

生物除草剂研究与开发的现状及未来的发展趋势

陈世国, 强 胜*

(南京农业大学生命科学学院, 南京 210095)

摘要: 随着公众健康和环保意识的提高以及现代有机农业的快速发展, 生物除草剂的开发越来越受到关注。目前全球正式登记或者商业化的生物除草剂产品已经有 20 多个, 其中也不乏国际化产品。然而, 由于生物除草自身的局限性, 严重限制了这些产品在国际上的市场规模。本文从生物除草剂发展背景和迫切性开始, 总结了生物除草剂的类型、全球生物除草剂的研究现状和未来的发展方向。重点分析了以天然活性产物为库源, 开发新的生物源除草剂或以天然产物为前体合成新的化学除草剂的可行性、已有的成绩和未来的发展前景。

关键词: 生物除草剂; 有机农业; 天然产物; 商业化

中图分类号: S476; S482.4 文献标识码: A 文章编号: 1005-9261(2015)05-0770-10

The Status and Future Directions of Bioherbicide Study and Development

CHEN Shiguo, QIANG Sheng*

(College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: With enhancing of people's consciousness on health and environment as well as organic agriculture development, the "green" bioherbicide has being given more and more attention. Over twenty bioherbicide products have be registered or commercialized in worldwide, even some of them became successfully the international productions. However, the consumer market of these bioherbicides is still small due to the product self weakness. Here, this review covers the development necessity and urgency, classification, the global current status and future directions of bioherbicide. In addition, we mainly focus on that the practicability, achievements and the future prospects of the natural products-based bioherbicides. It is proposed that the structural diversity and different action target of natural products offer great opportunities for the exploiture of both directly used natural compounds as bioherbicide and synthetic herbicides with new target sites based on the structures of natural products.

Key words: bioherbicide; organic agriculture; natural product; commercial

1 生物除草剂研究的背景和重要性

有机化学除草剂的发现和大规模地应用, 是 20 世纪发生的农业绿色革命最重要的标志之一, 极大地改变了农业劳动生产方式, 促进了农业的现代化, 为保障全球粮食生产安全作出了巨大贡献^[1]。迄今, 全球已经发展出 30 余个大类、20 多个作用靶标、约 400~500 个化学除草剂品种的杂草化学防除产品技术体系^[2]。其中草甘膦即 N-(膦羧基甲基)甘氨酸是目前应用最为广泛的除草剂^[3]。尤其是 1996 年后, 随着抗草甘膦转基因作物的问世和大规模推广, 草甘膦的使用更是出现了迅猛增长, 已经占据全球农药市场的近 20%, 年销售超过 20 亿美元^[4]。

但随着社会文明的进步和公众健康意识的提高, 广泛、长期、大量使用化学除草剂所带来的负面影响亦日益显现, 倍受全球关注^[5]。一方面, 大量化学除草剂的施用带来了环境污染, 尤其是长残效除草剂的

基金项目: 国家“863”计划(2011AA10A206); 江苏省科技支撑项目(BE2014397); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(KYZ201530)

作者简介: 陈世国(1979-), 男, 博士, 副教授, 硕导, E-mail: chenshg@njau.edu.cn; *通信作者, 教授, 博导, E-mail: wrl@njau.edu.cn。

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2015.05.017

应用引起了残毒药害、导致下茬作物的减产甚至人畜中毒。目前,全世界已经有 100 余种化学除草剂在 30 多个国家被禁用或取消登记。另一方面,过度依赖和长期大量使用单一除草剂,导致了杂草抗药性的产生和发展,使得药效降低、用药量增加、成本提高、也更加重了污染,直接威胁到除草剂的继续使用和农业生产安全^[6]。据最新统计,全球已发现 244 种(142 种双子叶,102 种单子叶)杂草的 447 个生物型对 22 类作用位点的 156 种化学除草剂产生了抗药性^[7]。因此,研制广谱、高效、低毒新型绿色除草剂特别是发展生物除草显得十分迫切。1992 年世界环境与发展大会要求“在 2000 年前全世界生物农药的产量占农药总产量的 60%”。就生物除草而言,虽然目前远未达到这一目标,但努力发展生物除草技术已逐渐成为全球的共识。各国为了响应这一号召,制定了本国的发展战略。美国、欧盟等许多国家,制订了相应的法律法规,严格限制或停止使用一些化学农药,同时大力发展生物农药产业。我国在农业“十三·五”规划中提出了“双减(减化肥和农药)”目标。除草剂在整个农药市场中占比超过 50%,因此,要想顺利实现这个目标,必须想办法大幅降低化学除草剂的用量。而发展生物除草剂是替代和减少化学除草剂的使用并有效控制草害、保证农作物稳产高产、保障食品安全和公众健康的重要基础;是减少化学除草剂残留、消除二次污染、改善农业生态、实现环境安全和农业可持续发展的重要途径;是现代有机农业生产的基本要求和重要保障。

进入 21 世纪,世界各国都在加快发展有机农业。来自国际有机农业联盟的数据显示,1999 - 2009 年,全球有机农业种植面积增长了 3 倍,达到 3700 万 hm^2 ,其中澳大利亚 1200 万 hm^2 ,其次是阿根廷和美国,中国 185 万 hm^2 位居第四。全球的有机农业食品的产值已从 2000 年的 179 亿美元增长到 2009 年的 549 亿美元。2011 年,美国、德国、法国、加拿大、英国、意大利、瑞士、澳大利亚、日本和西班牙已成为全球最大的 10 个有机食品市场。随着中国经济的发展和人民生活水平的提高,有机农产品生产和消费市场显示出巨大的潜力,2010 年总产值为 21.5 亿美元,并正以每年 20% ~ 30% 速度增长。我国中央政府和东南发达地区各级政府已经开始关注和扶持有有机农业发展,一些国际组织如国际农业发展基金、世界绿色和平基金、国际有机食品研究中心、亚洲发展银行、亚太经合组织等也在支持中国有机农业的研发和未来发展^[8]。而以生态、可持续、高效、高附加值为标志的现代有机农业必然要求安全、高效、环保的生物农药。

2 生物除草剂的类型和发展现状

2.1 生物除草剂定义

生物除草剂是指利用自然界中的生物(包括微生物、植物和动物)或其组织、代谢物工业化生产的用于除草的生物制剂。根据美国环保署(Environmental Protection Agency, EPA)对生物农药的定义,生物除草剂可以分为两大类:一类是直接利用完整生物体或者部分活体组织开发的制剂,称为生物除草剂。由于这些产品多数是利用微生物特别是真菌,故亦称微生物除草剂或真菌除草剂;另一类是利用生物的次生代谢产物开发的制剂,称为生物源除草剂或者生物化学除草剂。

