

· 专论与综述 ·

Strobilurin类杀菌剂作用靶标的研究进展

闫晓静, 金淑惠, 陈馥衡, 王道全*

(农业部农药化学及使用技术重点开放实验室, 中国农业大学 应用化学系, 北京 100094)

摘要: Strobilurin类杀菌剂是在具有杀菌活性的天然 β -甲氧基丙烯酸酯衍生物的基础上研发出来的, 具有广谱、高效、安全的特点。主要以粘噻唑为例综述了该类杀菌剂作用靶标及作用位点的研究过程及最新进展。生化作用机理的研究明确了粘噻唑作用于线粒体呼吸链 b_c 复合物中的细胞色素 b 及铁硫蛋白, 阻止了从细胞色素 b 到细胞色素 c_1 的电子传递, 从而抑制线粒体的呼吸作用; 蛋白质晶体学研究明确了粘噻唑的作用位点 (Q_o 位点) 是通过氢键与铁硫蛋白及细胞色素 b 的残基结合的。其他 strobilurin类杀菌剂和粘噻唑具有相同的靶标, 但由于各化合物之间存在| 定的结构差异, 其具体作用位点亦有| 定的差别。

关键词: Strobilurin类杀菌剂; 粘噻唑; 细胞色素 b 作用靶标; 作用位点

中图分类号: Q5 S481.1

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2006)04-0299-07

Advance in Research of the Target of Action of Strobilurin Fungicides

YAN Xiao-jing JIN Shu-hui CHEN Fu-heng WANG Dao-quan*

(Key Laboratory of Pesticide Chemistry and Application Technology, Department of Applied Chemistry, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract The invention of strobilurin fungicides was inspired by a series of fungicidally active natural products—the derivatives of β -methoxyacrylate group. The outstanding character of strobilurin fungicides was broad-spectrum of activity, long duration of action, high activity at low rates of application, and outstanding environmental tolerability. The progress of research on the target and action site of the class of fungicide were reviewed with fungicide—myxothiazol as a main example. Studies on the action target of myxothiazol by biochemical assays revealed that it inhibited the mitochondrial respiration by binding at cytochrome b and iron sulfur protein, thus blocking the electron transport from cytochrome b to c_1 . The site of action of myxothiazol (Q_o site) was achieved by studies on protein crystal structure and binding of myxothiazol was stabilized by two hydrogen bonds with residue of cytochrome b and iron sulfur protein. Almost all of the strobilurin fungicides had a common target as myxothiazol by binding to the Q_o site of the bc_1 complex. Maybe, there were slight variances in specific site of action due to the difference in structure between different strobilurin fungicides.

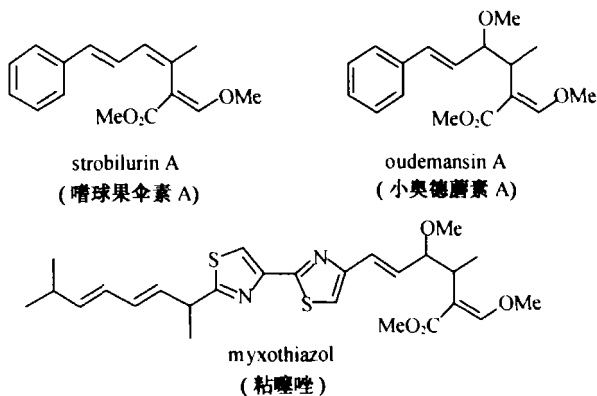
Key words strobilurin fungicides; myxothiazol; cytochrome b ; target of action; site of action

收稿日期: 2006-09-07 修回日期: 2006-11-05.

作者简介: 闫晓静 (1981-), 女, 博士研究生; * 通讯作者: 王道全 (1944-), 男, 博士, 教授, 主要从事农药化学研究. 联系电话: 010-62732219 E-mail wangdq@cau.edu.cn

基金项目: 国家重点基础研究发展规划 (“973”计划) 资助项目 (2003CB114407).

