

酶介导下农药在植物中的三相代谢转化研究进展

李如男, 董丰收*, 吴小虎, 刘新刚, 徐 军, 郑永权*

(中国农业科学院 植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 植物酶诱导农药在植物中的代谢转化对农药的安全使用及风险评估具有重要意义。现有研究表明, 农药在植物中的代谢转化途径主要分为 3 个阶段: I 相代谢为氧化、水解和还原等酶的催化及非生物降解过程; II 相代谢是在谷胱甘肽 *S*-转移酶、糖基转移酶和丙二酰基转移酶等作用下农药及其代谢物与植物内源物质进行的轭合过程; III 相代谢中, 植物细胞质中的轭合物被分泌到液泡溶质储存, 或运输到质外体中作为结合残留物保留。文章综述了植物中的农药在植物酶作用下的 3 相代谢转化研究进展, 包括参与代谢的植物酶系、基因鉴定、代谢途径及调控机制、研究方法及相关应用等, 旨在为解析农药在植物中的归趋、农药膳食风险评估、农药抗性管理及环境修复等相关研究提供理论及技术参考。

关键词: 农药代谢; 植物酶; 细胞色素 P450 酶; 谷胱甘肽 *S*-转移酶; 糖基转移酶; 丙二酰基转移酶; 环境修复

中图分类号: S481.8; TQ450.26

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2019)5-6-0799-16

Research progress in three-phase metabolic transformations of pesticides in plants mediated by enzymes

LI Runan, DONG Fengshou*, WU Xiaohu, LIU Xingang, XU Jun, ZHENG Yongquan*

(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Beijing 100193, China)

Abstract: The metabolic transformations of pesticides in plants induced by plant enzymes are crucial for their application safety and risk assessment. Existing studies demonstrated that the metabolic pathways of pesticides in plants were mainly divided into three stages. Phase I reactions include oxidation, hydrolysis, reduction and other processes, which were either catalysed by enzymes or were abiotic degradation processes. Phase II reactions were conjugation reactions between pesticides and/or their metabolites with endogenous substances in the plant via the action of glutathione *S*-transferases, glycosyltransferases, malonyltransferases, and etc. In Phase III metabolism, the conjugates were secreted from cytosol into the vacuole or apoplast in plant, which were stored as a solutes or bound residues. In this review, the recent progress in the three-phase metabolic transformations of pesticides in plants, which is mediated by plant enzymes, has been summarised. And also covers plant enzymes

收稿日期: 2019-08-24; 录用日期: 2019-09-20.

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0200204).

作者简介: 李如男, 女, 博士研究生, E-mail: lirunan92@163.com; *董丰收, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 博士, 研究员, 研究方向为农药残留与环境毒理, E-mail: dongfengshou@caas.cn; *郑永权, 共同通信作者 (Co-author for correspondence), 男, 博士, 研究员, 研究方向为农药残留与环境毒理, E-mail: zhengyongquan@ippcaas.cn

involved in the metabolic processes, gene identification, metabolic pathways and regulatory mechanisms, and both the research methods and research applications were reviewed. This paper will provide theoretical and technical references for relevant research for analyzing the fate of pesticides in plant, dietary risk assessment of pesticides, resistance management of pesticide and environmental remediation.

Keywords: metabolism of pesticide; plant enzymes; cytochrome P450 enzyme; glutathione *S*-transferases; glycosyltransferases; malonyltransferases; environmental remediation

0 引言

农药是必不可少的农业生产资料,是防治农作物病虫害鼠害的重要投入品,是保障粮食生产安全的物质基础。然而,农药过量使用也造成了农产品质量和环境污染等问题^[1]。根据农业农村部统计数据,2017年中国水稻、玉米、小麦三大粮食作物上的农药利用率仅为38.8%^[2]。农药施用后一部分附着在植物表面或进入植物体内,剩余农药则沉积到土壤,或进入大气及水体中。环境中的农药一部分也可被植物吸收,进而通过人体直接摄入或经食物链传递影响人体健康。因此,开展农药在植物中的代谢转化过程及其机制研究十分重要。

农药的降解通常包括水解、光解及酶解等途径,植物酶转化是农药在植物中降解和解毒的主要途径。农药进入植物后可通过多种代谢和转化途径进行生物降解,研究农药在植物中的代谢转化途径有利于明确农产品中的农药残留物组成及进行农药膳食风险评估。同时,探究农药在植物中的代谢转化机制可为新农药创制及农药安全使用提供重要依据,对解析与代谢抗性相关的基因及抗性管理也具有重要意义,相关研究结果是作物育种、转基因植物工程及环境污染的植物修复等领域的重要科学依据^[3-5]。

农药登记试验中的“农作物中农药代谢试验”,一般是通过放射性同位素示踪法获取某种农药在作物中的代谢和/或降解产物信息及途径,以及农药母体及其代谢和/或降解产物在作物中的消减动态规律^[6]。其主要关注农药在植物中代谢后的残留物组成及残留水平,目的是根据残留分布及主要代谢产物,结合毒理学数据确定残留物定义。本文主要关注农药在植物中的代谢转化途径及其代谢转化机制,重点综述了由植物酶参与的农药在植物体内的三相代谢过程、影响因素、研

究方法及研究应用进展,并对相关领域未来研究方向进行了展望。

1 农药在植物中的代谢

通过植物酶促转化是农药在植物中代谢解毒的主要途径。农药在植物中的代谢转化主要分为3个阶段: I相代谢为酶催化反应及非生物降解过程,包括氧化、水解和还原等。一般情况下此过程可将农药转化成水溶性更强、植物毒性更低的化合物;而在某些特殊情况下则有可能生成植物毒性更强的物质,如一些除草剂在植物中的代谢活化^[7]。II相代谢涉及农药及其代谢物与植物内源物质(包括碳水化合物、氨基酸和谷胱甘肽等)进行的轭合。参与II相代谢的植物酶包括谷胱甘肽 *S*-转移酶(glutathione *S*-transferases, GSTs)、糖基转移酶(glycosyltransferases, GTs)和丙二酰基转移酶(malonyltransferases, MTs)等^[8]。II相代谢形成的轭合物质通常比母体化合物水溶性更强,具有较低的植物毒性,可储存在细胞器如液泡中^[9]。III相代谢主要通过三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)依赖性转运蛋白,从细胞液中主动除去II相代谢形成的轭合物和相关的分解代谢物,并沉积至液泡中临时储存或进一步分解代谢;一些轭合物则运输到植物细胞其他区域如聚合成细胞壁组分形成不溶性结合残留^[10-12]。也有一些报道中将III相代谢的部分过程归为IV相代谢,包括将III相代谢的液泡产物再次运输回细胞液中进行矿化,以及将代谢中间体并入结合残留中等^[8, 13]。然而,目前有关IV相代谢的定义并不明确,观点也不一致。此外,在同一植物中同一种农药可以同时经历不同途径的代谢^[8]。

1.1 植物酶介导农药的 I 相代谢

1.1.1 氧化转化 植物细胞色素 P450 (cytochromes P450, P450/CYP) 酶超家族是最大的植物蛋白家族,也是目前研究最多的 I 相代谢酶^[14]。P450 酶

是一类在波长为 450 nm 处有最大吸收峰、具有亚铁血红素催化活性中心的氧化还原酶^[15-16]。其在真核生物中主要分布于内质网、微粒体和线粒体内膜等, 作为一种膜结合蛋白, 主要催化单加氧反应: $\text{RH} + \text{O}_2 + \text{NAD(P)H} + \text{H}^+ \rightarrow \text{ROH} + \text{H}_2\text{O} + \text{NAD(P)}^+$ 。由植物 P450 酶参与的内源及外源物质代谢反应主要包括: 环甲基羟基化、芳环羟基化、杂原子脱烷基化、环氧化、双键氧化和杂原子氧化等^[17]。1969 年, Frear 等^[18]首次报道了棉花幼苗微粒体中混合功能氧化酶对灭草隆 (monuron) 的代谢, 揭示了植物中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (磷酸) [nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate), NAD(P)H] 依赖的 P450 单加氧酶的存在。在植物中, 一些除草剂的羟基化代谢物主要通过 P450 酶介导形成^[19]。如小麦中苯基脲类除草剂绿麦隆 (chlorotoluron) 在植物 P450 酶诱导下, 通过环甲基羟基化和 *N*-脱甲基进行代谢解毒, 而环甲基羟基化是小麦对绿麦隆产生抗性的主要原因^[20-21]; 磺

酰脲类除草剂氯磺隆 (chlorsulfuron) 和醚苯磺隆 (triasulfuron) 在小麦中 P450 酶的诱导作用下发生的 5-苯基环羟基化作用^[22]; 苯基脲类除草剂利谷隆 (linuron) 在大豆中由 P450 酶诱导的代谢中, *N*-脱甲基化为主要作用, 而环甲基羟基化为次要作用^[23]。

近年来, 解析介导农药代谢的植物 P450 基因功能的研究取得了显著进展 (表 1)^[24]。不同植物中的 *CYP71A10*、*CYP71A11* (原命名为 *CYP71A11*)、*CYP73A1*、*CYP71B1*、*CYP76B1*、*CYP81B1*、*CYP81B2* 及 *CYP71R4* 基因参与了苯基脲类除草剂绿麦隆的代谢过程^[23, 25-30]。此外, Xiang 等^[22]从小麦中克隆得到 *CYP71C6v1* 基因并在酵母中进行了表达, 发现该菌株可通过 5-苯基环羟基化作用催化磺酰脲类除草剂如氯磺隆和醚苯磺隆的代谢。Gaines 等^[31]研究发现了与瑞士黑麦草 *Lolium rigidum* 对禾草灵代谢抗性相关的两个 *CYP72A* 基因。此外, Ahmad-Hamdani 等^[32]证实了植物中

表 1 参与植物中农药代谢的 P450s 基因

Table 1 P450s gene involved in metabolism of pesticide in plants

P450s 基因 P450s gene	来源植物 Plant	代谢农药 Pesticide	农药类别 Category of pesticide	代谢方式 Metabolic mode
<i>CYP71A10</i> ^[23]	大豆 Soybean	伏草隆、敌草隆 fluometuron, diuron 利谷隆 linuron	苯基脲类除草剂 Phenylurea herbicide	<i>N</i> -脱甲基化 <i>N</i> -dealkylation <i>N</i> -脱甲基化、环甲基羟基化 <i>N</i> -dealkylation, ring-methyl hydroxylation
		绿麦隆 chlorotoluron		环甲基羟基化、 <i>N</i> -脱甲基化 Ring-methyl hydroxylation, <i>N</i> -dealkylation
<i>CYP71A11</i> ^[25]	烟草 Tobacco	绿麦隆 chlorotoluron	苯基脲类除草剂 Phenylurea herbicide	<i>N</i> -脱甲基化 <i>N</i> -dealkylation
<i>CYP81B2</i> ^[26]	烟草 Tobacco	绿麦隆 chlorotoluron	苯基脲类除草剂 Phenylurea herbicide	环甲基羟基化 Ring-methyl hydroxylation
<i>CYP71C6v1</i> ^[22]	小麦 Wheat	氯磺隆、醚苯磺隆 chlorsulfuron, triasulfuron	磺酰脲类除草剂 Sulfonylurea herbicides	5-苯基环羟基化 5-Phenyl ring hydroxylation
<i>CYP71R4</i> ^[26]	瑞士黑麦草 <i>Lolium rigidum</i>	绿麦隆 chlorotoluron	苯基脲类除草剂 Phenylurea herbicide	<i>N</i> -脱甲基化、环甲基羟基化 <i>N</i> -dealkylation, ring-methyl hydroxylation
<i>CYP76B1</i> ^[27]	菊芋 <i>Helianthus tuberosus</i>	异丙隆、绿麦隆、利谷隆 isoproturon, chlorotoluron, linuron	苯基脲类除草剂 Phenylurea herbicide	<i>N</i> -脱甲基化 <i>N</i> -dealkylation
<i>CYP81B1</i> ^[28]	菊芋 <i>Helianthus tuberosus</i>	绿麦隆 chlorotoluron	苯基脲类除草剂 Phenylurea herbicide	环甲基羟基化 Ring-methyl hydroxylation
<i>CYP73A1</i> ^[29]	菊芋 <i>Helianthus tuberosus</i>	绿麦隆 chlorotoluron	苯基脲类除草剂 Phenylurea herbicide	环甲基羟基化 Ring-methyl hydroxylation
<i>CYP71B1</i> ^[30]	—	绿麦隆 chlorotoluron	苯基脲类除草剂 Phenylurea herbicide	<i>N</i> -脱甲基化 <i>N</i> -dealkylation
<i>CYP72A3J</i> ^[34]	水稻 Rice	双草醚、苄嘧磺隆 bispyribac-sodium, bensulfuron methyl	苯氧羧酸类、磺酰脲类除草剂 Phenoxy acid herbicide, sulfonylurea herbicides	—
<i>CYP81A6</i> ^[35]	水稻 Rice	苯达松、甲磺隆、苄嘧磺隆、 吡嘧磺隆 bentazon, metsulfuron methyl, bensulfuron-methyl, pyrazosulfuron-ethyl	杂环类、磺酰脲类除草剂 Heterocyclic herbicide, sulfonylurea herbicides	—

