



评述

我国绿色农药研究现状及发展建议

袁治理, 叶文武, 侯毅平*, 王源超*

南京农业大学植物保护学院, 南京 210095

* 联系人, E-mail: houyiping@njau.edu.cn; wangyc@njau.edu.cn

收稿日期: 2023-09-14; 接受日期: 2023-10-19; 网络版发表日期: 2023-11-02

中国科学院学部咨询评议项目(批准号: 2019-SM01-B-020)、国家自然科学基金(批准号: 32020103012)和国家现代农业产业技术体系建设项目(批准号: CARS-004)资助

摘要 农药是保障粮食安全的战略性物资, 但农药的不合理使用造成了农产品质量和生态环境安全等重大问题. 绿色农药是根据绿色化学理念, 采用环境友好的绿色原料, 生产开发的更安全的农药. 近年来, 我国在绿色农药领域的研究实现了多个突破, 极大提高了我国绿色农药原始创新能力, 促进了我国农药产业的可持续发展. 然而, 我国农药产业的发展仍面临着诸多挑战. 本文介绍了农药产业的国内外发展现状, 绿色农药创制的研究进展和我国在农药产业上面临的问题, 并从不同的角度提出了相应的建议.

关键词 绿色农药, 新农药创制, 有害生物绿色防控

农业是我国国民经济的基础, 农药是保障农业生产的重要生产资料, 也是一个需要科学使用和特定管理的特殊生产资料. 农药广泛应用于农业、林业、卫生等多个领域的有害生物控制, 是现代农业生产的重要物质支撑, 其作用和地位突出. 我国现已逐步形成了较为完整的农药工业体系, 并发展成为全球最大的农药生产国和出口国. 全球市场约有70%的农药原药在中国生产. 据国家统计局统计, 2022年我国农药产量249.7万吨(折百), 对外出口240万吨(实物量), 同比增长30%, 对外出口比例高达85%, 贸易总额约为220亿美元, 同比增长30%以上. 全球市场约有70%的农药原药在中国生产.

党的十八大以来, 党中央国务院高度重视农业的绿色发展, 绿色农业也成为我国农业现代化发展的导

向. 然而, 我国农业面源污染和生态退化的趋势尚未有效遏制, 绿色优质农产品和生态产品供给还不能满足人民群众日益增长的需求. 其中, 农作物病虫害防治过程中过度使用化学农药所导致的病虫害抗性增加、农药残留超标、环境污染严重等问题仍然严峻. 因此, 亟待创制绿色农药、发展农作物病虫害绿色防控技术, 保护我国粮食安全和农产品质量, 保障人民健康和生态安全, 助力质量兴农、绿色兴农及农业的可持续发展.

1 世界农药产业发展现状

1.1 农药在我国国民经济中的重要性和特殊地位

(1) 农药在有效防控病虫等生物灾害、保障粮食

引用格式: 袁治理, 叶文武, 侯毅平, 等. 我国绿色农药研究现状及发展建议. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 1643–1662

Yuan Z L, Ye W W, Hou Y P, et al. Current situation and the development of green pesticides in China (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 1643–1662, doi: 10.1360/SSV-2023-0218

安全等方面不可替代。我国人多地少水资源短缺,耕地利用强度大,农作物复种指数高,病虫害多发、重发、频发。据全国农业技术推广服务中心调查,在我国农作物上常年发生的有害生物高达1700多种,其中有100种造成了严重危害,特别是小麦赤霉病、马铃薯晚疫病、稻飞虱、草地贪夜蛾等重大迁飞性、流行性病虫害此起彼伏,严重威胁着粮食安全。化学防治,即使用化学农药防治病虫害在农业生产中的作用和地位至今仍然无法替代,即使是现代生物育种技术(包括转基因技术)也离不开农药的使用,仅可优势互补,相互协同。新中国成立前农药十分缺乏,病虫害发生严重,农业歉收的教训十分深刻。据联合国粮农组织测算,使用农药平均每年可挽回30%~40%的粮食损失。我国农药的发展对保障粮食安全做出了重要贡献。据全国农业技术推广服务中心统计,我国农作物重大病虫害平均防治面积近五年来达80亿亩次,每年可挽回粮食损失2000亿斤左右,约占粮食总产量的1/6。随着病虫害的专业化防治大面积推广,以及农业的机械化、规模化发展,农药在农业中的地位更加突出。同时,农药在保障果蔬等农产品生产和林业、草业、卫生等病虫害防控方面也发挥着重要的作用。

(2) 农药的安全使用对控制农残污染、保障农产品质量安全至关重要。我国是一个人口大国,粮食安全面临着巨大的挑战和压力,化学农药成为保障粮食安全不可或缺的基本生产资料,为农业高质量发展做出了不可磨灭的贡献。作为一个科技产品,农药在实现粮食稳产增产中发挥着巨大作用,但它也是一把双刃剑:安全科学使用能够有效提高粮食产量,保障粮食安全;使用不当则会造成农药残留超标和环境污染等负面问题,影响农产品质量安全。比如,曾经引发社会广泛关注的“毒豇豆”“毒西瓜”“毒韭菜”等问题事件都是因违规使用农药导致残留严重超标造成的。近年来,在实施一系列措施后,包括禁限用高毒农药、推进科学用药、完善农残标准体系等,农残污染得到了有效控制。近几年的农残例行监测结果显示,蔬菜、水果、茶叶的农药残留合格率都超过97%。这充分说明,农药可以被管好用好,而且管好用好农药事关农产品质量和舌尖上的安全。

(3) 农药在化工产业链中具有特殊的地位,是国民经济的重要组成部分。我国农药工业起始于20世纪50年代初期,当时农药供给不足,需要依赖进口。经过70

多年的发展,目前我国已发展成为全球第一大农药生产国和出口国,建成了从农药创制、原药生产到制剂加工等一系列完整的农药产业体系,可生产700多种农药有效成分,年产量200多万吨(折百)。近5年来,我国平均每年有占农药产量70%的产品出口到全球,年均出口额达80亿美元^[1,2]。据统计,2022年我国农药贸易总额约为220亿美元,同比增长30%以上,仅2023年第一季度我国农药出口金额达42.35亿美元^[3]。总之,农药产业是国民经济的重要组成部分,其发展对保障农产品质量安全、国家粮食安全、生态环境安全和公共卫生健康安全均具有重要的作用。

1.2 农药产业发展现状

农药需求刚性,提高农作物产量,保障人类需求,其市场规模持续增长。根据Phillips McDougall(注:现为标普全球大宗商品洞察, S&P Global Commodity Insights)统计,2022年全球农药销售额达877亿美元,同比增长9.2%,其中,作物用农药市场规模787.15亿美元,同比增长9.9%,占比接近九成。除草剂市场为371.50亿美元,占比47.20%,同比增长13.9%;杀虫剂市场为196.55亿美元,占比24.97%,同比增长6.3%;杀菌剂市场为196.46亿美元,占比24.96%,同比增长7.4%。2022年全球主要作物用农药消费市场为亚太(250.82亿美元, 31.86%)、拉美(220.69亿美元, 28.04%)、欧洲(157.15亿美元, 19.96%)。巴西依然是全球第一大农药市场,其次是美国、中国、日本和印度, TOP10国家占据总市场的70.28%。未来五年消费复合增速较快的国家主要是阿根廷(4.9%)、巴西(4.2%)、墨西哥(4.2%)、加拿大(3.5%)、西班牙(3%)、中国(2.8%)^[4]。据Phillips McDougall统计,2018年,有六家公司在全球农药市场份额超过5%的,分别为拜耳(20.3%)、先正达(18.1%)、巴斯夫(12.2%)、科迪华(10.9%)、富美实(7.4%)、安道麦(6.3%), CR6市占率为75.2%, CR10市占率高达91.5%。2019年,拜耳(18%)、先正达(17%)、巴斯夫(11%)、科迪华(10%)四大巨头共占据了全球56%的农药市场份额(销售口径)。2013年、2017年、2018年、2019年CR10分别为76.2%, 84.8%, 91.5%, 94.1%, 不到10%的主要企业瓜分全球90%以上的市场和利润。

我国农药产业起步较晚,但发展迅速,产量从1983年的33万吨上升至2014~2016年的370万吨以上,成为

全球第一大农药生产国. 2021年, 在全球领先的50家农药公司中, 中国公司就占据27席, 超过半数. 据中国农药工业协会统计, 截至2022年底, 我国处于有效登记状态的农药有效成分达751个, 产品44811个, 其中大田用农药41935个, 卫生用农药2876个, 与2021年同比增加了0.47%. 自2017年修订的《农药管理条例》发布实施以来, 受环保督察和企业限产等影响, 我国农药产量呈下滑态势, 由2016年的377.8万吨下降至2022年的249.7万吨(国家统计局数据). 2018年农药原药产量208.3万吨, 同比-29.3%(统计局-9.5%); 2019年1~5月份产量86.6万吨, 同比-21.9%, 持续下滑. 2018年农药原药对外出口149万吨, 同比-8.6%, 对外出口比例71.5%; 2019年1~5月份对外出口67万吨, 同比+1.5%, 对外出口比例77.4%; 2022年农药原药对外出口240万吨(实物量), 同比增长30%, 对外出口比例高达85%. 2019年中国农药出口量前1、2和4位分别为巴西26.9万吨(15.20亿美元)、美国14.7万吨(13.74亿美元)和阿根廷6.4万吨(4.28亿美元), 出口量分别达到该国家农药使用量的73%、36%和45%. 农药“四巨头”每年在中国采购15万吨左右的农药, 九成以上为原药.

随着居民温饱问题的解决和生活质量的提高, 人们开始追求吃得营养、吃得健康, 这促进了农业的绿色高质量发展和优质农药的使用. 一方面, 在有机、绿色、地理标志等优质农产品生产中需要优质农药; 另外, 随着农业生产规模和新型经营主体的不断发展, 也需要能满足多元化需求的优质农药. 中国海关数据显示, 2016~2021年中国农药进口数量总体呈上升趋势, 其中2021年农药进口共计10.4万吨, 说明我国对于高价优质进口农药的需求一直稳定.

目前, 我国农药产业仍面临着大而不强, 生产布局不合理, 产业聚集度低的问题, 突出表现在“三多”: 一, 企业数量多. 目前我国农药企业达1700多家, 企业多小散的特点明显. 根据中国农药工业协会统计, 2023年全国农药销售百强企业入围门槛为6.62亿元, 其中有77家企业的销售额超过10亿. 二, 老旧品种多. 目前生产、使用超过15年的老旧农药产量占农药总产量的80%以上, 占农药品种的70%左右. 很多农药在多年的使用中产生了严重的有害生物抗性, 导致药效降低和用药量增加, 也加大了残留和环境等安全风险. 三, 同质化产品多, 平均一个农药有效成分就有60多个产品登记, 90%是仿制国外专利过期的产品, 而我国

自主创新的产品不多(约50多个). 由此可见, 全面推进农药产业转型升级和高质量发展的任务重、难度大.

1.3 绿色农药创制的研究进展

(1) 绿色农药创制和应用情况. 人们生活水平的提高和对美好生活与良好生态环境的向往, 对农药的发展提出了新要求, 绿色农药应运而生. 自2015年起, 农业农村部按照党中央部署, 大力推进质量兴农、绿色兴农, 深入开展农药使用量零增长行动, 推进农药减量增效, 近年来取得了可喜的成效, 农药用量连年负增长. 然而, 我国农药的使用量仍然可观. 据联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)数据显示, 2021年我国农业用农药量24.48万吨(折百), 其中, 杀虫剂6.61万吨、杀菌剂6.41万吨、除草剂10.15万吨, 杀鼠剂不足0.01万吨. 农药的发展与农业的绿色发展密切相关, 这推动我们推动农药绿色发展, 践行新发展理念提出了更高要求. 绿色农药已成为现代农业生产和农业经济发展中不可或缺的重要组成部分, 是关系粮食安全、生态安全的重大战略物资, 在防治各种农作物病虫害, 保障农产品产量和质量安全方面具有不可忽视的作用. 创制高效、低毒、环境友好型绿色农药是推进绿色兴农、农药减量增效的必由之路.

