УДК 632.51:631.52 https://doi.org/10.7124/FEEO.v24.1118

ГУРАЛЬЧУК Ж. З.✉, МОРДЕРЕР Є. Ю.
Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,
Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: morderer@ifrg.kiev.ua
✉ *azhanna@ukr.net*

ПРОБЛЕМА РЕЗИСТЕНТНОСТІ РОСЛИН ДО ГЕРБІЦИДІВ – ІНГІБІТОРІВ АЦЕТОЛАКТАТСИНТАЗИ

Мета. Резистентність рослин до гербіцидів – інгібіторів ацетолактатсинтази (АЛС) набуває глобального масштабу. У зв'язку з цим метою роботи є аналіз наявних в науковій літературі даних, пов'язаних з виникненням резистентності до гербіцидів інгібіторів АЛС. ***Результати.*** Цільова резистентність до гербіцидів інгібіторів АЛС є наслідком генетичних мутацій, зумовлених заміною однієї амінокислоти на іншу в поліпептиді ферменту. У статті розглядаються дані щодо дії гербіцидів інгібіторів АЛС на функціонування ферменту та її модифікації за наявності мутацій, які зумовлюють резистентність до гербіцидів із цим механізмом дії. Коротко описуються структурні особливості зв'язування гербіцидів інгібіторів АЛС різних класів із цільовим ферментом та зумовлені ними зміни, пов'язані з модифікацією кофакторів тіаміндифосфату і флавінаденіндинуклеотиду. ***Висновки.*** Дослідження останніх десятиліть призвели до збільшення обсягу знань щодо особливостей дії гербіцидів, що належать до різних класів інгібіторів АЛС, та причин виникнення резистентності. Вивчення структурних особливостей зв'язування гербіцидів інгібіторів АЛС з цільовим ферментом та особливостей його функціонування у чутливих і резистентних рослин є основою для кращого розуміння механізмів виникнення резистентності до гербіцидів та розробки способів її подолання.

Ключові слова: гербіциди, ацетолактатсинтаза, резистентність, мутації генів.

Ацетолактатсинтаза (АЛС) [КФ 2.2.1.6 (раніше КФ 4.1.3.18)] є ферментом, який бере участь у синтезі амінокислот із розгалуженим ланцюгом (валіну, лейцину, ізолейцину). Цей фермент каталізує перетворення двох молекул пірувату в ацетолактат або однієї молекули пірувату і однієї молекули 2-кетобутирату в 2-ацето-2-гідроксибутират. Він є у рослинах, бактеріях і грибах, проте не знайдений в організмах тварин, і є мішенню понад 50 комерційних гербіцидів, які присутні на ринку більш, ніж 30 років [1]. Гербіциди інгібітори АЛС належать до 4 класів: сульфонілсечовини, імідазолінони, триазолопіримідин(сульфоніл)аміди, піримідиніл-бензоати (останнім часом виділяють ще й 5-й клас – сульфоніламіно-карбонілтриазолінони). Значною перевагою гербіцидів інгібіторів АЛС є невеликі норми їх застосування, інколи вони складають лише декілька грамів на гектар і застосовуються проти однодольних і дводольних бур'янів.

Останнім часом у всьому світі дедалі більшого поширення набувають популяції бур'янів, резистентних до дії гербіцидів. Нині виявлено 498 біотипів бур'янів, резистентних до гербіцидів [2]. Серед цих біотипів трапляється резистентність до 163 різних гербіцидів, які представлені 23 з 26 відомих механізмів фітотоксичної дії. При цьому найпоширенішими є біотипи, резистентні до інгібіторів ацетолактатсинтази. Деякі аспекти резистентності рослин до гербіцидів були розглянуті нами раніше [3].