P450 酶在植物对除草剂的选择性与代谢抗性中发挥着重要作用。Liu 等^[33]也发现,玉米对烟嘧磺隆的选择性与 P450 酶参与的代谢有关。Saika 等^[34]基于图位克隆和互补实验,揭示了水稻中 *CYP72A31* 基因与其对乙酰乳酸合成酶 (ALS) 抑制剂类除草剂双草醚 (bispribac-sodium) 的抗性相关,同时过表达 *CYP72A31* 基因的拟南芥显示出对 ALS 抑制剂类除草剂苄嘧磺隆 (bensulfuron methyl) 的耐受性。Pan 等^[35]发现, *CYP81A6* 基因在水稻对除草剂甲磺隆 (metsulfuron methyl) 和苯达松 (bentazon) 的代谢和耐受性中发挥了作用。

植物中其他参与氧化转化的酶还包括漆酶 (laccases), 是一种含铜多酚的氧化酶 (polyphenol oxidases, PPO)^[36]。研究表明,漆酶参与了水稻中莠去津 (atrazine) 和异丙隆 (isoproturon) 的解毒过程。Huang 等^[37]鉴定了水稻中 22 个响应莠去津和异丙隆的漆酶基因,将其中两个水稻漆酶基因 (*LOC_Os01g63180* 和 *LOC_Os12g15680*) 在酵母中表达后,检测到其诱导莠去津和异丙隆产生了两个代谢物: 羟基脱氢莠去津 (HDHA) 和 2-*OH*-异丙基-异丙隆。通过在拟南芥中过表达棉花根中的一种漆酶,增强了其对农药合成中间体 2,4,6-三氯苯酚的降解^[38]。此外,通常在 III 相代谢中起作用的过氧化物酶 (peroxidase, POD) 和过氧化氢酶 (catalase, CAT) 同时也参与对外源污染物的氧化降解^[39]。

1.1.2 水解转化 含有酰胺键和氨基甲酸酯键的农药,或者是具有羰基、磷酰基和亚硫酰基的酯类农药容易被植物中的酯酶和酰胺酶等水解,酯酶在农药代谢活化、解毒与植物对农药的选择性方面具有重要作用^[40]。羧酸酯酶 (carboxylesterases, CXEs/CarEs) 是重要的 I 相代谢酶,能水解可溶性低分子量的外源物质,催化水解羧酸酯、硫酸酯和酰胺键等^[41],例如 CXE 参与的燕麦酯 (chlorfenprop-methyl) 的脱酯化作用^[42]。许多施用到田间的除草剂为非活性的、易穿透蜡质层的羧酸酯,如 2,4-D 甲酯和芳氧基苯氧基丙酸酯类 (AOPPs) 除草剂,包括禾草灵 (diclofop-methyl)、炔草酯 (clodinafop propargyl)、噁唑禾草灵 (fenoxaprop ethyl) 及噻唑禾草灵 (fenthioprop ethyl) 等,羧酸酯酶参与这些除草剂的代谢活化,生成具有除草活性的羧酸,其生成速率快慢是作物和杂草对除草剂选择性的主要决定因素^[43-44]。此外,酯酶还参与杀虫剂以及某些持久性污染物在植物中的解毒过程。Preiss 等^[45]

从番茄细胞悬浮培养物中分离出了能水解拟除虫菊酯类杀虫剂氟氯氰菊酯 (cyfluthrin) 的酯酶; Krell 等^[46]报道,可溶性小麦酯酶能催化邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯 (DEHP) 裂解;而南瓜和水稻中的羧酸酯酶可诱导邻苯二甲酸二丁酯 (DBP) 水解^[47-48]。

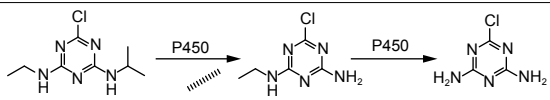
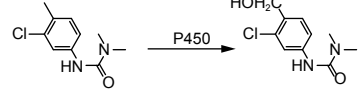
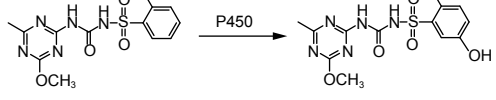
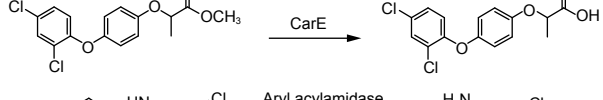

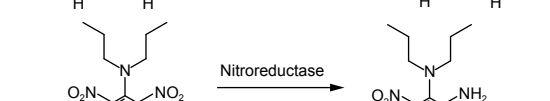





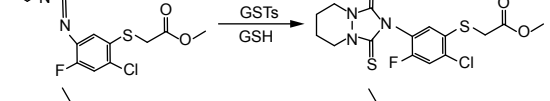
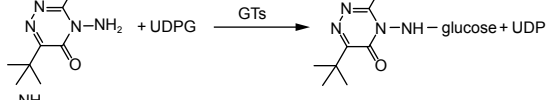

芳基酰胺酶可催化酰胺键断裂。如水稻中的芳基酰胺酶可将敌稗降解为无植物毒性的 3,4-二氯苯胺,因此水稻对敌稗具有一定的耐受性,而敏感性稗草由于芳基酰胺酶相对含量低而对敌稗敏感^[49-50],从而造成水稻和稗草之间对敌稗的选择性;同时抗性稗草中的芳基酰胺酶含量也显著高于敏感型稗草^[51]。腈水解反应是小麦中溴草腈 (bromoxynil)、小麦和玉米中草津净 (cyanazine) 的主要代谢途径,腈基首先水解为酰胺,再水解为羧酸而后进一步降解^[52-53]。目前对水解酶的鉴定工作已受到研究者的关注。Cummins 等^[54]从大穗看麦娘 *Alopecurus myosuroides* 中纯化鉴定得到了羧酸酯酶 AmGDSH1,并明确了其为 GDSL 家族的丝氨酸水解酶,具有活化 AOPPs 除草剂的功能。Gershter 等^[55]从拟南芥中鉴定发现了 4 种主要的丝氨酸水解酶,其中 AtCXE12 是拟南芥中水解 2,4-D 甲酯使其生物活化的主要羧酸酯酶。

1.1.3 还原转化 目前关于硝基还原酶 (nitroreductase, NaR) 参与农药代谢的报道较少。硝基还原酶在植物中主要介导外源污染物的还原性脱卤反应和硝基还原反应,如介导多氯联苯 (PCB) 的脱氯反应和多溴二苯醚 (PBDEs) 的脱溴反应^[39, 56]。花生根中的硝基还原酶可催化杀菌剂五氯硝基苯转化为五氯苯胺并进一步进行转化^[57]。除草剂氟乐灵 (trifluralin) 在甘薯中可发生硝基还原作用生成单氨基衍生物^[58]。代表性的 I 相代谢反应类型见表 2。

本文主要综述酶介导下农药在植物中的代谢转化,此外,一些农药在植物表面和植物中还可发生非生物降解,如光解和水解。农药在植物角质层可发生光解,同时农药在植物中可能发生非酶介导的水解。农药在植株表面的光解过程主要受植物角质层成分影响^[59-62],典型反应类型如脱卤反应、脱羧反应、脱羰基反应及脱烷基化反应等^[63]。相关研究如使用不同有机溶剂模拟不同植物角质层成分开展的农药在有机溶剂中的光解特性研究^[64-66]。Schipper 等^[67]开展了吡虫啉 (imidacloprid) 在分离的番茄角质层中的光解研究。目前主要通过室内模拟自然环境条件探究农药的水解规律及

表 2 农药在植物中的 I 相和 II 相代谢反应类型及举例

Table 2 Reaction types and examples of phase I and II metabolic reactions of pesticides in plants

反应类型 Reaction type	参与的酶 Enzyme	化合物举例 Example	代谢反应 Metabolic reaction
N-脱甲基化 N-Dealkylation	细胞色素 P450 Cytochromes P450	莠去津 atrazine	
环甲基羟基化 Ring-methyl hydroxylation	细胞色素 P450 Cytochromes P450	绿麦隆 chlorotoluron	
5-苯基环羟基化 5-Phenyl ring hydroxylation	细胞色素 P450 Cytochromes P450	氯磺隆 chlorsulfuron	
水解反应 Hydrolysis	羧酸酯酶 Carboxyesterase	禾草灵甲酯 diclofop-methyl	
水解反应 Hydrolysis	芳基酰胺酶 Aryl acylamidase	敌稗 propanil	
水解反应 Hydrolysis	—	草津净 cyanazine	
硝基还原反应 Nitroreduction	硝基还原酶 Nitroreductase	氟乐灵 trifluralin	
耦合反应 (取代反应) Conjugation reaction (Substitution reaction)	谷胱甘肽 S-转移酶 GSTs	三氟硝草醚 fluorodifen	
耦合反应 (取代反应) Conjugation reaction (Substitution reaction)	谷胱甘肽 S-转移酶 GSTs	甲草胺 alachlor	
耦合反应 (取代反应) Conjugation reaction (Substitution reaction)	谷胱甘肽 S-转移酶 GSTs	莠去津 atrazine	
耦合反应 (加成反应) Conjugation reaction (Addition reaction)	谷胱甘肽 S-转移酶 GSTs	灭草环 tridiphane	
异构化反应 Isomerization reaction	谷胱甘肽 S-转移酶 GSTs	氟噻甲草酯 fluthiacet methyl	
耦合反应 Conjugation reaction	糖基转移酶 GTs	噻草酮 metribuzin	
耦合反应 Conjugation reaction	丙二酰基转移酶 MTs	3,4-二氯苯胺 3,4-dichloroaniline	

