

植物激活剂的研究开发进展

王晓军¹ 徐尚成¹ 肖国民²

(1 江苏省农药研究所, 南京 210036 2 东南大学, 南京 210096)

摘要 植物激活剂是一类能诱导植物抗病性的药剂, 作用机制独特。简述了植物激活剂的发展历史, 并介绍了两个已商品化的品种, 即烯丙异噻唑和活化酯。

关键词 杀菌剂 植物激活剂 系统性获得抗性 烯丙异噻唑 活化酯

大多数植物, 即使没有特殊的抗病基因, 也能运用自身的防御体系对病原体产生抵抗作用, 这说明在病原体和植物之间存在着某种相生相克的关系。最近人们提出了系统性获得抗性(Systemic acquired resistance, SAR)概念, 即植物受坏死型病原体侵染后, 在未侵染部位产生对随后病原体的抗性。诱发 SAR 的病原体包括诱导侵染组织产生过敏反应(hypersensitive response, HR)的非亲和性病原, 及诱导产生坏死斑的亲和性病原。人们把这种对致病菌抗菌活性低或无抗菌活性, 但能诱导寄主植物抗病性的药剂称为植物激活剂, 或叫植物抗病诱导剂。

1 植物激活剂的作用机理

植物激活剂主要通过诱导植物产生 SAR 而发挥作用。虽然 20 世纪初即发现了植物获得抗病性现象, SAR 产生和持续的具体机理目前尚不清楚。现一般认为, 植物受坏死型病原物侵染后, 侵染部位迅速产生系统性信号, 经韧皮部传导到未侵染部位, 一方面, 诱发 SAR 基因表达, 基因表达产物本身直接或通过其它机制杀死病原物, 抑制病原物的生长; 另一方面, 组织内水杨酸遇到挑战接种病原物后迅速活化一种依赖于病原物的精细调控机制, 放大和强化(potentiation)非特异性病原信号, 活化非特异性防卫反应机制, 从而表现 SAR。SAR 具有区别于其它抗性形式的三大特点。一是系统性, 即 SAR 表现在植株的非诱导因子处理部位; 二是持久性, 即 SAR 产生后可维持几周甚至几个月; 三是广谱性, 即 SAR 同时对真菌、细菌、病毒所致病害产生抑制作用。

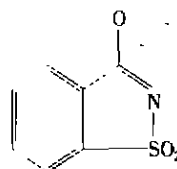
2 已商品化的植物诱导剂

SAR 是植物抗病性的一种重要表现形式。人们

正致力于将 SAR 诱导因子作为农药的替代品应用于农作物的保护。最早人们发现水杨酸可诱导植物产生 SAR, 然而它诱发的 SAR 表达时间及水平往往无法预测, 故而以前一直难以实用化。随后人们又筛选出了水杨酸的类似物 2,6-二氯异烟酸(dichloroisonicotianic acid, INA), 但一些作物对其有效剂量产生要害, 使其应用受到限制。现已商品化的主要有化学合成的苯并噻唑类化合物, 即由日本明治制果公司开发并已广泛应用的烯丙异噻唑和瑞士诺华公司正在开发的活化酯(CGA247504)。

2.1 烯丙异噻唑

烯丙异噻唑, 化学名称为 3-烯丙氧基-1,2-苯并异噻唑-1,1-二氧化物, 通用名 probenazole, 商品名为 Oryzemat, 是由日本明治制果公司开发, 其化学结构式如下:

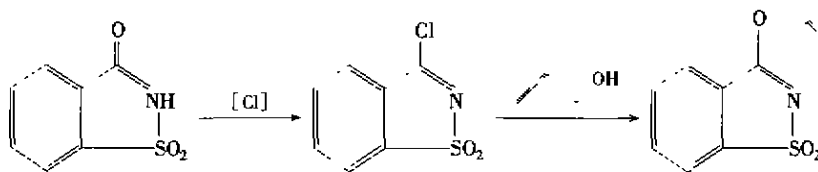


烯丙异噻唑纯品为白色结晶, 熔点 138℃, 不溶于水, 易溶于丙酮, DMF。烯丙异噻唑属低毒性农药, 对无致病性的微生物和温血动物低毒、安全, 属于一种对环境友好的农药。

2.1.1 作用方式

烯丙异噻唑的研究开发开始于 20 世纪 70 年代, 该杀菌剂早在 1975 年就在日本登记, 用于水稻稻瘟病的防治。近期研究表明烯丙异噻唑是一种植物激活剂, 该化合物对致病抗菌活性低或无抗菌活性, 但能诱导寄主植物产生抗病性。Eiichi^[1]等发现, 经烯丙异噻唑处理并接种稻瘟病菌的稻株体内, SS₀(核酮