Перший випадок резистентності до гербіцидів інгібіторів АЛС, зокрема до суміші хлорсульфурону і метсульфурону (DPX-G8311), було виявлено у біотипу *Lactuca serriola* L. у 1987 р. (всього через 5 років після появи комерційних препаратів класу сульфонілсечовин) [4]. На сьогодні уже відомо 160 видів бур'янів (98 дводольних і 62 однодольних), які мають біотипи, резистентні до гербіцидів інгібіторів АЛС [2]. Причиною виникнення цільової резистентності є мутації гена, що кодує АЛС, які призводять до заміни амінокислот. У бур'янів біотипів, резистентних до гербіцидів інгібіторів АЛС, було ідентифіковано заміщення на інші амінокислоти проліну-197 (ця мутація трапляється найчастіше), а також заміщення аланіну-122, аланіну-205, аспартату-376, аргініну-377, триптофану-

© **ГУРАЛЬЧУК Ж. З., МОРДЕРЕР Є. Ю.**

574, серину-653 і гліцину-654 [5]. Рівень резистентності чи крос-резистентності до гербіцидів може варіювати залежно від вищезгаданих мутацій [6]. Вважають, що заміна аланіну-122 або серину-653 викликає резистентність до імідазолінонів і піримідинілтіо-бензоатів, але не до гербіцидів класу сульфонілсечовини [7]. Мутації із заміною проліну-197 на інші амінокислоти зазвичай забезпечують резистентність до гербіцидів класу сульфонілсечовини, але не до імідазолінонів [6]. Хоча в деяких випадках резистентність до імідазолінонів (від низького до помірного рівня) спостерігається і у біотипів із заміною проліну-197, але вона, як правило, була майже на порядок меншою і неоднаково вираженою серед різних гербіцидів імідазолінонів [8]. Нещодавно було виявлено біотип *Myosoton aquaticum* L. із заміною проліну-197 на глутамат, який має високий рівень резистентності до всіх 4 класів гербіцидів інгібіторів АЛС [9]. Однак така мутація трапляється рідко, оскільки потребує заміни не одного, а двох нуклеотидів (CCG на GAG). Заміна триптофану-569 на лейцин також зумовлює високий рівень резистентності до всіх класів гербіцидів інгібіторів АЛС [10]. Вважають, що крос-резистентність до гербіцидів, яка зумовлена мутацією цільового сайту, залежить від позиції у гені, в якій відбувається заміщення, конкретної заміни, класу гербіциду інгібітора АЛС і конкретного гербіциду в межах цього класу, а також (іноді) від виду бур'янів [7].

Результатом мутацій, пов'язаних із заміною амінокислот, у кінцевому рахунку є відсутність чутливості бур'янів до дії гербіцидів. Однак залишається нез'ясованим, яким же чином проявляється зумовлена вищезгаданими мутаціями резистентність до гербіцидів на рівні функціонування ферменту, його структури та зв'язування з гербіцидами. Розуміння механізмів, на яких ґрунтується інгібіторна активність гербіцидів, може стати основою для пошуку способів подолання резистентності бур'янів до дії гербіцидних препаратів.

Можна припустити, що резистентність до гербіцидів інгібіторів АЛС зумовлена надекспресією гена АЛС і значним підвищенням її активності. Дослідження, проведені на частково очищеному ферменті АЛС, виділеному з бур'янових рослин біотипів трьох видів, резистентних до гербіцидів інгібіторів АЛС, показали, що спорідненість АЛС до субстрату пірувату (K_m) не відрізняється у резистентних і чутливих бур'янів усіх трьох видів [11]. Максимальна активність АЛС (V_{max}) у чутливого і резистентного біотипів як *Sonchus oleraceus* L., так і *Brassica tournefortii* Gouan також була схожою, що дозволяє припустити, що резистентність у цих видів не пов'язана з надекспресією АЛС. Водночас у двох резистентних біотипів *Sisymbrium orientale* L. активність АЛС була в 1,6–2,3 раза вищою, ніж у чутливого, що якоюсь мірою могло б свідчити про деякий внесок надекспресії АЛС у прояв резистентності у цих біотипів. Huang et al. [12] за допомогою ПЛР-аналізу показали відсутність значної різниці в індукції експресії гена АЛС у резистентної і чутливої до імазетапіру популяцій *Amaranthus retroflexus* L., що вказує на те, що резистентність до цього гербіциду не пов'язана з надекспресією гена АЛС [12]. У дослідах *in vitro* нами було продемонстровано, що концентрація напівмаксимального інгібування (I_{50}) активності АЛС у резистентної популяції була в 21,33 раза вищою, ніж у чутливої. При цьому аналіз нуклеотидної послідовності ДНК виявив заміну аспартат-376-глутамат у резистентної популяції.

