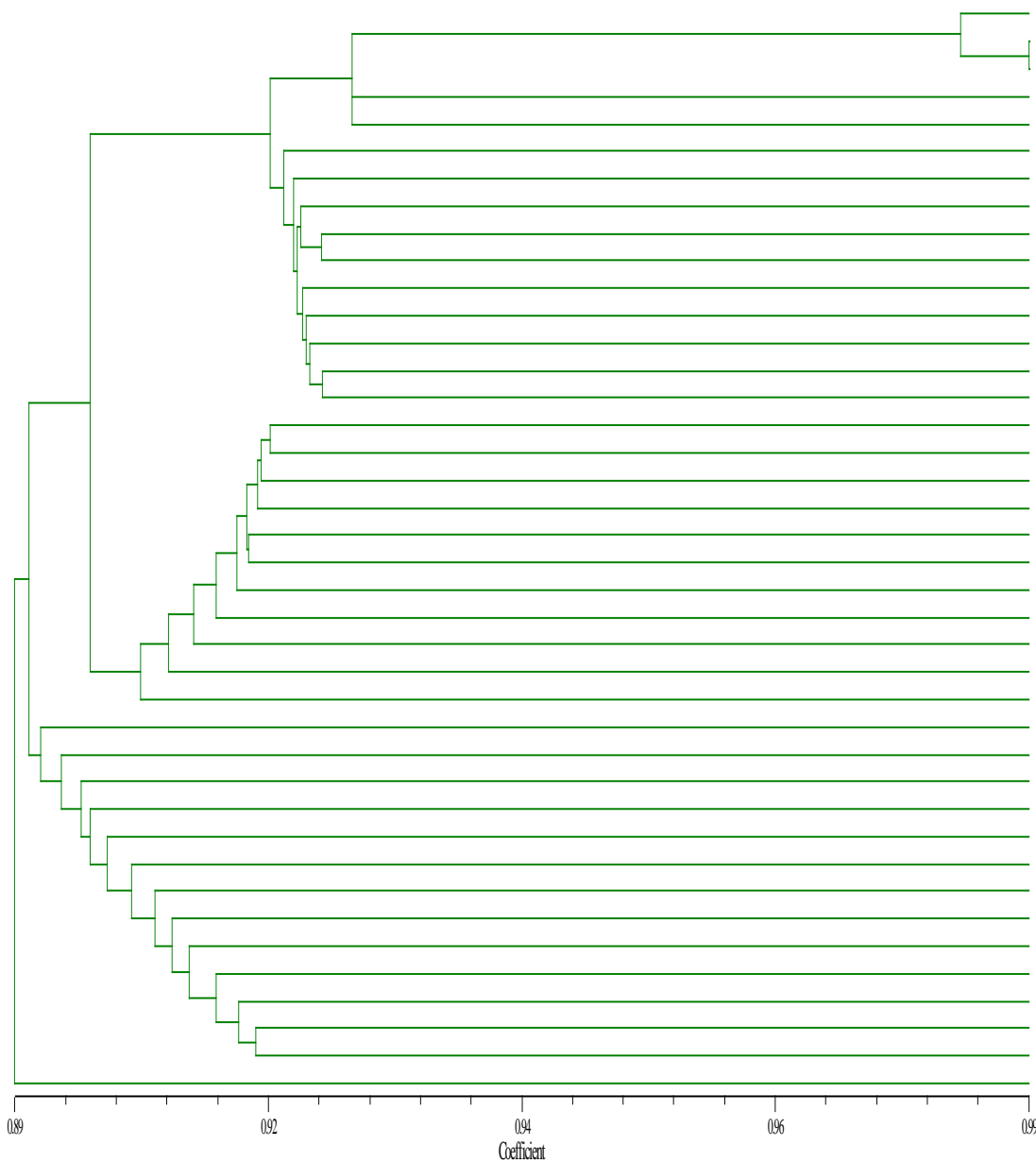
Xia et al., 2011; Jiang et al., 2012; Song et al., 2015; Li et al., 2015; Song et al., 2017



稗基因组上合成防御性次生代谢产物丁布的基因簇；
稗基因组上发现一个超级细胞色素CYP450基因家族（1000个成员）。
Nature Communications Guo *et al.*, 2017