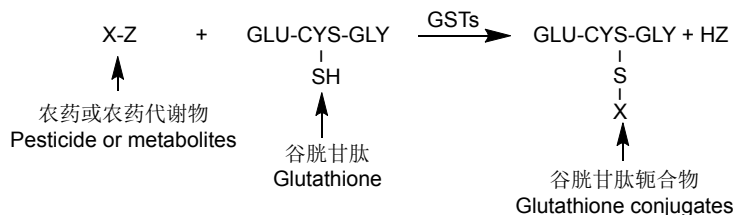
代谢途径, 已证明农药的水解与水环境的酸碱度、温度和水中溶解物等因素的影响有关^[68]。农药在植物中同时存在酶介导的生物降解及非生物降解过程, 这些研究可以作为农药在植物表面和植物中发生非生物降解的辅助判断依据, 同时研究酶介导农药在植物中的代谢转化时需要考虑并排除非生物降解的影响。

1.2 植物酶介导农药的 II 相代谢

1.2.1 谷胱甘肽 *S*-转移酶 (GSTs) 诱导的反应

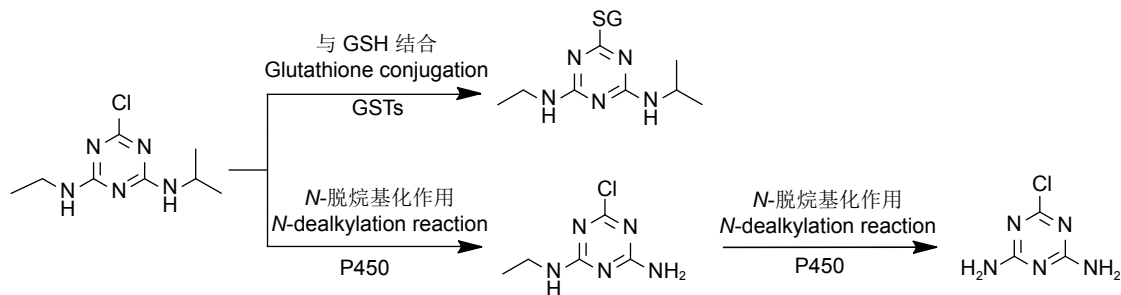
GSTs 是一种诱导型 II 相代谢酶, 可催化植物内源物质谷胱甘肽 (glutathione, γ -glutamylcysteinyl- β -glycine, GSH) 中的巯基基团对一些农药或农药代谢物的亲电中心进行亲核攻击, 使得 GSH 与亲电分子发生轭合反应 (图式 1)^[69]。已有关于 GSTs 催化植物中部分酰胺类、二苯醚类、硫代氨基甲酸酯类、磺酰脲类、芳氧苯氧丙酸酯类和三嗪类除草剂代谢, 使其与 GSH 轭合形成无植物毒性的 *S*-谷胱甘肽化蛋白的报道^[70-71], 所发生的反应包括亲电取代反应和加成反应 (例如环氧化物)(表 2)^[71]。该轭合过程是植物细胞对许多外源污染物进行解毒的关键步骤。如玉米对三嗪类除草剂莠去津有

较高的耐受性, 其主要机制为 3 种 GSTs 催化莠去津与 GSH 的结合而迅速解毒, 而 P450 酶催化莠去津的两步 *N*-脱烷基化代谢为其次要抗性机制 (图式 2)^[21]。同时, GSTs 的表达水平与作物对除草剂的抗性水平相关。Milligan 等^[72]将编码玉米 GST 亚基 GST-27 的 cDNA 转入小麦, 将其 T1 代在含有氯乙酰苯胺类除草剂甲草胺 (alachlor) 的固体培养基上催芽, 发现其对该除草剂的耐受性与 GST-27 表达水平相关。GSTs 也在禾本科杂草如大穗看麦娘 *Alopecurus myosuroides* 和瑞士黑麦草对多种除草剂的抗性中起关键作用^[73]。此外, GSTs 还参与了安全剂解草啶 (fencloirim) 在水稻中的代谢^[74]。GSTs 也可催化还原性脱卤反应以及谷胱甘肽依赖的异构化反应^[39, 71, 75], 如参与多溴二苯醚 (PBDEs) 的脱溴反应过程^[39]。而关于 GSTs 对农药的还原性脱卤反应还未见报道。GSH 依赖的异构化反应可使除草剂前体化合物活化, 如 GSTs 催化噻二唑啉类 (thiadiazolidines) 除草剂的异构化反应, 以及氟噻甲草酯 (fluthiacet-methyl) 在植物中 GSTs 的催化下转化为除草活性更强的脲唑, 从而发挥其原卟啉氧化酶抑制剂的功能^[76-77] 等。



图式 1 谷胱甘肽与农药或农药代谢物发生的轭合反应

Scheme 1 Glutathione conjugation with pesticides or metabolites of pesticides



图式 2 玉米中莠去津的两种代谢途径

Scheme 2 Two metabolic pathways of atrazine in maize

植物中的 GSTs 共分为 8 个亚类, 包括 *phi* (亚型 I)、*zeta* (亚型 II)、*tau* (亚型 III)、*theta* (亚型 IV)、*lambda*、脱氢抗坏血酸还原酶 (dehydroascorbate reductase, DHAR)、四氯氢醌脱卤素酶 (tetrachloro-hydroquinone dehalogenase, TCHQD) 及微粒体

GSTs^[78-80], 其中 *phi*、*tau*、DHAR 和 *lambda* 亚类为植物所特有。大多数植物中的 GSTs 属于 *tau* 类 (GSTUs) 和 *phi* 类 (GSTFs), 易与亲电子化合物发生反应, 如有机卤化物、有机氢过氧化物、 α -不饱和化合物和 β -不饱和化合物, 以及有机硫氰酸

酯^[81]等,这两类 GSTs 在植物中除草剂的解毒方面发挥着重要作用^[82-83]。GSTs 对酰胺类除草剂和硫代氨基甲酸酯类除草剂表现出高活性,而 GSTUs 对二苯醚类和芳氧基苯氧基丙酸类除草剂的代谢活性高^[84-85]。大豆中的 GSTUs 参与了对二苯醚类除草剂如三氟硝草醚 (fluorodifen) 的解毒过程,并决定着作物和杂草对其的选择性^[70]。玉米中催化噻二唑啉类 (thiadiazolidines) 除草剂发生谷胱甘肽依赖的异构化反应的主要为 GST 亚型 II (ζ 亚类)^[77],而参与水稻中草甘膦 (glyphosate) 和氯磺隆代谢的则为 λ 亚类 GSTs (OsGSTL2)^[86-87]。

1.2.2 糖基转移酶 (GTs) 诱导的反应 GTs 可催化糖基从供体分子转移至受体分子上。外源污染物进入植物后,如果母体或其代谢产物具有功能性 -OH、-SH、-COOH 及 -NH₂ 等基团,即可通过 GTs 与糖基供体发生轭合^[8,88-89]。植物中最常见的糖基供体为尿苷二磷酸 (uridine diphosphate, UDP)-葡萄糖 (UDPG),相应的糖基转移酶为家族 1 的 UDP-糖基转移酶 (UDP-glycosyltransferases, UGTs)^[90-91]。其他糖基供体还有 UDP-葡萄糖醛酸、UDP-半乳糖、UDP-鼠李糖及 UDP-木糖等^[92]。根据受体分子糖基化位点的不同,GTs 可分为 *N*-、*O*-、*S*- 及 *C*- 等糖基转移酶^[89]。GTs 在农药解毒以及植物对除草剂的选择性中发挥着重要作用。Zhang 等^[93]研究了水稻中过表达 *ARGT1* 基因后对莠去津的代谢,发现糖基转移酶 glycosyltransferase1 (ARGT1) 在转基因水稻中莠去津的代谢解毒过程中发挥了重要作用;同时,GTs 参与了莠去津对紫花苜蓿 *Medicago sativa* 的解毒过程,经莠去津处理紫花苜蓿后,其 GTs 和 GSTs 活性增高并检测到两种 *O*-糖基化代谢物和高谷胱甘肽 (homoglutathione, hGSH) 轭合物^[94]。Lu 等^[95]的研究表明,异丙隆在小麦中的代谢物主要为糖基化代谢物。番茄中噻草酮在 *N*-糖基转移酶作用下可生成 β -D-(*N*-葡萄糖苷) 轭合物^[96]。2,4-D 在一些敏感型阔叶杂草中可产生葡萄糖酯代谢物,由于葡萄糖酯代谢物易水解,重新生成 2,4-D 而对植物产生毒性;在耐受 2,4-D 的小麦中则迅速转化为 *O*-葡萄糖苷以及氨基酸轭合物,这些代谢物不易水解且无植物毒性^[7]。

目前已鉴定明确了植物中部分可降解外源污染物的糖基转移酶。Brazier-Hicks 等^[13]报道,模式植物拟南芥中有 44 种 GTs 可催化农药合成中间体氯酚的 *O*-糖基化,其中 UGT72B1 对氯苯胺还

显示出了 *N*-糖基化活性。Lu 等^[97]通过高通量测序技术鉴定了对莠去津具有响应性的 59 个水稻 GTs 基因。

1.2.3 其他 II 相代谢反应 其他参与 II 相代谢反应的植物内源物质还包括丙二酸和氨基酸。糖基衍生物通常通过丙二酰基转移酶 (MTs) 以丙二酰辅酶 A (malonyl-CoA) 为供体,与丙二酸进一步酰化,小分子与丙二酸的轭合提供了该轭合物从胞液输出到液泡的信号。大豆中草灭畏 (chloramben) 和敌稗 (propanil) 的代谢物 3,4-二氯苯胺在 UDP-*N*-糖基转移酶催化下与糖基供体轭合后,可通过 MTs 进一步与丙二酸轭合^[10]。在番茄中,除草剂噻草酮与葡萄糖轭合后再与丙二酸轭合,形成丙二酰基- β -D-(*N*-葡萄糖苷) 轭合物^[96]。从花生幼苗中纯化得到的一种 *N*-丙二酰基转移酶能以 3,4-二氯苯胺为底物形成 *N*-丙二酰基轭合物^[98]。在大豆根中,3,4-二氯苯胺也可在 *N*-丙二酰基转移酶的催化下与丙二酸轭合形成 *N*-丙二酰基轭合物 (表 2)^[99]。此外,MTs 也参与除草剂安全剂解草啶在水稻中的代谢过程^[74]。

氨基酸轭合经常在植物中发生,报道较多的是 2,4-D 与植物中氨基酸的轭合^[7],如在胡萝卜、大豆、向日葵、烟草和玉米愈伤组织中均存在 2,4-D 与谷氨酸的轭合,而天冬氨酸轭合物则存在于玉米、烟草和大豆中^[100]。

1.3 植物酶介导农药的 III 相代谢

通常 III 相代谢是指植物将轭合物从细胞质分泌到液泡作为溶质储存,或将轭合物从细胞质运输到质外体中作为结合残留物保留^[10-11]。如一些农药代谢物的丙二酰化即是其被隔离至液泡中的先决条件^[101]。在植物中,轭合代谢物主要通过 ATP 结合盒 (ATP-binding cassette, ABC) 转运蛋白通过液泡膜转运后隔离到液泡中^[102-103]。ABC 转运蛋白是重要的跨膜运输蛋白,大多数 ABC 转运蛋白拥有转运活性,可以借助 ATP 水解产生的能量将底物跨膜转运^[104-105]。Klein 等^[106]发现,除草剂氟嘧磺隆在大麦中的代谢物羟基氟嘧磺隆-葡萄糖苷可通过 ABC 转运机制转运到大麦液泡中。此外,谷胱甘肽轭合物也可通过液泡膜运输到液泡中进行隔离。Martinoia 等^[107]采用从大麦叶肉中分离的完整液泡研究发现,谷胱甘肽 *S*-轭合物向液泡中的转运是由特异性 ATP 酶介导的,也称为 C 型 ABC 转运蛋白^[107-108]。C 型 ABC 转运蛋白