Strobilurin类杀菌剂是近 10 余年间迅速发展起来的一类重要的农用杀菌剂,是继苯并咪唑和三唑类之后杀菌剂研发史上的又一里程碑。其先导化合物是一组具有杀菌活性的天然抗生素,结构母体是 β -甲氧基丙烯酸酯。这些天然化合物中,嗜球果伞素 A (strobilurin A)^[1]和小奥德蘑素 A (oudemansin A)^[2]分别是由木腐担子菌——附胞球果菌 *Strobilurus tenacellus* 和霉状小奥德蘑 *Oudemansiella mucida* 产生的,粘噻唑 (myxothiazol)^[3] 则是由一种粘细菌黄褐粘球菌 *Mycococcus fulvus* 产生的。



这些天然抗生素见光易分解,不宜在田间使用。先正达、巴斯夫等农用化学品公司率先对其进行了结构改造和优化,研发出了一系列以 β -甲氧基丙烯酸酯衍生物为先导的杀菌剂,即 strobilurin 类杀菌剂。作为目前市场上占有量较大的杀菌剂,人们对其合成途径、创制经纬等作了大量的综述^[4~7],对其作用靶标也进行了比较详细和深入的研究,但尚未见有关其靶标发现过程的系统介绍。作者主要通过介绍粘噻唑作用靶标的发现和过程,来阐述 strobilurin 类杀菌剂的作用靶标及作用位点,以期使读者对此类杀菌剂作用靶标的发现有一个详细而系统的了解,并能从中得到某些启示,以便为新农药的研究与开发提供一些思路。

1 生化作用研究

1980年, Gerth^[3]首次从黄褐粘球菌中分离提取到具有杀菌活性的天然抗生素粘噻唑。Thierbach等^[8]对粘噻唑的生物活性进行了研究,发现其在很低的浓度下对大多数酵母菌和丝状真菌的生长就有较强的抑制作用,而对细菌(除了极少数革兰氏阳性菌)几乎无抑制作用。将粘噻唑

作用于白色念珠菌 *Candida albicans*,发现其具有很强的抑制生长作用,同时还发现葡萄糖对这种抑制生长现象存在着拮抗作用。葡萄糖对粘噻唑的拮抗作用给予人们很大启示,因为在生物体进行发酵的过程中葡萄糖还与呼吸作用有关,也就是说粘噻唑可能干扰了酵母菌的呼吸作用。当时人们已知的呼吸作用抑制剂有抗霉素 A (antimycin A)^[9]和粘菌素 (mucilin)^[10]等。这一发现为人们进一步研究此类抗生素的作用靶标指明了方向。

2 作用靶标研究

根据生化作用研究的结果, Thierbach等^[11]将目标锁定在酵母菌和牛心脏线粒体中的呼吸链上。最初的研究证明,粘噻唑对呼吸链中的氧化磷酸化和琥珀酸辅酶 Q 还原酶无抑制作用。然而当以粘噻唑和抗霉素 A 分别作用于线粒体时,发现二者对线粒体氧气吸收的抑制曲线几乎是相同的,说明粘噻唑和抗霉素 A 的作用机制有一定的相似性。而此前人们对抗霉素 A 的作用机制已有比较详细的研究报道^[12],明确了它是作用于线粒体中 b_c 复合物上,阻断从细胞色素 b 到细胞色素 c_1 的电子传递。这样就可以把抗霉素 A 作为研究粘噻唑作用靶标的一个参照。

Thierbach等^[11]将粘噻唑和抗霉素 A 分别加入到牛心脏和酵母菌的线粒体中,结果发现,在此体系中加入丙酮酸和苹果酸后细胞色素 b 仍能被还原,而细胞色素 c_1 和细胞色素 aa_3 则处于氧化状态。通过分析粘噻唑在不同浓度下吸收波谱的滴定曲线得知,与每摩尔细胞色素 b 完全结合需要 0.53~0.58 mol 的粘噻唑,这和抗霉素 A 与每摩尔细胞色素 b 完全结合所需的量 (0.50 mol) 是一致的。这些实验证明了粘噻唑和抗霉素 A 都是作用于呼吸链中细胞色素 b_c 的片段上,且在 b_c 复合物中有相同的结合比以及相似的结合常数。