遗传多样性
分析明确了
1份圆柱山
羊草与39份
节节麦间的
遗传差异；
陕西、山东
等6省节节
麦亲缘关系
虽然较近，
但存在一定
的遗传变异



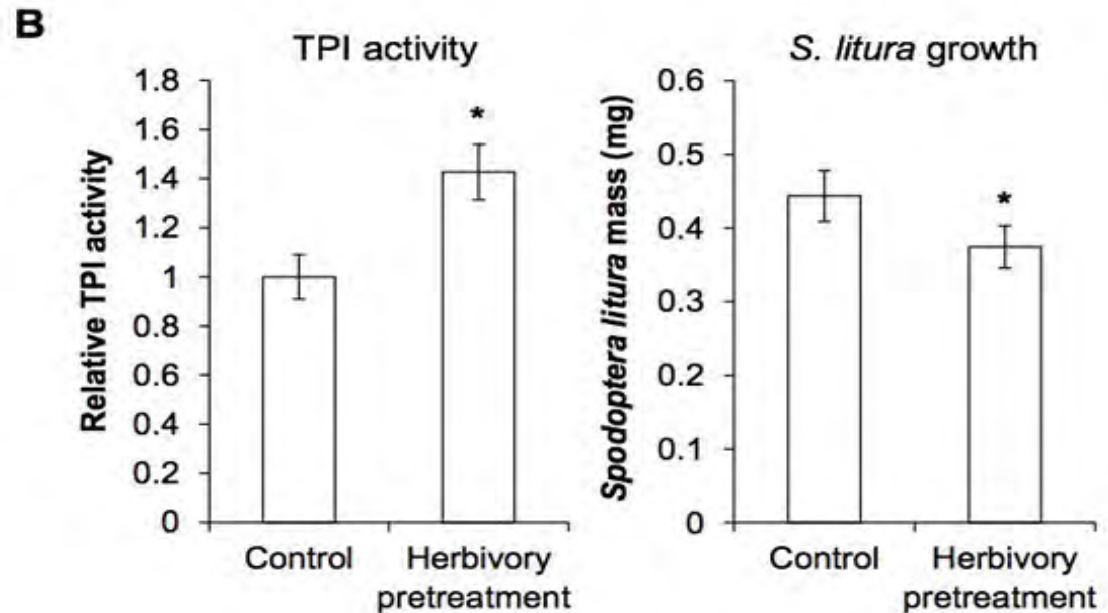
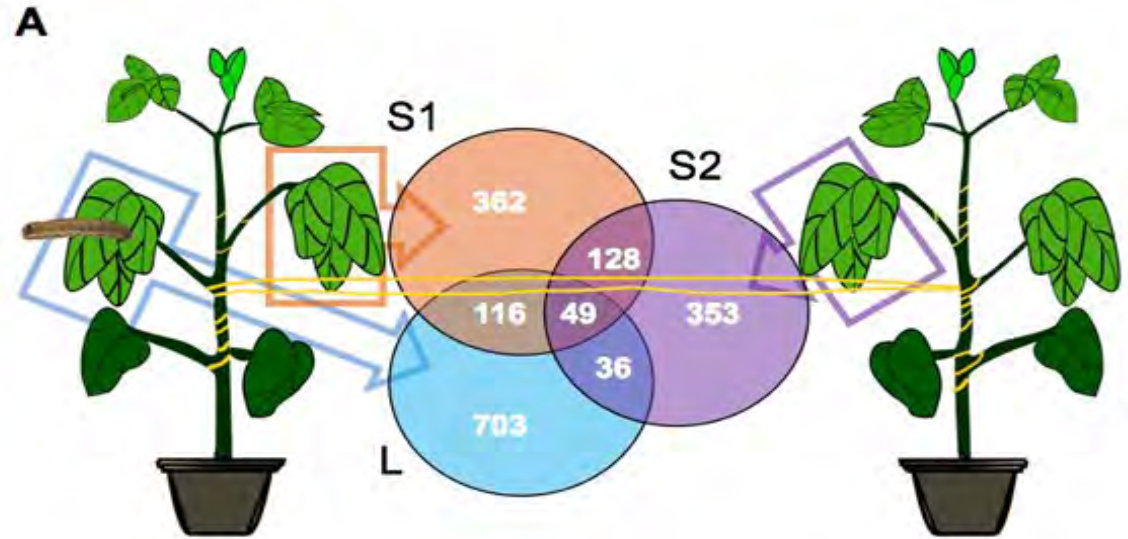
不同地区节节麦的聚类分析图

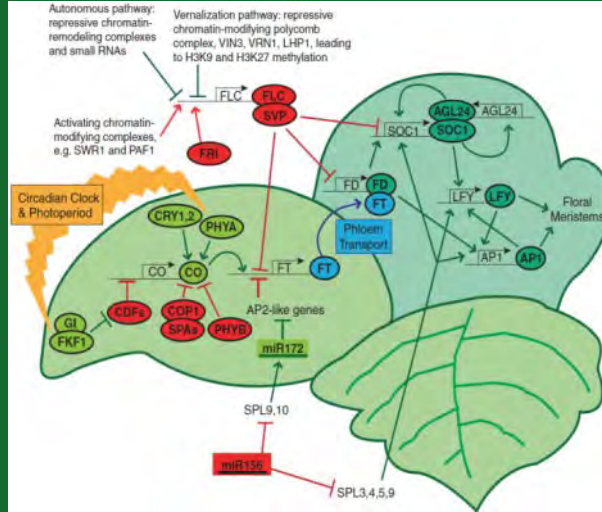
不同地区节节麦的聚类分析图



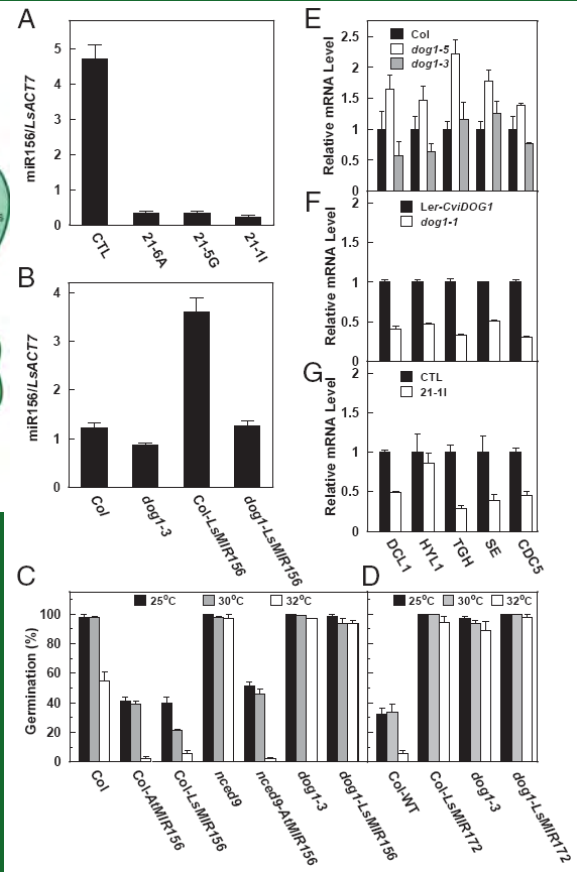
创新性地提出了“菟丝子及其连接的不同寄主形成微群落”概念，明确了在这种微群落中，菟丝子能在不同寄主植物间远距离、快速传递代谢物、蛋白及mRNA等物质信息。