2.2 生物除草剂

自然界中植物致病微生物(真菌、细菌、病毒)是开发生物除草剂的重要来源,其中利用最多的是植物病原真菌。目前,有超过 40 个属的真菌已经或者正在被考虑开发成生物除草剂,其中包括刺盘孢菌属 *Colletotrichum*、疫霉属 *Phytophthora*、镰刀菌属 *Fusarium*、交链孢菌属 *Alternaria*、柄锈菌属 *Puccinia*、尾孢霉属 *Cercospora*、叶黑粉菌属 *Entyloma*、壳单孢菌属 *Ascochyta* 和核盘菌属 *Sclerotinia* 等^[9]。大多数的真菌除草剂是选择侵染茎叶的植物病原菌,利用其孢子或者菌丝体制成特定的剂型。细菌性生物除草剂主要是利用活的菌体制成的制剂,来源菌包括假单胞菌属 *Pseudomonas*、肠杆菌属 *Enterobacter*、黄杆菌属 *Flavobacterium*、柠檬酸细菌属 *Citromyces*、无色杆菌属 *Achranobacter*、产碱杆菌 *Alcaligenes* 和黄单胞杆菌 *Xanthomonas* 等^[9,10]。2014 年 12 月,病毒除草剂也研制成功并在美国获得注册登记。但由于这类生物除草剂专一性高、对温度、湿度和土壤等环境条件要求苛刻,加上工业生产流程落后、市场规模小、生产和应用成本高等原因,发展受到了一定的限制。

2.3 生物源除草剂

利用自然界生物中具有生物活性的代谢产物开发新的生物源除草剂是生物除草剂研发的一个重要途径和未来发展方向。因为这类化合物往往具有化学结构新异,作用靶点独特,广谱、低毒、低残留的特点,

且受环境影响较小。另外,相对于开发一个新的化学除草剂产品需要耗时10年、花费约2.5亿美元的财力状况,这种利用天然产物研发新除草剂的方式具有定向性、研制周期短、研发费用相对低廉的优点^[5,6]。

天然活性产物来源主要分为动物来源、植物来源、微生物源等。目前,已经发现醋酸、一些脂肪酸(如辛酸和壬酸等)和许多植物油,如松油(pine oil)、丁香油(clove oil)、柠檬香草油(lemongrass oil)、香茅油(citronella oil)、桉树油(eucalyptus oil)等都具有良好的除草活性,并且成功开发了一些生物除草剂产品^[11]。通过研究天然产物,有针对性地发现除草活性物质,鉴定其结构,开发新的除草剂剂型;同时,借助生物技术方法准确、快速确定化合物关键作用靶标,建立化合物和靶标分子互作模型,进而针对靶标进行分子结构修饰和选择合成更多化合物已成为当前除草剂研发的最新思路^[12]。

2.4 世界生物除草剂发展现状

目前,全球已经成功商业化或正式获得登记的生物除草剂产品有 DeVine、COLLEGO™、Casst™、BioMal™、StumpOut™、Biochon、Camperico、Myco-Tech Paste™、Coltru™、Velgo™、Chontrol™、Smolder™、Sarritor、Fiesta®和 SolviNix® LC 以及双丙氨磷等20余个品种,其中 Biochon、StumpOut、Camperico、双丙氨磷钠和 Myco-Tech Paste 已经成为国际化的产品^[13,14]。这些生物除草剂主要包括利用真菌、细菌甚至病毒活体的产品以及利用天然产物的产品两大类。

根据美国环保署(EPA)的数据,最近10年间在美国登记的生物农药品种大约为100个,其中8个品种是生物除草剂新品种(http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/product_lists/new_ai_2009.html)。除利用烟草花叶病毒 U χ (TMGMV U2) 防除热带刺茄 *Solanum viarum*(www.bioprodex.com) 链格孢菌 *Alternaria destruens* 防除菟丝子 *Cuscutta* spp.、胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* 防除弗吉尼亚田皂角 *Aeschynomene virginica*、以及利用巨口茎点霉 *Phoma macrostoma* 防除草坪阔叶草是病原菌外,另外4个都是微生物次生代谢产物,分别是壬酸铵(ammonium nonanoate)(防除园林景观地杂草)、四水过硼酸钠(sodium perborate tetrahydrate)(防除湖泊、池塘的绿藻)、N-羟乙基乙二胺三乙酸铁(iron HEDTA)(防除草坪中阔叶杂草、苔藓、绿藻)和牛至油(oregano oil)(防除建筑物上苔藓)。2002年至今,加拿大登记注册6个真菌生物除草剂产品^[15]。

来自世界知识产权网的数据显示,20年来美国专利局公布的关于生物除草剂的专利有90个左右,加拿大17个,日本有8个。如须芒草伯克氏菌 *Burkholderia andropogonis* (CA2421373A1, US7141407)、GBPs(葡糖异硫氰酸盐及其降解产物)(WO2009/012485)、柠檬香草油(lemongrass oil)(WO2009/049153A2)、苯并恶嗪酮卤化物类植物毒素(phytotoxic halogenated derivatives of benzoxazinones)(WO2008012385, WO2009010606)、羊茅天然产物间酪氨酸(m-tyrosine)(WO/2006/086474)、链格孢菌毒素-细交链格孢菌酮酸(tenuazonic acid)(WO/2006/079275, JP4982384)及其衍生物(WO/2007/033544, US20080176748A1)等。除了传统的利用真菌和细菌作为原料外,还首次包括了植物病毒。此外,利用植物或微生物代谢物或其衍生物成为生物除草剂重要的开发方向。

植物源生物除草剂主要来源于植物的化感物质。目前,已经报道的能够产生具有除草活性化感物质的植物有2000多种、涉及到30个科。其中,111种植物的化感物质能够被用在43种作物田和11类非耕地中防除78种目标杂草^[16]。这些化感物质主要是一些有机酸、酚类、生物碱、类固醇、单宁、类萜、甾类化合物和醌等。很多植物的化感物质或次生代谢物能够影响植物的萌发、生长及发育、密度和分布,是研发生物除草剂的重要库源之一^[17]。如环庚草醚(cinmethylin)是以植物中提取的桉树脑(cineole)为模板,成功地开发出的一类高效广谱除草剂。该化合物进入抗性植物如水稻、大豆、棉花、花生体内可被代谢成羟基衍生物,并与植物体内的糖苷结合成共轭化合物而失去毒性^[18]。另一个利用植物化感化合物为模板开发除草剂的成功例子是三酮除草剂磺草酮(sulcotrione)和硝磺草酮(mesotrione, 甲基磺草酮),它们是以芳香油纤精酮(leptospermane)为先导化合物开发出来的,纤精酮是P-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase(HPPD)酶的高效抑制剂,用该化合物进行芽前和苗后处理时,可使一些禾本科与阔叶科杂草受害产生白化症状,而玉米对其具有耐性^[19]。此类化合物的研究仍在进行中,并且在磺草酮的基础上又研发了5-羟基吡唑酮类如NC-324、BAS、670H以及异噁唑类如异噁唑草酮和异噁唑草酮等。最近,先正达公司以甲基磺草酮和草甘膦混合剂开发的除草剂 Callisto GT 已经在美国和新西兰获得登记,用于控制长芒苋