进一步的研究发现^[11],虽然在粘噻唑或抗霉素 A 存在下细胞色素 b 均能被丙酮酸和苹果酸还原,但被还原的量不同。抗霉素 A 使细胞色素 b 的还原量比正常值高 20% 左右,而粘噻唑使细胞色素 b 的还原量仅略高于正常值。说明粘噻唑和抗霉素 A 在 b_c 复合物中具有不同的结合位点。Von Jagow^[13]进一步分析了在粘噻唑和抗霉素 A 存在下细胞色素 b 的吸收光谱以及这两种抑制剂

对细胞色素 b 还原动力学的影响。分别将粘噻唑和抗霉素 A 加入到分离出的 b_{c1} 复合物中, 细胞色素 b 的吸收波长均出现红移, 抗霉素 A 存在下细胞色素 b 的最大吸收波长从 562 nm 移到 564 nm, 粘噻唑存在下细胞色素 b 的最大吸收波长从 566 nm 移到 568 nm。说明抗霉素 A 主要影响 b_L 中心的配位场 (b_{562}), 而粘噻唑影响 b_H 中心 (b_{566})。Thierbach^[14] 和 Howell^[15] 研究发现, 酵母菌和小鼠细胞对粘噻唑之所以产生抗性是由于细胞色素 b 中的基因发生了突变, 这进一步证实了粘噻唑作用于细胞色素 b。

Meinhardt^[16] 在研究粘噻唑在球状红假单胞菌 *Rhodospirillum rubrum* 电子传递链中的作用位点时发现, 粘噻唑不仅作用于细胞色素 b 还能抑制 b_{c1} 复合物中铁硫蛋白的还原。DeVries 等^[17] 利用电子顺磁共振 (EPR) 技术研究了粘噻唑对 b_{c1} 复合物中铁硫蛋白还原速率的影响。把泛醌加入到分离出的 b_{c1} 复合物中, 在无抑制剂的条件下, 铁硫蛋白在不到 15 s 内即完全被还原; 而在有抑制剂存在下, 相同时间内铁硫蛋白仅有 50% 被还原。这进一步说明粘噻唑的确影响了铁硫蛋白的还原。

实验还发现, 粘噻唑使铁硫蛋白 EPR 谱的 g_x 共振峰从 $g = 1.79$ 移到 1.76 ^[18], 这个位移类似于 UHDBT (5-正-十一烷基-6-羟基-4, 7-二氧代苯并噻唑) 所引起的 EPR 谱的位移^[19]。后者产生 g_x 共振谱位移的原因是由于该类化合物在羟基醌与铁硫蛋白的结合位点上取代了羟基醌。很显然, 粘噻唑也起到了干扰苯醌或泛醌与铁硫蛋白结合的作用, 并且类似于 UHDBT 所引起的抑制 b_{c1} 复合物中从铁硫蛋白到细胞色素 c_1 的电子传递作用, 即粘噻唑在泛醌与铁硫蛋白的结合位点上代替了泛醌。

粘噻唑在 b_{c1} 复合物中的结合可以用电子传递的 Q 循环^[18, 20] 来解释 (图 1)。在 Q 循环中细胞色素 b 的还原包括两条路径: 一个是亚铁血红素 b_{566} 的还原。在这个路径中, 处于膜外表面的还原型辅酶 Q (QH_2) 先被铁硫蛋白氧化成半醌型负离子 (Q_{out}^-), 然后 Q_{out}^- 再还原亚铁血红素 b_{566} 而自身变成氧化型的辅酶 Q。粘噻唑在此路径中的作用就是与血红素 b_{566} 结合并阻断了 QH_2 和铁硫蛋白的反应, 因此, 粘噻唑也被称为 Q_o 抑制剂 (Q_oI)。第二个路径是膜内表面附近的 QH_2 还原