PNAS
Hettenhausena *et al.*, 2017



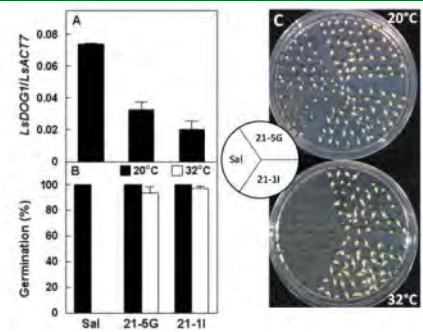


开花基因表达的显著变化不是由自主途径、GA途径或春化途径调控的结果，可能是由DOG1调控 miR156- SPL-miR172途径，从而实现提早开花和休眠萌发的双重调控作用。

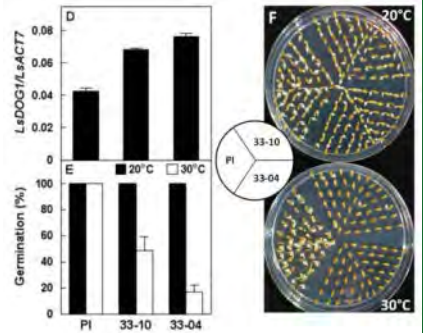


拟南芥

证实了DOG1基因主要通过影响microRNA的生成来调控植物生长周期中的关键相变（休眠↔萌发、营养生长↔生殖生长）。



DOG1基因沉默



DOG1基因超表达

揭示了种子休眠和开花对环境协同适应的分子遗传学机制。



农田杂草群落及其演替规律

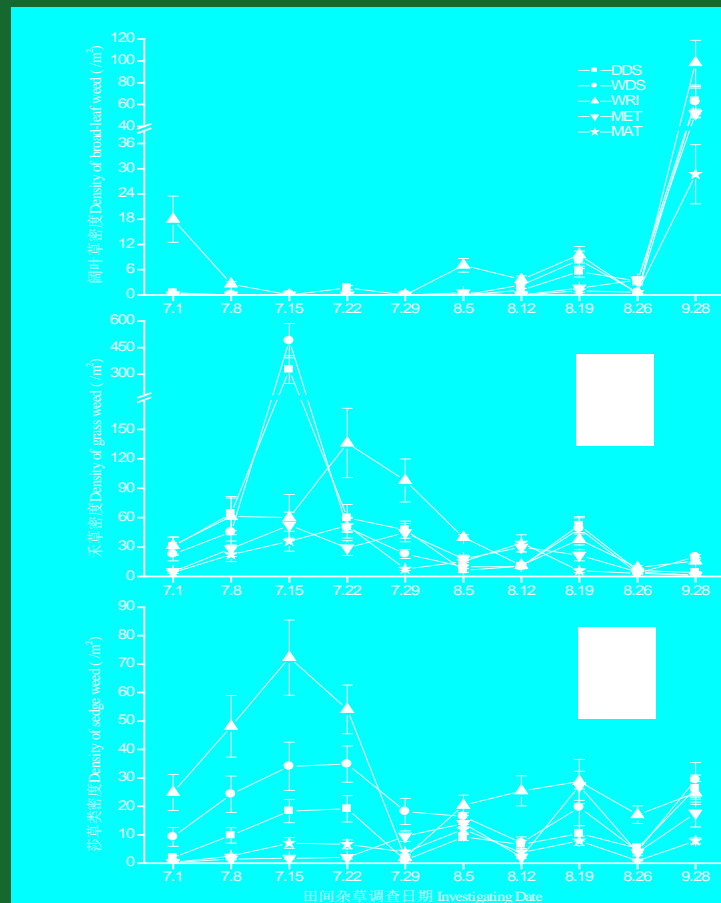
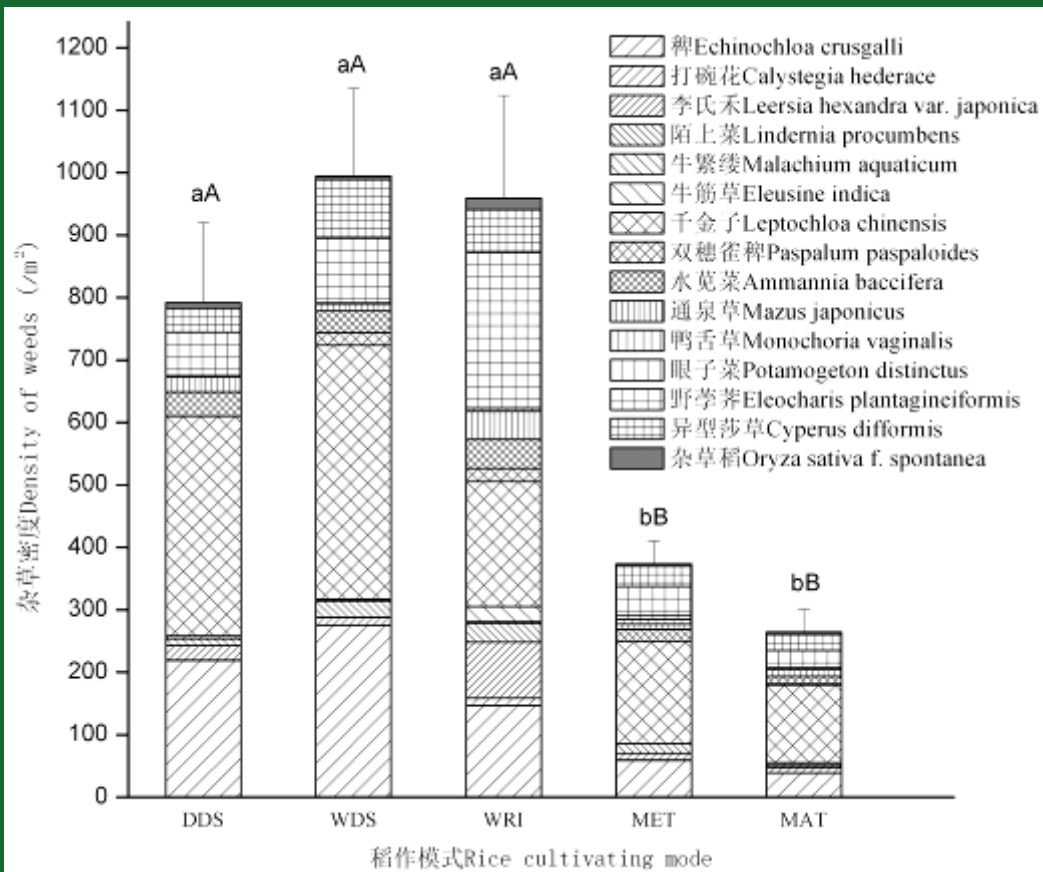
南京农业大学强胜团队揭示了等夏熟（麦、油）作物田、稻田杂草植被类型；明确了长江中下游地区农田杂草传播扩散的重要途径；