Amaranthus palmeri、藜 *Chenopodium album* 和豚草 *Ambrosia artemisia* 等具有对草甘膦抗性的阔叶和禾本科杂草。二苯醚类除草剂三氟羧草醚 (acifluorfen) 源于天然产物莎草茵 (cyperine)。到目前为止,以莎草茵为先导化合物开发的二苯醚类除草剂已有 10 多个品种,其中氯氟草醚 (ethoxyfen-ethyl) 的活性最高^[20]。此外,壬酸是来源于牻牛儿苗科植物的一种有机酸类化合物,能够防除一年生与多年生阔叶杂草。棉花根系分泌物独脚金酮素 (strigol) 是一种醌类化合物,现在已经能够人工合成独脚金酮素及其 5 个类似物,广泛用于防除玉米、高粱、甘蔗田里的独脚金 *Striga asiatica*。迄今为止,研究和报道最多的可用于控草的化感植物是禾本科,如燕麦 *Avena* spp.、马唐 *Digitaria sanguinalis*、羊茅 *Festuca* spp.、大麦 *Hordeum vulgare*、白茅 *Imperata cylindrica*、黑麦草 *Lolium* spp.、水稻 *Oryza sativa*、高粱 *Sorghum* spp.、小麦 *Triticum aestivum* 和玉米 *Zea mays*; 其次是一些豆科和十字花科植物,如大豆 *Glycine max*、苜蓿 *Medicago* spp. 和三叶草 *Trifolium* spp. 等^[21]。

微生物的活性产物包括病毒毒素、细菌毒素和真菌毒素,其中来源于真菌的活性产物最多,目前已经发现了 7 万多种。在自然界中,许多致病真菌尤其是腐生性真菌都能够产生毒素,包括链格孢菌属 *Alternaria*、旋孢腔菌属 *Cochliobolus*、小球腔菌属 *Leptosphaeria*、黑星菌属 *Venturia*、壳二胞菌属 *Ascochyta* 和核腔菌属 *Pyrenophora* 等。其中最主要的种类是链格孢菌属和旋孢腔菌属^[22]。在已经商业化的除草剂中,利用微生物毒素已有许多成功的例子。茴香霉素 (snisomycin) 是第 1 个被作为模板开发商品除草剂的微生物毒素。该毒素是由链霉菌 *Streptomyces toyocaensis* 产生的,对稗草 *Echinochloa crusgalli* 和马唐有较强的除草活性,对芜菁 *Brassica rapa* 和其他阔叶植物没有影响^[23]。后来,以茴香霉素为模板化学合成了两个类似物去草酮 (methoxyphenone) 和 NK049 (4-methoxy-3-3'-dimethylbenophenone), 成功开发成稻田除草剂并已商品化^[24]。双丙氨膦 (bialaphos) 是从链霉菌 *Streptomyces viridochromogenes* 和吸水链霉菌 *Streptomyces hygrosopicus* 中分离出来的次生代谢物,含有一个独特的磷化麦黄酮 (phosphinothricin, PPT) 结构并连接 2 个丙氨酰^[25,26]。在植物体内,双丙氨膦通过丙氨酰基团水解裂解,使活性部分 PPT (L-PPT 天然结构) 即草丁膦 (glufosinate) 释放出来^[27]。双丙氨膦是一个前体除草剂,其在体外无生物活性,L-PP 是其活性部分,是直接利用天然活性化合物开发的除草剂,而草丁膦 (glufosinate) 是在了解了其作用机理后,人工模拟合成的产品。除此以外,还有相当多的微生物代谢产物被研究并显示出优良的开发潜力。例如,由吸水链霉菌 *S. hygrosopicus* 产生的除草霉素 (甲氧苯酮 herbimycin)、由放线菌 *Kitasatosporia phosalacinea* sp. 产生的 phosalacine 是一种类似双丙氨膦的除草物质、由交链孢菌 *Alternaria eichorniae* 产生的毒素 alteichin、来自毛茛草病原菌突脐蠕孢 *Exserohilum holmii* 的 exserohilone 毒素、燕麦病原菌 *Drechslera avenae* 产生的 dihydronyrenophphorin 毒素、由链格孢菌 *Alternaria alternata* 产生的环肽物质 tentoxin、由链霉菌 *Streptomyces mirabilis* 产生的 antibiotic-SF-2494 (除草特性类似于双丙氨膦)、由链霉菌 *Streptomyces* No.6241 产生的 antibiotic No.6214-B、由链球菌 *Streptomyces* sp. OM-5714 产生的 phthoxazolin、链球菌 *S. galilaeus* 产生的 homoalanosin、由假单胞菌 *Pseudomonas syringae* 产生的万寿菊毒素 (tagetoxin)、由二花凤仙花致病型链格孢菌 *Alternaria tenuis* 产生的 maculosin、由狗牙根的病原菌平脐孺孢 *Bipolaris cynodontis* 产生的 bipolaraxin 等^[28], 这些化学结构丰富和生物活性多样的微生物产物为开发全新的除草剂提供了绝佳的机会。

2.5 我国生物除草剂发展状况

我国在 20 世纪 60 年代开发的“鲁保一号”(胶孢炭疽菌防治大豆田菟丝子 *Cuscutta* spp.) 是世界上最早应用于生产实践的生物除草剂之一。20 世纪 80 年代,新疆哈密植物保护站还研制出“生防剂 798”,用于控制西瓜田的列当 *Orobanche* spp.。但由于种种原因,我国目前仍然还没有具有自主知识产权的成功商业化的生物除草剂品种。根据中国专利局的数据统计,近 20 年中国申请的生物除草剂相关专利有约 30 个,占全球的 10% 左右。其中,涉及生防菌的有弯孢霉菌 *Curvularia eragrostidis* (ZL01134002.9)、齐整小核菌 *Sclerotium rolfii* (ZL200910030759.3)、镰刀菌 *Fusarium* spp. (ZL03146132.8)、禾长蠕孢菌 *Helminthosporium gramineum* f. sp. *echinochloa* (ZL02102975.X)、蟋蟀草平脐孺孢菌 *Bipolaris eleusines* (ZL200610155406.2)、胶孢炭疽菌 *Colletotrichum* spp. (ZL00112506.0) 等。而涉及天然产物包括链格孢菌毒素-细交链格孢菌酮酸及其衍生物 (ZL200510038263.2)、蟋蟀草平脐孺孢菌毒素 (ZL200610155406.2)、