2002年9月初, 以“绿色农药的分子设计及化学生物学”为主题的第188次香山科学会议在北京举行, 与会者讨论了绿色农药研发的未来趋势和挑战, 提出了“绿色农药”概念, 即对环境友好、高效安全的化学农药和生物农药, 并鼓励科学家开始绿色农药创新. 结合“绿色化学”和“绿色工程”的定义, 提出了“绿色农药”的定义^[5]: (i) 高活性. 用量低, 对靶标具有超高活性. (ii) 强选择性. 对有益生物低毒或无毒性. (iii) 低风险. 不影响正在生长的植物或农作物. (iv) 无残留. 易降解为无毒物质, 农产品或环境中无残留. (v) 清洁生产. 起始原料无毒且在生产过程中不产生废物.

一直以来, 以拜耳、先正达、巴斯夫、科迪华等领衔的跨国集团通过兼并重组, 不断强化其在全球农药产业的垄断效应和领先地位, 凭借技术、资金、市场三方面的优势积累, 引领着全球绿色农药创制的前沿, 在农药创制方面不断取得新的进展和突破. 近20年来, 国际上针对20个靶标开发了56种绿色农药, 其

中不少品种都具有性能优异和生态安全的特性, 可作为长远储备农药。近期上市的20多个绿色农药中, 虽然大多数品种仍以传统的作用靶标和作用位点为主, 但也出现了不少作用机制新颖的农药或者新靶标农药, 如双丙环虫酯(作用于香草酸瞬时受体通道复合物^[6])、双清茉莉酸酮酯(作用于茉莉酸受体^[7])、氟噻唑吡乙酮(作用于氧化固醇结合蛋白^[8])等。

近20年来, 我国科学家在国家自然科学基金委员会、农业农村部 and 科学技术部等相关部门的大力支持下, 以作物健康为中心, 绿色发展和农药减量为前提, 围绕农作物重大病虫害, 先后创制并登记了50余个绿色农药和生物农药, 并结合我国病虫害的发生特点构建了一套有效的应用体系^[9,10]。在杀菌剂和抗病毒剂创制方面, 我国开展以超高效、调控和免疫为特征的分子靶标导向的新型杀菌剂和抗病毒剂创新研究。针对水稻、蔬菜和烟草等主要农作物上的病害, 建立基于分子靶标的筛选模型, 开展杀菌剂和抗病毒剂作用靶标及反应机理研究, 提出了基于杀菌剂和抗病毒剂靶标发现先导的新思路, 创制出毒氟磷、丁吡吗、氟唑活化酯、丁香菌酯、氰烯菌酯、氟吡噻唑砒等几十个具有自主知识产权的绿色新农药, 对我国绿色农药的创新研究起到了巨大的推动作用。在杀虫剂与杀线虫剂创制方面, 以高活性、易降解、低残留及对非靶标生物和环境友好为导向, 并在产品、技术和理论创新上取得了系列进展, 创制出环氧虫啉、戊吡虫胍、环氧啉、丁烯氟虫腈、氯氟氰虫酰胺等新型农药。在除草剂创制方面, 基于活性小分子与作用靶标相互作用, 创建了研究农药生物合理设计创新研究体系, 形成了具有自身特色的新农药创制体系, 并构建了杂草对药剂的抗性机制及抗性农药分子设计模型, 创制出啶草酮、三唑磺草酮、环吡氟草酮等新农药。在有害生物抗药性研究方面, 重要害虫的抗性基础理论、抗性监测与治理研究等方面成果显著, 杀菌剂的作用靶标、病原菌抗性分子机制研究取得突破性进展, 现代选择性杀菌剂抗性问题进行持续研究。

生物技术发展日新月异, 国际竞争激烈, RNA干扰(RNA interference, RNAi)等新型生物农药不断涌现, 生物农药的研发和应用得到了迅速发展, 并成为农业绿色发展的重要技术保障。欧美发达国家对生物农药的研制与应用十分重视, 各大跨国企业也在不断加大生物农药的研发力度。2017年, 美国国家环保局

审批登记了2026个农药, 其中生物农药占8%^[11]。据Phillips McDougall统计, 2020年, 全球生物农药市场价值约为50亿美元, 预计2020~2025年全球生物农药市场将以约10%的复合年增长率增长。近年来, 随着基因编辑、结构生物学、合成生物学、化学生物学等生物技术的发展, 及其在农药创新领域中的应用不断渗透, 全新机制的生物农药不断涌现, 如RNA干扰、免疫激活蛋白等。孟山都公司开发了防治玉米病虫害的RNA喷剂农药BioDirect, 该药剂能够阻止病原生物或害虫基因表达; 昆士兰大学开发出提高抗病毒能力的RNA喷雾农药BioClay(LDH-dsRNA), 该药剂能够修饰植物的基因表达^[12]。此外, 通过激活植物的免疫系统来调节植物新陈代谢并增强植物抗病和抗逆能力, 开发出一系列的免疫诱抗剂, 例如, 苯并噻二唑(BTH)、昆布素(laminarin)等十几个生物农药的上市使用^[13], 有效减少了常规农药的使用。在我国生物农药的研究应用方面, 实现了脱落酸、井冈霉素等生物农药和毒氟磷、氨基寡糖、芸苔素内酯等在内的植物免疫诱抗剂的产业化, 赤霉素、印楝素、阿维菌素、苏云金杆菌(Bt)、苦皮藤素等几十个生物农药产品也获得了广泛应用, 为控制农作物病害提供了绿色发展的新途径。

农药产业的持续创新和健康发展, 农药的高效化使用, 是实现我国农业可持续发展和生态环境安全的重要保障, 也是推动我国现代农业绿色可持续发展的战略武器。因此, 解决农药产业在创新、发展以及高效化利用过程中的“卡脖子”技术, 破解其中的关键难题, 对推动我国现代农业和农药产业的绿色高质量发展以及产业转型升级更是具有重大战略意义。

(2) 绿色农药分子设计学研究进展。绿色农药创制是一项十分复杂的、多学科交叉集成的系统工程, 具有投资大、周期长、风险高的特点, 创制一个绿色农药新品种需要合成筛选约16万个化合物, 耗资2.86亿美元, 从首次合成到正式上市平均历时11.3年。传统的随机筛选方法以其低效率及耗费巨资的弊端而无法适应当前新农药创制的需要。发展高效的农药分子设计方法, 在系统研究农药作用靶标与有机小分子之间选择性相互作用规律的基础上, 通过生物合成途径发现农药活性分子已经成为当前农药创制研究的最有效手段, 也是国际上农药研究的前沿和热点领域。

高效性是农药分子实现绿色化的前提, 只有当农药分子对作用靶标具有高效生物活性时, 才有可能在

实际应用中降低农药的使用量. 因此, 发展有效的分子设计方法来提高农药分子的生物活性强度一直是农药分子设计学家面临的一个重要挑战. 根据受体学说, 只有当农药分子的活性构象与靶标结合腔的空间构象处于完全匹配的时候, 农药分子才能发挥最大的生物活性强度. 然而, 靶标结合腔中部分氨基酸侧链的构象是刚性的, 部分是柔性的. 因此, 优化农药分子与靶标结合腔中构象柔性残基间的相互作用是提高农药分子生物活性的有效途径. 为此, 赵培亮等人^[14]提出了“构象柔性度分析(conformational flexibility analysis, CFA)”的分子设计方法, 通过优化小分子与细胞色素 *bc_L* 复合物活性腔中构象柔性残基 Phe274 之间的 π - π 相互作用, 成功设计得到了一种活性达到亚纳摩尔级别 ($K_i=0.57$ nmol/L) 的新型抑制剂分子, 与商品化抑制剂噻菌酯(azoxystrobin, AZ)相比, 活性提高了 522 倍.

近年来, 基于碎片的药物设计(fragment-based drug discovery, FBDD)发展迅速, 成为当前最为有效且最受欢迎的分子设计方法之一, 也是药物分子设计的前沿和热点^[15-17]. 然而, FBDD 方法必须依赖于生物物理技术(如 NMR, X-Ray, SPR, ITC, MS 等)对碎片进行筛选. 这些生物物理技术不仅需要昂贵的仪器设备, 而且还对实验技术要求很高, 很难开展高通量筛选, 大范围推广也很受局限. 此外, 利用生物物理方法进行碎片筛选还需要使用大量的高纯度蛋白质, 这对于一些难以纯化的蛋白质(如膜蛋白)而言几乎是不可能的. 正是由于这些原因, FBDD 方法在实际应用过程受到很大局限, 目前只是在激酶抑制剂的设计中得到成功应用, 对于复杂蛋白质尤其膜蛋白还没有成功应用的实例报道. 考虑到药效团是药物分子发挥生物活性的核心, 而且作用于同一靶标蛋白的药物分子往往具有相似的药效团. 为此, 郝格非等人^[18]将基于碎片的药物发现与药效团方法进行有机结合, 发展了药效团连接碎片虚拟筛选(pharmacophore-linked fragment virtual screening, PFVS)的分子设计新方法. 将该方法应用于细胞色素 *bc_L* 复合物体系, 成功设计得到了迄今为止活性最高的细胞色素 *bc_L* 复合物的 Qo 位点抑制剂 ($K_i=43\sim83$ pmol/L), 与母体化合物相比, 活性提高了 4 个数量级.

近年来, 有害生物的抗药性发展极为迅速, 因为抗性而导致病虫草害暴发的事件频繁发生, 并已成为制约当前农药工业可持续发展的关键. 因此, 开展反抗

性农药分子设计既是一项具有重大现实意义的研究课题, 也是当前农药化学家所面临的一个巨大挑战. 最近, 戢凤琴等人^[19]在深入理解不同结构类型的除草剂分子与野生型及突变型乙酰羟酸合成酶(acetohydroxy acid synthase, AHAS)相互作用分子机制的基础上, 发现 AHAS 突变前后除草剂分子在结合腔内的构象柔性度与其反抗能力之间表现出一定的相关性. 为此, 他们将 CFA 的分子设计方法应用到反抗性农药分子的设计中, 成功设计得到了 1 种对野生型和 W586L 突变型 AHAS 具有同样高水平抑制活性的 2-苯氧基-1,2,4-三唑并[1,5-c]嘧啶类反抗性先导. 通过进一步结构优化, 发现多个在超低剂量(6.25 mg/亩)下对敏感和抗性杂草均表现超高效除草活性的新化合物, 而商品化对照药对抗性杂草基本无活性. 需要指出的是, W586L 型 AHAS 突变体是迄今为止最严重的抗性突变体, 对所有商品化 AHAS 抑制型除草剂至少产生 10 倍以上的抗性. 以上研究是国际上有关反抗性农药分子设计的首例报道, 对于农药创制基础研究具有重要的理论和实际意义.

出于对农药抗性频发以及农药安全性的考虑, 农药分子设计过程中综合考虑抗性和选择性成为一种必然趋势. 在目前已知的各种抗性机制中, 靶标抗性是最重要的一种类型, 尤其是因靶标突变而导致的抗性危害最为严重. 这是因为一旦发生靶标突变, 往往容易导致交互抗性的发生. 因此, 开展靶标抗性预测方法研究对农药分子设计方法学具有重要的理论与实际意义. 甘氨酸扫描技术(computational alanine scanning, CAS)是一种普遍使用的研究蛋白质相互作用以及小分子与蛋白质相互作用的计算化学技术^[20,21]. 该方法存在两点局限: 一是它仅限于突变为甘氨酸的情况; 二是该方法在计算相互作用能时不能考虑熵变对自由能的贡献, 从而使得计算精度在很多情况下不能达到要求, 无法实现精确预测. 为此, 郝格非等人^[22]基于自由能微扰理论, 建立和发展了计算突变扫描方法(computational mutation scanning, CMS), 该方法可以实现 20 种天然氨基酸之间的任意突变, 并在 HIV-1 病毒蛋白酶抑制剂的抗性预测中进行了应用, 结果发现理论预测值与实验值之间表现出高度相关($R^2=0.87$), 可以满足抗性预测的需要. 除用于靶标抗性预测外, CMS 方法还可以用于农药靶标的作用机制以及农药分子与农药靶标相互作用的分子机制等研究. 最近, 席真研究

组^[23]另辟蹊径, 创建了针对生物大分子氨基酸突变的定量结构-活性关系研究方法(mutation-dependent biomacromolecular quantitative structure-activity relationship, MB-QSAR), 并成功预测了重要农药靶标AHAS酶及85个突变体对商品化除草剂氯嘧磺隆、双草醚的抗性程度. 该方法的建立为农药的分子靶标抗性提供了定量的预测方法, 也为反抗性药物设计提供了重要参考.