AtABCC1-3 定位于液泡膜并且能够转运谷胱甘肽-S-轭合物, 如谷胱甘肽与异丙甲草胺的轭合物^[108-109]。此外, ABC 转运蛋白在植物对外源物质解毒方面也发挥着重要作用^[110]。Meng 等^[111]发现, 将从黄瓜中分离出的霜霉威响应基因 *CsABC19* 在拟南芥中过量表达, 可以明显提高拟南芥对霜霉威的耐受性, 减少农药残留。草甘膦被快速隔离到液泡中是小蓬草 *Conyza canadensis* 和黑麦草 *Lolium spp.* 对其产生抗性的主要机制^[112], 分子生物学证据表明, 与液泡膜相关的蛋白质如 ABC 转运蛋白和液泡膜内在蛋白 (TIP) 在小蓬草对草甘膦的液泡隔离抗性机制中起着重要作用^[113-115]。除了参与植物的 III 相代谢外, ABC 转运蛋白也参与农药向细胞内的转运。Xi 等^[116]研究发现, 拟南芥中百草枯 (paraquat) 的转运蛋白为 AtPDR11, 该 ABC 转运蛋白位于质膜上, AtPDR11 的功能丧失突变会导致拟南芥细胞中百草枯的积累减少。

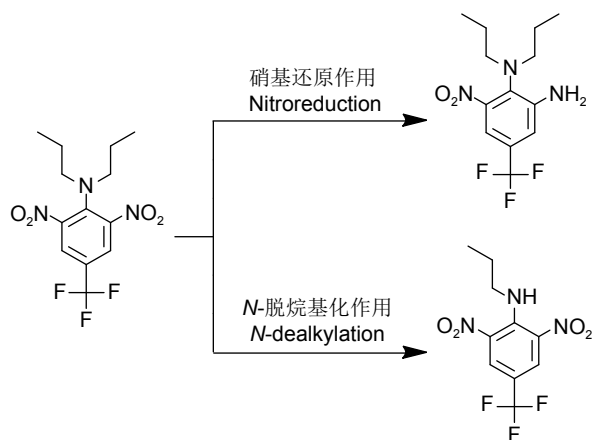
研究表明, 只有很少一部分外源污染物可以在植物中被完全代谢 (矿化)^[8], 还有一部分代谢物聚合成细胞壁组分而形成不溶性结合残留。过氧化物酶 (POD) 通常在 III 相代谢中起重要作用, 例如形成结合残留^[7]。3, 4-二氯苯胺在柳枝稷中可结合到细胞壁的木质素部分而解毒, 推测也是由于 POD 所起的作用^[8, 117]。

2 影响农药在植物中代谢的因素

农药在植物中的代谢受植物物种及品系、农药特性、外源物质及植物内源物质等因素影响^[7], 同时, 光照、温度、降水和土壤理化性质等环境因素也会影响农药的吸收及其在植物中的代谢^[118]。弱光照条件下, 嗞草酮对所有栽培品种番茄的植物毒性均增强, 据推测是由于在弱光照条件下产生的葡萄糖和 UDP-葡萄糖较少, 从而降低了轭合作用, 提高了除草剂的植物毒性^[96, 119]。Sammons 等^[112]研究发现, 温度可对草甘膦在小蓬草中的隔离产生影响, 低温条件下因抑制了液泡的隔离而使得小蓬草对草甘膦的敏感性升高。

同种农药在不同植物中的代谢途径存在差异。氟乐灵在花生中主要发生 *N*-脱烷基化作用, 而在甘薯中则发生硝基还原作用, 生成单氨基衍生物 (图式 3)^[58]。在大豆的根中, 由于 *N*-丙二酰基转移酶活性高, 3, 4-二氯苯胺主要代谢为 *N*-丙二酰基轭合物; 而在拟南芥根中, 由于 *N*-糖基转

移酶活性占优势, 因而 *N*-葡萄糖苷是主要代谢物^[99]。同时, 不同物种植物中代谢酶活性也存在差异^[120]。作物和杂草中除草剂解毒的相对速率差异是一些除草剂具有选择性的原因, 如野燕麦能快速将麦草伏异丙酯水解为具有植物毒性的羧酸, 而在大麦中此水解过程发生很慢, 因此其在大麦较为安全^[121]。此外, 不同敏感性同一物种间代谢酶活性也存在差异, 与易感品系相比, 耐受除草剂的玉米品系具有更高水平的特异性 GSTs 和 GSH^[122]。



图式 3 氟乐灵在花生和甘薯中的代谢途径

Scheme 3 Metabolic pathways of trifluralin in peanut and sweet potato

一些外源物质可增强植物体内与农药代谢相关酶的表达, 从而增强植物对农药的耐受性和选择性。Han 等^[123]发现, 2, 4-D 处理禾草灵敏感型瑞士黑麦草后, 植株对乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACCase) 抑制剂类除草剂禾草灵和乙酰乳酸合成酶 (ALS) 抑制剂类除草剂氯磺隆的抗性和代谢作用增强, 并推测可能是由于 2, 4-D 增强了植株中与除草剂代谢相关基因的表达所致。Gion 等^[124]发现, 除草剂溴苯腈和 2, 4-D 处理烟草可诱导其 *CYP71AH11* 基因的表达, 从而增强对绿麦隆的代谢。除草剂安全剂可增强植物中相关酶的活性, 从而加快对除草剂的代谢解毒。1, 8-萘二甲酸酐在烟草中可诱导 *CYP81C1* 和 *CYP72A5* 基因的表达, 在玉米中可诱导 *CYP71C1*、*CYP71C3*、*CYP72A5*、*CYP73A7* 及 *CYP92A1* 基因的表达^[25, 125]。Brazier-Hicks 等^[74]研究发现, 安全剂解草啶通过上调水稻中 GSTs 的表达, 从而增强其对氯乙酰苯胺类除草剂的耐受性。于高波^[126]研究发现, 油菜素内酯 (brassinosteroid, BRs) 通过诱导植物中解毒代谢相关基因的表达而促进百菌清在番茄中的代谢。Lu 等^[95]发现, 通过

喷施水杨酸可增强小麦中异丙隆的代谢。此外,植物内源物质变化也会影响农药的代谢。Yu等^[127]研究发现,番茄中谷胱甘肽生物合成与再生对百菌清在番茄中的代谢起重要作用,谷胱甘肽不仅作为底物与百菌清结合,还可直接或间接诱导解毒酶的活性及与解毒相关基因的表达,因此提高植物中谷胱甘肽水平可促进植物中百菌清的降解。

3 农药在植物中的代谢及其机制研究方法

3.1 农药在植物中的代谢研究方法

放射性同位素示踪是研究农药在植物中代谢途径及代谢物鉴定的重要方法。如陈夏^[128]利用¹⁴C标记唑菌酯,结合现代分析技术探究了唑菌酯在黄瓜中的代谢途径。目前在经济合作与发展组织(OECD)和美国环保局(EPA)等机构的登记资料指南文件中,采用放射性标记的测试方法均为主流方法。然而该方法也存在一定的局限性,其放射性同位素示踪标记物质难以获得且成本较高^[129]。近年发展起来的高分辨质谱技术具有高灵敏度及高分辨率等优点,已不断被应用于植物中农药的代谢物解析。Wang等^[130]利用¹⁴C示踪结合HPLC-TOF-MS/MS技术,分析了土壤中甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂苯醚菌酯(benzene kresoxim-methyl)的降解和代谢特征;Zhang等^[94]采用UPLC-TOF-MS/MS技术表征了莠去津在紫花苜蓿中的降解产物;Lu等^[95]通过UPLC-TOF-MS/MS技术解析了异丙隆在小麦中的代谢产物。

3.2 农药在植物中的代谢机制研究方法

1) 生物化学方法。通常外源物质会刺激并诱导植物中相关代谢酶的活性发生变化^[47, 131-132],而植物中外源污染物的降解速率与相关代谢酶的活性成正相关^[48]。因此,可根据植株活体和离体粗酶提取液的农药暴露试验,通过检测农药降解速率及结合酶活性测定找到参与植物中农药代谢的相关酶,并通过商品化纯化酶进行验证,或通过向体外暴露试验的粗酶液中添加相关酶抑制剂进行验证。2) 基于蛋白质组学的功能性化学探针方法。如报道的利用羧酸酯酶的保守活性位点标记催化残基,通过生物素化或荧光标记附着至探针上实现蛋白质的可视化,并且可以纯化具有特定活性的羧酸酯酶。或通过标记存在的所有活性酶,采用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离标记的蛋白质,并通过蛋白质组学进行鉴定,同时通过基因敲除方法进行验证^[54-55]。

随着高通量测序和转录组分析等技术的发展,植物中农药代谢反应分子机制的研究也取得了重要的进展。Gaines等^[31]通过RNA-seq转录分析及验证,发现了与瑞士黑麦草对禾草灵代谢抗性相关的两个CYP72A基因、一个氮酸酯单加氧酶(nitronate monooxygenase, NMO)和一个糖基转移酶基因序列。Zhang等^[133]利用高通量测序技术,对经莠去津暴露的水稻中调节作物对莠去津毒理学反应的基因进行了分析。Liu等^[33]通过转录组和基因组分析结果,验证了玉米对烟嘧磺隆的选择性与细胞色素P450代谢关系的假设。Huang等^[37]通过转录组技术,分析了经莠去津和异丙隆暴露后水稻中差异表达的漆酶基因,并通过RT-PCR验证了其中一些漆酶基因,将两个漆酶基因在酵母细胞中异源表达后分析了其代谢产物。近些年,分子对接等计算机技术已被用于辅助分子机制解析。Xu等^[134]通过同源建模构建了短波单胞菌属(*Brevundimonas* sp.)的VIII族羧酸酯酶基因*EstWX*的3D蛋白模型,并发现其S73、K76、Y196和W368残基对羧酸酯酶催化功能起着重要作用。此外,生物信息学的方法也已被用于与农药代谢相关的植物酶基因的发现与鉴定中,通过克隆植物酶基因并将其导入原核细胞中进行表达,将表达产物分离纯化后,结合体外试验验证底物的特异性和酶活性;而通过生物化学方法分离纯化某种功能植物酶蛋白,研究其活性及底物特异性,再克隆相对应的基因序列的方法也得到了广泛的应用^[90]。

4 植物酶研究的相关应用

4.1 农药抗性管理及风险评估

除草剂抗性管理的有效措施主要是轮换使用或复配应用具有不同作用方式的药剂。然而由于代谢抗性赋予了杂草可对多种除草剂产生抗性的能力,因此有可能导致杂草对多种作用模式的除草剂都具有抗性^[135],而除草剂的复配有可能延迟这种多靶标位点抗性的进化^[136]。代谢抗性管理的另一种方法是通过使用化学增效剂抑制抗性酶而保证药剂能够发挥作用^[5]。例如P450抑制剂马拉硫磷、氨基苯并三唑和增效醚可以分别抑制杂草对如绿麦隆和西玛津等药剂的代谢从而逆转其抗性^[137-139]。然而对于化学增效剂,作物的选择性和增效剂的其他影响等仍需进一步研究^[5]。