萜类 (CN101361482A)、环二肽类化合物 (CN1557961A)、嘧啶氧基水杨酸衍生物 (CN1348955A) 等, 其中不乏具有原创性的专利技术。但是, 我国生物除草剂专利中授权的原创性发明专利的比例还偏低。

近 10 年来, 在国家各级政府部门和科研机构的高度重视下, 尤其在“十一·五”、“十二·五”和国家“863”项目的资助下, 我国已初步建立起了生物除草剂研究的技术体系, 以马唐-画眉草弯孢霉 *C. eragrostidis*^[29]、稗草-新月弯孢霉 *Culvularia lunata*^[30]、稗草-禾长蠕孢菌 *H. gramineum* 和蟋蟀草平脐蠕孢菌株 *B. eleusines*^[31]、加拿大一枝黄花 *Solidago canadensis*-齐整小核菌 *S. rolfsii*^[32]、空心莲子草 *Alternanthera phyloxeroides*-假隔链格孢菌 *Nimbya alternantherae*^[33]、紫茎泽兰 *Ageratina adenophora*-链格孢菌 *A. alternata*^[34] 研究已经取得了系列进展, 特别是紫茎泽兰致病型链格孢菌代谢产物——4-羟-3-乙酰基吡咯啉-2-酮类化合物作用机理和靶标以及模拟合成的研究具有原创性^[35-37]。目前, 已经形成了一批具有自主知识产权的生物除草剂技术成果, 申请国家发明专利 30 余项, 其中, 国际专利 2 项; 获得中国国家发明专利 11 项, 美国和日本国家发明专利各 1 项。已经有数项成果进入商业化发展阶段, 进行农药注册登记的田间药效, 并有望在近期获得正式登记。但是由于这些新的产品没有多少可以借鉴的现存技术, 加之时间和资金的限制, 这些产品尚处于商品化的初期阶段, 实际投入生产应用尚需要进一步完善生产工艺、应用技术等; 针对前期有潜力的自主知识产权的技术, 根据新农药正式登记和商品化生产的要求, 进行深入和升级研究显得十分迫切。总之, 我国生物除草剂研究正在整体进入一个以追求自主创新为特点的快速发展新阶段。

3 生物除草剂未来发展趋势

目前, 全球已经有 20 多个生物除草剂产品登记, 大多是以真菌孢子研制的生物除草剂, 主要是因为真菌孢子的萌发可以主动侵染杂草, 导致杂草染病甚至死亡。不过, 其中也有值得关注的问题, 就是以传统的利用孢子的方式, 可能已经限制了人们研究的思路。而寻求特色和创新, 则是获得成功的关键。特别是最近美国和加拿大获得登记注册的 Sarritor、Fiesta[®] 是利用真菌菌丝, 而 SolviNix[®] LC 利用病毒, 与之前利用细菌研制的 Comperico 均是通过制造杂草的伤口而实现侵染。我们研究室目前正在利用齐整小核菌菌丝研制用于水稻田防除阔叶杂草的生物除草剂, 具有除草、促秸秆腐熟和增加有机质含量的多种效应, 也是属于这类技术^[38]。上述研制的生物除草剂产品, 仍然具有一定的地域性, 但其中也不乏国际化产品, 但总体来讲生物除草剂在杂草防除技术中所占的比重还很低。究其原因主要是生物除草剂本身的生态适应相对较窄, 限制了这些产品在国际上的市场规模。因为, 对于以微生物体或其部分活体组织开发的生物除草剂而言, 要想发挥其产品除草的有效性, 必须满足比较苛刻的环境条件如温度、湿度和土壤条件等。这成为生物除草剂研发和商业化过程中面临的最主要难题。当前, 随着分子生物学技术在生物除草剂研究领域的应用, 对现有产品以及新发现的潜在产品的菌株侵染能力、生态适应的改良起到了极大的推动作用。通过诱变、基因工程等技术对植物病原微生物进行改良, 以增强其致病性和降低其对环境的依赖性, 结合现代工程技术优化产品的生产工艺和剂型, 从而推进生物除草剂产品的成功商业化。科学、技术和商业三者能否很好结合将成为未来生物除草剂研发成败的关键^[39]。

另一方面, 随着人们对转基因抗除草剂技术引起的除草剂市场单一化、抗性问题的关注, 寻找新的类似草甘膦的除草剂产品已经成为现实的需求^[40]。特别是随着分子生物学研究的深入, 除草剂的关键作用靶标逐渐明了, 借助高通量筛选技术, 新一轮大规模除草活性物质的分离筛选评价、针对靶点模拟合成新化合物并进行知识产权保护的行动正在世界主要大公司兴起^[12,41]。国际跨国公司正在世界范围内收集天然产物及任何具有农药生物活性的化合物, 建立大型物质保藏库, 积极抢占未来除草剂研发的高地。显然, 天然除草活性物质、除草作用靶标以及除草相关基因的克隆、功能研究将成为杂草科学甚至生物和化学领域研究的热点^[42,43]。

在自然界中, 植物、微生物的代谢活动过程常常伴随着不同次生代谢产物的身影。这些化学结构多样、生物活性丰富、作用靶点独特的天然产物已经成为生物除草剂开发的一个重要途径和发展方向, 也是当前和未来研发新靶点除草剂的重要库源。同几百种商业除草剂化合物具有大约 20 多个作用靶点相比, 文献的证据表明种类众多的天然产物也拥有更多的分子作用靶点, 这为开发新的生物源除草剂或者以新靶点为

基础合成新除草剂提供了可能^[12,44-46]。

目前,已经发现的天然产物作用机制主要有 9 大类^[12]。抑制氨基酸合成。作用靶点包括谷氨酰胺合成酶(如链霉菌 *Streptomyces* spp.产生的多肽 L-phosphinothricin^[47],以及 phosalacine^[27]、tabtoxinine-b-lactam^[48]和 oxetin^[49])、鸟氨酸氨基甲酰转移酶(如假单胞菌 *P. syringae* 产生的 phaseolotoxin^[50])、色氨酸合成酶(如鸡油菌 *Cantharellus cibarius* 产生的 5-methyl-Trp^[51])、天冬氨酸转氨酶(如链霉菌 *Streptomyces sumanensis* 产生的 gostatin^[52])、胱硫醚- β -裂合酶(如根瘤菌 *Bradyrhizobium* spp.产生的 rhizobitoxine^[53])。