Lipinski建立的“类药性五规则”在药物设计中起到了重要指导作用, 也使得类药性研究在药物发现过程中受到越来越多的重视. 但是, 与类药性研究相比, 类农药性研究显得相对滞后. 从给药方式、作用对象以及使用环境等角度上讲, 农药与医药都有着很大的差别, 因此农药与医药分子在ADMET性质上应该表现出较大差异. 郝格非等人^[24]对788个商品化农药分子的6种物理化学性质(分子量(molecular weight, MW)、脂水分配系数(calculated octanol-water partition coefficient, CLogP)、氢键供体数目(hydrogen bond acceptor, HBA)、氢键给体数目(hydrogen-bond donor, HBD)、可旋转键数目(rotatable bond, ROB)以及芳香键数目(aromatic bond, ARB))进行了系统分析, 并总结提出了类农药性的新规则($MW < 435$ D, $CLogP < 6$, $HBA < 6$, $HBD < 2$, $ROB < 9$, $ARB < 17$). 值得注意的是, 以上性质在除草剂、杀菌剂和杀虫剂中表现出不同的规律, 并且随着农药研发年代的变化, 以上性质也表现出一定的变化规律. 与类药性相比, 光稳定性对类农药性的影响更为明显, 这对于今后开展类农药性的相关研究很有意义.

针对绿色农药品种原始创新的重大科技难题, 沈阳中化农药化工研发有限公司刘长令经过20多年的探索、实践与研究, 在市场分析和逆合成分析基础上创建了“中间体衍生化法”这一新的绿色农药分子设计和品种创制方法^[25]. 从市场角度分析, 该方法认为市场占有率很高的新农药必须具有独占市场的专利权和高性价比优势, 这些都是由农药的化学结构决定的. 从化学角度分析, 农药多属于分子量在150~500之间的小分子, 逆合成分析发现, 不同品种的农药通常是由一个或几个原料(中间体)经化学反应得到, 因此选择适宜的原料或中间体是关键. 基于片段的药物设计认为, 药物分子结构中的每一个片段都在与靶标结合过程中发挥着自身的作用, 因此通过不同的连接方法, 将两个或

者两个以上的片段进行组合, 可以得到高活性的分子. 这也说明组成药物分子的片段很重要, 同样与原料与反应有关. 例如, 以天然产物肉桂酸衍生物杀菌剂烯酰吗啉为先导化合物, 以对氟苯甲酸为中间体, 对先导化合物进行结构改造, 引入氟原子, 通过结构活性关系研究, 创制出环境相容性好, 对霜霉病、晚疫病等毁灭性气传病害具有很好预防及治疗活性的氟吗啉^[26](英文通用名称flumorph), 并实现产业化应用, 解决了该类杀菌剂治疗活性差的重大缺陷, 极大提高其防效.

杨光富带领的研究团队集成了现代有机合成技术、现代分子生物学技术、计算模拟技术以及人工智能技术, 发展了一系列农药分子设计新方法及相应的在线服务器和数据库(包括ACFIS^[27], AIMMS^[28], AILDE^[29], PIIMS^[30], HISNAPI^[31], ACID^[32], LARMD^[33], PADFrag^[34], Cloud 3D-QSAR^[35], Bee-Tox^[36]等), 构建了较为完善的绿色农药分子设计技术平台, 为深入理解农药作用靶标组与农药活性小分子间的相互作用机制奠定了技术基础. 该技术平台涵盖了作用靶标发现、苗头化合物产生、从苗头到先导、先导优化、类农药性分析、抗药性预测、毒理学性质预测等多个研究环节, 显著提高了新农药创制效率. 例如, ACFIS是国际上第一个运用“药效团连接碎片虚拟筛选”方法进行碎片筛选的云计算平台, 评测的准确性在75%以上; AIMMS服务器可以在蛋白-小分子的互作界面上搜索热点残基, 并预测蛋白突变对小分子的抗性, 准确性在83%以上; BeeTox是首个基于人工智能, 运用深度图卷积神经网络和主成分分析方法预测蜜蜂毒性和机理的云计算平台, 测试的预测准确性为83%. 此外, 还发展了一系列分子成药性预测方法, 如杀虫剂类药性预测方法InsectiPAD^[37]、杀菌剂类药性预测方法FungiPAD^[38]和除草剂类药性预测方法Herbi-PAD^[39]等.

杨光富团队还对对羟基苯基丙酮酸双加氧酶(4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, HPPD)为靶标, 采用基于碎片的药物设计, 发现了喹啉二酮类全新骨架的HPPD抑制剂, 成功创制出全球第一个高粱地选择性除草剂喹草酮(ISO通用名: benquitrione; 2020年获得登记), 并解析了其HPPD的共晶结构^[40], 破解了杂草防控这一长期制约高粱产业发展的关键技术瓶颈. 结合水稻代谢除草剂机制研究和前药设计理论, 针

对唑啉二酮类分子骨架开展结构优化, 成功创制出防控稻田抗性千金子和稗草的超高效除草剂吡唑啉草酯, 为解决我国稻田抗性千金子和抗性稗草防控难题提供了新的解决方案. 此外, 采用基于结构的农药设计方法, 设计了一系列吡唑异吡啶-1,3-二酮杂合物, 其中化合物4ae对HPPD的抑制活性($K_i=3.92$ nmol/L)较上市农药磺酰草吡啶($K_i=44$ nmol/L)提高了十倍以上^[41]. 这些结果表明, 利用计算化学、蛋白质晶体学和合成化学相结合的方法开展基于靶标的农药合理设计具有十分重要的应用前景.

钱旭红院士团队^[42]还开发了基于Web的农药与靶标相互作用数据库平台Pesticide-Target interaction database(PTID). 该平台收集了13740个农药与4240个蛋白质之间的相互作用数据, 以及1340个农药完整的生态毒理学和毒理学数据, 是一个可识别农药目标并设计新型农药的计算平台. 南开大学席真团队^[43,44]提出了一种基于突变的生物大分子定量结构-活性关系方法, 该方法可以定量预测生物体内存在的其他结构的突变化学抗性和选择性, 可以为农药设计提供详细的3D信息, 为酶的结构-功能关系提供了新的见解.

Blundell团队^[45]针对玉米螟 β -N-乙酰基-D-己糖胺酶(OfHex1), 通过结构导向的计算杀虫剂挖掘, 以确定可以结合OfHex1活性位点并抑制酶活性的潜在抑制剂, 开发环境友好型杀虫剂. 使用Schrödinger Suite-2022-3中的Glide和虚拟筛选工作流程(virtual screening workflow, VSW)进行虚拟筛选, 对OfHex1及其在人和赤眼蜂的同系物进行晶体结构分析, 最终从20313种已报道的化合物中筛选到5种化合物与OfHex1 TMX活性位点结合, MD模拟和综合农药相似性分析表明其具有成为杀虫剂的可能. 3-羟基犬尿氨酸转氨酶(3-hydroxykynurenine transaminase, HKT)是蚊子犬尿氨酸解毒途径的关键酶, 催化3-羟基犬尿氨酸(3-hydroxykynurenine, 3-HK)转化为黄脲酸(xanthurenic acid, XA), 4-(2-氨基苯基)-4-氧代丁酸(4-(2-aminophenyl)-4-oxobutyric acid, 4-OB)是HKT的竞争性抑制剂^[46]. Soares团队^[47]发现, 4-OB抑制剂和1,2,4-恶二唑衍生物之间具有惊人的结构相似性, 随后证明恶二唑衍生物对HKT具有与4-OB相似的结合模式及等效亲和力, HKT可作为1,2,4-恶二唑衍生物的潜在靶标. 通过合成新的恶二唑衍生物, 最终筛选到3种恶二唑衍生物可作为HKT非竞争性抑制剂.

天然产物是农药先导化合物的重要来源之一, 目前农药市场中大量的商品化农药直接或间接来自于天然产物, 如拟除虫菊酯类杀虫剂、伊维菌素、多杀菌素等. 西北农林科技大学吴文君教授团队^[48]基于杀虫植物苦皮藤开发了一种新型杀虫产品, 其活性成分对鳞翅目昆虫具有高活性, 并作用于新型靶标V-ATPase. 东北农业大学向文胜课题组使用中药重楼的植物内生放线菌NEAU6发酵产生的核苷类化合物创制出新型植物生长调节剂谷维菌素, 谷维菌素能促进水稻出苗和根系生长提高水稻的抗病性、抗逆性和对灰飞虱的抗虫活性^[49]. 同时该团队建立了谷维菌素的生产工艺、剂型和施用方法, 其中94%谷维菌素原药和1%种子处理液剂于2021年获得登记证. 山东农业大学丁新华团队^[50]基于野生沙棘内生菌宛氏拟青霉菌发酵的次生代谢产物开发了新型植物生长调节剂智能聪(ZNC), 其具有促进植物生长, 增强抗病能力和诱导植物抗旱、抗低温、抗盐碱的能力. 在天然产物发现新技术方面, 中国科学院上海有机化学研究所周佳海研究组^[51]联合国外研究机构, 运用以抗性基因为导向的基因组挖掘技术成功发现了作用于植物支链氨基酸合成途径中的二羟酸脱水酶的新型天然产物除草剂aspterric acid.

近年来, 随着高性能计算、大数据以及人工智能等新兴前沿技术在农药创制中的应用, 新农药的创制迎来了新的发展阶段. 我国创建了多种虚拟筛选平台, 提出了农药的创制新思路, 绿色农药创制研究也快速发展, 先后创制了多个绿色农药新品种, 我国农药原始创新能力不断提升. 但与国外农药创制相比仍有差距, 主要表现在缺乏全新作用机制和全新分子骨架的农药新品种, 这将在很大程度上制约我国的新农药创制.

(3) 农药分子靶标及作用机制研究. 传统的农药研究模式往往只关注先导结构的发现, 而忽略了对作用靶标的研究(即先先导后靶标的策略), 甚至于绝大多数农药品种在应用数十年后才清楚其作用靶标. 随着人们对农药毒副作用的日益关注以及农药先导发现的难度越来越大, 人们把更多的目光投向了作用靶标. 先靶标后先导的研究策略也逐步成为当前农药研究的主流. 正因为如此, 近年来国际上关于农药作用靶标及作用机制方面的研究获得了显著进展. 特别值得指出的是, 我国学者在靶标的结构生物学、新作用机制以及

靶标抗性的分子机制等方面也取得了重要进展, 部分成果已处于国际领先水平。

近年来, 对农药分子靶标及作用机制的研究一直是人们关注的重点和热点, 特别是随着生物技术和进步以及新研究手段的出现, 一些新农药的靶标不断被挖掘出来。2015年, Nesterov等人^[52]发现, 杀虫剂氟吡啶酮和吡蚜酮作用于昆虫脉络膜伸展受体TRP通道(瞬时受体电位), 干扰昆虫的听觉和协调, 并影响进食, 从而达到杀死昆虫的目的。在GABAergic信号传导和抑制神经传递途径中, 氯化钾共转运蛋白(K^+/Cl^- cotransporter, KCC)起着重要作用, 但还未开发出以KCC为靶标的商品化农药。Prael等人^[53]发现, 哒嗪硫醚酰胺类化合物VU0463271可抑制KCC活性, 引起昆虫肌肉麻痹, 导致昆虫无法进食而死亡, KCC可作为开发杀虫剂的新靶标。Hatamoto等人^[54]发现, 联苯氧基苯甲酸酯类化合物Aminopyrifin作用于GWT-1(酰基转移酶), 通过抑制GWT-1的活性, 阻止糖基磷脂酰肌醇固定的生物合成, 为GWT-1抑制剂的开发和Aminopyrifin类似物的设计合成奠定了良好的基础。新型间苯二甲酰胺类杀虫剂Broflanilide不同于传统的大环内酯杀虫剂(阿维菌素)以及氟虫腈等GABA受体阻断剂, Broflanilide是GABA门控氯离子通道别构调节剂, 别构抑制GABA门控氯离子通道, 引起昆虫过度兴奋和抽搐^[55]。