У дослідженнях М. Лі зі співавт. [13] було показано, що активність частково очищеної АЛС, виділеної з рослин *Raphanus raphanistrum* L., гомозиготних за алелями резистентності тирозин-122, серин-197 або глутамат-376, в 1,5–1,9 раза перевищувала активність АЛС чутливих субпопуляцій. На противагу цьому, у рослин, гомозиготних за алелем резистентності лейцин-574, активність АЛС була майже наполовину меншою, ніж у чутливих субпопуляцій. Принагідно слід зазначити, що жодна з цих 4 мутацій не мала негативного плейотропного ефекту на відносну швидкість росту, процеси, пов'язані з фотосинтезом, та конкурентоздатність рослин. Водночас, за даними інших дослідників [14], у рослин *Lolium rigidum* Gaud. мутація триптофан-574-лейцин призводила до підвищення активності ферменту АЛС. В. Лью та співавт. [15], які характеризували популяції *Myosoton aquaticum* L., гомозиготні за мутаціями пролін-197-серин, пролін-197-лейцин, пролін-197-аланін, пролін-197-глутамат, виявили, що мутації із заміною проліну на серин і лейцин підвищували активність екстрагованої АЛС.

Неоднозначна реакція мутантних рослин на заміщення окремих амінокислот, судячи з активності АЛС, відзначається і в огляді M. M. Vila-Aiub [16], у зв'язку з чим автори роблять висновок, що вплив кожної конкретної

мутації/заміщення амінокислоти потребує оцінки у кожному конкретному випадку, узагальнення зробити дуже важко.

У метаболічному контролюванні біосинтезу амінокислот із розгалуженим ланцюгом задіяна алостерична регуляція АЛС кінцевим продуктом біосинтетичного шляху, тобто валіном, лейцином, ізолейцином. Фермент інгібується окремими вищезгаданими амінокислотами приблизно на однаковому рівні, але за поєднання лейцину як із валіном, так із ізолейцином проявляється синергізм. Так, якщо уявна константа інгібування АЛС із *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. для лейцину і валіну складає відповідно 336 і 231 мкМ, то для еквівалентної суміші цих двох амінокислот вона дорівнює 12,3 мкМ [17]. Для перевірки припущення про те, що резистентність до гербіцидів інгібіторів АЛС викликана змінами в інгібуванні АЛС кінцевим продуктом реакції, було проведено низку досліджень. Зокрема, було отримано рослини рису з мутаціями триптофан-548-лейцин і серин-627-ізолейцин, індукованими в ендогенному гені, що кодує каталітичну субодиницю АЛС [18]. Ці дві заміни амінокислот зумовили гіпертолерантність до гербіциду інгібітора АЛС біспірипак-натрію. Алостерична регуляція АЛС валіном і лейцином у результаті цих мутацій зменшувалася. Крім цього, в листках і насінні АЛС-мутантів із заміщенням триптофан-548-лейцин і/або серин-627-ізолейцин спостерігали двотриразове збільшення кількості амінокислот із розгалуженим ланцюгом.

Слід зазначити, що у багатьох випадках мутації, пов'язані з резистентністю до гербіцидів, різко не змінюють спорідненість АЛС до субстрату, але швидше за все модифікують чутливість АЛС до інгібування кінцевим продуктом, що призводить до накопичення амінокислот із розгалуженим ланцюгом [14]. Зокрема, це спостерігалось у *Lactuca serriola* L. із мутацією пролін-197-треонін (у цьому випадку також зменшувалася і K_m для піруват) [19] та пролін-197-гістидин [20, 21], а також у *Solanum ptychanthum* Dunal, мутантного за заміною аланін-205-валін [22]. Однак у науковій літературі трапляються і протилежні дані, які свідчать про збільшення у резистентних до гербіцидів рослин інгібування АЛС кінцевим продуктом. Наприклад, заміни пролін-197-аланін, пролін-197-серин, триптофан-574-лейцин у *L. rigidum* призводили до зменшення такого інгібування, тоді як заміна пролін-197-аргінін зумовлювала значне його збільшення [14]. Заміна триптофан-574-лейцин у *Poa annua* L. також призвела до зростання інгібування АЛС кінцевим продуктом реакції [23]. Модифікація чутливості АЛС до амінокислот із розгалуженим ланцюгом залежить як від конкретної мутації, що забезпечує резистентність до гербіциду, так і від амінокислоти, яка є кінцевим продуктом біосинтетичного шляху.