农药在植物中的代谢及归趋研究,为确定残

留物定义及农药膳食风险评估提供了基础数据。如 2010 年农药残留联合专家会议 (JMPR) 的评估报告报道, 通过 C^{14} 标记的噻虫嗪探究其在作物 (包括玉米、水稻、梨、黄瓜、生菜和马铃薯)、土壤及动物等中的代谢后, 将噻虫嗪及其代谢物噻虫胺 (CGA322704) 作为新化合物进行了毒理学和残留评估, 提出了新的农药最大残留限量 (MRL) 建议^[140]。并在 2011 年和 2012 年进一步评估了这两种化合物的新增残留数据, 于 2014 年的 JMPR 报告中提出, 植物商品中噻虫嗪的残留物定义为噻虫嗪, 而在膳食风险评估中其残留物定义是噻虫嗪和代谢物噻虫胺 (CGA322704)^[141]。

4.2 环境修复

从细菌、真菌、植物和动物中分离参与污染物代谢的基因并引入候选植物中进行表达, 所得转基因植物可以增强对污染物的吸收和解毒作用, 从而有助于污染环境的植物修复^[142]。Wang 等^[143]报道, 将细菌中的有机磷水解酶转入烟草后, 所得转基因烟草植株在生长 14 d 后可降解掉 99% 以上的甲基对硫磷。通过农杆菌转化将大豆的 *GmGSTU4* 基因转入烟草中, 可使其对甲草胺和三氟硝草醚的代谢作用增强^[144]。水稻中过表达 II 相代谢酶基因 *ARGT1* 后, 可以促进水稻从环境中吸收并代谢莠去津^[93]。同时通过在水稻中过表达 *OsGSTL2* 基因, 显著增强了该转基因水稻对草甘膦和氯磺隆的耐受性^[86]。Kawahigashi 等^[145]将哺乳动物肝脏的 *CYP1A1* 基因转入水稻植株, 所得转基因水稻对绿麦隆和氟草敏 (norflurazon) 的代谢作用增强。在酶生物技术的应用方面, Fan 等^[146]从毛豆腐宏基因组中筛选出了一种新型的冷适应性拟除虫菊酯水解酯酶, 并将其固定在介孔二氧化硅上, 发现该固定化酶对被拟除虫菊酯污染的蔬菜具有显著的生物修复潜力。在环境修复植物筛选方面, Romeh 等^[147]探究了车前草在冷胁迫和盐胁迫下对啞菌酯及其降解产物的吸收和转运规律, 发现啞菌酯在其根和叶中的重要代谢途径为甲基酯水解形成啞菌酯羧酸, 同时证明了车前草有助于修复被啞菌酯污染的盐渍土壤。

4.3 其他方面的应用

与农药安全剂的应用相结合, 通过使用农药安全剂调节一些农药的代谢过程可增强植物对农药的耐受性。如安全剂油菜素内酯 (brassinosteroid, BRs) 在植物降解除草剂的过程中可诱导多种植物的 P450 酶活性, 并增强谷胱甘肽的结合作用^[148];

24-表油菜素内酯 (EBR) 的应用可通过增强参与农药代谢的基因的表达, 从而促进黄瓜中多种杀菌剂和杀虫剂如毒死蜱、氯氰菊酯、百菌清和多菌灵的降解^[149]。目前已明确可被油菜素内酯调节的植物基因包括编码 P450 单加氧酶、谷胱甘肽 *S*-转移酶及 UDP-糖基转移酶的基因等^[150-151]。

在育种方面, 已证明 *CYP81A6* 基因在水稻育种上具有潜在应用前景, 敲除 *CYP81A6* 的突变体水稻对苯达松敏感, 且杂交水稻的雄性不育系中可以有效消除 F1 代杂种中的自花授粉幼苗^[35, 152-154]。逆境胁迫下, 植物酶基因鉴定与表达分析可用于分子标记辅助育种及转基因植物工程潜在基因的选择^[155]。分析生物技术方面, 基于酶的生物测定和生物传感器领域的研究不断增加。如利用有机磷类杀虫剂对植物水解酶具有抑制作用的特点, 通过植物酶抑制技术可以快速检测水体和蔬菜中的有机磷及氨基甲酸酯类农药^[156-158]。同时植物酶已被应用于生物传感器的开发, 可用于监测环境和生物样本中的农药含量^[159-161]。此外, 植物酶也被应用于绿色有机合成和纳米生物材料领域, 如用于构建蛋白质生物芯片及蛋白基纳米材料和结构 (如纳米线、纳米环) 等^[162-163]。

5 结论与展望

植物酶参与农药在植物中的活化及代谢解毒过程, 在植物对农药的选择性和代谢抗性方面发挥重要作用, 并在环境修复及农业生产中得到了广泛应用。目前针对植物酶对除草剂代谢转化的相关报道较多, 但对其他农药尤其针对某类杀菌剂或杀虫剂在植物中代谢转化及机制的系统研究较少, 对不同农药在植物中代谢转化的关键控制酶、相关基因鉴定、调控机制及应用技术等均有待进一步探究。预测未来该领域的重点研究方向应包括: 农药在植物中的代谢产物及途径解析; 植物酶降解农用污染物的代谢解毒机理及调控机制; 植物酶的生物学功能与分子鉴定; 农药代谢抗性机理研究及抗性管理; 植物酶应用技术开发等。展望与之相关的未来研究热点技术方法应包括: 高分辨质谱技术、基因编辑技术、生物信息学方法以及基因组学、转录组学和蛋白质组学等组学研究方法。此外, 其他重要的技术需求还包括开发高灵敏度、高选择性的荧光探针, 以实现细胞内蛋白质的可视化; 植物酶的晶体结构解析, 以解析植物酶与底物的结合方式及催化机理

等。同时,上述技术需求也将为植物酶的研究开辟新方向。

作者简介:



李如男,女,在读博士研究生。2014年毕业于中国农业大学农学与生物技术学院,获农学学士学位;2014年7月至2015年7月借调于农业农村部种植业管理司植保植检处工作;2015年9月考入中国农业科学院植物保护研究所农药学专业攻读博士学位。研究方向为农药残留与环境毒理学。



董丰收,男,研究员,博士生导师。2008年毕业于中国农业大学,获理学博士学位;中国农业科学院植物保护研究所农药研究室主任。长期从事农药残留分析与农药环境毒理研究,研发了系列农药多残留分析新方法,创建了手性农药安全

评价新体系,识别了典型手性农药对映体隐性风险,揭示了其迁移代谢特征和风险形成机制。主持国家重点研发计划(1项)及国家自然科学基金面上项目(4项)等。获2016年国家科技进步二等奖1项(第3完成人),中华农业科技奖一等奖1项(第3完成人)。2018年入选中央组织部国家“万人计划”农科英才领军人才B类。《农药学报》编委。



郑永权,男,研究员,博士生导师。2004年于华中师范大学获得博士学位,中国农业科学院植物保护研究所副所长,二级研究员及澳大利亚 Griffith 大学客座教授。长期从事农药科学使用、农药残留与环境安全、农药污染生物修复等研究。

主持公益性行业科研专项、国家自然科学基金、农业农村部财政专项及国际合作等课题20余项。获国家科技进步二等奖3项,省部级科技进步奖10项。入选“全国农业科研杰出人才”,北京市优秀博士学位论文指导教师和中国农业科学院优秀博士学位论文指导教师。国家“万人计划”农科英才领军人才B类,第九届全国农药登记评审委员会残留专业评审组组长,入选农业农村部种植业农药管理专家指导组成员。享受国务院政府特殊津贴。《农药学报》编委。

参考文献 (References):

[1] 刘晓漫,曹焘程,王秋霞,等.我国生物农药的登记及推广应用现

状[J].植物保护,2018,44(5):101-107.

LIU X M, CAO A C, WANG Q X, et al. Current situation of bio-pesticide registration, extension and application in China[J]. *Plant Prot*, 2018, 44(5): 101-107.

[2] 中华人民共和国农业农村部.新中国成立70年来我国粮食生产情况[EB/OL]. [2019-9-29]. http://www.moa.gov.cn/ztlz/70zncj/201909/t20190917_6328044.htm.

Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Grain production of China in the past 70 years since the founding of New China[EB/OL]. [2019-9-29]. http://www.moa.gov.cn/ztlz/70zncj/201909/t20190917_6328044.htm.

[3] INUI H, OHKAWA H. Herbicide resistance in transgenic plants with mammalian P450 monooxygenase genes[J]. *Pest Manag Sci*, 2005, 61(3): 286-291.

[4] SHIMAZU S, INUI H, OHKAWA H. Phytomonitoring and phytoremediation of agrochemicals and related compounds based on recombinant cytochrome P450s and aryl hydrocarbon receptors (AhRs)[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(7): 2870-2875.

[5] YU Q, POWLES S. Metabolism-based herbicide resistance and cross-resistance in crop weeds: a threat to herbicide sustainability and global crop production[J]. *Plant Physiol*, 2014, 166(3): 1106-1118.

[6] 农作物中农药代谢试验准则:NY/T 3096—2017[S].北京:中国农业出版社,2017.

Guideline for the testing of pesticide metabolism in crops: NY/T 3096—2017[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2017.

[7] VAN EERD L L, HOAGLAND R E, ZABLOTOWICZ R M, et al. Pesticide metabolism in plants and microorganisms[J]. *Weed Sci*, 2003, 51(4): 472-495.

[8] EDWARDS R, DIXON D P, CUMMINS I, et al. New perspectives on the metabolism and detoxification of synthetic compounds in plants[M/OL]. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2011: 125-148. [2019-08-23]. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-90-481-9852-8_7.

[9] HUSSAIN S, SIDDIQUE T, ARSHAD M, et al. Bioremediation and phytoremediation of pesticides: recent advances[J]. *Crit Rev Environ Sci Technol*, 2009, 39(10): 843-907.

[10] COLE D J. Detoxification and activation of agrochemicals in plants[J]. *Pestic Sci*, 1994, 42(3): 209-222.

[11] KLEIN M, BURLA B, MARTINOIA E. The multidrug resistance-associated protein (MRP/ABCC) subfamily of ATP-binding cassette transporters in plants[J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(4): 1112-1122.

[12] SINGH S, BASHRI G, SINGH A, et al. Regulation of xenobiotics in higher plants: signalling and detoxification[M/OL]. Singapore: Springer, 2016: 39-56. [2019-09-29]. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-2860-1_3.

[13] BRAZIER-HICKS M, OFFEN W A, GERSHATER M C, et al. Characterization and engineering of the bifunctional *N*- and *O*-glucosyltransferase involved in xenobiotic metabolism in plants[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(51): 20238-20243.

[14] MORANT M, BAK S, MØLLER B L, et al. Plant cytochromes P450: tools for pharmacology, plant protection and phytoremediation[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2003, 14(2): 151-162.

[15] 赵博,王中伟.细胞色素P450的研究进展[J].*山东农业大学学报(自然科学版)*,2004,35(1):142-144.

ZHAO B, WANG Z W. New progress in studies on cytochrome P450[J]. *J Shandong Agric Univ (Nat Sci Ed)*, 2004, 35(1): 142-144.