自美国加州大学河滨分校Cutler教授发现ABA受体以来^[56], 陆续报道了多个ABA受体激活剂。例如, Cutler采用遗传生物学方法发现了ABA功能类似化合物quinabactin^[57]; 利用虚拟筛选的方式筛选到ABA受体激动剂OP(opabactin)^[58,59], 该激动剂具有脱落酸活性, 可显著提高植物抗旱性, 这一发现为农业生产中的节水抗旱提供了新思路。日本名古屋大学的Tsuchiya教授团队^[60]开发了一种独脚金内酯选择性激动剂SPL7, 能以飞摩尔量激活独脚金内酯受体ShHTL7, 并激发独角金萌发, 可有效减少独角金寄生, 为基于独角金受体的植物生长调节剂的创制提供了思路与新先导。福建农林大学徐通达教授团队^[61]研究发现, 生长素可以通过介导跨膜激酶1(transmembrane kinase 1, TMK1)磷酸化蛋白IAA32和IAA34, 从而调控ARF转录因子和植物发育。

在我国, 贵州大学宋宝安院士课题组研究证明dufulin(毒氟磷)抗烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus,

TMV)的作用机制: dufulin通过激活HrBP1(水杨酸信号通路中的信号起始蛋白), 启动细胞内的水杨酸信号通路、茉莉酸信号通路和乙烯信号通路, 诱导植物产生系统获得性抗性, 从而起到抗病毒作用^[62]。此外, dufulin通过抑制P6和P9-1蛋白的表达干预南方水稻黑条矮缩病病毒体蛋白^[63]。通过对抗病激活剂“香草硫缩病醚”和“F27”抗病毒机制的系统研究, 发现“香草硫缩病醚”与ABA通路结合, 提高相关病程蛋白的表达, 使辣椒对辣椒病毒病产生抗病性^[64]; 阿魏酸衍生物“F27”通过提高光合作用相关蛋白的表达, 促进光合作用, 提高作物抗病性^[65]。该团队采用ABPP(基于活性的蛋白质分析, activity-based protein profiling)策略, 系统研究了高杀菌活性候选物“甲磺酰菌唑”的作用机制, 确定了DLST(二氢硫辛酸琥珀酰转移酶)为甲磺酰菌唑的靶标, 为DLST抑制剂的开发和该系列噁二唑酮类候选药物(如氟吡啶唑酮、二氯噁菌唑等)的作用机制研究提供了重要参考, 也为以DLST为靶标进行杀菌剂创制打下良好的基础^[66]。南京农业大学周明国课题组揭示了我国原创性杀菌剂氰烯菌酯的新靶标——肌球蛋白-5(myosin-5)^[67], 发现小麦赤霉病菌肌球蛋白myosin-5发生不同的点突变可以产生低、中、高和极高水平的抗药性, 并提出了氰烯菌酯的抗性风险管理策略, 国际杀菌剂抗性行动委员会(Fungicide Resistance Action Committee, FRAC)基于该成果, 将原来“有丝分裂和细胞分裂”的杀菌剂作用方式重新命名为“细胞骨架和马达蛋白”, 将氰烯菌酯的作用方式单独分类为B6, 将氰烯菌酯的抗性风险及治理策略单独编码为47。此外, 该团队解析了肌球蛋白5的晶体结构, 发现了氰烯菌酯与肌球蛋白5结合的关键氨基酸, 开辟了马达蛋白抑制剂农药创制新方向^[68]。中国农业大学和西北农林科技大学刘西莉教授团队分别揭示了氟吗啉和丁吡吗啉等CAAs杀菌剂的作用靶标为纤维素合酶CesA3, 并明确了CesA1蛋白具有起始卵菌细胞壁纤维素生物合成的重要作用^[69], 阐明了氟吡菌胺的靶标蛋白为囊泡型V-ATPase, 研究结果为新型靶向杀菌剂的创制提供了科学指导^[70]。湖北省农业科学院喻大昭课题组^[71]研究发现, 天然蒽醌类化合物杀菌剂大黄素甲醚不仅能直接抑制植物病原菌生长发育, 同时还能激活植物主动免疫系统。华东理工大学徐玉芳课题组^[72]发现氟唑活化酯诱导黄瓜对组织结构抗病性。南开大学范志金课题组^[73]解析了甲噁诱胺通过诱导寄主植

物的免疫系统而使植物对后续病原物的入侵产生防御能力的机制. 中国农业大学覃兆海课题组^[74]发现杀菌剂丁吡吗啉对线粒体呼吸链复合物的抑制效应. 中国农业科学院植物保护研究所/农业基因组研究所杨青课题组长期致力于几丁质代谢通路的绿色农药分子靶标开发和绿色农药创制, 针对亚洲玉米螟的3种几丁质分解酶家族成员进行分子表征和生物学功能分析^[75-84]. 几丁质是构成昆虫表皮和中肠、真菌细胞壁等组织的重要结构成分, 对于其生长发育和繁殖至关重要, 而在人、脊椎动物和植物中不存在几丁质, 因此几丁质代谢通路是人畜安全的绿色农药分子靶标的重要来源. 例如, 几丁质水解过程对于昆虫蜕皮至关重要, 该团队对参与昆虫表皮几丁质水解的所有关键几丁质水解酶(Hex1, ChtI, ChtII, Chi-h)进行了生物学功能分析和性质表征, 并解析了这些酶的晶体结构^[75,78,81,85]. 团队针对这些原创性靶标开展基于酶活性的高通量筛选及基于靶标结构的虚拟筛选, 发现了多种具有显著抑制活性和生物活性的抑制剂, 并通过复合物晶体结构和分子对接阐明了其结合模式为绿色农药创制提供了先导化合物. 进一步, 团队还提出了几丁质水解酶多靶标抑制剂的研究思路, 并开发了能同时抑制两种或三种几丁质水解酶活性的化合物, 包括许多天然产物及其衍生物如小檗碱、紫草素、胡椒碱、春雷霉素等^[86-92], 为多靶标绿色农药开发提供了依据; 几丁质修饰过程对于病原真菌毒力不可或缺, 病原真菌通过分泌几丁质脱乙酰基酶(chitin deacetylase, CDA)修饰自身细胞壁上的几丁质, 从而逃避植物免疫响应, 实现侵染. 杨青团队研究解析了两种具有代表性且在系统发育上距离较远的植物病原真菌CDA的晶体结构, 基于其结构特征开发了具有植物抗病激活作用的小分子苯甲羟肟酸(benzohydroxamic acid, BHA), 可以增强小麦、大豆和棉花对五种危害极为严重的病原真菌的抗性, 为作物病害防治提供了新的策略^[93]; 含几丁质生物如昆虫、真菌和卵菌的生命活动中离不开几丁质的合成, 因此几丁质生物合成的关键酶——几丁质合成酶既可是绿色杀虫剂靶标也是绿色杀菌剂靶标. 杨青团队解析了几丁质合成酶5个不同状态的冷冻电镜结构, 从原子水平揭示了几丁质生物合成过程是一个有方向性的, 多步骤偶联的过程, 并阐明了天然产物尼克霉素能够抑制几丁质生物合成的机制, 该研究突破了几丁质农药领域一个近50年的

发展瓶颈, 是我国科学家在农药分子靶标研究领域的一个里程碑, 使得以几丁质合成酶为分子靶标精准开发新型绿色农药成为科学可行的方案, 对绿色农药的原始创新具有重要的理论意义和应用前景^[94]. 天津大学尉迟之光团队^[95]解析了小菜蛾RyR N端结构域(N-terminal domain, NTD)的晶体结构, 建立了RyR N-末端三个结构域的结构模型, 发现NTD与邻近区域相互作用的两个区域对于哺乳动物RyR具有独特构象, 可作为潜在的物种特异性杀虫剂靶标. 2019年, 该团队利用蛋白质组学方法分析发现昆虫PKA磷酸激酶对RyR的调控具有温度依赖性, 这可以实现将温度信号转化为细胞内钙离子信号, 有助于昆虫适应周边环境温度变化^[96,97]. 该团队还筛选到昆虫RyR特异性小分子结合口袋, 其可成为潜在的杀虫剂结合位点, 也为具有物种特异性的绿色农药开发奠定了基础^[98].

(4) 有害生物对农药抗性研究进展. 农药是植物保护重要措施, 在保障我国粮食产量和食品安全方面做出了不可磨灭的贡献, 在服务国家“一带一路”倡议和“乡村振兴”重大战略以及满足国民对美好生活日益增长需求中发挥重要作用. 与此同时, 农药也引起了3R问题(农药残留, residue; 有害生物抗药性, resistance; 有害生物再猖獗, resurgence), 如何解决农药的3R问题, 发挥农药的积极作用而尽可能地减少其负面影响? 农药残留、有害生物抗药性、有害生物再猖獗三者相互影响, 其中有害生物抗药性引起有害生物再猖獗, 从而导致加大农药用量、农药残留加剧, 所以解决有害生物抗药性是解决农药3R问题的关键和突破口.

农业有害生物(昆虫、杂草、病原菌等)对农药产生抗性是植物病害化学防治中面临的主要问题之一, 简称农业有害生物抗药性, 是指农业有害生物长期在单一药剂选择作用下, 通过遗传、变异, 对此获得的适应性. 特别是随着高效、内吸、选择性强的化学农药被开发和广泛应用, 农业有害生物抗药性越来越严重和普遍, 成为制约化学防治措施发展的关键因素之一. 研究农业有害生物抗药性发生的基础理论及治理技术有助于延缓农药抗性发生, 增加农药使用寿命, 为新农药创制提供科学理论依据, 同时为农药减施增效, 减少农药环境污染提供技术支持.

英国、美国及欧洲国家在农业有害生物抗药性发生的基础理论研究方面起步早、研究深入, 研究水平处于世界领先地位. 20世纪50年代中期, 美国James.

G. Horsfal首次提出病原菌对杀菌剂敏感性下降的问题。随着农业有害生物抗药性在多种农药上呈现出来,许多国家和地区相继开展了农药的抗性研究,国外关于农业有害生物抗性机制研究方面已达分子水平。在杀菌剂、杀虫剂、除草剂抗性分子机制方面,率先明确了靶基因突变体和代谢增强是农业有害生物产生抗性的两个重要方面。例如,在杀菌剂抗性分子机制方面,英国和美国科学家首次揭示了琥珀酸脱氢酶抑制剂抗性是由SDHA, SDHB, SDHC或SDHD氨基酸点突变引起的、三唑类杀菌剂抗性是由CYP51基因过量表达引起的。在杀虫剂抗性分子机制方面,苯甲酰脲类昆虫生长调节剂的抗性是由于几丁质合成酶点突变造成的^[99,100]。在农业有害生物抗药性治理方面,英国、美国及欧洲科学家根据农药的抗性风险提出了轮换用药、混合用药等策略,并且具有成熟的农药科学使用配套技术;另外,根据抗药性形成的关键靶标突变,分析靶标与农药的分子互作机制以及突变对分子互作的影响,对现有农药进行分子改造、筛选全新结构化合物,在生产中已获得应用。改革开放以来,特别是近10年,我国在农业有害生物抗性发生机制、调控、检测及治理等方面开展了大量的研究,取得了许多重要进展。