山东省农业科学院植物保护研究所李美团队及其他团队明确了黄淮海区域冬小麦田杂草由阔叶杂草为优势群落，逐渐演变为单、双子叶杂草混发群落，且混发群落的发生区域越来越大，危害程度逐年加重。



导致农田杂草群落结构发生了明显演替的原因

杂草群落构成、种类、分布、危害程度等与作物种类、品种、栽培特点、耕作方式、轮作制度、生产水平、用药种类和历史，以及外来杂草种子入侵、不同区域种子调拨、耕作收获机械跨区作业等密切相关。化学除草技术广泛应用、省工节本的轻型耕作栽培模式普遍实施、外来杂草入侵以及抗药性杂草形成等，均。



不同稻作模式间出草总量比较

不同稻作模式间不同杂草的发生动态



明确了农田杂草群落演替与成因

在长期化学除草剂使用后，杂草群落发生了明显的演替，耐药性和抗药性杂草逐渐形成优势群落



中国农业科学院植物保护研究所杂草鼠害与草地植保研究室

Department of Weed Science Rodent Biology and Rangeland Protection, IPP, CAAS

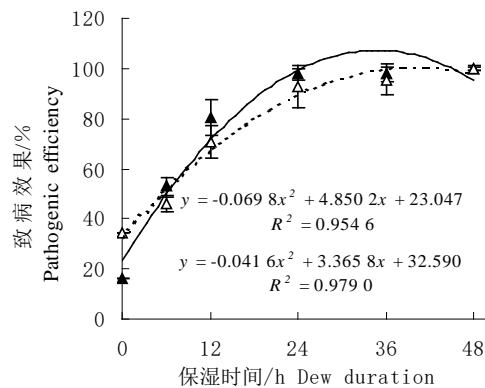
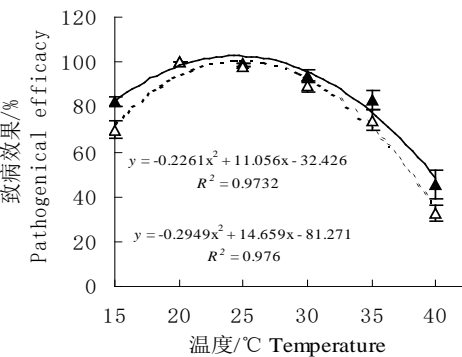
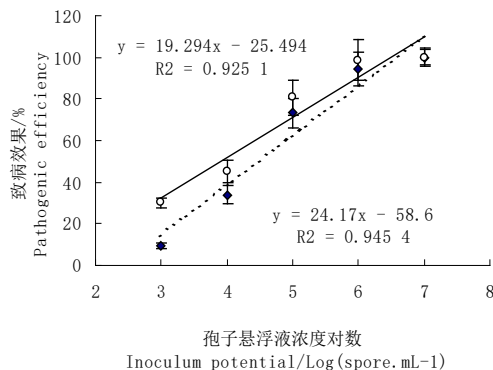
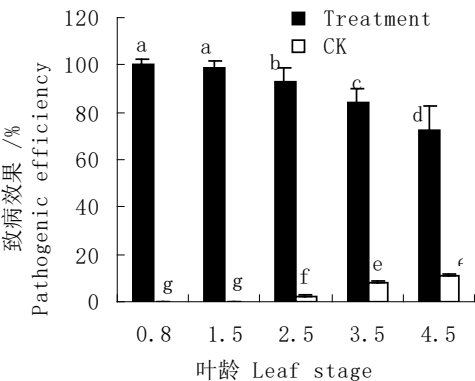
生物除草剂



南京农业大学强胜团队发现，细交链格孢菌酮酸（tenuazonic acid，简称TeA）与靶标杂草D1蛋白的256位氨基酸结合后，阻断光合电子传递链活性，引起过能量化，对TeA的活性中心吡咯环结构修饰，获得中国发明专利4件，美国发明专利2件，日本发明专利1件。



南京农业大学强胜团队发现，弯孢霉 *Curvularia eragrostidis* 在侵入马唐组织过程中产生的 α, β -dehydrocurvularin 毒素能够抑制叶绿体线和粒体功能相关基因的表达，引起叶绿体和线粒体的结构紊乱和功能障碍以及蛋白质合成受阻。