糖-1,5-二磷酸羧化酶的小亚单位)和 LHCP(光捕获叶绿素结合蛋白)的 mRNA 在接种稻瘟病菌的水稻叶片、茎、小穗等绿色组织中大量积累。Naoki^[2]筛选到烯丙异噻唑处理的水稻体内 PBZ1 的 DNA 克隆,氨基酸序列分析发现 PBZ1 蛋白和细胞内病程相关蛋白(IPR)有很高的同源性;烯丙异噻唑处理感病品种后,PBZ1 的 mRNA 能迅速积累,这与抗病品种对病菌的侵入反应相似,伤口不能诱导 PBZ1 mRNA 的积累,这表明 PBZ1 基因在水稻抗稻瘟病反应中可能起重要作用,烯丙异噻唑能诱导 PBZ1 的表达,进而增强水稻的抗病性。



文献报道的氯化试剂主要有双光气^[4]、光气^[5]、 $\text{PCl}_5 - \text{POCl}_3$ ^[6]及 SOCl_2 ^[7]等 4 种。除 $\text{PCl}_5 - \text{POCl}_3$ 法收率略低外,其余均获得较为满意的收率。用光气类氯化剂,文献报道收率较高,可达到 90% 以上,但它所用到的溶剂,如四氯乙烯为高挥发性溶剂,价格较高,回收再利用率低,且不利于安全生产;而其它一些溶剂不是常用溶剂,价格昂贵,采购困难,而换用一些其它溶剂,如:饱和芳香烃类、DMF、二恶烷等,却发现收率极低,另外光气是一种剧毒气体,安全性较差,通常存在光气利用率不高,破光费用较高等问题。 $\text{PCl}_5 - \text{POCl}_3$ 法,文献报道收率不是很高,仅在 75% 左右,有着原料简单易得,反应活性高,在有机碱存在下,重排等副反应少的优点。但由于反应条件强烈, PCl_5 易受热分解成三氯化磷和氯气,温度越高,分解度越大,置换很强,反应后将产生大量不易挥发的偏磷酸,三废量大。我们曾换用 POCl_3 做氯化剂,获得较为满意的收率,但是所用催化剂价格较高,且与 $\text{PCl}_5 - \text{POCl}_3$ 法一样存在着三废处理及设备腐蚀问题。 SOCl_2 是一种很好的卤置换试剂,反应除生成卤代烃和 HCl , SO_2 等气体外,无其它残留物,产物容易分离纯化,且异构化等副反应少,产率较高,来源稳定。虽然所用溶剂价格较高,但由于它挥发性低,回收率高,且可循环套用,使得溶剂实际使用成本大幅下降。综合比较, SOCl_2 法较适宜工业化生产。

最终产品烯丙异噻唑的合成主要有两种方法,一

烯丙异噻唑对稻瘟病具有较好的保护作用,对病菌的侵入和扩展都有抑制作用。有研究表明^[3],该药剂可能在病菌和寄主信号识别和传递的早期阶段发挥作用,从而提高水稻对稻瘟病的抗病性,具有这种作用机制的药剂对病菌的选择压力较小,病菌不易对它产生抗药性。该药剂在日本使用 20 多年,目前还没有出现抗药性报道。这种植物激活剂代表着一类杀菌剂的发展方向。

2.1.2 合成方法

烯丙异噻唑的合成以糖精为原料经氯化、缩合而得,合成路线如下:

种以丙烯醇为溶剂^[5],另一种则以饱和芳香烃类^[6],如:苯、甲苯、二甲苯、氯苯等为溶剂。通过实验,我们发现用丙烯醇为溶剂,反应时间较短,但收率不够理想,仅在 65% 左右,且由于丙烯醇本身所具有的类似大蒜的强刺激性气味,对操作密封性要求较高。如换用甲苯,则反应时间稍长,但收率较高可达 90%。同时考虑到丙烯醇本身昂贵的价格,用它做溶剂是很不明智的,应选用甲苯或其它适宜溶剂。