南京农业大学、浙江大学、中国农业大学、华中农业大学、河北省农林科学院、西南大学等单位相关团队监测了小麦赤霉病菌、葡萄霜霉病菌、桃褐腐病菌等重要农作物病原菌对常用杀菌剂的抗药性发生态势,评估了重要农作物病原菌对新型绿色杀菌剂的抗性风险,解析了抗药性分子机制,研发了病原菌早期抗药性分子检测技术和抗药性治理技术。近年来,我国在农业有害生物抗性机制方面取得了重要进展。例如,南京农业大学周明国课题组和浙江大学马忠华课题组分别通过基因组重测序和转录组分析,发现了甾烯菌酯作用靶标肌球蛋白5上单个氨基酸突变可引起小麦赤霉病菌对甾烯菌酯产生抗性,这些突变位点包括A135T, V151M, P204S, I434M, A577T, R580G/H, S418R, I424R, A577G, K216R/E, S217P/L和E420K/G/D^[67,101];南京农业大学周明国教授课题组还发现Fim, Myo2B和Smy1等蛋白通过直接或间接与Myo5互作调控甾烯菌酯药敏性^[102~104]。FRAC基于该成果将甾烯菌酯的抗性风险及治理策略单独编码为47,为肌球蛋白抑制农药的科学应用提供了重要依据。水稻白叶枯病

菌链霉素田间抗性是由整合子中*aadA1*基因的存在引起的。另外,初步推测水稻白叶枯病菌申嗪霉素抗性菌株通过增强自身的药物外排系统从而使其产生对申嗪霉素的抗性。马忠华课题组^[105]发现,3个同源的*cyp51*基因都并非小麦赤霉病菌生长和麦角甾醇生物合成所必需。敲除突变体对7种DMI类杀菌剂敏感性水平与野生型菌株相比不一,*cyp51A*基因敲除突变体对7种DMI类杀菌剂都变敏感;*cyp51B*基因敲除突变体对7种DMI类杀菌剂的敏感性没有显著变化;*cyp51C*基因敲除突变体对部分DMI类杀菌剂变敏感;*Fgiteb*是*cyp51A*的一个转录调控因子,该转录因子调控赤霉病菌中麦角甾醇的生物合成,同时调控小麦赤霉病菌对DMI类杀菌剂的敏感性^[106]。另外,也发现ABC转运蛋白调控小麦赤霉病菌对三唑类药剂的敏感性。中国农业大学和西北农林科技大学刘西莉课题组^[107,108]明确了大豆疫霉和辣椒疫霉等植物病原卵菌对OSBPI类杀菌剂氟唑吡乙酮、Fluoxapiprolin的抗药性与病原菌氧化固醇结合蛋白ORP1上G770V, G839W, N837I等14个位点的突变相关。华中农业大学罗朝喜课题组发现,桃褐腐病对DMI杀菌剂抗药性的增强是由于*MfCYP51*基因表达上调所致,且上游Mona元件具有启动子活性^[109]。稻曲病对戊唑醇的敏感性下降是由于*VvCYP51*基因的Y137H点突变造成^[110],对丙环唑紫外突变体抗性菌株的*CYP51*基因序列相比于野生菌株未发生点突变。*OS1*基因缺失或V238A突变能够导致油菜菌核病菌对菌核净产生抗性^[111]。

中国农业大学、中国农业科学院、南京农业大学、西南大学、中国科学院、华中农业大学、江苏省农业科学院、山东农业大学等单位相关团队在杀虫剂抗性机制和治理方面取得重要进展。例如,南京农业大学吴益东教授团队发现,棉铃虫田间种群存在多样化的遗传潜力和机制对Bt抗虫棉产生抗性,并证实现行抗性基因在Bt抗虫棉进化中具有关键性作用^[112];揭示了我国特有的自然庇护所对棉铃虫Bt抗性演化具有延缓和显性化的双重效应^[113]。中国农业科学院蔬菜花卉研究所张友军团队发现了一个关键抗性细胞色素P450基因(*CYP4C64*),证实该基因的过量表达是导致烟粉虱对新烟碱类杀虫剂噻虫嗪产生抗性的重要原因^[114],发现该基因上游的5'-UTR区域存在一个噻虫嗪抗性偏好性突变位点,该突变位点是RNA甲基化(m⁶A)的识别位点,研究结果揭示了害虫RNA甲基化

通过调控P450基因表达从而形成抗性的新机制^[115]。

中国农业科学院、南京农业大学、山东农业大学、湖南省农业科学院、江苏省农业科学院、华中师范大学等单位相关团队在除草剂抗性机制和治理方面取得重要进展。杂草对AHAS类除草剂的抗性发展最为迅速, 抗性杂草已达169种^[116]。AHAS催化亚基发生氨基酸突变是早操产生抗性的主要原因, 已有8个抗性突变位点在田间杂草中得到了证实, 分别是Ala122, Pro197, Ala205, Asp376, Arg377, Trp574, Ser653, Gly654(以拟南芥AHAS催化亚基的序列进行编号), 其中P197位点的突变类型最多且最为复杂, 占有AHAS抗性杂草种群的一半, 杂草一旦发生P197L, A205V以及W574L这三种类型的突变, 将对所有磺酰脲类除草剂产生高抗, Ala122, Ala205, Ser653, Gly654残基突变使植物具有很高的咪唑啉酮类抗性^[117,118]。研究报道对ACCase类除草剂产生抗性的杂草已有48种, 抗性机制是杂草乙酰辅酶A羧化酶CT结构域发生突变导致除草剂与其结合力下降^[119]。突变位点可以是活性位点(如Ile388和Trp374), 也可以是非活性位点(如Asp425和Gly443)。杨光富团队^[120]采用同源建模方法构建了看麦娘的ACCase三维结构, 并通过分子模拟技术揭示了以上四个突变位点对盖草能、威霸、禾草灵和炔草酯四种除草剂产生抗性的分子机制。研究结果显示, 发生突变后, 引起活性腔内的残基发生构象变化, 导致除草剂分子与酶之间的氢键及 π - π 相互作用减弱甚至消失, 从而降低了除草剂分子与靶标的结合力。到目前为止, 全球共有12种杂草对PPO除草剂产生了抗性, 主要分布在美国和巴西, 有三种(亚洲铁齿苋、反枝苋、播娘蒿)在我国也有分布^[121]。水麻和豚草的抗性机制是PPO发生突变, 其他杂草的抗性机制尚不清楚。湖南省农业科学院柏连阳团队^[122]近期发现, 稗草的转运蛋白EcABCC8可在质膜上将进入膜内的草甘膦转运至膜外以产生抗性, 揭示了植物抗草甘膦的新机制。

2 我国农药产业发展面临的问题

2.1 农药不合理使用造成的残留和环境污染等问题依然严峻

农药的不合理使用, 不仅造成生产成本增加, 也影响农产品质量和生态环境安全, 是造成面源污染

最重要的因素之一。虽然生物农药增长显著, 但是化学农药登记占比重较大, 占到85%以上, 同时在已登记农药中, 15%为中高毒农药。长期以来, 我国农产品生产者过度依赖化学农药, 在病虫害管理中缺少物理与生物等绿色防控手段。据《中国农业绿色发展报告2020》显示, 2020年我国主要粮食作物农药利用率达40.6%, 仍有59.4%左右的农药扩散到土壤和大气中。残留在土壤中的农药进一步降解为各种复杂的衍生物, 导致严重的土壤污染, 破坏土壤生物多样性。农药污染已成为一类影响最大的有机污染, 而且持续时间长, 还会通过食物链进行富集, 严重危害人体健康。随着农药使用年数的增加, 农药残留也在不断累加, 其影响不容忽视。近年来, 中医农业、植物健康管理和生物刺激素等理念和技术成果开始推广应用, 病虫害绿色防控取得了一定成效, 但在整个农业生产中占比仍然很低。上述形势分析表明, 我国的农药面源污染防治形势依然十分严峻。

2.2 有害生物抗药性问题严重, 亟待建立抗药性监测与治理体系

我国地域广、有害生物种类多样, 农药不合理使用的现象普遍, 造成了我国有害生物抗药性问题严重, 亟待建立抗药性监测体系、研究抗药性分子机制和高通量分子检测技术、研发抗药性治理技术。研究农业有害生物抗药性发生的基础理论及治理技术, 有助于发现农药新靶标, 延缓农药抗性发生, 增加农药使用寿命, 为新农药创制提供科学理论依据, 同时为农药减施增效, 减少农药环境污染提供技术支持。

全国农技推广中心依托各省植保站和专家工作组, 在全国布置了有害生物对常用农药的抗药性监测网络, 但是所涉及的有害生物、监测点的数量等都需要进一步加大。受各省市经济发展水平差异限制, 全国各地用药水平差异较大, 另外不同地区有害生物发生特点差异也较大, 有害生物抗药性亦差异较大。

我国在有害生物抗药性机制研究方面虽然取得了可喜的成绩, 但是发现的原创性抗性分子机制较少。解析有害生物抗药性分子机制可为靶向农药设计提供分子靶标、为反抗性药物设计提供理论依据, 是计算化学的基础。根据有害生物抗药性分子机制, 研发高通量抗药性分子检测技术, 可为抗药性早期预警提供技术支撑。现今虽然报道了很多有害生物抗药性分子检

测技术,但是真正产业化的寥寥无几,抗药性分子检测技术的稳定性、准确性、可靠性等还有待进一步提高。研发协同增效抗药性治理技术可延缓有害生物抗药性产生和发展,增加绿色农药的使用寿命。

2.3 农药生产企业创新能力不足,对全面转型升级带来新挑战

我国已登记的农药产品中90%以上为相同的有效成分(配方),同质化现象严重,农药产业整体素质亟需提升。近年来,我国农药企业发展迅速,规模不断扩大,但仍存在着行业集中度偏低,产业布局不合理,小企业退出机制不畅的问题。据中国农药工业协会统计,2023年仅有19家企业销售额超过50亿元,头部企业在国际影响力、核心竞争力等方面还有很大提升空间,“我国是农药大国,还不是农药强国”的基本情况没有根本改变。

我国农药企业在农药品种自主创制、原始创新方面的能力依旧薄弱,还未形成稳定力量,农药产业创新发展的动能转换尤为紧迫。在已登记的700多个农药有效成分里,我国自主研发的占比不到10%,其中约1/3的农药品种得到大范围的推广应用。我国农药产业处于价值链的中低端,在高端农药制造设备自主研制、关键生产技术突破等方面的能力较弱。因此,我国农药企业必须依靠科技进行动能转换来打破这种格局。

2.4 全新绿色农药的创制之路艰难,亟待加大投入和研发

我国生态条件复杂,耕地资源缺乏,耕作制度多样,有害生物常年多发、频发、重发。在粮食安全生产中离不开农药的使用。然而,过量、不科学地使用农药引起了农产品质量安全问题、有害生物抗性问题 and 环境污染问题等重大风险问题。我国绿色农药的创新研究水平与国际先进国家仍存在较大的差距,在当前病虫害防治任务重和化学农药投入减量的双重压力下,我国实施化学农药使用量零增长行动面临着巨大的困难和挑战:一是我国主要农用药剂老化现象严重、有害生物抗性加剧、缺乏有效的替代品种;二是农药企业聚焦于生产已过了专利期的传统品种,缺乏自主创新能力,同质化无序竞争严重;三是有效的原

创性靶标不足,缺乏基于原创性靶标和分子设计技术创制高效低风险小分子农药,尽管通过多年努力,我国绿色农药创制研究取得了长足的进步,先后创制出了多个绿色农药新品种,但是这些创制品种基本上是属于“me-too”类创新,具有全新分子骨架和全新作用机制的原创性农药依旧十分匮乏;四是RNA干扰技术、CRISPR/Cas9基因编辑技术等前沿生物技术在病虫害防治上的应用还很少。

3 对我国相关领域科技战略布局及政策的建议

3.1 建立健全农药安全合理使用制度并加强培训与监督¹⁾

目前,《农药合理使用准则》是我国农药使用的主要依据。2020年5月1日起施行的《农作物病虫害防治条例》明确提出了坚持绿色防控的要求。即将制定的《农药使用管理办法》明确农药使用者的责任和义务,规范农药使用行为,依法对违规使用禁限用农药、超范围用药、不按安全间隔期使用等行为进行教育和处罚。

要结合“高素质农民培育工程”项目,加快形成与农村发展相协调、与产业需求相适应的高素质农民队伍。县级以上农业农村部门要针对果菜茶优势产区、技术薄弱区和农残超标区的农民加强使用指导和服务工作。加强各级安全用药技术培训,开展新农药、新技术、新模式等科学用药示范推广,做到精准施药、安全用药。