- [16] 王斌, 李德远. 细胞色素 P450 的结构与催化机理[J]. 有机化学, 2009, 29(4): 658-662.
WANG B, LI D Y. Structure and catalytic mechanism of cytochrome P450[J]. Chin J Org Chem, 2009, 29(4): 658-662.
- [17] 刘德立, 张山, 赵莉. 细胞色素 P450 与农药相互作用及其机理研究[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2005, 39(4): 518-524.
LIU D L, ZHANG S, ZHAO L. The research progress on interaction mechanism between cytochrome P450 and agricultural chemicals[J]. J Central China Norm Univ (Nat Sci Ed), 2005, 39(4): 518-524.
- [18] FREAR D S, SWANSON H R, TANAKA F S. *N*-demethylation of substituted 3-(phenyl)-1-methylureas: isolation and characterization of a microsomal mixed function oxidase from cotton[J]. Phytochemistry, 1969, 8(11): 2157-2169.
- [19] SIMINSZKY B. Plant cytochrome P450-mediated herbicide metabolism[J]. Phytochem Rev, 2006, 5(2-3): 445-458.
- [20] MOUGIN C, CABANNE F, CANIVENC M, et al. Hydroxylation and *N*-demethylation of chlorotoluron by wheat microsomal enzymes[J]. Plant Sci, 1990, 66(2): 195-203.
- [21] OHKAWA H, TSUJII H, OHKAWA Y. The use of cytochrome P450 genes to introduce herbicide tolerance in crops: a review[J]. Pestic Sci, 1999, 55(9): 867-874.
- [22] XIANG W S, WANG X J, REN T R. Expression of a wheat cytochrome P450 monooxygenase cDNA in yeast catalyzes the metabolism of sulfonylurea herbicides[J]. Pestic Biochem Physiol, 2006, 85(1): 1-6.
- [23] SIMINSZKY B, CORBIN F T, WARD E R, et al. Expression of a soybean cytochrome P450 monooxygenase cDNA in yeast and tobacco enhances the metabolism of phenylurea herbicides[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(4): 1750-1755.
- [24] POWLES S B, YU Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides[J]. Annu Rev Plant Biol, 2010, 61(1): 317-347.
- [25] YAMADA T, KAMBARA Y, IMAISHI H, et al. Molecular cloning of novel cytochrome P450 species induced by chemical treatments in cultured tobacco cells[J]. Pestic Biochem Physiol, 2000, 68(1): 11-25.
- [26] TSUJII H, DILLON N, OHKAWA H. Molecular functions of cytochrome P450 species involved in herbicide resistance in *Lolium rigidum* biotype(WLR2)[C]. Int Symp. Cytochrome P450: Biodiversity and Biotechnology, 7th, Hyogo, Japan. 2004.
- [27] DIDIERJEAN L, GONDET L, PERKINS R, et al. Engineering herbicide metabolism in tobacco and *Arabidopsis* with *CYP76B1*, a cytochrome P450 enzyme from jerusalem artichoke[J]. Plant Physiol, 2002, 130(1): 179-189.
- [28] CABELLO-HURTADO F, BATARD Y, SALAÜN J, et al. Cloning, expression in yeast, and functional characterization of *CYP81B1*, a plant cytochrome P450 that catalyzes in-chain hydroxylation of fatty acids[J]. J Biol Chem, 1998, 273(13): 7260-7267.
- [29] PIERREL M A, BATARD Y, KAZMAIER M, et al. Catalytic properties of the plant cytochrome P450 CYP73 expressed in yeast. Substrate specificity of a cinnamate hydroxylase[J]. Eur J Biochem, 1994, 224(3): 835-844.
- [30] LAMB S B, LAMB D C, KELLY S L, et al. Cytochrome P450 immobilisation as a route to bioremediation/biocatalysis[J]. FEBS Lett, 1998, 431(3): 343-346.
- [31] GAINES T A, LORENTZ L, FIGGE A, et al. RNA-seq transcriptome analysis to identify genes involved in metabolism-based diclofop resistance in *Lolium rigidum*[J]. Plant J, 2014, 78(5): 865-876.
- [32] AHMAD-HAMDANI M S, YU Q, HAN H P, et al. Herbicide resistance endowed by enhanced rates of herbicide metabolism in wild oat (*Avena* spp.)[J]. Weed Sci, 2013, 61(1): 55-62.
- [33] LIU X M, XU X, LI B H, et al. Genomic and transcriptomic insights into cytochrome P450 monooxygenase genes involved in nicosulfuron tolerance in maize(*Zea mays* L.)[J]. J Integr Agric, 2018, 17(8): 1790-1799.
- [34] SAIKA H, HORITA J, TAGUCHI-SHIOBARA F, et al. A novel rice cytochrome P450 gene, *CYP72A31*, confers tolerance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in rice and *Arabidopsis*[J]. Plant Physiol, 2014, 166(3): 1232-1240.
- [35] PAN G, ZHANG X Y, LIU K D, et al. Map-based cloning of a novel rice cytochrome P450 gene *CYP81A6* that confers resistance to two different classes of herbicides[J]. Plant Mol Biol, 2006, 61(6): 933-943.
- [36] 邓寒梅, 邵可, 梁家豪, 等. 漆酶的来源及固定化漆酶载体研究进展[J]. 生物技术通报, 2017(6): 10-15.
DENG H M, SHAO K, LIANG J H, et al. Source of laccase and research progress on carriers for laccase immobilization[J]. Biotechnol Bull, 2017(6): 10-15.
- [37] HUANG M T, LU Y C, ZHANG S, et al. Rice (*Oryza sativa*) laccases involved in modification and detoxification of herbicides atrazine and isoproturon residues in plants[J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(33): 6397-6406.
- [38] WANG G D, LI Q J, LUO B, et al. Ex planta phytoremediation of trichlorophenol and phenolic allelochemicals via an engineered secretory laccase[J]. Nat Biotechnol, 2004, 22(7): 893-897.
- [39] HUANG H L, ZHANG S Z, WANG S, et al. *In vitro* biotransformation of PBDEs by root crude enzyme extracts: potential role of nitrate reductase(NaR) and glutathione *S*-transferase(GST) in their debromination[J]. Chemosphere, 2013, 90(6): 1885-1892.
- [40] HOAGLAND R E, ZABLOTOWICZ R M. The role of plant and microbial hydrolytic enzymes in pesticide metabolism[M]//ACS symposium series. Washington, DC: American Chemical Society, 2000: 58-88.
- [41] GERSHATER M C, EDWARDS R. Regulating biological activity in plants with carboxylesterases[J]. Plant Sci, 2007, 173(6): 579-588.
- [42] FEDTKE C, SCHMIDT R R. Chlorfenprop-methyl: its hydrolysis *in vivo* and *in vitro* and a new principle for selective herbicidal action[J]. Weed Res, 1977, 17(4): 233-239.
- [43] NANDULA V K, MESSERSMITH C G. Mechanism of wild oat (*Avena fatua* L.) resistance to imazamethabenz-methyl[J]. Pestic Biochem Physiol, 2000, 68(3): 148-155.
- [44] RUIZ-SANTAELLA J P, HEREDIA A, DE PRADO R. Basis of selectivity of cyhalofop-butyl in *Oryza sativa* L.[J]. Planta, 2006, 223(2): 191-199.
- [45] PREISS U, WALLNÖFER P R, ENGELHARDT G. Partial purification and properties of an esterase from tomato cell suspension cultures hydrolysing the pyrethroid insecticide cyfluthrin[J]. Pestic Sci, 1988, 23(1): 13-24.
- [46] KRELL H, SANDERMANN H. Plant biochemistry of xenobiotics. Purification and properties of a wheat esterase hydrolyzing the plasticizer chemical, bis(2-ethylhexyl)phthalate[J]. Eur J Biochem, 1984, 143(1): 57-62.
- [47] LIN Q Q, CHEN S Y, CHAO Y Q, et al. Carboxylesterase-involved

- metabolism of di-*n*-butyl phthalate in pumpkin (*Cucurbita moschata*) seedlings[J]. *Environ Pollut*, 2017, 220: 421-430.
- [48] ZHU T K, DU P P, ZENG L J, et al. Variation in metabolism and degradation of di-*n*-butyl phthalate (DBP) by high-and low-DBP accumulating cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) and crude enzyme extracts[J]. *Sci Total Environ*, 2019, 668: 1117-1127.
- [49] FREAR D S, STILL G G. The metabolism of 3, 4-dichloropropionanilide in plants. Partial purification and properties of an aryl acylamidase from rice[J]. *Phytochemistry*, 1968, 7(6): 913-920.
- [50] 刘兴林, 孙涛, 付声姣, 等. 稻田稗草对酰胺类除草剂抗性研究进展[J]. *浙江农业科学*, 2014, 1(8): 1224-1231.
LIU X L, SUN T, FU S J, et al. Research progress on resistance of *Echinochloa crusgalli* in the paddy field to amide herbicides[J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 2014, 1(8): 1224-1231.
- [51] HIRASE K, HOAGLAND R E. Characterization of aryl acylamidase activity from propanil-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*[L.] Beauv.)[J]. *Weed Biol Manage*, 2006, 6(4): 197-203.
- [52] BUCKLAND J L, COLLINS R F, PUIIIN E M. Metabolism of bromoxynil octanoate in growing wheat[J]. *Pestic Sci*, 1973, 4(1): 149-162.
- [53] BEYNON K I, STOYDIN G, WRIGHT A N. The breakdown of the triazine herbicide cyanazine in wheat and potatoes grown under indoor conditions in treated soils[J]. *Pestic Sci*, 1972, 3(4): 379-387.
- [54] CUMMINS I, EDWARDS R. Purification and cloning of an esterase from the weed black-grass (*Alopecurus myosuroides*), which bioactivates aryloxyphenoxypropionate herbicides[J]. *Plant J*, 2004, 39(6): 894-904.
- [55] GERSHATER M C, CUMMINS I, EDWARDS R. Role of a carboxylesterase in herbicide bioactivation in *Arabidopsis thaliana*[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(29): 21460-21466.
- [56] MAGEE K D, MICHAEL A, ULLAH H, et al. Dechlorination of PCB in the presence of plant nitrate reductase[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2008, 25(2): 144-147.
- [57] RUSNESS D G, LAMOUREUX G L. Pentachloronitrobenzene metabolism in peanut. 2. Characterization of chloroform-soluble metabolites produced *in vivo*[J]. *J Agric Food Chem*, 1980, 28(6): 1070-1077.
- [58] KEARNEY P C, KAUFMAN D D. Degradation of herbicides[M]. New York: Marcel Dekker, 1969: 255-282.
- [59] SCHWACK W, WALKER F, BOURGEOIS B. Fungicides and photochemistry: photodegradation of the dicarboximide fungicide vinclozolin[J]. *J Agric Food Chem*, 1995, 43(12): 3088-3092.
- [60] TER HALLE A, DRNCOVA D, RICHARD C. Phototransformation of the herbicide sulcotrione on maize cuticular wax[J]. *Environ Sci Technol*, 2006, 40(9): 2989-2995.
- [61] CHOWDHURY R R, CHARPENTIER P A, RAY M B. Photodegradation of 17 β -estradiol in aquatic solution under solar irradiation: kinetics and influencing water parameters[J]. *J Photochem Photobiol A: Chem*, 2011, 219(1): 67-75.
- [62] SEVILLA-MORÁN B, SANDÍN-ESPAÑA P, VICENTE-ARANA M J, et al. Study of alloxidim photodegradation in the presence of natural substances: elucidation of transformation products[J]. *J Photochem Photobiol A: Chem*, 2008, 198(2-3): 162-168.
- [63] KATAGI T. Photodegradation of pesticides on plant and soil surfaces[M/OL]. New York: Springer, 2004: 1-78. [2019-09-14]. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-9098-3_1#citeas.
- [64] NAG S K, DUREJA P. Photodegradation of azole fungicide triadimefon[J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45(1): 294-298.
- [65] SCHWACK W, HARTMANN M. Fungicides and photochemistry: photodegradation of the azole fungicide penconazole[J]. *Z Lebensm Unters Forch*, 1994, 198(1): 11-14.
- [66] ZHOU Z H, YANG Y, ZHENG Z Y, et al. Photodegradation of the benzothiostrubin in solution and on soil and glass surface[J]. *Water Sci Technol*, 2017, 76(2): 364-372.
- [67] SCHIPPERS N, SCHWACK W. Phototransformation of imidacloprid on isolated tomato fruit cuticles and on tomato fruits[J]. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 2010, 98(1): 57-60.
- [68] 赵金浩. 氟苯虫酰胺的水解与光解特性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2015.
ZHAO J H. The study of flubendiamide hydrolysis and photolysis characteristics[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2015.
- [69] MARRS K A. The functions and regulation of glutathione *S*-transferases in plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1996, 47(1): 127-158.
- [70] DIXON D P, MCEWEN A G, LAPHORN A J, et al. Forced evolution of a herbicide detoxifying glutathione transferase[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(26): 23930-23935.
- [71] CUMMINS I, DIXON D P, FREITAG-POHL S, et al. Multiple roles for plant glutathione transferases in xenobiotic detoxification[J]. *Drug Metab Rev*, 2011, 43(2): 266-280.
- [72] MILLIGAN A S, DALY A, PARRY M, et al. The expression of a maize glutathione *S*-transferase gene in transgenic wheat confers herbicide tolerance, both in planta and *in vitro*[J]. *Mol Breed*, 2001, 7(4): 301-315.
- [73] CUMMINS I, WORTLEY D J, SABBADIN F, et al. Key role for a glutathione transferase in multiple-herbicide resistance in grass weeds[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(15): 5812-5817.
- [74] BRAZIER-HICKS M, EVANS K M, CUNNINGHAM O D, et al. Catabolism of glutathione conjugates in *Arabidopsis thaliana*[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(30): 21102-21112.
- [75] ANANDARAJAH K, KIEFER P M, DONOHOE B S, et al. Recruitment of a double bond isomerase to serve as a reductive dehalogenase during biodegradation of pentachlorophenol[J]. *Biochemistry*, 2000, 39(18): 5303-5311.
- [76] SHIMIZU T, HASHIMOTO N, NAKAYAMA I, et al. A novel isourazole herbicide, fluthiacet-methyl, is a potent inhibitor of protoporphyrinogen oxidase after isomerization by glutathione *S*-transferase[J]. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36(4): 625-632.
- [77] NICOLAUS B, SATO Y, WAKABAYASHI K, et al. Isomerization of peroxidizing thiadiazolidine herbicides is catalyzed by glutathione *S*-transferase[J]. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 1996, 51(5-6): 342-354.
- [78] MOHSENZADEH S, ESMAEILI M, MOOSAVI F, et al. Plant glutathione *S*-transferase classification, structure and evolution[J]. *Afr J Biotechnol*, 2011, 10(42): 8160-8165.
- [79] DROOG F. Plant glutathione *S*-transferases, a tale of theta and tau[J]. *J Plant Growth Regul*, 1997, 16(2): 95-107.
- [80] DIXON D P, CUMMINS I, COLE D J, et al. Glutathione-mediated detoxification systems in plants[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 1998, 1(3): 258-266.
- [81] LABROU N E, PAPAGEORGIOU A C, PAVLI O, et al. Plant