阻断能量传递过程。作用位点有叶绿体 ATP 合成酶的偶联因子 CF1(如链格孢菌 *Alternaria tenuis* 产生的 tentoxin^[54])、光合磷酸化解偶联(如吸水链霉菌 *S. hygroscopicus* 产生的 nigericin^[55])、光系统 II(如细菌 *Stigmatella aurantica* 产生的 stigmatellin^[56]和链格孢菌 *A. alternata* 产生的 tenuazonic acid 等^[12,35])、光系统 I(如链霉菌 *Streptomyces* spp.产生的 pyridazocidin^[57])。抑制光合色素合成。包括叶绿素和类胡萝卜素合成抑制剂。与类胡萝卜素合成有关的靶标蛋白有酪氨酸转氨酶(如桉树脑 cineole 家族的 cinmethylin^[58])、对羟基苯基丙酮酸加氧化酶(HPPD,如灌木 *Leptospermum scoparium* 产生的三酮类化合物 leptospermone^[59]、来自植物的毒素 usnic acid^[60])和脱氧木酮糖-5-磷酸还原酶(如链霉菌 *S. lavendulae* 产生的 fosmidomycin^[61])；叶绿素合成相关靶蛋白谷氨酸-1-半醛转氨酶(如链霉菌 *S. toyocanis* 产生的 gabaculine^[62])和原卟啉原氧化酶(如真菌 *Preussia fleischhakei* 产生的 cyperin^[63])。抑制脂类合成。分子靶点有 β 酮脂酰-ACP合成酶(如诺卡氏菌 *Nocardia* 和链霉菌 *Streptomyces* spp.产生的 thiolactomycin^[64]、头孢霉菌 *Cephalosporium cerulens* 产生的 cerulenin^[65])、烯酰基 ACP 还原酶(如光黑壳菌 *Preussia fleischhakei* 产生的 cyperin^[66])和神经酰胺合成酶(链格孢菌 *A. alternata* 产生的 AAL-toxin^[67]、镰刀菌 *Fusarium* spp. 产生的 fumonisins^[67])。破坏生物膜功能和脂质稳定性。分子靶点包括质膜 ATP 酶(如高粱 *Sorghum bicolor* 产生的 sorgoleone^[68])和胡桃树 *Juglans* spp.产生的 juglone^[69])和 NADH 氧化酶(如壳梭孢菌 *Fusicoccum amygdali* 产生的 fusicoccin 等^[12,70])。而假单胞菌 *P. syringae* 产生的 syringomycin^[71]、平脐孺孢菌 *Bipolaris maydis* 产生的 T-toxin^[72]和植物天竺葵 *Pelargonium* spp.产生的 pelargonic acid^[73]等主要是通过破坏细胞膜的稳定性和完整性来杀死植物组织细胞的。影响基因表达和调控。分子靶点主要是腺苷酸琥珀酸合酶(如吸水链霉菌 *S. hygroscopicus* 产生的 hydantocidin^[74])、异亮氨酸-tRNA 合成酶(如假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* 产生的 pseudomonic acids^[75])、肽脱甲酰基酶(如放线菌 *Actinomyces* sp. MG848-hF6 产生的 actinonin^[76])、蛋白丝氨酸/苏氨酸磷酸酶(如昆虫豆芫菁 *Epicauta* spp.产生的 cantharidin^[77])、RNA 聚合酶(如假单胞菌 *P. syringae* pv. *tagetis* 产生的 tagetitoxin^[78])、氨基肽酶(如放线菌 *Actinomycetes* spp.产生的 bestatin^[79])、赖氨酸去乙酰化酶(如旋孢腔菌 *Cochliobolus carbonum* 产生的 helminthosporium 和 carbonum-toxin^[80])、AMP 脱氨酶(如糖丝菌 *Saccharothrix* spp.产生的 carbocyclic coformycin^[81])和钙调素(如长蠕孢霉菌 *Helminthosporium oryzae* 产生的 ophiobolin A^[82])。影响植物激素的水平。许多天然产物本身就是植物激素的类似物,通过干扰植物体内激素的正常合成从而抑制植物的生长和发育。假单胞菌 *P. syringae* 产生的毒素 coronatine 是一种茉莉酸类似物,通过抑制植物水杨酸免疫途径破坏植物的防卫系统^[83]；来自链霉菌 *S. toyocanis* 的毒素 toyocamycin 能够抑制生长素相关基因的表达,进而影响生长素的生成,另外,自然界中许多微生物本身也会产生生长素^[12,84]；来自根瘤菌 *Bradyrhizobium elkanii* 的毒素 rhizobitoxine 通过抑制 ACC 合成酶进而抑制乙烯的合成^[85]；赤霉菌 *Gibberella fujikuroi* 可以产生多种植物赤霉素类似物；来自杨梅属植物 *Myrica gale* 的毒素 myriganone 通过抑制赤霉素氧化酶活性来破坏植物体内赤霉素的合成、干扰赤霉素信号途径^[86]；许多病原菌如根癌农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* 通过产生细胞分裂素来实现在植物组织上的成功侵染^[12]。破坏细胞结构完整性。一些天然产物通过破坏植物细胞壁完整性、损坏细胞器的结构和功能、破坏微管结构最终破坏细胞的结构。来自柠檬草 *Cymbopogon citratus* 的毒素 xitral 是一种微管聚合抑制剂^[87]；链霉菌 *S. scabies* 产生的毒素 thaxtomin 是一种细胞壁纤维素合成抑制剂,通过与细胞纤维素酶形成复合物抑制其活性^[88]；链格孢菌 *A. carfhami* 产生的毒素 7-Dehydrobrefeldin A 能够影响植物细胞中高尔基体的正常装配^[89]。影响细胞周期。作用靶点包括 DNA 聚合酶(如 *Phoma betae* 产生的毒素 aphidicolin^[90])、核糖核苷酸还原酶(如豆科植物含羞草 *Mimosa pudica* 产生的毒素 mimosine^[91])和蛋白酶体(如链霉菌 *Streptomyces* spp.产生的毒素 lactacystin^[92])。除此之外,

许多天然产物的作用靶点和分子机制仍然是未知的。通常测定一个化合物的靶点是不是已知的除草剂靶点非常容易,但发现和确定一个全新的作用靶点是非常难的。而对于种类众多的天然产物来说,任何靶点都是有可能的。随着现代生物技术的飞速发展,一些新的除草关键性作用靶点也将陆续被发现。这为以天然产物为基础开发新的生物源除草剂或者以新的靶点模拟合成新的化学除草剂提供了绝佳的机会^[12]。

近10年,我国虽然已经形成了一批具有自主知识产权的生物除草剂技术成果,但还没有成功商业化的生物除草剂品种。因此,大量收集各种植物或微生物代谢物,进行除草活性筛选、作用靶点研究、构建天然产物与靶点互作分子模型、分析其化学结构、作用靶点和除草活性的关系,成功开发一些新的具有自主知识产权的生物源除草剂,成为我国能否在国际生物除草剂研发领域占有一席之地之关键。