实施低毒农药替代高毒农药、生物农药替代化学农药等措施,推广应用生物防治、理化诱控、生态控制等绿色防控技术,强化科学用药技术集成应用,大力推广专业化统防统治和高效植保机械,提高农药利用率,实现农药减量增效。

各级农业农村部门加强指导农药包装废弃物回收的责任,积极推进和实施《土壤污染防治法》。农业农村部会同生态环境部制定了《农药包装废弃物回收处理管理办法》,并于2020年10月1日起施行。各地要落实农药生产经营者和使用者回收的责任和义务,同时要积极争取政策扶持,并结合农村人居环境整治和面

1) 参照张桃林2019年“在全国农药管理工作会议上的讲话”。

源污染治理, 建立农药包装废弃物回收体系, 制定切实可行的推进措施, 多方协作配合, 做好农药包装废弃物回收工作。

3.2 提升绿色农药创制水平

得益于计算机科学、生物学研究日新月异的发展, 分子生物学、生物信息学、药物分子设计大数据、植物化学等基础生物学及合成生物学、结构生物学、组学(特别是基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学、抗体组学)等研究策略和技术手段在绿色农药创新, 特别是靶标研究和农药分子设计中开始得到应用。但由于绿色农药创制的复杂性、特殊性和系统交叉性, 农药学与基础生物学研究仍存在着很大的差距。因此, 需要从绿色农药创新的特点和农药产业重大问题着手, 深入基础生物学学科与农药学学科的交叉研究, 提升绿色农药创新研究水平, 推动农药产业健康发展^[10]。

结合我国在农药创制及应用的相关研究基础和农药创制研究的重大关键科学问题, 建议加强绿色农药分子靶标发现与验证、农药分子设计、天然产物活性化合物库构建、组合化学及仿生合成、农药生态风险评估等研究技术于一体的农药创新技术体系, 推动原创性、颠覆性的绿色农药新品种的创制, 提升我国对农业有害生物的防控能力和农药产业的核心竞争力, 保障我国粮食安全和农药产业健康发展。

(1) 原创性绿色农药分子靶标的挖掘。通过生物信息学、功能基因组学、功能蛋白组学、大数据等, 预测调控动植物及病虫害重要功能基因, 通过比较生物学研究靶标生物和非靶生物的功能因子, 挖掘潜在靶标, 揭示其分子机制, 解析候选靶标的结构与功能、靶标与药物的互作关系, 为农业药物的设计与创制奠定基础。

(2) 绿色农药的分子设计。基于天然产物及化学小分子数据库, 发展基于计算机辅助技术和人工智能的农药分子设计新方法和药物合理设计新平台; 基于计算机辅助设计平台, 发展高通量筛选方法, 构建覆盖广泛化学空间的小分子化合物库, 设计易于修饰和衍生的新型农药分子骨架; 发展基于靶标抗性预测的药物合理设计新方法, 从源头上降低新农药创制抗性和交互抗性的风险。

(3) 绿色农药高通量筛选及其环境安全风险评价。

针对农业重大病虫害以及特殊作用机制, 建立灵敏快速的离体及活体高通量筛选方法及技术平台; 发展新型的农药环境安全风险评价模型。

(4) 新型植物免疫激活剂与生长发育信号调控剂创制与应用。开展植物免疫及生长发育信号调控的分子机制研究, 发现新的免疫信号通路和免疫蛋白及免疫受体, 针对信号调控通路和免疫蛋白、免疫受体, 基于天然产物源及衍生物创制出植物生长发育信号调控和免疫诱导剂, 发展生长发育信号调控和植物免疫调控技术; 建立相应的综合防治技术新体系并示范推广。

(5) 多靶标生物源农药与核酸农药开发与应用。构建高通量多靶标生物农药筛选平台, 筛选并挖掘在特殊环境条件下能够防控多种有害生物的生物农药资源, 开展生物合成机制研究和菌种改造, 利用现代生物发酵工程技术和制剂加工技术开发生物源农药; 利用基因编辑技术、基因沉默技术等设计新型核酸农药。

(6) 基于多维调控的绿色防控。综合考虑各类有害生物以及环境、营养、土壤等非生物因素, 从“植物-病原-昆虫-媒介生物-天敌”等多界多元互作视角, “植物分子生物学-植物病理学-生态学”的多学科视角, 从多重病虫害视角以及全产业链综合性防控技术视角, 建立起系统性思维方式, 优化科研设计布局, 大力发展生态调控、生物防治、物理防治等环境友好型病虫害防治措施。同时, 从有害生物暴发成灾和种群形成机制、生态防控理论基础、植物免疫形成机制以及绿色农药创制等基础理论的创新研究方面, 全面提升科研水平和科技支撑能力。

3.3 加大有害生物抗药性研究

(1) 重要农业有害生物抗药性发生机制研究。(i) 基于靶标突变的有害生物抗药性机制。针对目前高抗常用农药重要农作物病原菌、害虫和杂草, 明确常用农药的分子靶标及其变异与表达差异, 检测突变的基因型与分布频率, 明确靶标变异对有害生物抗药性的贡献, 阐明靶标不敏感机制。研究靶标变异对互作蛋白、关联信号通路的影响, 阐明变异对有害生物的生理影响, 明确抗药性对有害生物适合度的影响, 探索靶标变异的稳定机制。

(ii) 基于农药代谢增强的有害生物抗药性机制。针对有害生物田间种群中常见、普遍的代谢增强机

制, 明确参与代谢增强抗性机制形成的解毒酶家族、关键成员, 阐明关键解毒途径和调控途径中关键基因表达的遗传调控机制, 明确代谢增强对有害生物适合度的影响, 完善有害生物代谢抗性形成的基础理论。

(iii) 有害生物抗性种群形成的生态机制。明确有害生物抗性个体和敏感个体的种群增长差异, 探索环境生态因子对不同类型种群发展的影响, 明确在类似田间条件下有害生物抗性种群增长的制约条件, 阐明种群形成的生态机制。

(2) 重要农业有害生物抗药性高效治理技术研发。

(i) 针对有害生物靶标突变的抗性农药设计与应用。鉴定导致抗药性形成的关键靶标突变, 分析靶标与农药的分子互作机制以及突变对分子互作的影响, 对现有农药进行分子改造, 筛选和设计全新结构化合物, 获得受靶标突变影响较小且无显著交互抗性的农药新材料和新品种, 开发新农药合理使用的配套技术。

(ii) 针对有害生物代谢抗性的农药组合物设计与应用。在明确参与农药代谢的关键解毒酶的基础上, 通过代谢抗性机制不重叠的不同农药组合、对关键解毒酶活性具有抑制作用的增效剂与农药的组合, 实现有害生物代谢抗性的抑制, 提升农药组合物的防控效果。

(iii) 针对有害生物抗性种群形成生态机制的生产实用技术研发与应用。明确关键环境生态因子对有害生物抗性种群发展的抑制作用, 利用农业措施(栽培技术)、生防措施和生态调控措施, 增强和放大环境因子的作用, 减少化学农药的使用。同时, 合理使用不同类型、不同剂型的农药及其增效产品, 减少单一药剂的

选择压力, 延缓抗药性发生发展, 实现抗药性综合治理。

3.4 积极推进企业调整产业结构

为解决当前我国农药企业多小散及产能过剩和农药品种结构不合理等问题, 需要在产品登记、生产许可、项目扶持等方面给予必要的支持, 支持企业兼并重组、淘汰落后产能, 做优、做强、做大, 打造一批竞争力强、诚信度好的大中型企业。继续淘汰高毒化学农药, 推进农药转型升级和高质量绿色发展。

4 小结

近十年来, 在有关部门的大力支持下, 我国在绿色农药创制和应用上得到了长足的发展, 为农药创制工作奠定了坚实的基础, 有力地保障了我国的粮食安全。但我国的绿色农药原始创新能力仍落后于发达国家, 尤其缺少自主创制的全新分子骨架。尽管我国已成为全球最大的农药生产国, 但农药行业仍存在着创新意识低, 缺乏核心竞争力等问题, 制约着农药行业的健康发展。面对当下全球人口增多和气候变暖的严峻形势, 粮食安全面临着很大的挑战。我国农药产业要走出传统的仿制体系, 加大创新力度, 大力发展和应用农药创制新技术、新平台, 形成自主的创新应用体系, 在农药创制与应用的“卡脖子”问题上寻求突破。同时重点培养行业领军人才和龙头企业, 优化产业结构, 建立集农药创制与应用于一体的产业可持续发展体系, 推动我国农药产业转型升级, 有力地保障我国农业绿色可持续发展。

参考文献

- 1 Li L, Jin H J, Huang X H, et al. Characteristics of Chinese pesticide import and export in 2018 and prospects analysis of 2019 (in Chinese). *Pestic Sci Admin*, 2019, 40: 6–10 [李琳, 金和江, 黄心禾, 等. 2018年我国农药进出口特点与2019年趋势分析. *农药科学与管理*, 2019, 40: 6–10]
- 2 Zhang W J, Cao B W, Guo W, et al. Analysis of the current situation and trend of Chinese pesticide“going global” (in Chinese). *Pestic Sci Admin*, 2019, 40: 12–15 [张文君, 曹兵伟, 郭卫, 等. 中国农药“走出去”现状与趋势分析. *农药科学与管理*, 2019, 40: 12–15]
- 3 Cao B W. Import and export of pesticides (Q1 2023) (in Chinese). *Pestic Sci Admin*, 2023, 44: 65–66 [曹兵伟. 农药进出口情况(2023年一季度). *农药科学与管理*, 2023, 44: 65–66]
- 4 Dong Z P. Development trend of world pesticide market and current situation of pesticide R&D and production in China (in Chinese). *Chem Enterp Manage*, 2021, 26: 35–36 [董志鹏. 世界农药市场发展趋势与中国农药研发生产现状. *化工管理*, 2021, 26: 35–36]
- 5 Shao X S, Du S Q, Li Z, et al. Research and development of green pesticides in China (in Chinese). *World Pestic*, 2020, 42: 16–24 [邵旭升, 杜