Активність АЛС залежить від присутності трьох кофакторів – тіаміндифосфату (ТДФ), іонів магнію і флавінаденіндинуклеотиду (ФАД). Механізм зв'язування з ферментом гербіцидів інгібіторів АЛС різний, як це було спочатку показано для сульфонілсечовин та імідазолінонів [24]. Позиції, які гербіциди цих двох класів займають при зв'язуванні з ферментом, частково перекриваються одна з одною. Вони забезпечуються 10 амінокислотними залишками, які беруть участь у зв'язуванні як із сульфонілсечовинами, так із імідазолінонами. Однак, коли гербіциди класу сульфонілсечовин зв'язуються з ферментом, відбувається деградація ТДФ, а у випадку зв'язування з імідазолінонами (імазакіном) цей кофактор залишається інтактним. ТДФ є центральним в активному сайті, його деградація, очевидно, відбувається або прискорюється в результаті зв'язування з сульфонілсечовиною. Роль магнію полягає в «заякорюванні» ТДФ до поліпептиду. На прикладі АЛС із *A. thaliana* було показано, що за зв'язування імазакіну з ферментом Mg^{2+} утворює координаційну сполуку з координаційним числом 5 із двома лігандами – атомами кисню від дифосфату ТДФ і трьома лігандами від поліпептиду. Під час зв'язування ферменту з сульфонілсечовинами Mg^{2+} утворює координаційну сполуку з координаційним числом 6, у цьому випадку позиція шостого ліганда заповнена молекулою води [25].

Гербіциди класу сульфонілсечовин та імідазолінонів зв'язуються в межах каналу доступу субстрату АЛС як із дріжджів, так із *A. thaliana* [24, 26]. Таким чином, вони блокують доступ субстрату до активного сайту. Слід зазначити, що сульфонілсечовини мають на два порядки більший потенціал до інгібування АЛС порівняно з імідазолінонами [25], проте рекомендовані норми їх внесення приблизно однакові. Хоча гербіцидна активність залежить від активності АЛС, різниця в потенціалі цих гербіцидів у дослідах in vitro та in vivo може бути зумовлена наявністю фізичних бар'єрів між місцем нанесення і внутрішньоклітинною мішенню, деградацією і детоксикацією їх у рослині, стабільністю у ґрунті.

Із 16 амінокислотних залишків, які беруть участь у зв'язуванні сульфонілсечовини з АЛС рослин, лише 4 (аргінін-199, метіонін-200, лізин-256, серин-653) набувають різних конформаційних змін залежно від того, яка сполука з класу сульфонілсечовин зв'язується [25]. Імазакін, представник імідазолінонів, зв'язується з АЛС рослин через взаємодії з 12 амінокислотними залишками, більшість із яких є гідрофобними. Загалом, константи інгібування АЛС для імідазолінонів знаходяться в мікромолярному діапазоні, тоді як сульфонілсечовин – у наномолярному, тобто останні є кращими інгібіторами ферменту. Ймовірно, це пояснюється загальною формою і розмірами сульфонілсечовин, які дозволяють їм краще підходити, глибше проникати в тунель, що призводить до набагато більшого числа контактів, ніж у імідазолінонів. Крім того, сульфонілсечовини закріплюються за допомогою принаймні п'яти водневих зв'язків до трьох залишків амінокислот, тоді як імазакін утворює лише один водневий зв'язок із аргініном-377 [25].

Мутації гена АЛС, пов'язані із заміною амінокислот, можуть впливати на зв'язування гербіцидів із ферментом. Так, наприклад, існують значні взаємодії між триптофаном-574 і гетероциклічним кільцем сульфонілсечовини, і тому мутація цього залишку обов'язково спричинить втрату багатьох контактів. Крім того, мутація триптофан-574 може змінити контур гербіцид-зв'язуючого сайта, що призведе до меншої комплементарності для сульфонілсечовинних гербіцидів [25].