- GSTome: structure and functional role in xenome network and plant stress response[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2015, 32: 186-194.
- [82] CHRONOPOULOU E, MADEIS P, ASIMAKOPOULOU B, et al. Catalytic and structural diversity of the fluzifop-inducible glutathione transferases from *Phaseolus vulgaris*[J]. *Planta*, 2012, 235(6): 1253-1269.
- [83] CHRONOPOULOU E, MADEIS P, TSAFTARIS A, et al. Cloning and characterization of a biotic-stress-inducible glutathione transferase from *Phaseolus vulgaris*[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2014, 172(2): 595-609.
- [84] JEPSON I, LAY V J, HOLT D C, et al. Cloning and characterization of maize herbicide safener-induced cDNAs encoding subunits of glutathione *S*-transferase isoforms I, II and IV[J]. *Plant Mol Biol*, 1994, 26(6): 1855-1866.
- [85] THOM R, CUMMINS I, DIXON D P, et al. Structure of a tau class glutathione *S*-transferase from wheat active in herbicide detoxification[J]. *Biochemistry*, 2002, 41(22): 7008-7020.
- [86] HU T Z. A glutathione *S*-transferase confers herbicide tolerance in rice[J]. *Crop Breed Appl Biotechnol*, 2014, 14(2): 76-81.
- [87] HU T Z, HE S, HUANG X Y, et al. Cloning, molecular characterization and heterologous expression of a glutathione *S*-transferase gene in rice[J]. *Russ J Bioorg Chem*, 2011, 37(3): 344-350.
- [88] 姬向楠, 何非, 段长青, 等. 植物 UDP-糖基转移酶生化特性和功能研究进展[J]. *食品科学*, 2013, 34(9): 316-323.
- JI X N, HE F, DUAN C Q, et al. Recent progress in biochemical properties and functions of UDP-glycosyl transferase during plant secondary metabolism[J]. *Food Sci*, 2013, 34(9): 316-323.
- [89] 秦晶晶, 孙春玉, 张美萍, 等. 植物UDP-糖基转移酶分类、功能以及进化[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(1): 440-450.
- QIN J J, SUN C Y, ZHANG M P, et al. Classification, function and evolution of plant UDP-glycosyltransferase[J]. *Genom Appl Biol*, 2018, 37(1): 440-450.
- [90] 孟庆山, 尹恒, 胡建恩, 等. 植物糖基转移酶在植物抗病过程中的研究进展[J]. *生物技术通讯*, 2013, 24(2): 290-293.
- MENG Q S, YIN H, HU J E, et al. Research progress of plant glycosyltransferase in plant resistance on disease[J]. *Lett Biotechnol*, 2013, 24(2): 290-293.
- [91] JONES P, VOGT T. Glycosyltransferases in secondary plant metabolism: tranquilizers and stimulant controllers[J]. *Planta*, 2001, 213(2): 164-174.
- [92] BOWLES D, ISAYENKOVA J, LIM E, et al. Glycosyltransferases: managers of small molecules[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 8(3): 254-263.
- [93] ZHANG J J, GAO S, XU J Y, et al. Degrading and phytoextracting atrazine residues in rice (*Oryza sativa*) and growth media intensified by a phase II mechanism modulator[J]. *Environ Sci Technol*, 2017, 51(19): 11258-11268.
- [94] ZHANG J J, LU Y C, YANG H. Chemical modification and degradation of atrazine in *Medicago sativa* through multiple pathways[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(40): 9657-9668.
- [95] LU Y C, ZHANG S, YANG H. Acceleration of the herbicide isoproturon degradation in wheat by glycosyltransferases and salicylic acid[J]. *J Hazard Mater*, 2015, 283: 806-814.
- [96] FREAR D S, MANSAGER E R, SWANSON H R, et al. Metribuzin metabolism in tomato: isolation and identification of *N*-glucoside conjugates[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 1983, 19(3): 270-281.
- [97] LU Y C, YANG S N, ZHANG J J, et al. A collection of glycosyltransferases from rice (*Oryza sativa*) exposed to atrazine[J]. *Gene*, 2013, 531(2): 243-252.
- [98] MATERN U, FESER C, HELLER W. *N*-malonyltransferases from peanut[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1984, 235(1): 218-227.
- [99] LAO S H, LOUTRE C, BRAZIER M, et al. 3, 4-Dichloroaniline is detoxified and exported via different pathways in *Arabidopsis* and soybean[J]. *Phytochemistry*, 2003, 63(6): 653-661.
- [100] FEUNG C S, HAMILTON R H, MUMMA R O. Metabolism of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. VII. Comparison of metabolites from five species of plant callus tissue cultures[J]. *J Agric Food Chem*, 1975, 23(3): 373-376.
- [101] COUPLAND D, JACKSON M B. Effects of mecoprop (an auxin analogue) on ethylene evolution and epinasty in two biotypes of *Stellaria media*[J]. *Ann Bot*, 1991, 68(2): 167-172.
- [102] BAROZZI F, DI SANSEBASTIANO G, SABELLA E, et al. Glutathione *S*-transferase related detoxification processes are correlated with receptor-mediated vacuolar sorting mechanisms[J]. *Plant Cell Rep*, 2017, 36(9): 1361-1373.
- [103] WALTER S, KAHLA A, ARUNACHALAM C, et al. A wheat ABC transporter contributes to both grain formation and mycotoxin tolerance[J]. *J Exp Bot*, 2015, 66(9): 2583-2593.
- [104] 邵若玄, 沈忆珂, 周文彬, 等. 植物 ATP 结合盒 (ABC) 转运蛋白研究进展[J]. *浙江农林大学学报*, 2013, 30(5): 761-768.
- SHAO R X, SHEN Y K, ZHOU W B, et al. Recent advances for plant ATP-binding cassette transporters[J]. *J Zhejiang A&F Univ*, 2013, 30(5): 761-768.
- [105] 谢小东, 程廷才, 王根洪, 等. 植物 ABC 和 MATE 转运蛋白与次生代谢物跨膜转运[J]. *植物生理学报*, 2011, 47(8): 752-758.
- XIE X D, CHENG T C, WANG G H, et al. ABC and MATE transporters of plant and their roles in membrane transport of secondary metabolites[J]. *Plant Physiol J*, 2011, 47(8): 752-758.
- [106] KLEIN M, WEISSENBOCK G, DUFAUD A, et al. Different energization mechanisms drive the vacuolar uptake of a flavonoid glucoside and a herbicide glucoside[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(47): 29666-29671.
- [107] MARTINOIA E, GRILL E, TOMMASINI R, et al. ATP-dependent glutathione *S*-conjugate 'export' pump in the vacuolar membrane of plants[J]. *Nature*, 1993, 364(6434): 247-249.
- [108] SHITAN N, YAZAKI K. Chapter nine: new insights into the transport mechanisms in plant vacuoles[M/OL]//International review of cell and molecular biology. Elsevier, 2013: 383-433. [2019-09-30]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124076952000093>.
- [109] LIU G S, SANCHEZ-FERNÁNDEZ R, LI Z S, et al. Enhanced multispecificity of *Arabidopsis* vacuolar multidrug resistance-associated protein-type ATP-binding cassette transporter, AtMRP2[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(12): 8648-8656.
- [110] WINDSOR B, ROUX S J, LLOYD A. Multiherbicide tolerance conferred by AtPgp1 and apyrase overexpression in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Nat Biotechnol*, 2003, 21(4): 428-433.
- [111] MENG J J, QIN Z W, ZHOU X Y, et al. An ATP-binding cassette transporter gene from *Cucumis sativus* L., *CsABC19*, is involved in propamocarb stress in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2016, 34(5): 947-960.
- [112] SAMMONS R D, GAINES T A. Glyphosate resistance: state of knowledge[J]. *Pest Manag Sci*, 2014, 70(9): 1367-1377.