药后 14 天对照处理区情况



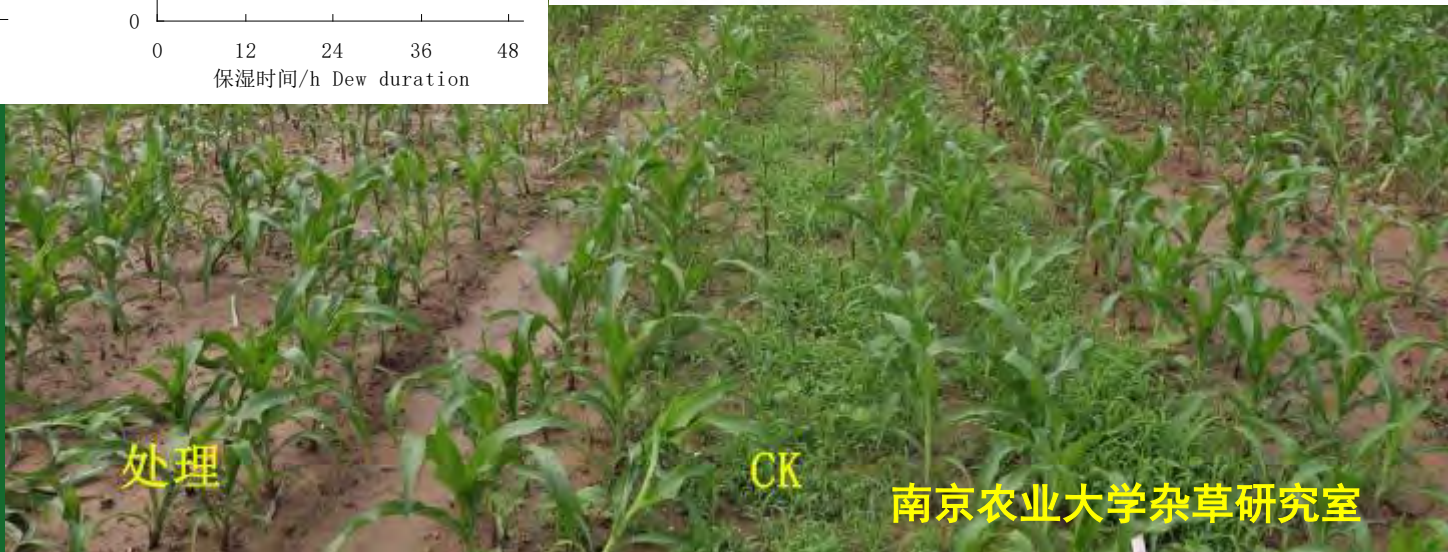
药后 14 天处理 3 情况



药后 21 天对照处理区情况



药后 21 天处理 4 情况



菌草互作

处理

CK



向梅梅等发现假隔链格孢毒素 *Vulculic acid* 为多靶点光合作用抑制剂，能够抑制光系统II电子传递活性和叶绿体ATPase活性，主要作用靶点是光系统II供体侧的捕光天线复合物和放氧复合体。



中国农业科学院植物保护研究所杂草鼠害与草地植保研究室

Department of Weed Science Rodent Biology and Rangeland Protection, IPP, CAAS

抗药性杂草



主要研究团队

山东农业大学、南京农业大学、沈阳农业大学、东北农业大学、中国农业大学、华南农业大学、浙江大学；

湖南省农业科学研究所、江苏省农业科学院植物保护研究所、山东省农业科学院植物保护研究所、河北农业科学院、吉林农业科学院植物保护研究所、中国农业科学院植物保护研究所



针对稗、野慈姑、雨久花、萤蔺、鳢肠、耳叶水苋、蔺草、看麦娘、日本看麦娘、耿氏硬草、芥菜、播娘蒿、麦家公、牛繁缕、反枝苋、马唐、鳢肠、牛筋草杂草对不同类型、不同种类除草剂的抗药性水平、抗药性快速检测方法、及其抗药性机制开展了研究。



牛繁缕 *Malachium aquaticum* 对苯磺隆的抗药性

种群 Population	抗性/敏感 R/S	GR ₅₀ (g ai ha ⁻¹)	抗性倍数 RI
SD-01	S	0.19 ± 0.06	1.1
SD-02	S	0.18 ± 0.12	1.0
SD-03	R	37.42 ± 13.78	214.3
SD-04	S	0.21 ± 0.03	1.2
SD-05	S	0.21 ± 0.05	1.2
SD-06	S	<0.2	<1.1
HN-01	S	0.25 ± 0.1	1.4
HN-02	R	61.33 ± 29.56	340.7
HN-03	S	0.13 ± 0.008	0.7
HN-04	R	9.61 ± 1.24	53.4
HN-05	R	32.69 ± 19.84	181.6
HN-06	R	59.16 ± 15.38	328.7
HN-07	R	99.10 ± 18.10	550.6
HB-01	R	25.26 ± 2.42	140.3
HB-02	R	17.27 ± 5.15	95.9
HB-03	R	28.01 ± 11.12	155.6
AH-01	R	56.19 ± 26.88	312.2
AH-02	R	41.35 ± 7.45	229.7
AH-03	R	45.93 ± 1.43	255.2
JS-01	S	0.19 ± 0.08	1.1
JS-02	S	0.33 ± 0.11	1.8
JS-03	S	0.28 ± 0.14	1.6
JS-04	S	0.24 ± 0.11	1.3
JS-05	S	0.18 ± 0.09	1.0
JS-06	S	0.20 ± 0.06	1.1
JS-07	R	36.58 ± 6.29	203.2
JS-08	R	50.89 ± 19.21	282.7
JS-09	S	0.16 ± 0.05	0.9
JS-10	S	0.23 ± 0.10	1.3
JS-11	-	-	-
JS-12	S	<0.2	<1.1
JS-13	R	28.70 ± 8.52	159.4
JS-14	R	20.44 ± 12.60	113.6
JS-15	S	<0.2	<1.1
JS-16	R	74.86 ± 22.62	415.9
JS-17	R	101.65 ± 2.74	546.7
JS-18	S	<0.2	<1.1
JS-19	S	0.19 ± 0.008	1.1
JS-20	S	<0.2	<1.1
JS-21	S	<0.2	<1.1
JS-22	S	<0.2	<1.1
JS-23	S	<0.2	<1.1
JS-24	S	0.18 ± 0.03	1.0