2.1.3 应用开发进展

烯丙异噻唑每亩水稻用量为 50 g 有效成分,防治效果可达 97%,水田防治菌瘟在病害初发前 7~10 d 用药,防治稻颈瘟在抽穗前 3~4 周用药,药效可维持 40 d 左右。用 ^{32}S 标记的烯丙异噻唑研究发现,灌溉水中施用 1.7×10^{-5} 的药剂,2 d 后稻株下部叶片中药剂的浓度可高达 2.8×10^{-5} ,14~15 d 后,药剂浓度可积累到 $4.5 \times 10^{-5} \sim 5.0 \times 10^{-5}$,其后逐渐降低,但它的可持续 42 d 以上。用药 7 d 后,在旗叶上药剂浓度为 1.3×10^{-5} ,14~21 d 为 $3.5 \times 10^{-5} \sim 3.7 \times 10^{-5}$,分布可持续 42 d 以上。烯丙异噻唑对稻瘟病有较好的防治效果,其保护作用明显优于治疗作用,宜作保护剂使用,它可通过根和叶片内吸后向上输导,因此它可用作根部处理,也可叶面喷施,叶面喷施效果优于灌根处理。

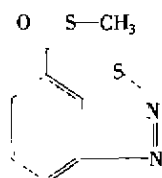
烯丙异噻唑制剂主要为 8% 颗粒剂,可与抗倒胺^[10]或捷利康公司的 azoxystrobin (ICIA5504) 复配^[11]。

此外可与诺华公司的活化酯(CGA245704)^[12],日本大塚化学株式会社的丙硫克百威(Benfuroacarb, OK-174)^[13],藻酸钠^[14],或含硅杂环类杀菌剂^[15]复配使用,均取得很好疗效。为防止稻苗生长后枯萎,及节省劳动力,人们又开发了育苗箱用烯丙异噻唑制剂。最近刚推出浓度为24%的育苗箱专用制剂,并于1997年登记。此外与硫代氨基甲酸酯类杀菌剂磺菌威(methasulfocarb, NK-191)复配,其用量为2.4~4 g/箱^[16]。与春雷霉素(kasugamycin)复配也取得很好效果^[17]。

烯丙异噻唑虽未在我国推广使用,但在东南亚及日本等传统水稻种植区用量很大,约占全球水稻用杀菌剂的6%~7%。在日本,稻瘟病是水稻病虫害中危害最为严重的灾害之一,用于防治水稻稻瘟病的杀菌剂占全部水稻用杀菌剂销售量的74%,占全部水稻用杀菌剂销售额的60%。该药剂在日本被加工成8%的颗粒剂销售,仅1987年就售出8 500 t,产值折合人民币1.8亿元,是日本杀菌剂中产量最大的品种之一。1995年它在远东地区用量达到1 466 t,价值1.52亿美元,同时人们预测,到2005年,其用量将增至1 700 t,可谓市场巨大。

2.2 活化酯

活化酯是由瑞士诺华公司开发的一种可用于水稻、小麦、蔬菜、香蕉、烟草等多种作物的植物激活剂,其结构式为:



英文通用名称 acibenzoler (ISO 建议名),商品名称为 Bion, Unix Bion。化学名称为苯并[1,2,3]噻二唑-7-硫代羧酸甲酯。

纯净的活化酯为白色至米色粉状固体^[19],且具有似烧焦的气味,熔点 132.9℃,沸点大约 267℃;相对密度 1.54(20℃);蒸气压 4.4×10^{-4} Pa(25℃);分配系数(25℃) Log P = 3.1;溶解度(25℃, g/L),水 7.7,甲醇 4.2,乙酸乙酯 25,正己烷 1.3,甲苯 36,正辛醇 5.4,丙酮 28,二氯甲烷 160;稳定性水解半衰期

(20℃) 3.8 a (pH5), 23 × 7 d (pH7), 19.4 h (pH9)。大鼠急性经口 LD₅₀ > 2 000 mg/kg;大鼠急性经皮 LD₅₀ > 2 000 mg/kg;大鼠吸入 LC₅₀(4 h): > 5 000 mg/L;本品对兔眼睛和皮肤无刺激。无致畸、致突变、致癌作用。野鸭 LD₅₀(14 d) > 2 000 mg/kg;野鸭 LC₅₀(8 d): > 5 200 mg/kg;鱼 LC₅₀(96 h, mg/L): 虹鳟 0.4, 大翻车鱼 2.8, 水蚤 LC₅₀(48 h): 2.4 mg/L。按我国农药毒性标准分类属于低毒农药。

2.2.1 发现过程

人们在合成磺酰脲类除草剂中分离出副产物苯并[1,2,3]噻二唑-7-羧酸甲酯^[18],并发现它能激活植物的 SAR。通过一系列研究,人们发现未取代的苯并噻二唑,及仅 7 位有甲基的苯并噻二唑没有生理诱导活性;仅带羧酸基的苯并噻二唑也无活性;7 位为醛基或醚基则发现活性降低;苯环的 4,5,6 位如有取代基,则其活性也大为降低;如换用其它苯并五元杂环其活性也将丧失。经过一系列分子修饰工作,最终人们开发了广谱杀菌剂活化酯。