4 我国未来生物除草剂发展目标和建议

我国生物除草剂的发展必须面向现代有机农业生产需要,瞄准针对主要作物农田恶性杂草、重大入侵杂草、林地杂草、水生杂草的国际生物除草剂研发的前沿,立足国内在生物除草剂技术方面的重大需求,开阔思路,改变和创新研究方法,创制具有我国自主知识产权的生物除草剂技术和产品。下一步我国生物除草剂发展的思路和重点应该是:改变主要关注真菌孢子的研究思路,将杂草天敌范围扩大到病毒、细菌以及线虫等其他微生物,还应关注利用真菌的菌丝等繁殖体的研究等;继续对前期已经进入商业化和具有较好商品化潜力的产品及技术进行跟踪研究,进一步完善低成本高效规模化生产工艺和应用技术,尽快使1~2个产品成功商品化,填补我国没有生物除草剂的空白,并推动其扩大应用规模;针对生物除草剂发展过程中的关键环节,开展菌草相互作用机制的深入研究,研究发掘新颖生物源化合物结构、除草作用机制和靶标,明确重点除草活性物的生物合成途径及关键代谢基因的功能,阐明致病菌与杂草相互作用机制,发掘利用生物除草关键基因资源;研制和发展生物除草剂生产工艺、新剂型及应用技术,最终克服生物除草剂产品发展的成本与环境制约因素。

参 考 文 献

- [1] Powles S B, Yu Q. Evolution in action: plants resistant to herbicide[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61: 317-347.
- [2] Fedtke C, Duke S O. Herbicide//Hock B, Elstner E F, eds. *Plant Toxicology* (4th ed)[M]. New York: Marcel Dekker Press, 2005, 247-330.
- [3] Duke S O, Powles S B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide[J]. *Pest Management Science*, 2008, 64(4): 319-325.
- [4] Prado J R, Segers G, Voelker T, et al. Genetically engineered crops: from idea to product[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2014, 65: 769-790.
- [5] Czaja K, Góralczyk K, Struciński P, et al. Biopesticides - towards increased consumer safety in the European Union[J]. *Pesticide Management Science*, 2015, 71(1): 3-6.
- [6] Green J M. Current state of herbicides in herbicide-resistant crops[J]. *Pesticide Management Science*, 2014, 70(9): 1351-1357.
- [7] Heap I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds[DB]. <http://www.weedscience.org>, 27 February 2015.
- [8] Willer H, Kilcher L. The world of Organic Agriculture//Statistics and Emerging Trends[M]. FiBL and Frick: IFOAM Bonn, 2011.
- [9] 王利, 朱朝华. 生物除草剂研究进展[J]. *广西热带农业*, 2008, 1: 15-17.
- [10] 马娟, 董金皋. 微生物除草剂与生物安全[J]. *植物保护*, 2006, 32(1): 9-12.
- [11] Dayan F E, Cantrell C L, Duke S O. Natural products in crop protection[J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2009, 17(12): 4022-4034.
- [12] Dayan F E, Duke S O. Natural compounds as next-generation herbicides[J]. *Plant Physiology*, 2014, 166(3): 1090-1105.
- [13] 强胜, 陈世国. 生物除草剂研发现状及其面临的机遇与挑战[J]. *杂草科学*, 2011, 29(1): 1-6.
- [14] Dagno K, Lahlali R, Diourté M, et al. Present status of the development of mycoherbicides against water hyacinth: successes and challenges. A review[J]. *Biotechnologie Agronomie Societe et Environnement*, 2012, 16(3): 360-368.
- [15] Bailey K L, Boyetchko S M, Langle T. Social and economic drivers shaping the future of biological control: a Canadian perspective on the factors affecting the development and use of microbial biopesticides[J]. *Biological Control*, 2010, 52(3): 221-229.
- [16] Qasem J R. Applied allelopathy in weed management: an update//Cheema Z A, Farooq M, Wahid A, eds. *Allelopathy (Current Trends and Future Applications)*[M]. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 2013, 251-297.
- [17] Céspedes C L, Salazar J R, Ariza-Castolo A, et al. Biopesticides from plants: *Calceolaria integrifolia* s.l.[J]. *Environmental Research*, 2014, 132:

- 391-406.
- [18] Grayson B T, Williams K S, Freehauf P A, *et al.* The physical and chemical properties of the herbicide cinmethylin (SD 95481)[J]. *Pesticide Science*, 1987, 21: 143-153.
- [19] Mitchell G, Bartlett D W, Fraser T E M, *et al.* Mesotrione, a new selective herbicide for use in maize[J]. *Pesticide Management Science*, 2001, 57(2): 120-128.
- [20] 苏少泉. 除草剂作用靶标与新品种创制[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001, 162-192.
- [21] Narwal S S, Haouala R. Role of allelopathy in weed management for sustainable agriculture//Cheema Z A, Farooq M, Wahid A, eds. *Allelopathy (Current Trends and Future Applications)*[M]. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 2013, 217-249.
- [22] Friesen T L, Faris J D, Solomon P S, *et al.* Host-specific toxins: effectors of necrotrophic pathogenicity[J]. *Cellular Microbiology*, 2008, 10(7): 1421-1428.
- [23] Yamada O, Kalse Y, Futatsuya F, *et al.* Studies on plant growth-regulating activities of anisomycin and toyocamycin[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1972, 36(12): 2013-2015.
- [24] Yamada O, Ishida S, Futatsuya F, *et al.* Plant growth regulating activities of 4-methoxydiphenylmethanes and their related compounds[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1974, 38(6): 1235-1240.
- [25] Bayer E, Gugel K H, Hagele K, *et al.* Stoffwechselprodukte von mikroorganismen. 98. Mitteilung. phosphinothricin und phosphinothricyl-alanyl-alanin[J]. *Helvetica Chimica Acta*, 1972, 55(1): 224-239.
- [26] Omura S, Iwai Y, Takahashi Y, *et al.* Herbimycin, a new antibiotic produced by a strain of *Streptomyces*[J]. *The Journal of Antibiotics*, 1979, 32(4): 255-261.
- [27] Omura S, Murata M, Hanaki H, *et al.* Phosalacine, a new herbicidal antibiotic containing phosphinothricin. Fermentation, isolation, biological activity and mechanism of action[J]. *The Journal of Antibiotics*, 1984, 37(8): 829-835.
- [28] 吴文君, 高希武. 生物农药及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004, 73-153.
- [29] Zhu Y, Qiang S. Isolation, pathogenicity and safety of *Curvularia eragrostidis* isolate QZ-2000 as a bioherbicide agent for large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*)[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2004, 14(8): 769-782.
- [30] 韦韬, 李静, 倪汉文. 稗草生防菌新月弯孢菌株 J15 (2) 的生物学特性[J]. *中国生物防治*, 2009, 25(1): 54-59.
- [31] Geng R, Zhang J, Yu L. *Helminthosporium gramineum* Rabehn f. sp. *echinochloae* conidia for biological control of barnyardgrass[J]. *Weed Science*, 2009, 57(5): 554-561.
- [32] Tang W, Zhu Y, He H, *et al.* First report of southern blight on Canadian goldenrod (*Solidago canadensis*) caused by *Sclerotium rolfsii* in China[J]. *Plant Disease*, 2010, 94(9): 1172.
- [33] 聂亚锋, 陈志谊, 刘永锋, 等. 假隔链格孢 SF-193 的产孢特性及其分生孢子对空心莲子草的致病力[J]. *中国生物防治*, 2009, 25(3): 260-266.
- [34] Qiang S, Zhu Y, Summerell B, *et al.* Mycelium of *Alternaria alternata* as a potential biological control agent for *Eupatorium adenophorum*[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2006, 16(7): 653-668.
- [35] Chen S, Xu X, Dai X, *et al.* Identification of tenuazonic acid as a novel type of natural photosystem II inhibitor binding in Q_B-site of *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2007, 1767(4): 306-318.
- [36] Chen S, Yin C, Qiang S, *et al.* Chloroplastic oxidative burst induced by tenuazonic acid, a natural photosynthesis inhibitor, triggers cell necrosis in *Eupatorium adenophorum* Spreng[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2010, 1797(3): 391-405.
- [37] Chen S, Kim C, Lee J, *et al.* Blocking the Q_B-binding site of photosystem II by tenuazonic acid, a non-host-specific toxin of *Alternaria alternata*, activates singlet oxygen-mediated and EXECUTER-dependent signaling in *Arabidopsis*[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2015, 38(6): 1069-1080.
- [38] Tang W, Zhu Y, He H, *et al.* Field evaluation of *Sclerotium rolfsii*, a biological control agent for broadleaf weeds in dry, direct-seeded rice[J]. *Crop Protection*, 2011, 30(10): 1315-1320.
- [39] Ash G J. The science, art and business of successful bioherbicides[J]. *Biological Control*, 2010, 52(3): 230-240.
- [40] 强胜, 宋小玲, 戴伟民. 抗除草剂转基因作物面临的机遇与挑战及其发展策略[J]. *农业生物技术学报*, 2010, 18(1): 114-125.
- [41] Seiber J N, Coats J, Duke S O, *et al.* Biopesticides: state of the art and future opportunities[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(48): 11613-11619.
- [42] Dayan F E, Duke S O, Grossmann K. Herbicides as probes in plant biology[J]. *Weed Science*, 2010, 58(3): 340-350.