Resistance spectrum of HR *Malachium aquaticum* with deferent mutation types

Population	Herbicide									
Mutation type	Tribenuron	Pyriithiobac	Florasulam	Pyroxulam	Flucarbazon	Imazethapyr	2,4-D	Fluroxypyr	Isoproturon	Diflufenican
JS24/HN03 (Pro)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SD03(Leu)	R	R	r	r	R	S	S	S	S	S
HN02(Ser)	R	R	r	R	ND	S	S	S	S	S
HN04(Ser)	R	R	r	R	ND	r	S	S	S	S
HN07(Ser)	R	R	r	R	ND	S	S	S	S	S
HB01(Ser)	R	r	r	r	R	r	S	S	S	S
AH01(Leu)	R	R	r	r	R	r	S	S	S	S
AH02(Glu)	R	R	R	R	R	R/r	S	S	S	S
AH03(Ala)	R	r	r	R	ND	S	S	S	S	S
JS07(Leu)	R	r	r	R	R	S	S	S	S	S
JS08(Ser)	R	R	r	R	R	S	S	S	S	S
JS16(Ser)	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
JS17(Ser)	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S



Nine mutations at eight sites in ACCase genes of *Alopecurus japonicus* resistant to fenoxaprop-P-ethyl were identified.

1734 (arginine → glycine)

2027 (tryptophan → cysteine)

1738 (methionine → leucine)

2041 (isoleucine → asparagine)

1739 (threonine → serine)

2078 (aspartate → glycine)

1781 (isoleucine → leucine)

1999 (tryptophan → cysteine)

1999 (tryptophan → leucine)

<i>Acc1;1</i> 敏感型	TTGCTAAC	TGG	A	G	A	G	G	C	T	T	C	T	C	T
<i>Acc1;2</i> 敏感型
<i>Acc1;1</i> 突变型	C

Mutations and amplification of EPSPS gene confer resistance to glyphosate in goosegrass (*Eleusine indica*)

Jingchao Chen, Hongjuan Huang, Chaoxian Zhang, Shouhui Wei, Zhaofeng Huang, Jinyi Chen & Xu Wang

Planta
An International Journal of Plant Biology

ISSN 0032-0935
Volume 242
Number 4

Planta (2015) 242:859–868
DOI 10.1007/s00425-015-2324-2

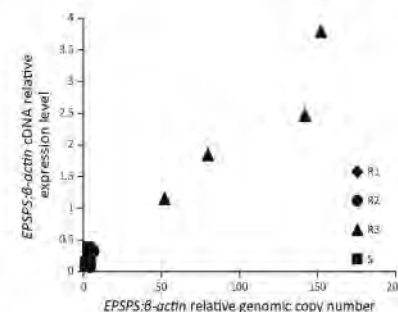
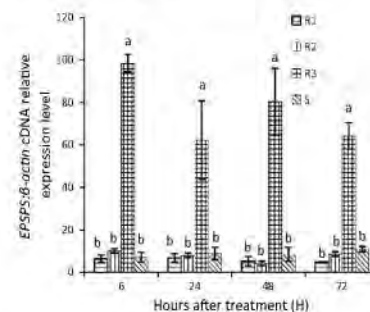


Fig. 5 Correlation of the EPSPS genomic copy number and the expression levels relative to the β -actin for glyphosate-susceptible

EPSPS双突变、单突变及EPSPS过量表达导致牛筋草对草甘膦的抗药性

Fig. 3 EPSPS gene expression relative to the β -actin and GAPDH for the S and three GR populations (R1, R2, R3) at different times after glyphosate treatment. Vertical bars represent the mean \pm standard error

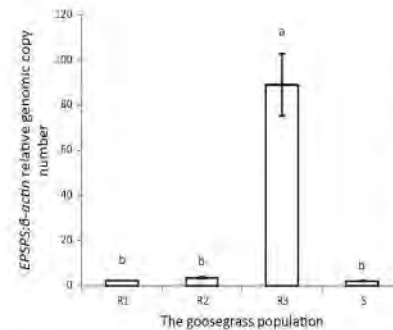


Fig. 4 Genomic copy number of EPSPS relative to β -actin genomic copy number for the S and three GR populations (R1, R2, R3). Vertical bars represent the mean \pm standard error

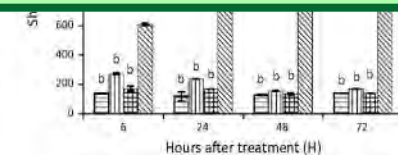


Fig. 6 Shikimate accumulation in plants of the S and three GR populations (R1, R2, R3) after glyphosate treatment at 922.5 g a.e. ha⁻¹

EPSPS enzyme activity

In the absence of glyphosate, the specific activity of EPSPS in the S, R1 and R2 plants ranged from 0.07 to 0.13 $\mu\text{mol } \mu\text{g}^{-1} \text{protein min}^{-1}$, while in R3 plants it ranged from 0.61 to 0.74 $\mu\text{mol } \mu\text{g}^{-1} \text{protein min}^{-1}$ (Fig. 7). The R3 population, on average, had a 5.6 fold increase in EPSPS enzyme activity compared to the S population.

EPSPS enzyme activity of both R3 and S populations was inhibited significantly by 50 μM glyphosate. In contrast, this concentration of glyphosate only produced a small inhibition of enzyme activity of the R1 and R2 populations. This indicates that the mutations in EPSPS

Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in goosegrass (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) by RNA sequencing technology

Jingchao Chen, Hongjuan Huang, Shouhui Wei, Zhaofeng Huang, Xu Wang and Chaoxian Zhang*

Key Laboratory of Weed and Rodent Biology and Management, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

Received 28 July 2016; revised 30 September 2016; accepted 7 October 2016.

*For correspondence (e-mail: cixzhang@ippcaas.cn).