- 少卿, 李忠, 等. 中国绿色农药的研究和发展. *世界农药*, 2020, 42: 16–24]
- 6 Kandasamy R, London D, Stam L, et al. Afidopyropen: new and potent modulator of insect transient receptor potential channels. *Insect Biochem Mol Biol*, 2017, 84: 32–39
 - 7 Asami T, Nakagawa Y. Preface to the Special Issue: brief review of plant hormones and their utilization in agriculture. *J Pestic Sci*, 2018, 43: 154–158
 - 8 Pasteris R J, Hanagan M A, Bisaha J J, et al. Discovery of oxathiapiprolin, a new oomycete fungicide that targets an oxysterol binding protein. *Bioorg Med Chem*, 2016, 24: 354–361
 - 9 Song B A, Wu J, Li X Y. Review and reflection on innovation of pesticide in China (in Chinese). *Pestic Sci Admin*, 2019, 40: 1–10 [宋宝安, 吴剑, 李向阳. 我国农药创新研究回顾及思考. *农药科学与管理*, 2019, 40: 1–10]
 - 10 Wu J, Song B A. Current situation and thinking for the innovation of green pesticide (in Chinese). *Bull Nat Sci Found China*, 2020, 34: 486–494 [吴剑, 宋宝安. 绿色农药创新及靶标研究现状与思考. *中国科学基金*, 2020, 34: 486–494]
 - 11 Wang Y Y, Yuan S K, Liu X Z, et al. Biopesticide Active Ingredients Registered in US-EPA in 2017 (in Chinese). *World Pestic*, 2018, 40: 40–49 +52 [王以燕, 袁善奎, 刘杏忠, 等. 2017年美国生物农药有效成分登记情况. *世界农药*, 2018, 40: 40–49+52]
 - 12 Mitter N, Worrall E A, Robinson K E, et al. Clay nanosheets for topical delivery of RNAi for sustained protection against plant viruses. *Nat Plants*, 2017, 3: 16207
 - 13 Qiu D W. Progress and prospect of plant immunity inducer (in Chinese). *J Agric Sci Technol*, 2014, 16: 39–45 [邱德文. 植物免疫诱抗剂的研究进展与应用前景. *中国农业科技导报*, 2014, 16: 39–45]
 - 14 Zhao P L, Wang L, Zhu X L, et al. Subnanomolar inhibitor of cytochrome *bc₁* complex designed by optimizing interaction with conformationally flexible residues. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 185–194
 - 15 Congreve M, Chessari G, Tisi D, et al. Recent developments in fragment-based drug discovery. *J Med Chem*, 2008, 51: 3661–3680
 - 16 Erlanson D A, Fesik S W, Hubbard R E, et al. Twenty years on: the impact of fragments on drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15: 605–619
 - 17 Murray C W, Rees D C. The rise of fragment-based drug discovery. *Nat Chem*, 2009, 1: 187–192
 - 18 Hao G F, Wang F, Li H, et al. Computational discovery of picomolar *Q_o* site inhibitors of cytochrome *bc₁* complex. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 11168–11176
 - 19 Ji F Q, Niu C W, Chen C N, et al. Computational design and discovery of conformationally flexible inhibitors of acetohydroxyacid synthase to overcome drug resistance associated with the W586L mutation. *ChemMedChem*, 2008, 3: 1203–1206
 - 20 Kortemme T, Kim D E, Baker D. Computational alanine scanning of protein-protein interfaces. *Sci STKE*, 2004, 2004: p12
 - 21 Liu X, Peng L, Zhou Y, et al. Computational alanine scanning with interaction entropy for protein-ligand binding free energies. *J Chem Theor Comput*, 2018, 14: 1772–1780
 - 22 Hao G F, Yang G F, Zhan C G. Computational mutation scanning and drug resistance mechanisms of HIV-1 protease inhibitors. *J Phys Chem B*, 2010, 114: 9663–9676
 - 23 Wei T, Wen X, Niu C, et al. Design of acetohydroxyacid synthase herbicide-resistant germplasm through MB-QSAR and CRISPR/Cas9-mediated base-editing approaches. *J Agric Food Chem*, 2022, 70: 2817–2824
 - 24 Hao G, Dong Q, Yang G. A comparative study on the constitutive properties of marketed pesticides. *Mol Inform*, 2011, 30: 614–622
 - 25 Liu C, Guan A, Yang J, et al. Efficient approach to discover novel agrochemical candidates: intermediate derivatization method. *J Agric Food Chem*, 2016, 64: 45–51
 - 26 Chai B, Liu C. (Z)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-(4-fluorophenyl)-1-morpholinoprop-2-en-1-one. *Acta Crystlogr E Struct Rep Online*, 2011, 67: o1780
 - 27 Hao G F, Jiang W, Ye Y N, et al. ACFIS: a web server for fragment-based drug discovery. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44: W550–W556
 - 28 Wu F X, Wang F, Yang J F, et al. AIMMS suite: a web server dedicated for prediction of drug resistance on protein mutation. *Brief Bioinform*, 2020, 21: 318–328
 - 29 Wu F, Zhuo L, Wang F, et al. Auto in silico ligand directing evolution to facilitate the rapid and efficient discovery of drug lead. *iScience*, 2020, 23: 101179
 - 30 Wu F X, Yang J F, Mei L C, et al. PIIMS Server: a web server for mutation hotspot scanning at the protein-protein interface. *J Chem Inf Model*, 2021, 61: 14–20

- 31 Mei L C, Wang Y L, Wu F X, et al. HISNAPI: a bioinformatic tool for dynamic hot spot analysis in nucleic acid–protein interface with a case study. *Brief Bioinform*, 2021, 22: bbaa373
- 32 Wang F, Wu F X, Li C Z, et al. ACID: a free tool for drug repurposing using consensus inverse docking strategy. *J Cheminform*, 2019, 11: 73
- 33 Yang J F, Wang F, Chen Y Z, et al. LARMD: integration of bioinformatic resources to profile ligand-driven protein dynamics with a case on the activation of estrogen receptor. *Brief Bioinform*, 2020, 21: 2206–2218
- 34 Yang J F, Wang F, Jiang W, et al. PADFrag: a database built for the exploration of bioactive fragment space for drug discovery. *J Chem Inf Model*, 2018, 58: 1725–1730
- 35 Wang Y L, Wang F, Shi X X, et al. Cloud 3D-QSAR: a web tool for the development of quantitative structure–activity relationship models in drug discovery. *Brief Bioinform*, 2021, 22: bbaa276
- 36 Wang F, Yang J F, Wang M Y, et al. Graph attention convolutional neural network model for chemical poisoning of honey bees' prediction. *Sci Bull*, 2020, 65: 1184–1191
- 37 Jia C Y, Wang F, Hao G F, et al. InsectiPAD: a web tool dedicated to exploring physicochemical properties and evaluating insecticide-likeness of small molecules. *J Chem Inf Model*, 2019, 59: 630–635
- 38 Wang M, Wang F, Hao G F, et al. FungiPAD: a free web tool for compound property evaluation and fungicide-likeness analysis. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 1823–1830
- 39 Huang J J, Wang F, Ouyang Y, et al. HerbiPAD: a free web platform to comprehensively analyze constitutive property and herbicide-likeness to estimate chemical bioavailability. *Pest Manage Sci*, 2021, 77: 1273–1281
- 40 Lin H Y, Chen X, Chen J N, et al. Crystal structure of 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase in complex with substrate reveals a new starting point for herbicide discovery. *Research*, 2019, 2019: 2019/2602414
- 41 He B, Dong J, Lin H Y, et al. Pyrazole-isindoline-1,3-dione hybrid: a promising scaffold for 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 10844–10852
- 42 Gong J, Liu X, Cao X, et al. PTID: an integrated web resource and computational tool for agrochemical discovery. *Bioinformatics*, 2013, 29: 292–294
- 43 Wang B, Wen X, Qin X, et al. Quantitative structural insight into human variegate porphyria disease. *J Biol Chem*, 2013, 288: 11731–11740
- 44 He Y, Niu C, Wen X, et al. Biomacromolecular 3D-QSAR to decipher molecular herbicide resistance in acetohydroxyacid synthases. *Mol Inform*, 2013, 32: 139–144
- 45 Satti A T, Siddiqi A R, Maryam A, et al. Structure-guided computational insecticide discovery targeting β -N-acetyl-D-hexosaminidase of *Ostrinia furnacalis*. *J Biomol Struct Dyn*, 2023, 0: 1–14
- 46 Rossi F, Garavaglia S, Giovenzana G B, et al. Crystal structure of the *Anopheles gambiae* 3-hydroxykynurenine transaminase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 5711–5716
- 47 Maciel L G, Oliveira A A, Romão T P, et al. Discovery of 1,2,4-oxadiazole derivatives as a novel class of noncompetitive inhibitors of 3-hydroxykynurenine transaminase (HKT) from *Aedes aegypti*. *Bioorg Med Chem*, 2020, 28: 115252
- 48 Cheng D, Feng M, Ji Y, et al. Effects of celangulin IV and V from *Celastrus angulatus* maxim on Na^+/K^+ -ATPase activities of the oriental armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J Insect Sci*, 2016, 16: 59
- 49 Liu C, Bai L, Cao P, et al. Novel plant growth regulator guvermectin from plant growth-promoting rhizobacteria boosts biomass and grain yield in rice. *J Agric Food Chem*, 2022, 70: 16229–16240
- 50 Lu C, Liu H, Jiang D, et al. *Paecilomyces variotii* extracts (ZNC) enhance plant immunity and promote plant growth. *Plant Soil*, 2019, 441: 383–397
- 51 Yan Y, Liu Q, Zang X, et al. Resistance-gene-directed discovery of a natural-product herbicide with a new mode of action. *Nature*, 2018, 559: 415–418
- 52 Nesterov A, Spalthoff C, Kandasamy R, et al. TRP channels in insect stretch receptors as insecticide targets. *Neuron*, 2015, 86: 665–671
- 53 Prael F J, Chen R, Li Z, et al. Use of chemical probes to explore the toxicological potential of the K^+/Cl^- cotransporter (KCC) as a novel insecticide target to control the primary vector of dengue and Zika virus, *Aedes aegypti*. *Pestic Biochem Physiol*, 2018, 151: 10–17
- 54 Hatamoto M, Aizawa R, Kobayashi Y, et al. A novel fungicide aminopyrifin inhibits GWT-1 protein in glycosylphosphatidylinositol-anchor biosynthesis in *Neurospora crassa*. *Pestic Biochem Physiol*, 2019, 156: 1–8
- 55 Nakao T, Banba S. Broflanilide: A meta-diamide insecticide with a novel mode of action. *Bioorg Med Chem*, 2016, 24: 372–377

- 56 Park S Y, Fung P, Nishimura N, et al. Absciscic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science*, 2009, 324: 1068–1071
- 57 Okamoto M, Peterson F C, Defries A, et al. Activation of dimeric ABA receptors elicits guard cell closure, ABA-regulated gene expression, and drought tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 12132–12137
- 58 Vaidya A S, Peterson F C, Eckhardt J, et al. Click-to-lead design of a picomolar ABA receptor antagonist with potent activity *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2108281118
- 59 Vaidya A S, Helander J D M, Peterson F C, et al. Dynamic control of plant water use using designed ABA receptor agonists. *Science*, 2019, 366: eaaw8848
- 60 Uraguchi D, Kuwata K, Hijikata Y, et al. A femtomolar-range suicide germination stimulant for the parasitic plant *Striga hermonthica*. *Science*, 2018, 362: 1301–1305
- 61 Cao M, Chen R, Li P, et al. TMK1-mediated auxin signalling regulates differential growth of the apical hook. *Nature*, 2019, 568: 240–243
- 62 Chen Z, Zeng M, Song B, et al. Dufulin activates HrBP1 to produce antiviral responses in tobacco. *PLoS ONE*, 2012, 7: e37944
- 63 Wang D, Xie X, Gao D, et al. Dufulin intervenes the viroplasmic proteins as the mechanism of action against southern rice black-streaked dwarf virus. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 11380–11387
- 64 Shi J, Yu L, Song B. Proteomics analysis of Xiangcaoliusuobingmi-treated *Capsicum annuum* L. infected with *Cucumber mosaic virus*. *Pestic Biochem Physiol*, 2018, 149: 113–122
- 65 Gan X, Hu D, Wang Y, et al. Novel *trans*-ferulic acid derivatives containing a chalcone moiety as potential activator for plant resistance induction. *J Agric Food Chem*, 2017, 65: 4367–4377
- 66 Chen B, Long Q, Zhao Y, et al. Sulfone-based probes unraveled dihydrolipoamide *S*-succinyltransferase as an unprecedented target in phytopathogens. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 6962–6969
- 67 Zheng Z, Hou Y, Cai Y, et al. Whole-genome sequencing reveals that mutations in myosin-5 confer resistance to the fungicide phenamacril in *Fusarium graminearum*. *Sci Rep*, 2015, 5: 8248
- 68 Zhou Y, Zhou X E, Gong Y, et al. Structural basis of *Fusarium* myosin I inhibition by phenamacril. *PLoS Pathog*, 2020, 16: e1008323
- 69 Li T, Cai M, Wang W, et al. PcCesA1 is involved in the polar growth, cellulose synthesis, and glycosidic linkage crosslinking in the cell wall of *Phytophthora capsici*. *Int J Biol Macromol*, 2022, 208: 720–730
- 70 Dai T, Yang J, Zhao C, et al. Vacuolar H⁺-ATPase subunit a was identified as the target protein of the oomycete inhibitor fluopicolide. *bioRxiv*, 2023, 2023.04.22.537907
- 71 Ma X, Yang X, Zeng F, et al. Physcion, a natural anthraquinone derivative, enhances the gene expression of leaf-specific thionin of barley against *Blumeria graminis*. *Pest Manage Sci*, 2010, 66: 718–724
- 72 Du Q, Zhu W, Zhao Z, et al. Novel benzo-1,2,3-thiadiazole-7-carboxylate derivatives as plant activators and the development of their agricultural applications. *J Agric Food Chem*, 2012, 60: 346–353
- 73 Fan Z, Shi Z, Zhang H, et al. Synthesis and biological activity evaluation of 1,2,3-thiadiazole derivatives as potential elicitors with highly systemic acquired resistance. *J Agric Food Chem*, 2009, 57: 4279–4286
- 74 Yan X, Qin W, Sun L, et al. Study of inhibitory effects and action mechanism of the novel fungicide pyrimorph against *Phytophthora capsici*. *J Agric Food Chem*, 2010, 58: 2720–2725
- 75 Chen L, Liu T, Zhou Y, et al. Structural characteristics of an insect group I chitinase, an enzyme indispensable to moulting. *Acta Crystlogr D Biol Crystlogr*, 2014, 70: 932–942
- 76 Chen L, Zhou Y, Qu M, et al. Fully deacetylated chitooligosaccharides act as efficient glycoside hydrolase family 18 chitinase inhibitors. *J Biol Chem*, 2014, 289: 17932–17940
- 77 Chen W, Zhou Y, Yang Q. Structural dissection reveals a general mechanistic principle for group II chitinase (ChtII) inhibition. *J Biol Chem*, 2019, 294: 9358–9364
- 78 Liu T, Chen L, Zhou Y, et al. Structure, catalysis, and inhibition of OfChi-h, the lepidoptera-exclusive insect chitinase. *J Biol Chem*, 2017, 292: 2080–2088
- 79 Liu T, Liu F, Yang Q, et al. Expression, purification and characterization of the chitinolytic β -N-acetyl-d-hexosaminidase from the insect *Ostrinia furnacalis*. *Protein Expr Purif*, 2009, 68: 99–103
- 80 Liu T, Zhang H, Liu F, et al. Active-pocket size differentiating insectile from bacterial chitinolytic β -N-acetyl-D-hexosaminidases. *Biochem J*,