У науковій літературі є багато відомостей про те, що мутації аланін-122, триптофан-574, серин-653 спричиняють значну резистентність до імідазолінонів [6, 28]. Як аланін-122, так і триптофан-574 мають важливі гідрофобні контакти з імазакіном, і заміна аланіну-122 на більший або полярний залишок майже напевно призведе до репозиції гербіциду. Аналогічно, якщо триптофан-574 був замінений на будь-який інший залишок, важливі гідрофобні контакти з імазакіном будуть втрачені [25]. Крім того, як зазначалося раніше, для сульфонілсечовинних гербіцидів триптофан-574 є ключовим залишком для визначення форми тунелю доступу субстрату, таким чином, очікується, що вищезгадана мутація призведе до різкого ослаблення зв'язування імідазолінону.

Представник піримідиніл-бензоатів біспірибак має три ароматичні кільця, які під час зв'язування з АЛС *A. thaliana* набувають скрученої «S»-подібної конформації з піримідинільною групою, що глибоко проникає в сайт зв'язування гербіцидів [29]. Сульфоніламінокарбоніл-триазолінони зв'язуються таким чином, що триазолінонове кільце знаходиться глибоко в сайті зв'язування гербіцидів. Представники гербіцидів інгібіторів АЛС цих двох класів заповнюють канал, який веде до активного сайту, в результаті запобігаючи зв'язуванню субстрату. Кристалографічні і мас-спектрометричні дослідження показують також, що коли ці гербіциди зв'язуються, ТДФ модифікується. У разі зв'язування піримідиніл-бензоатів кільце тіазолу розщеплюється, але коли зв'язуються сульфоніламіно-карбоніл-триазолінони, ТДФ модифікується до тіамін 2-тіазолондифосфату. Кінетичні дослідження свідчать про те, що ці сполуки не лише викликають зворотне накопичувальне інгібування АЛС, але також можуть індукувати інгібування, пов'язане з деградацією ТДФ.

Вивчення механізму дії на АЛС пеноксуламу, який належить до іншого класу інгібіторів АЛС – триазолопіримідинів, продемонструвало, що інгібування АЛС цим гербіцидом ініціює витіснення двох молекул кисню в активному сайті, які виділяються як субстрати для оксигеназної побічної реакції ферменту [1]. Пеноксулам або стабілізує тиаміндифосфат (ТДФ) - перацетатний аддукт, продукт цієї оксигеназної реакції, або затримує в межах активного сайту інтактну молекулу перацетату в присутності деградованої форми ТДФ: тіамін аміноетентіолдифосфату. Кінетичний аналіз свідчить про те, що пеноксулам інгібує АЛС в результаті реакцій, пов'язаних з окисненням ФАД і хімічною модифікацією ТДФ.

Висновки

Дослідження останніх десятиліть призвели до значного збільшення обсягу знань щодо особливостей дії гербіцидів, які належать до різних класів інгібіторів АЛС, та виникнення резистентності. Отримані дані щодо структурних особливостей зв'язування гербіцидів інгібіторів АЛС та механізмів їх дії дозволяють краще зрозуміти причини виникнення резистентності чи крос-резистентності до тих чи інших гербіцидів. Вивчення модифікацій структури і функціонування АЛС у чутливих і резистентних рослин є основою для кращого розуміння механізмів виникнення резистентності до гербіцидів та розробки способів її подолання.