- [113] NOL N, TSIKOU D, EID M, et al. Shikimate leaf disc assay for early detection of glyphosate resistance in *Conyza canadensis* and relative transcript levels of EPSPS and ABC transporter genes[J]. *Weed Res*, 2012, 52(3): 233-241.
- [114] PENG Y H, ABERCROMBIE L L, YUAN J S, et al. Characterization of the horseweed (*Conyza canadensis*) transcriptome using GS-FLX 454 pyrosequencing and its application for expression analysis of candidate non-target herbicide resistance genes[J]. *Pest Manag Sci*, 2010, 66(10): 1053-1062.
- [115] YUAN J S, ABERCROMBIE L L G, CAO Y W, et al. Functional genomics analysis of horseweed (*Conyza canadensis*) with special reference to the evolution of non-target-site glyphosate resistance[J]. *Weed Sci*, 2010, 58(2): 109-117.
- [116] XI J, XU P, XIANG C B. Loss of AtPDR11, a plasma membrane-localized ABC transporter, confers paraquat tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant J*, 2012, 69(5): 782-791.
- [117] BRAZIER-HICKS M, EDWARDS L A, EDWARDS R. Selection of plants for roles in phytoremediation: the importance of glucosylation[J]. *Plant Biotechnol J*, 2007, 5(5): 627-635.
- [118] SHARMA A, KUMAR V, KUMAR R, et al. Brassinosteroid-mediated pesticide detoxification in plants: a mini-review[J]. *Cogent Food Agric*, 2018, 4(1): 1436212.
- [119] DA SILVA J F, WARREN G F. Effect of stage of growth on metribuzin tolerance[J]. *Weed Sci*, 1976, 24(6): 612-615.
- [120] CHHIKARA S, PAULOSE B, WHITE J C, et al. Understanding the physiological and molecular mechanism of persistent organic pollutant uptake and detoxification in cucurbit species (zucchini and squash)[J]. *Environ Sci Technol*, 2010, 44(19): 7295-7301.
- [121] JEFFCOAT B, HARRIES W N. Selectivity and mode of action of flupropr-isopropyl, isopropyl (\pm)-2-[N-(3-chloro-4-fluorophenyl) benzamido] propionate, in the control of *Avena fatua* in barley[J]. *Pestic Sci*, 1975, 6(3): 283-296.
- [122] SARI-GORLA M, FERRARIO S, ROSSINI L, et al. Developmental expression of glutathione-S-transferase in maize and its possible connection with herbicide tolerance[J]. *Euphytica*, 1993, 67(3): 221-230.
- [123] HAN H P, YU Q, CAWTHRAY G R, et al. Enhanced herbicide metabolism induced by 2,4-D in herbicide susceptible *Lolium rigidum* provides protection against diclofop-methyl[J]. *Pest Manag Sci*, 2013, 69(9): 996-1000.
- [124] GION K, INUI H, TAKAKUMA K, et al. Molecular mechanisms of herbicide-inducible gene expression of tobacco CYP71AH11 metabolizing the herbicide chlorotoluron[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2014, 108: 49-57.
- [125] FORTHOFFER N, HELVIG C, DILLON N, et al. Induction and inactivation of a cytochrome P450 conferring herbicide resistance in wheat seedlings[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2001, 26(1-2): 9-16.
- [126] 于高波. 油菜素内酯促进番茄体内百菌清降解中谷胱甘肽相关解毒途径的机理研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
YU G B. Mechanisms of glutathione-dependent detoxification in brassinosteroids-regulated chlororthalonil degradation in tomato[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2012.
- [127] YU G B, ZHANG Y, AHAMMED G J, et al. Glutathione biosynthesis and regeneration play an important role in the metabolism of chlorothalonil in tomato[J]. *Chemosphere*, 2013, 90(10): 2563-2570.
- [128] 陈夏. ^{14}C -标记唑菌酯在靶标作物中的行为和代谢研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
CHEN X. The behaviour and metabolism research of ^{14}C -pyraoxystrobin in target crops[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [129] 李菊英, 韩爱良, 汪海燕, 等. 放射性农药标记化合物的合成研究进展[J]. *核农学报*, 2010, 24(2): 415-421.
LI J Y, HAN A L, WANG H Y, et al. A review: radiolabeled synthesis of pesticides[J]. *J Nucl Agric Sci*, 2010, 24(2): 415-421.
- [130] WANG L K, ZHAO J H, DELGADO-MORENO L, et al. Degradation and metabolic profiling for benzene kresoxim-methyl using carbon-14 tracing[J]. *Sci Total Environ*, 2018: 637.
- [131] ZHANG H N, WEN B, HU X Y, et al. Uptake, translocation, and metabolism of 8: 2 fluorotelomer alcohol in soybean (*Glycine max* L. Merrill)[J]. *Environ Sci Technol*, 2016, 50(24): 13309-13317.
- [132] LEE S H, LEE W S, LEE C H, et al. Degradation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere of grasses and legumes[J]. *J Hazard Mater*, 2008, 153(1-2): 892-898.
- [133] ZHANG J J, ZHOU Z S, SONG J B, et al. Molecular dissection of atrazine-responsive transcriptome and gene networks in rice by high-throughput sequencing[J]. *J Hazard Mater*, 2012, 219-22: 57-68.
- [134] XU X Y, WANG J H, YU T, et al. Characterization of a novel aryloxyphenoxypropionate herbicide-hydrolyzing carboxylesterase with *R*-enantiomer preference from *Brevundimonas* sp. QPT-2[J]. *Process Biochem*, 2019, 82: 102-109.
- [135] DÉLYE C, JASIENIUK M, LE CORRE V. Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds[J]. *Trends Genet*, 2013, 29(11): 649-658.
- [136] LAGATOR M, VOGWILL T, MEAD A, et al. Herbicide mixtures at high doses slow the evolution of resistance in experimentally evolving populations of *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *New Phytol*, 2013, 198(3): 938-945.
- [137] BURNET M W M, LOVEYS B R, HOLTUM J A M, et al. A mechanism of chlorotoluron resistance in *Lolium rigidum*[J]. *Planta*, 1993, 190(2): 182-189.
- [138] CHRISTOPHER J T, PRESTON C, POWLES S B. Malathion antagonizes metabolism-based chlorsulfuron resistance in *Lolium rigidum*[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 1994, 49(3): 172-182.
- [139] PRESTON C, TARDIF F J, CHRISTOPHER J T, et al. Multiple resistance to dissimilar herbicide chemistries in a biotype of *Lolium rigidum* Due to enhanced activity of several herbicide degrading enzymes[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 1996, 54(2): 123-134.
- [140] Pesticide residues in food 2010 evaluations part I : residues [DB/OL]. Thiamethoxam, [2019-09-13]. http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation10/Thiamethoxam.pdf.
- [141] Pesticide residues in food 2014 evaluations part I : residues [DB/OL]. Thiamethoxam, [2019-09-13]. http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation14/Thiamethoxam.pdf.
- [142] KAWAHIGASHI H. Transgenic plants for phytoremediation of herbicides[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2009, 20(2): 225-230.
- [143] WANG X X, WU N F, GUO J, et al. Phytodegradation of organophosphorus compounds by transgenic plants expressing a bacterial organophosphorus hydrolase[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 365(3): 453-458.
- [144] BENEKOS K, KISSOUDIS C, NIANIOU-OBEIDAT I, et al.

- Overexpression of a specific soybean *GmGSTU4* isoenzyme improves diphenyl ether and chloroacetanilide herbicide tolerance of transgenic tobacco plants[J]. *J Biotechnol*, 2010, 150(1): 195-201.
- [145] KAWAHIGASHI H, HIROSE S, OHKAWA H, et al. Herbicide resistance of transgenic rice plants expressing human *CYP1A1*[J]. *Biotechnol Adv*, 2007, 25(1): 75-84.
- [146] FAN X J, LIANG W Q, LI Y F, et al. Identification and immobilization of a novel cold-adapted esterase, and its potential for bioremediation of pyrethroid-contaminated vegetables[J]. *Microb Cell Fact*, 2017, 16: 149.
- [147] ROMEH A A A. Phytoremediation of azoxystrobin and its degradation products in soil by *P. major* L. under cold and salinity stress[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2017, 142: 21-31.
- [148] HATZIOS K K, BURGOS N. Metabolism-based herbicide resistance: regulation by safeners[J]. *Weed Sci*, 2004, 52(3): 454-467.
- [149] XIA X J, ZHANG Y, WU J X, et al. Brassinosteroids promote metabolism of pesticides in cucumber[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(18): 8406-8413.
- [150] MÜSSIG C, FISCHER S, ALTMANN T. Brassinosteroid-regulated gene expression[J]. *Plant Physiol*, 2002, 129(3): 1241-1251.
- [151] GODA H. Microarray analysis of brassinosteroid-regulated genes in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, 2002, 130(3): 1319-1334.
- [152] LIU C, LIU S Q, WANG F, et al. Expression of a rice *CYP81A6* gene confers tolerance to bentazon and sulfonyleurea herbicides in both *Arabidopsis* and tobacco[J]. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 2012, 109(3): 419-428.
- [153] WANG Q Z, FU H W, HUANG J Z, et al. Generation and characterization of bentazon susceptible mutants of commercial male sterile lines and evaluation of their utility in hybrid rice production[J]. *Field Crop Res*, 2012, 137: 12-18.
- [154] LU H P, EDWARDS M, WANG Q Z, et al. Expression of cytochrome P450 *CYP81A6* in rice: tissue specificity, protein subcellular localization, and response to herbicide application[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2015, 16(2): 113-122.
- [155] ABDUL KAYUM M, NATH U, PARK J, et al. Genome-wide identification, characterization, and expression profiling of glutathione *S*-transferase (GST) family in pumpkin reveals likely role in cold-stress tolerance[J]. *Genes*, 2018, 9(2): 84.
- [156] 钟树明, 袁东星, 李权龙, 等. 植物水解酶法快速测定环境水样中有机磷及氨基甲酸酯类农药[J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2002, 41(1): 75-78.
- ZHONG S M, YUAN D X, LI Q L, et al. Rapid determination of organophosphorus and carbamate pesticides in water samples with plant-hydrolases[J]. *J Xiamen Univ (Nat Sci Ed)*, 2002, 41(1): 75-78.
- [157] 邱会东, 罗国兵, 牟均. 植物水解酶催化-分光光度法快速测定蔬菜中残留的有机磷农药[J]. *理化检验(化学分册)*, 2009, 45(5): 531-532.
- QIU H D, LUO G B, MOU J. Rapid spectrophotometric determination of organo-phosphorus pesticides with plant-hydrolase catalysis[J]. *Phys Test Chem Anal Part B (Chem Anal)*, 2009, 45(5): 531-532.
- [158] 钟树明, 袁东星, 金晓英, 等. 植物酶抑制技术用于检测蔬菜中有机磷及氨基甲酸酯类农药残留[J]. *环境化学*, 2002, 21(2): 189-193.
- ZHONG S M, YUAN D X, JIN X Y, et al. Determination of organophosphorus and carbamate pesticide residues in vegetables using a plant-hydrolyses inhibition technique[J]. *Environ Chem*, 2002, 21(2): 189-193.
- [159] KAPOLI P, AXARLI I A, PLATIS D, et al. Engineering sensitive glutathione transferase for the detection of xenobiotics[J]. *Biosens Bioelectron*, 2008, 24(3): 498-503.
- [160] 姜彬, 冯志彪. 用于有机磷农药检测的植物酯酶生物传感器的研究[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(10): 364-367.
- JIANG B, FENG Z B. Study on biosensor based on plant esterase for determination of organophosphorus pesticide[J]. *Sci Technol Food Ind*, 2010, 31(10): 364-367.
- [161] 戴莹, 王纪华, 韩平, 等. 生物传感器在有机磷农药残留量检测中的应用研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(8): 2976-2980.
- DAI Y, WANG J H, HAN P, et al. Recent progress of biosensors for detection of organophosphorus pesticide residues[J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(8): 2976-2980.
- [162] VOELKER A E, VISWANATHAN R. Synthesis of a suite of bioorthogonal glutathione *S*-transferase substrates and their enzymatic incorporation for protein immobilization[J]. *J Org Chem*, 2013, 78(19): 9647-9658.
- [163] HOU C X, LI J X, ZHAO L L, et al. Construction of protein nanowires through cucurbit[8] uril-based highly specific host-guest interactions: an approach to the assembly of functional proteins[J]. *Angew Chem*, 2013, 125(21): 5700-5703.

(责任编辑: 唐 静)