- [43] Duke S O. Herbicide and pharmaceutical relationships[J]. *Weed Science*, 2010, 58(3): 334-339.
- [44] Duke S O, Dayan F E, Rimando A M, *et al.* Chemicals from nature for weed management[J]. *Weed Science*, 2002, 50(2): 138-151.
- [45] Duke S O, Baerson S R, Dayan F E, *et al.* United states department of agricultural research service research on natural products for pest management[J]. *Pest Management Science*, 2003, 59(6-7): 708-717.
- [46] Duke S O. Why have no new herbicide modes of action appeared in recent years?[J] *Pesticide Management Science*, 2012, 68(4): 505-512.
- [47] Lydon J, Duke S O. Inhibitors of glutamine synthesis//Singh B K, ed. *Plant Amino Acids*[M]. 1999, 445-464. New York: Marcel Dekker.
- [48] Thomas M D, Langston-Unkefer P J, Uchytel T F, *et al.* Inhibition of glutamine synthetase from pea by tabtoxinine- β -lactam[J]. *Plant Physiology*, 1983, 71(4): 912-915.
- [49] Omura S, Murata M, Imamura N, *et al.* Oxetin, a new antimetabolite from an actinomycete: fermentation, isolation, structure and biological activity[J]. *The Journal of Antibiotics*, 1984, 37: 1324-1332.
- [50] Templeton M D, Reinhardt L A, Collyer C A, *et al.* Kinetic analysis of the L-ornithine transcarbamoylase from *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* that is resistant to the transition state analogue (*R*)-N⁶-(*N*'-sulfodiaminophosphinyl)-L-ornithine[J]. *Biochemistry*, 2005, 44(11): 4408-4415.
- [51] Hsiao P, Sanjaya S, Su R C, *et al.* Plant native tryptophan synthase beta 1 gene is a non-antibiotic selection marker for plant transformation[J]. *Planta*, 2007, 225(4): 897-906.
- [52] Nishino T, Murao S, Wada H. Mechanism of inactivation of pyridoxal phosphate-linked aspartate transaminase by gostatin[J]. *The Journal of Biochemistry*, 1984, 95: 1283-1288.
- [53] Giovanelli J, Owens L D, Mudd S H. β -Cystathionase *in vivo* inactivation by rhizobitoxine and role of the enzyme in methionine biosynthesis in corn seedlings[J]. *Plant Physiology*, 1973, 51(3): 492-503.
- [54] Groth G. Structure of spinach chloroplast F1-ATPase complexed with the phytopathogenic inhibitor tentoxin[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(6): 3464-3468.
- [55] Shavit N, San Pietro A. K⁺-dependent uncoupling of photophosphorylation by nigericin[J]. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 1967, 28(2): 277-283.
- [56] Oettmeier W, Godde D, Kunze B, *et al.* Stigmatellin: a dual type inhibitor of photosynthetic electron transport[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1985, 807(2): 216-219.
- [57] Gerwick B C, Fields S S, Graupner P R, *et al.* Pyridazocidin, a new microbial phytotoxin with activity in the Mehler reaction[J]. *Weed Science*, 1997, 45: 654-657.
- [58] Grossmann K, Hutzler J, Tresch S, *et al.* On the mode of action of the herbicides cinmethylin and 5-benzoyloxymethyl-1,2-isoxazolines: putative inhibitors of plant tyrosine aminotransferase[J]. *Pesticide Management Science*, 2012, 68(3): 482-492.
- [59] Dayan F E, Duke S O, Sauldubois A, *et al.* *p*-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase is a herbicidal target site for β -triketones from *Leptospermum scoparium*[J]. *Phytochemistry*, 2007, 68(14): 2004-2014.
- [60] Romagni J G, Meazza G, Nanayakkara N P D, *et al.* The phytotoxic lichen metabolite, usnic acid, is a potent inhibitor of plant *p*-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase[J]. *FEBS Letters*, 2000, 480(2): 301-305.
- [61] Kuzuyama T, Shimizu T, Takahashi S, *et al.* Fosmidomycin, a specific inhibitor of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase in the nonmevalonate pathway for terpenoid biosynthesis[J]. *Tetrahedron Letters*, 1998, 39(43): 7913-7916.
- [62] Kahn A, Kannangara C G. Gabaculine-resistant mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* with elevated glutamate 1-semialdehyde aminotransferase activity[J]. *Carlsberg Research Communications*, 1987, 52(1): 73-81.
- [63] Harrington P M, Singh B K, Szamosi I T, *et al.* Synthesis and herbicidal activity of cyperin[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43: 804-808.
- [64] Price A C, Choi K H, Heath R J, *et al.* Inhibition of β -ketoacyl-acyl carrier protein synthases by thiolactomycin and cerulenin: structure and mechanism[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276: 6551-6559.
- [65] Feld A, Kobek K, Lichtenthaler H K. Inhibition of fatty-acid biosynthesis in isolated chloroplasts by the antibiotics cerulenin and thiolactomycin[J]. *Brighton Crop Protection Conference Weeds*, 1989, 2: 479-486.
- [66] Dayan F E, Ferreira D, Wang Y, *et al.* A pathogenic fungus diphenyl ether phytotoxin targets plant enoyl (acyl carrier protein) reductase[J]. *Plant Physiology*, 2008, 147(3): 1062-1071.
- [67] Abbas H K, Tanaka T, Duke S O, *et al.* Fumonisin- and AAL-toxin-induced disruption of sphingolipid metabolism with accumulation of free sphingoid