SUMMARY

Glyphosate is an important non-selective herbicide that is in common use worldwide. However, evolved glyphosate-resistant (GR) weeds significantly affect crop yields. Unfortunately, the mechanisms underlying resistance in GR weeds, such as goosegrass (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.), an annual weed found worldwide, have not been fully elucidated. In this study, transcriptome analysis was conducted to further assess the potential mechanisms of glyphosate resistance in goosegrass. The RNA sequencing libraries generated 24 597 462 clean reads. *De novo* assembly analysis produced 48 852 UniGenes with an average length of 847 bp. All UniGenes were annotated using seven databases. Sixteen candidate differentially expressed genes selected by digital gene expression analysis were validated by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). Among these UniGenes, the *EPSPS* and *PFK* genes were constitutively up-regulated in resistant (R) individuals and showed a higher copy number than that in susceptible (S) individuals. The expressions of four UniGenes relevant to photosynthesis were inhibited by glyphosate in S individuals, and this toxic response was confirmed by gas exchange analysis. Two UniGenes annotated as glutathione transferase (GST) were constitutively up-regulated in R individuals, and were induced by glyphosate both in R and S. In addition, the GST activities in R individuals were higher than in S. Our research confirmed that two UniGenes (*PFK*, *EPSPS*) were strongly associated with target resistance, and two GST-annotated UniGenes may play a role in metabolic glyphosate resistance in goosegrass.

Keywords: transcriptomics, next-generation sequencing, herbicide resistance, glyphosate, (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.).

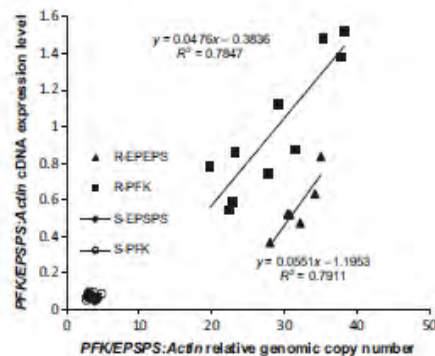


Figure 1. Correlation of *PFK* and *EPSPS* genomic copy number and the expression levels relative to *actin* for glyphosate-susceptible (S) and -resistant (R) plants.

Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) pathway. The resistance mechanism of *EPSPS* amplification had been confirmed by our previous research (Chen *et al.*, 2015b). However, no reports have linked *PFK* to glyphosate resistance to date. Thus, we investigated the expression of *PFK* and *EPSPS*. The expression of *PFK* and *EPSPS* in R individuals was significantly higher than that in S individuals (Figure 1). In the R population, *PFK* gene expression was 7.1–19.9 times higher than in the S population. Similar results were obtained for the *EPSPS* gene (5.7–12.9 times higher in R than S). Relative to *actin*, the genomic *PFK* copy number in S individuals ranged from 2.7 to 4.8, while the relative genomic *PFK* copy number ranged from 19.7 to 38.3 in R individuals. For *EPSPS*, the genomic copy number in the S population ranged from 2.8 to 4.3. In contrast, the *EPSPS* copy number ranged from 27.3 to 35.1 in the R population. There was a strong correlation between the relative genomic copy number and transcript abundance in *PFK*

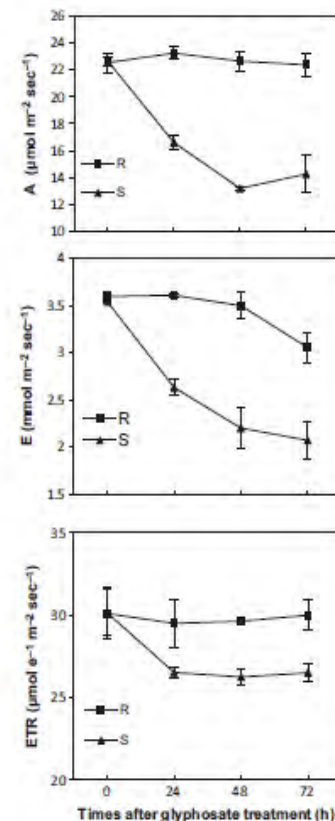


Figure 2. Effect of glyphosate on the gas exchange parameters of goosegrass in the R and S populations after glyphosate treatment. A, net photosynthesis rate; E, transpiration; ETR, electron transport rate.

发现并验证了 *PFK* 与 *GST* 基因与抗性显著相关
发现并验证了草甘膦影响牛筋草光合作用的基因 *LHCB1*, *LHCA2*, *ATPF1D*



中国农业科学院植物保护研究所杂草鼠害与草地植保研究室

Department of Weed Science Rodent Biology and Rangeland Protection, IPP, CAAS

稻麦田杂草防控技术



发现平衡施加化肥或配施有机肥处理能减少稻田杂草密度，从而抑制其发生危害程度。长期平衡施肥既有利于作物的优质高产，也有利于农田土壤种子库群落的稳定。平衡施加化肥和实行养分循环两种施肥模式结合起来对杂草的抑制效果更佳。不同水稻栽培方式的稻田已形成了完整的化学除草体系。



明确了主要杂草的关键防控时期，多种化学除草剂的除草活性、喷雾助剂对麦田重要除草剂的增效作用、多种农艺措施的控草作用，制定了针对不同优势杂草种群及群落的控草方案，提出了小麦田杂草防除精准防控时期、精准环境条件、精准靶标和精准药剂选择的“四个精准”的杂草化学防控技术，结合轮作、深翻、秸秆还田等农艺控草技术，极大地提高了除草效果和对作物的安全性，有效降低了除草剂使用量。