血红素 b_{562} 的过程, 此过程中包含了半醌负离子 (Q_{in}^-) 氧化亚铁血红素 b 的一个逆转过程, 而此反应对抗霉素 A 敏感。

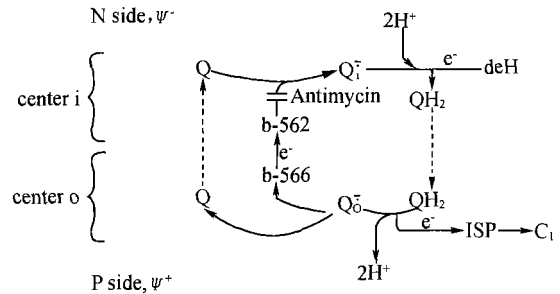


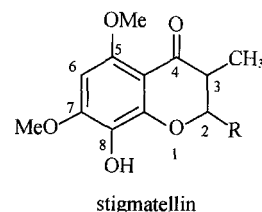
Fig 1 Protoformative Q cycle scheme for electron transfer through the cytochrome b_{c1} complex^[18]

图 1 b_{c1} 复合物中电子传递的 Q 循环示意图^[18]

3 作用位点研究

在 20 世纪 80 年代初已知粘噻唑作用于呼吸链 b_{c1} 复合物中的细胞色素 b_{566} , 且其在 b_{c1} 复合物中的结合和铁硫蛋白有关之后, 对粘噻唑在 b_{c1} 复合物中到底是以何种方式与细胞色素 b_{566} 以及铁硫蛋白结合的研究在此后的十余年间却并没有太大的进展。直到 90 年代末 b_{c1} 复合物的晶体结构^[21~24] 被解析之后, 人们才对粘噻唑的具体作用位点有了一个较为明确的认识。通过晶体衍射发现, b_{c1} 复合物是由两个单体通过二重轴相互连接而组成的一个二聚体, 它含有两个最适宜与细胞色素 c 结合的位点, 即还原型辅酶 Q 的氧化位点 (Q_o 位点) 和氧化型辅酶 Q 的还原位点 (Q_i 位点)^[25] (图 2)。从细胞色素 b_{c1} 复合物二聚体的晶体结构中可以看出, 每个 Q_o 位点都是由一个单体中的细胞色素 b 和细胞色素 c_1 的催化域和第二个单体中的铁硫蛋白组成的。

粘噻唑和标桩菌素 (stigmatellin) 是典型的 Q_o 抑制剂, 后者是半醌的类似物, 结构比较简单, 因此在进行晶体结构研究时常采用它与 b_{c1} 复合物的结合体来研究抑制剂在 b_{c1} 复合物中的具体结合位点。



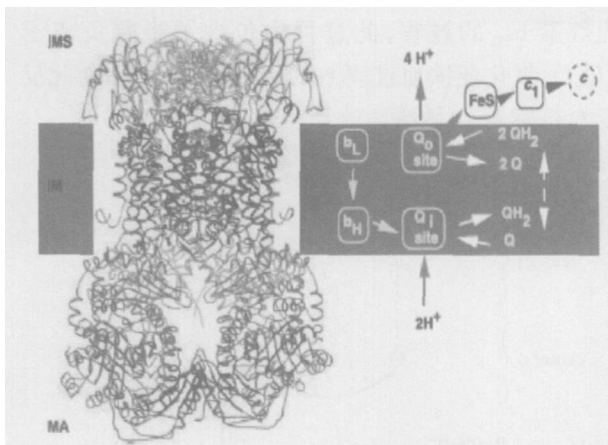


Fig 2 Structural model of the dimeric yeast QCR and schematic representation of the Q cycle within a functional unit (QCR: cytochrome b_c_1 complex)^[25]

图 2 二聚的酵母菌的细胞色素 b_c_1 结构模型和 Q 循环示意图^[25]

Zhang 等^[22] 研究了标桩菌素和粘噻唑与 b_c_1 复合物结合后的晶体结构, 使 Q_o 作用靶标的研究深入到了分子水平。从晶体结构可以看到, 其结合口袋是由螺旋 C 的 C-末端, 螺旋 cd1、ef 铰链 (包括高度保守序列 PEWY 和螺旋 ef) 和螺旋 F 的 N-末端组成。细胞色素 b 中的氨基酸残基 P271、F275 和 M125 以及铁硫蛋白中的 H161 从其在晶体结构中的位置向靠近抑制剂的方向发生了位移。另外, 螺旋轴 C 上的残基 126~129 和 cd 铰链中的残基 140~147 也向抑制剂靠近 (图 3)。