- bases[J]. *Plant Physiology*, 1994, 106(3): 1085-1093.
- [68] Hejl A M, Koster K L. The allelochemical sorgoleone inhibits root H⁺-ATPase and water uptake[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2004, 30(11): 2181-2191.
- [69] Hejl A M, Koster K L. Juglone disrupts root plasma membrane H⁺-ATPase activity and impairs water uptake, root respiration, and growth in soybean (*Glycine max*) and corn (*Zea mays*)[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2004, 30(2): 453-471.
- [70] Gomasasca S, Vannini C, Venegoni A, *et al.* A mutant of *Arabidopsis thaliana* with a reduced response to fusaric acid[J]. *Plant Physiology*, 1993, 103(1): 165-170.
- [71] Schagina L V, Kaulin Y A, Feigin A M, *et al.* Properties of ionic channels formed by the antibiotic syringomycin E in lipid bilayers: dependence on the electrolyte concentration in the bathing solution[J]. *Membrane and Cell Biology*, 1998, 12(4): 537-555.
- [72] Levings S S, Rhoads D M, Siedow J N. Molecular interactions of *Bipolaris maydis* T-toxin and maize[J]. *Canadian Journal of Botany*, 1995, 73(S1): 483-489.
- [73] Coleman R, Penner D. Desiccant activity of short chain fatty acids[J]. *Weed Technology*, 2006, 20(2): 410-415.
- [74] Siehl D L, Subramanian M V, Walters E W, *et al.* Adenylosuccinate synthetase: site of action of hydantocidin, a microbial phytotoxin[J]. *Plant Physiology*, 1996, 110: 753-758.
- [75] Clinch K. Synthesis of analogues of monic acids A and C: potential herbicides and inhibitors of isoleucyl tRNA synthetase[J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 1996, 6: 467-472.
- [76] Hou C X, Dirk L M A, Pattanaik S, *et al.* Plant peptide deformylase: a novel selectable marker and herbicide target based on essential cotranslational chloroplast protein processing[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2007, 5(2): 275-281.
- [77] Bajsa J, Pan Z, Dayan F E, *et al.* Validation of serine-threonine protein phosphatase as the herbicide target site of endothall[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2011, 102(1): 38-44.
- [78] Mathews D E, Durbin R D. Tagetitoxin inhibits RNA synthesis directed by RNA polymerases from chloroplasts and *Escherichia coli*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1990, 265(1): 493-498.
- [79] Umezawa H, Aoyagi T, Suda H, *et al.* Bestatin, an inhibitor of aminopeptidase B, produced by actinomycetes[J]. *The Journal of Antibiotics*, 1976, 29: 97-99.
- [80] Meeley R B, Walton J D. Enzymatic detoxification of HC-toxin, the hostselective cyclic peptide from *Cochliobolus carbonum*[J]. *Plant Physiology*, 1991, 97(3): 1080-1086.
- [81] Dancer J E, Hughes R G, Lindell S D. Adenosine-5'-phosphate deaminase: a novel herbicide target[J]. *Plant Physiology*, 1997, 114(1): 119-129.
- [82] Leung P C, Taylor W A, Wang J, *et al.* Role of calmodulin inhibition in the mode of action of ophiobolin A[J]. *Plant Physiology*, 1985, 77(2): 303-308.
- [83] Block A, Schmelz E A, Jones J B, *et al.* Coronatine and salicylic acid: the battle between *Arabidopsis* and *Pseudomonas* for phytohormone control[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2005, 6(1): 79-83.
- [84] Hayashi K I, Kamio S, Oono Y, *et al.* Toyocamycin specifically inhibits auxin signaling mediated by SCF^{TRR1} pathway[J]. *Phytochemistry*, 2009, 70(2): 190-197.
- [85] Yasuta T, Satoh S, Minamisawa K. New assay for rhizobitoxine based on inhibition of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(2): 849-852.
- [86] Oracz K, Voegelé A, Tarkowská D, *et al.* Myriganone A inhibits *Lepidium sativum* seed germination by interference with gibberellin metabolism and apoplastic superoxide production required for embryo extension growth and endosperm rupture[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2012, 53(1): 81-95.
- [87] Chaimovitsh D, Abu-Abied M, Belausov E, *et al.* Microtubules are an intracellular target of the plant terpene citral[J]. *The Plant Journal*, 2010, 61(3): 399-408.
- [88] Bischoff V, Cookson S J, Wu S, *et al.* Thaxtomin A affects CESA-complex density, expression of cell wall genes, cell wall composition, and causes ectopic lignification in *Arabidopsis thaliana* seedlings[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(3): 955-965.
- [89] Driouich A, Jauneau A, Staehelin L A. 7-Dehydrobrefeldin A, a naturally occurring brefeldin A derivative, inhibits secretion and causes a cis-to-trans breakdown of Golgi stacks in plant cells[J]. *Plant Physiology*, 1997, 113(2): 487-492.
- [90] Ikegami S, Taguchi T, Ohashi M, *et al.* Aphidicolin prevents mitotic cell division by interfering with the activity of DNA polymerase- α [J]. *Nature*, 1978, 275(5679): 458-460.
- [91] Perennes C, Qin L, Glab N, *et al.* *Petunia* p34^{cdc2} protein kinase activity in G2/M cells obtained with a reversible cell cycle inhibitor, mimosine[J]. *FEBS Letters*, 1993, 333(1-2): 141-145.
- [92] Planchais S, Glab N, Inzé D, *et al.* Chemical inhibitors: a tool for plant cell cycle studies[J]. *FEBS Letters*, 2000, 476(1-2): 78-83.