2.2.2 作用方式

与烯丙异噻唑一样,活化酯对水稻稻瘟病并无直接的杀菌作用。然而,该药剂可诱导水稻的抵抗能力,从而抑制稻瘟病的发生。估计活化酯系在植物体内转化成水杨酸,而诱导作物产生 SAR,但在水稻上的具体情况尚在研究之中。

2.2.3 合成方法

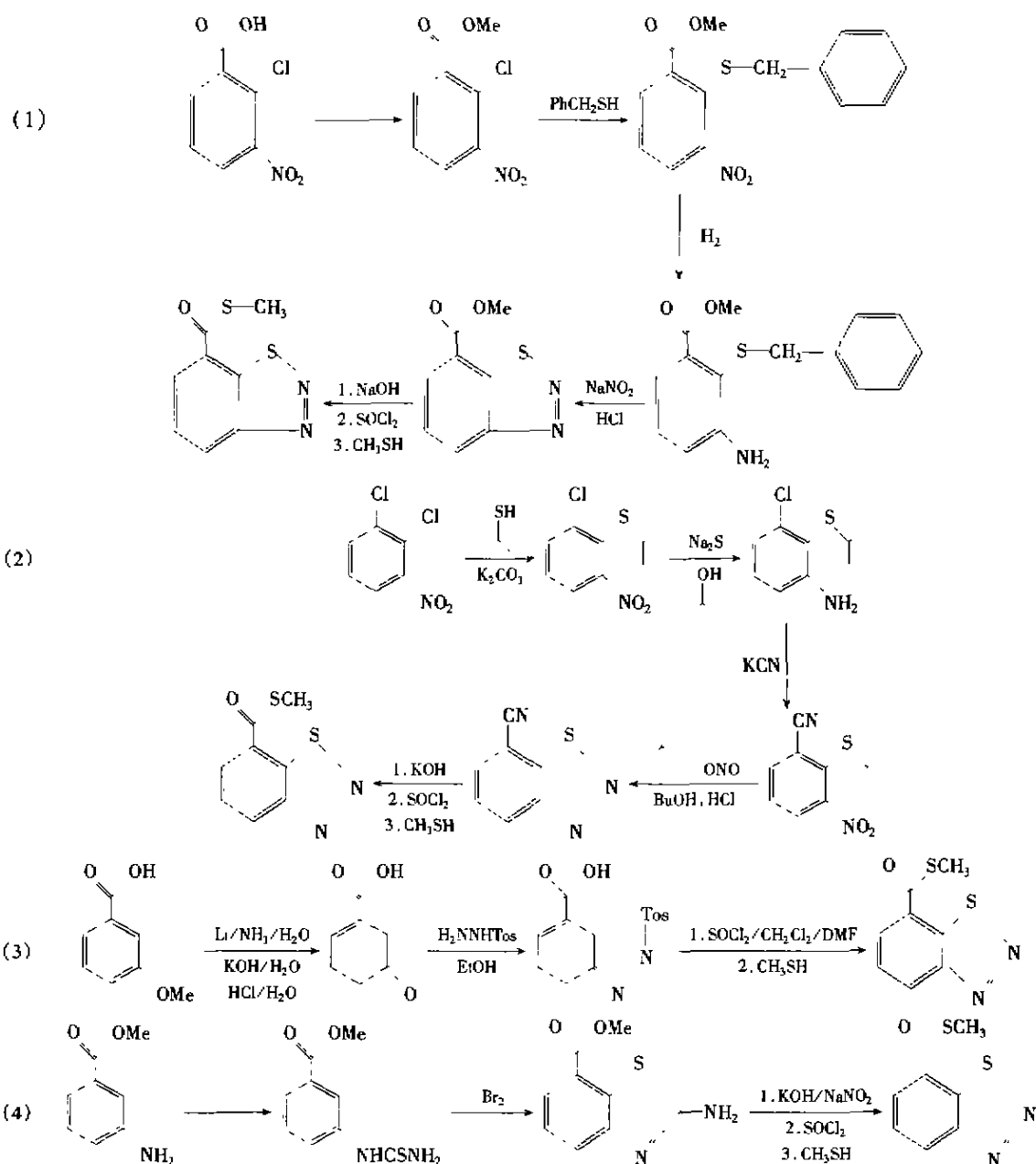
活化酯的合成主要有 4 种方法^[19,20]:(1)以邻氯间硝基苯甲酸为起始原料,经酯化、醚化、重氮化闭环等一系列反应制得目的物。