References

1. Lonhienne T., Garcia M.D., Pierens G., Mobli M., Nouwens A., Guddat L.W. Structural insights into the mechanism of inhibition of AHAS by herbicides. *PNAS Latest Articles*. 2018. P. 1–10. doi: 10.1073/pnas.1714392115.
2. Heap I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Internet. Tuesday, February 19, 2019. URL: www.weedscience.org (Last accessed: 2.19.2019).
3. Guralchuk Zh.Z., Morderer Ye.Yu. Problema rezystentnosti roslyn do herbitsydiv: henetychnyy ta metabolichnyy aspekty. *Faktory eksperymental'noyi evolyutsiyi orhanizmiv*. 2015. T. 16. P. 100–104. [in Ukrainian] / Гуральчук Ж.З., Мордерер Є.Ю. Проблема резистентності рослин до гербіцидів: генетичний та метаболічний аспекти. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2015. Т. 16. С. 100–104.
4. Mallory-Smith C.A., Thill D.C., Dial M.J. Identification of herbicide resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Technol*. 1990. Vol. 4. P. 163–168.
5. 6. Tranel P.J., Wright T.R., Heap I.M. Mutations in herbicide-resistant weeds to ALS inhibitors. URL: http://www.weedscience.com (Last accessed: 12.2.2019).
6. Tranel P.J., Wright T.R. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? *Weed Sci*. 2002. Vol. 50. P. 700–712. https://doi.org/10.1614/0043-1745(2002)050[0700:RROWTA]2.0.CO;2.
7. Yu Q., Powles S.B. Resistance to AHAS inhibitor herbicides: current understanding. *Pest Manag. Sci*. 2014. Vol. 70. P. 1340–1350. doi: 10.1002/ps.37.
8. Saari L.L., Cotterman J.C., Thill D.C. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. *Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry* / S.B. Powles and J.A.M. Holtum, eds. Ann Arbor. MI: Lewis, 1994. P. 83–139.
9. Liu W., Yuan G., Du L., Guo W., Li L., Bi Y., Wang J. A novel Pro197Glu substitution in acetolactate synthase (ALS) confers broad-spectrum resistance across ALS inhibitors. *Pestic. Biochem. Physiol*. 2015. Vol. 117. P. 31–38. http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.10.005.
10. Sibony M., Rubin B. Molecular basis for multiple resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides and atrazine in *Amaranthus blitoides* (prostrate igweed). *Planta.* 2003. Vol. 216. P. 1022–1027. doi: 10.1007/s00425-002-0955-6.
11. Boutsalis P. Resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in *Sonchus oleraceus, Sisymbrium orientale* and *Brassica tournefortii*: Thesis of Doct. Phylosophy. Univ. Adelaide, 1996. 173 p.
12. Huang Z., Chen J., Zhang Ch., Huang H., Wei Sh., Zhou X., Chen J., Wang X. Target-site basis for resistance to imazethapyr in redroot amaranth (*Amaranthus retroflexus* L.). *Pest. Biochem. Physiol*. 2015. http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.10.011.
13. Li M., Yu Q., Han H., Vila-Aiub M., Powles S.B. ALS herbicide resistance mutations in *Raphanus raphanistrum*: evaluation of pleiotropic effects on vegetative growth and ALS activity. *Pest Manag. Sci.* 2013. Vol. 69. P. 689–695. doi: 10.1002/ps.3419.
14. Yu Q., Han H., Vila-Aiub M.M., Powles S.B. AHAS herbicide resistance endowing mutations: effect on AHAS functionality and plant growth. *J. Exp. Bot.* 2010. Vol. 61. P. 3925–3934. doi: 10.1093/jxb/erq205.
15. Liu W., Bai Sh., Jia S., Guo W., Zhang L., Li W., Wang J. Comparison of ALS functionality and plant growth in ALS-inhibitor susceptible and resistant *Myosoton aquaticum* L. *Pest. Biochem. Physiol*. 2017. Vol. 142. P. 111–116. doi: 10.1016/j.pestbp.2017.03.008.
16. Vila-Aiub M.M., Neve P., Powles S.B. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. *New Phytol.* 2009. Vol. 184. P. 751–767. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.03055.x.
17. Lee Y.-T., Duggleby R.G. Identification of the regulatory subunit of *Arabidopsis thaliana* acetohydroxyacid synthase and reconstitution with its catalytic subunit. *Biochemistry.* 2001. Vol. 40. P. 6836–6844. doi: 10.1021/bi002775q.
18. Endo M., Shimizu T., Fujimori T., Yanagisawa S., Toki S. Herbicide-resistant mutations in acetolactate synthase can reduce feedback inhibition and lead to accumulation of branched-chain amino acids. *Food and Nutrition Sci*. 2013. Vol. 4. P. 522–528. http://dx.doi.org/10.4236/fns.2013.45067.
19. Preston C., Stone L.M., Rieger M.A., Baker J. Multiple effects of a naturally occurring proline to threonine substitution within acetolactate synthase in two herbicide-resistant populations of *Lactuca serriola. Pestic. Biochem. Physiol*. 2006. Vol. 84, No. 3. P. 227–235. doi: 10.1016/j.pestbp.2005.07.007.
20. Eberlein C.V., Guttieri M.J., Berger P.H., Fellman J.K., Mallory-Smith C.A., Thill D.C., Baerg R.J., Belknap W.R. Physiological consequence of mutation for ALS-inhibitor resistance. *Weed Sci.* 1999. Vol. 47, No. 4. P. 383–392.
21. Eberlein C.V., Guttieri M.J., Mallory-Smith C.A., Thill D.C., Baerg R.J. Altered acetolactate synthase activity in ALS-inhibitor resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Sci*. 1997. Vol. 45, No. 2. P. 212–217.
22. Ashigh J., Tardif F.J. An Ala205Val substitution in acetohydroxyacid synthase of eastern black nightshade (*Solanum ptychanthum*) Reduces Sensitivity to Herbicides and Feedback Inhibition. *Weed Sci.* 2007. Vol. 55. P. 558–565. doi: 10.1614/WS-07-054.1.
23. Cross R.B., McCarty L.B., McElroy J.S., Tharayil N., Bridges W.C. Comparison of enzyme and growth characteristics in ALS-inhibitor susceptible and resistant annual bluegrass (*Poa annua*) biotypes. *Weed Sci.* 2015. Vol. 63, No. 1. P. 220–228. doi: 10.1614/WS-D-14-00091.1.
24. McCourt J.A., Pang S.S., King-Scott J., Duggleby R.G., Guddat L.W. Herbicide binding sites revealed in the structure of *Arabidopsis thaliana* acetohydroxyacid synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. Vol. 103. P. 569–573. doi: 10.1073/pnas.0508701103.
25. Duggleby R.G., McCourt J.A., Guddat L.W. Structure and mechanism of inhibition of plant acetohydroxyacid synthase. *Plant Physiol. Biochem*. 2008. Vol. 46. P. 309–324. doi: 10.1016/j.plaphy.2007.12.004.
26. McCourt J.A., Pang S.S., Duggleby R.G., Guddat L.W. Elucidating the specificity of binding of sulfonylurea herbicides to acetohydroxyacid synthase. *Biochem*. 2005. Vol. 44. P. 2330–2338. doi: 10.1021/bi047980a.