中国农业科学院植物保护研究所杂草鼠害与草地植保研究室

Department of Weed Science Rodent Biology and Rangeland Protection, IPP, CAAS

国内外研究进展比较



在杂草基础研究方面，尤其是杂草基因组测序，国内外基本处于相同水平，甚至处于领跑地位。

不足的是，杂草基因组研究团队较少，针对已完成的测序工作，尚未完成相关基因功能解析，而且，所涉及的杂草种类还较少。

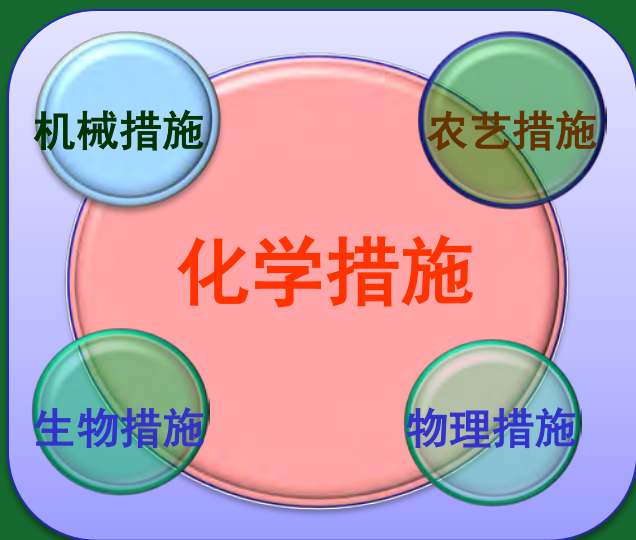


在应用基础研究方面，我国学者从核酸、蛋白水平初步阐明了靶标抗药性机制，在解析杂草非靶标抗药性机理方面开始了积极探索。

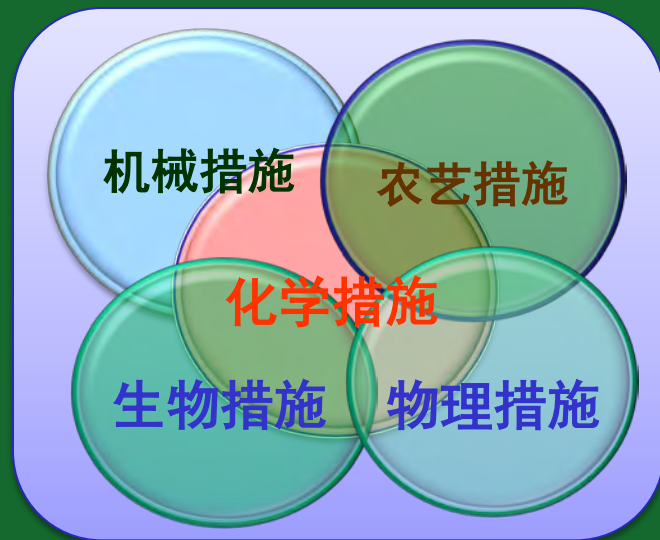
但是，杂草抗药性遗传进化、抗药性基因功能、基因表达调控网络、及代谢途径调节、抗药性杂草生态适合度等方面的研究颇少，非靶标抗药性分子机制也亟需深入。



在应用技术方面，我国农田杂草治理，尤其是抗药性杂草治理，仍处在化学除草为主导模式。



以化学除草为主



多样性措施并举



国家对杂草科学研究立项不够重视；
缺乏有重大影响的领军人才；
研究队伍弱小；
主攻研究方向不够稳定、持续；
创新性不强；
缺乏自我特色；
致使科研积累和沉淀不足，具有特色的创新性成果少，国际竞争力不强。



中国农业科学院植物保护研究所杂草鼠害与草地植保研究室

Department of Weed Science Rodent Biology and Rangeland Protection, IPP, CAAS

思 考



杂草生物学、生态学研究是认知杂草的重要基础

杂草致灾机制、杂草抗药性机制、杂草防控方法研究是建立杂草防控技术体系的重要依据

杂草防控技术体系的建立是农业产业持续健康发展的重要保障



基因组学、蛋白组学、重测序等分子生物学技术的快速发展和广泛应用，为杂草科学从分子、蛋白水平认知杂草，阐明其休眠（萌发）、生态适应、竞争、致灾机制，创新发展分子治理技术提供了重大机遇。

基础和应用基础研究应是新时期杂草科学的一个重点研究方向。



国家生态文明和现代化农业建设，农业供给侧结构性改革，对杂草科学的倚重将不断加强，为杂草科学发展展示了新机遇。

我们必须在重视化学除草剂科学合理使用技术研究的同时，强化多样性治理、多措施并举理念，加强实用新型生态技术，杂草精准治理技术和决策支持系统的研发。



为缩小我国杂草科学研究与国际研究水平的差距，提高国际影响力和竞争力，解决现代农业发展和全球气候变化中不断增加且日益复杂的杂草科学问题，服务现代化农业和生态文明建设，我国杂草科学需要：



1. 加强基础和应用基础研究

重点开展基于基因组、蛋白组学、表观遗传组学的农田恶性杂草演化与致灾机制、抗药性杂草生态适应性分子机制研究，在重要杂草基因组测序、相关基因功能解析、基因修饰(沉默)等方面下大功夫。



2. 深化杂草防控技术研究

重点研发创新非化学防控方法，化学除草剂减量精准防控技术，抗药性杂草早期检测与治理技术，开展农田杂草长期监测，构建以生态控草为中心，农业、机械、生物、化学等多措施相促进的多样性可持续控草技术体系。



3. 强化队伍条件建设

培养引进领军人才；

加大本科、硕士、博士多层次杂草科学人才培养力度，壮大杂草科学研究、推广队伍；

打造创新基地、平台，提升科研条件。



4. 重视防控技术示范推广

农村农田是杂草科学工作者施展聪明才智的广袤舞台，我们不仅要开展基层研究，研发实用新型的杂草防控技术，更要深入农村农田，广交农民朋友，传授推广治理理念和应用技术。

唯有如此，杂草治理新理念才能尽快为广大农民所接受，各种杂草治理新技术才能尽早在广阔农田所应用。



中国农业科学院植物保护研究所杂草鼠害与草地植保研究室

Department of Weed Science Rodent Biology and Rangeland Protection, IPP, CAAS

不忘初心 牢记使命

创新发展 砥砺前行

**非常感谢！
欢迎批评指正！**

THANKS for Your Attention!