也可采用以 2-氯-3,5-二硝基苯甲酸为起始原料,经类似上述过程制得氨基取代的苯并噻二唑-7-羧酸酯,再重氮化脱氨基后制得目的物。

(2)以 2,3-二氯硝基为起始原料,经醚化、还原腈基化、重氮化闭环等一系列反应制得目的物。

(3)以间甲氧基苯甲酸为起始原料,经脱甲基、还原缩合,闭环等反应制得目的物。

(4)以间氨基苯甲酸甲酯为起始原料,与硫氰酸盐反应生成硫脲,在溴存在下闭环、重排,经酰氯化酯化得目的物。



在上述4种方法中,前两种方法反应步骤较长,反应要求高,且使用的个别原料及催化剂比较特殊,不易得,不适合工业化生产。(3)法反应步骤较短,但总收率低,仅达到27%,且同样存在着个别原料比较特殊,不易得的缺点,也不适合工业化生产。(4)法反应条件温和,反应步骤短,收率较高,以间氨基苯甲酸为初始原料,经6步反应,总收率可达52.5%。由于间氨基苯甲酸已在国内实现工业化生产,因此原料简单易得,来源稳定。综合考虑,以(4)法较适宜实现工业化。

2.2.4 应用开发

活化酯可在水稻、小麦、蔬菜、香蕉、烟草等中作为保护剂使用。如在禾谷类作物上,用30 g有效成份/1万 m² 进行茎叶喷雾1次,可有效地预防白粉病,残效期可持续10×7 d之久,且能兼防叶枯病的锈病。用12 g有效成份/1万 m² 每隔14 d使用1次可有效地预防烟草霜霉病。同其它常规药剂如甲霜灵、代森锰锌、烯酰吗啉等混用,不仅可提供活化酯的防治效果,而且还能扩大其防病范围。目前活化酯制剂主要为50%可湿性粉剂和63%可湿性粉剂两种。

对于稻瘟病,日本于1995年起进行了试验,即于移栽前3 d至当天以每一育苗箱使用50 g和75 g 2%的颗粒剂。结果发现,其与水面喷洒8%的烯丙异噻唑颗粒剂的效果相当。

与烯丙异噻唑一样,活化酯可诱发作物对稻瘟病菌的抗性,故不易产生抗菌素性菌株的效果高,内吸渗透性好。作为育苗箱使用的有3%颗粒剂,此外还作为茎叶喷洒剂,于1995年进行试验。

3 结束语

传统的农药(pesticide),突出了杀死有害生物的含意,大多直接作用于生物体内的各种靶标。随着人们对农药安全性的关注,提出了生物调控(BIO-REGULATOR)的观点,不再强调“杀死”,而主张用不同的活性物质来调节改变和控制有害生物体。因此,植物激活剂的研究、开发值得我们关注。

参考文献

- 1 M. Eiichi and A. J. Pesticide. Sci. 19:79~83
- 2 M. Naoki, I. Michiaki. Plang Cell physiol, 37 (1)
- 3 S. Yashuaru, A. Hideyuki, K. Makoto, et al,

J. Pesticide Sci., 20:165~168

- 4 JPh Kokai Tokkyo koko 78, 111, 064
- 5 Japan Kokai 7736, 663
- 6 Japan 70 14, 302
- 7 特开昭 47-1926
- 8 Japan 70 14, 301
- 9 特开昭 54-119462(1979)
- 10 沙家骏等. 国外新农药品种手册. 北京:化学工业出版社,1992,272
- 11 张一宾编译. 农药译丛,1999,21(1)
- 12 US5780469
- 13 JP2000044404
- 14 JP8133914
- 15 JP6287102
- 16 JP56039003
- 17 JP58052206
- 18 Walter Kunz, Rolf Schurter & Thomas Maetzke, The Chemistry of Benzothiadiazole Plant Activator Pestic. Sci. 1997, 50,275~282
- 19 Tomlin The Pesticide Manual 11 th Edition
- 20 EP0780372

(收稿日期 2001-11-30)

Development of plant activator

Wang Xiaojun¹ Xu Shangchen¹ Xiao Guomin²

(1 Jiangsu Pesticide Research Institute, Nanjing 210036 2 Southeast University, Nanjing 210096)

Abstract Plant activator can activate the disease defence system of plant—an unusual mode of action for a disease control chemical. This paper reviews the development of plant activator, and introduces two fungicides—probenazole and acibenzoler.

Keywords Fungicide, Plang activator, Systemic acquired resistance, Probenazole, Acibenzoler