27. Mendel S., Elkayam T., Sella C., Vinogradov V., Vyazmensky M., Chipman D.M., Barak Z. Acetohydroxyacid synthase: a proposed structure for regulatory subunits supported by evidence from mutagenesis. *J. Mol. Biol*. 2001. Vol. 307. P. 465–477. doi: 10.1006/jmbi.2000.4413.
28. Chang A.K., Duggleby R.G. Herbicide-resistant forms of *Arabidopsis thaliana* Acetohydroxyacid synthase: characterization of the catalytic properties and sensitivity to inhibitors of four defined mutants. *Biochem. J.* 1998. Vol. 333. P. 765–777.
29. Garcia M.D., Nouwens A., Lonhienne T.G., Gudda L.W. Comprehensive understanding of acetohydroxyacid synthase inhibition by different herbicide families. *PNAS Latest Articles*. 2016. P. 1–10. doi: 10.1073/pnas.1616142114.

GURALCHUK Zh. Z., MORDERER Ye. Yu.
Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine,
Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylkivska str., 31/17

THE PROBLEM OF PLANTS RESISTANCE TO HERBICIDES – INHIBITORS OF ACETOLACTATE SYNTHASE

Aim. The purpose of the work is to analyze the available literature data associated with the emergence of resistance to herbicides ALS inhibitors. ***Results.*** Target resistance to herbicides ALS inhibitors is a consequence of genetic mutations due to the replacement of one amino acid with another in the enzyme polypeptide. The article deals with data on the action of herbicides ALS inhibitors on the functioning of the enzyme and its modification in the presence of mutations that predispose the resistance to herbicides ALS inhibitors. Brief description of the structural features of the binding of various classes of herbicides inhibitors ALS with the target enzyme and the modification of the cofactors (thiamine diphosphate and flavin adenine dinucleotide) is presented. ***Conclusions.*** Studies of recent decades have led to an increase in knowledge about the action characteristics of herbicides belonging to different classes of ALS inhibitors and the causes of resistance. The obtained results are the basis for better understanding of the mechanisms of resistance to herbicides and the development of ways to overcome them.

Keywords: herbicides, acetolactate synthase, resistance, gene mutation.