- 2011, 438: 467–474
- 81 Liu T, Zhang H, Liu F, et al. Structural determinants of an insect β -N-acetyl-d-hexosaminidase specialized as a chitinolytic enzyme. *J Biol Chem*, 2011, 286: 4049–4058
- 82 Qu M, Liu T, Yang J, et al. The gene, expression pattern and subcellular localization of chitin synthase B from the insect *Ostrinia furnacalis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 404: 302–307
- 83 Wu Q, Liu T, Yang Q. Cloning, expression and biocharacterization of *OjCht5*, the chitinase from the insect *Ostrinia furnacalis*. *Insect Sci*, 2013, 20: 147–157
- 84 Yang Q, Liu T, Liu F, et al. A novel β -N-acetyl-D-hexosaminidase from the insect *Ostrinia furnacalis* (Guenée). *FEBS J*, 2008, 275: 5690–5702
- 85 Chen W, Qu M, Zhou Y, et al. Structural analysis of group II chitinase (ChtII) catalysis completes the puzzle of chitin hydrolysis in insects. *J Biol Chem*, 2018, 293: 2652–2660
- 86 Duan Y, Liu T, Zhou Y, et al. Glycoside hydrolase family 18 and 20 enzymes are novel targets of the traditional medicine berberine. *J Biol Chem*, 2018, 293: 15429–15438
- 87 Han Q, Wu N, Li H L, et al. A piperine-based scaffold as a novel starting point to develop inhibitors against the potent molecular target *OjChtI*. *J Agric Food Chem*, 2021, 69: 7534–7544
- 88 Han Q, Wu N, Liu Y Y, et al. Piperonyl-tethered rhodanine derivatives potently inhibit chitinolytic enzymes of *Ostrinia furnacalis*. *J Agric Food Chem*, 2022, 70: 7387–7399
- 89 Jiang Z, Shi D, Li H, et al. Rational design and identification of novel piperine derivatives as multichitinase inhibitors. *J Agric Food Chem*, 2022, 70: 10326–10336
- 90 Li W, Ding Y, Qi H, et al. Discovery of natural products as multitarget inhibitors of insect chitinolytic enzymes through high-throughput screening. *J Agric Food Chem*, 2021, 69: 10830–10837
- 91 Qi H, Jiang X, Ding Y, et al. Discovery of kasugamycin as a potent inhibitor of glycoside hydrolase family 18 chitinases. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 640356
- 92 Zhu L, Chen L, Shao X, et al. Novel inhibitors of an insect pest chitinase: design and optimization of 9-O-aromatic and heterocyclic esters of berberine. *J Agric Food Chem*, 2021, 69: 7526–7533
- 93 Liu L, Xia Y, Li Y, et al. Inhibition of chitin deacetylases to attenuate plant fungal diseases. *Nat Commun*, 2023, 14: 3857
- 94 Chen W, Cao P, Liu Y, et al. Structural basis for directional chitin biosynthesis. *Nature*, 2022, 610: 402–408
- 95 Lin L, Liu C, Qin J, et al. Crystal structure of ryanodine receptor N-terminal domain from *Plutella xylostella* reveals two potential species-specific insecticide-targeting sites. *Insect Biochem Mol Biol*, 2018, 92: 73–83
- 96 Xu T, Yuchi Z. Crystal structure of diamondback moth ryanodine receptor Repeat34 domain reveals insect-specific phosphorylation sites. *BMC Biol*, 2019, 17: 77
- 97 Haji-Ghassemi O, Yuchi Z, Van Petegem F. The cardiac ryanodine receptor phosphorylation hotspot embraces PKA in a phosphorylation-dependent manner. *Mol Cell*, 2019, 75: 39–52.e4
- 98 Li Z, Jiang H, Liu S, et al. Ryanodine receptor-targeting small molecule fluorescent probes enables non-isotopic labeling and efficient drug screening for green insecticides. *Anal Chim Acta*, 2020, 1108: 108–117
- 99 Douris V, Steinbach D, Panteleri R, et al. Resistance mutation conserved between insects and mites unravels the benzoylurea insecticide mode of action on chitin biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 14692–14697
- 100 Van Leeuwen T, Demaeht P, Osborne E J, et al. Population bulk segregant mapping uncovers resistance mutations and the mode of action of a chitin synthesis inhibitor in arthropods. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 4407–4412
- 101 Zhang C, Chen Y, Yin Y, et al. A small molecule species specifically inhibits *Fusarium* myosin I: JS399-19 inhibits fungal myosin I. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 2735–2746
- 102 Zheng Z, Gao T, Zhang Y, et al. FgFim, a key protein regulating resistance to the fungicide JS399-19, asexual and sexual development, stress responses and virulence in *Fusarium graminearum*. *Mol Plant Pathol*, 2014, 15: 488–499
- 103 Zheng Z, Liu X, Li B, et al. Myosins FaMyo2B and Famyo2 affect asexual and sexual development, reduces pathogenicity, and FaMyo2B acts jointly with the myosin passenger protein FaSmy1 to affect resistance to phenamacril in *Fusarium asiaticum*. *PLoS ONE*, 2016, 11: e0154058
- 104 Liu X, Zheng Z, Li B, et al. A myosin passenger protein gene (FaSmy1) is an essential regulator of cell development, pathogenicity, DON biosynthesis, and resistance to the fungicide phenamacril in *Fusarium asiaticum*. *Eur J Plant Pathol*, 2017, 148: 709–722

- 105 Liu X, Yu F, Schnabel G, et al. Paralogous *cyp51* genes in *Fusarium graminearum* mediate differential sensitivity to sterol demethylation inhibitors. *Fungal Genet Biol*, 2011, 48: 113–123
- 106 Liu Z Y. The study of fungicide sensitivity regulated by transcription factor FgTeb and microtubule-associated protein FgEB1 in *Fusarium graminearum* (in Chinese). Dissertation for Doctoral Degree. Hangzhou: Zhejaing University, 2017 [刘尊勇. 转录因子FgTeb及微管末端结合蛋白FgEB1调控禾谷镰刀菌药剂敏感性机制研究. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2017]
- 107 Miao J, Li C, Liu X, et al. Activity and resistance-related point mutations in target protein PcORP1 of fluoxapiprolin in *Phytophthora capsici*. *J Agric Food Chem*, 2021, 69: 3827–3835
- 108 Miao J, Liu X, Li G, et al. Multiple point mutations in *PsORP1* gene conferring different resistance levels to oxathiapiprolin confirmed using CRISPR-Cas9 in *Phytophthora sojae*. *Pest Manage Sci*, 2020, 76: 2434–2440
- 109 Chen S, Yuan N, Schnabel G, et al. Function of the genetic element ‘Mona’ associated with fungicide resistance in *Monilinia fructicola*. *Mol Plant Pathol*, 2017, 18: 90–97
- 110 Wang F, Lin Y, Yin W X, et al. The Y137H mutation of *VvCYP51* gene confers the reduced sensitivity to tebuconazole in *Villosiclava virens*. *Sci Rep*, 2015, 5: 17575
- 111 Firoz M J, Xiao X, Zhu F X, et al. Exploring mechanisms of resistance to dimethachlone in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Pest Manage Sci*, 2016, 72: 770–779
- 112 Zhang H, Tian W, Zhao J, et al. Diverse genetic basis of field-evolved resistance to Bt cotton in cotton bollworm from China. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 10275–10280
- 113 Jin L, Zhang H, Lu Y, et al. Large-scale test of the natural refuge strategy for delaying insect resistance to transgenic Bt crops. *Nat Biotechnol*, 2015, 33: 169–174
- 114 Yang X, Xie W, Wang S, et al. Two cytochrome P450 genes are involved in imidacloprid resistance in field populations of the whitefly, *Bemisia tabaci*, in China. *Pestic Biochem Physiol*, 2013, 107: 343–350
- 115 Yang X, Wei X, Yang J, et al. Epitranscriptomic regulation of insecticide resistance. *Sci Adv*, 2021, 7: eabe5903
- 116 Wang B F, He Y W, Wen X, et al. Prediction on the resistance of acetohydroxyacid synthase mutants to herbicide flumetsulam (in Chinese). *Acta Chim Sin*, 2022, 80: 141–149 [王白帆, 何寅武, 文欣, 等. 乙酰羟酸合成酶突变体对除草剂阔草清抗性的预测研究. 化学学报, 2022, 80: 141–149]
- 117 Murphy B P, Tranel P J. Target-site mutations conferring herbicide resistance. *Plants*, 2019, 8: 382
- 118 Fang J, Yang D, Zhao Z, et al. A novel Phe-206-Leu mutation in acetolactate synthase confers resistance to penoxsulam in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv). *Pest Manage Sci*, 2022, 78: 2560–2570
- 119 Cai J X. Studies on the resistance of beckmannia syzigachne to ACCase inhibitor in wheat fields of Yangzhou (in Chinese). Dissertation for Master’s Degree. Yangzhou: Yangzhou University, 2020 [蔡靖萱. 扬州市小麦田菵草对ACCase抑制剂的抗性研究. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学, 2020]
- 120 He B, Wang D W, Yang W C, et al. Advances in research on 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD) structure and pyrazole-containing herbicides (in Chinese). *Chin J Org Chem*, 2017, 37: 2895–2904 [何波, 王大伟, 杨文超, 等. 对羟基苯丙酮酸双加氧酶(HPPD)的结构及其吡唑类除草剂的最新研究进展. 有机化学, 2017, 37: 2895–2904]
- 121 Lin F R. Herbicidal activity and characteristics of a novel PPO inhibitor-Y11049 (in Chinese). Dissertation for Master’s Degree. Hangzhou: Zhejiang A&F University. 2021 [林方锐. 新型原卟啉原氧化酶(PPO)抑制剂Y11049除草活性及作用特性研究. 硕士学位论文. 杭州: 浙江农林大学. 2021]
- 122 Pan L, Yu Q, Wang J, et al. An ABCC-type transporter endowing glyphosate resistance in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2100136118

Current situation and the development of green pesticides in China

YUAN ZhiLi, YE WenWu, HOU YiPing & WANG YuanChao

College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Pesticides are essential for food security, but the irrational application of pesticides seriously endangers agricultural production. The development of green pest management and the innovation of green pesticides will contribute to food security and enhance the core competitiveness of pesticide industry. Although our country has made significant progress in the field of pesticide innovation, the development of pesticide industry is still facing many challenges. This article introduces the development of the pesticide industry, the development and problems in the innovation of green pesticide, and puts forward some corresponding suggestions based on different viewpoints.

green pesticide, new pesticide innovation, green pest management

doi: [10.1360/SSV-2023-0218](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0218)