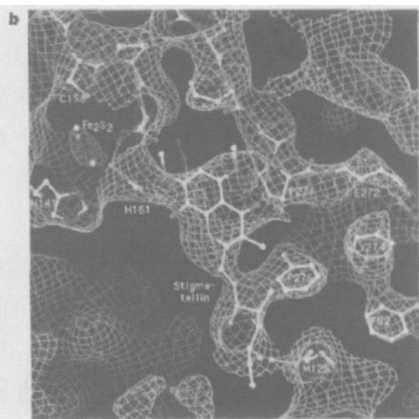


Fig 3 Stigmatellin-binding sites in the b_c_1 complex^[22]

图 3 标桩菌素在 b_c_1 复合物中的结合位点^[22]

研究发现, 抑制剂标桩菌素是通过两个氢键而结合于细胞色素 b_c_1 复合物中的 Q_o 位点的。一

个是其上 4 位的羰基氧和作为 Fe_2-S_2 簇配体的铁硫蛋白中 His181 上、被质子化的 $\epsilon-N$ 之间的氢键; 另一个是其上 8 位的羟基和细胞色素 b 中 Glu272 侧链上的羧基之间的氢键。因此, 可移动的铁硫蛋白域便被固定于靠近血红素 b_{566} 的所谓的 b 位置^[24] (图 4)。

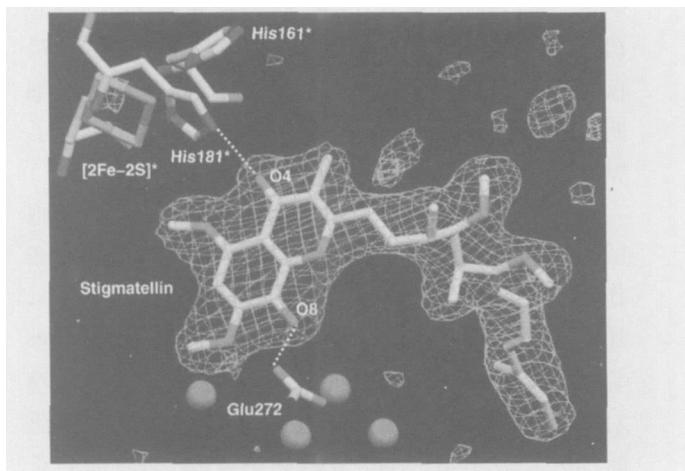


Fig 4 Binding of the Q_o site-specific inhibitor stigmatellin in yeast QCR

Hydrogen bonds are indicated with dotted lines. Atoms are color-coded as follows: red, oxygen; blue, nitrogen. All residues but His181 belongs to cytochrome b. QCR: cytochrome b_c_1 complex^[24]

图 4 Q_o 位点抑制剂标桩菌素与酵母菌 b_c_1 复合物的结合方式

虚线代表氢键; 红色小球代表 O 原子; 蓝色代表 N 原子; 所有的残基 (除 His181 外) 均属于细胞色素 b^[24]

粘噻唑的结合位点与标桩菌素大致相似, 只是它更靠近膜中心和低能血红素 b 基团 (b_{566})。粘噻唑与标桩菌素一样都靠近 P271, 只是后者是从 P271 向铁硫蛋白延伸, 而粘噻唑则是向靠近 b_{566} 的螺旋 C 中的 Y132 和 F129 延伸^[22]。

细胞色素 b_c_1 复合物晶体结构的一个显著特征就是铁硫蛋白具有移动性, 这种移动性使铁硫蛋白簇很容易从靠近血红素 b_{566} 的位置向靠近细胞色素 c_1 的位置移动^[25]。通过对晶胞结构的计算, Zhang 等^[22] 发现: 在无抑制剂存在的情况下, 铁硫蛋白簇到细胞色素 c_1 之间的距离是 1.44 nm, 其电子传递速率为 $1.8 \times 10^2 \sim 1.5 \times 10^3$ nm/s 即电子几乎可以在不到 1 ms 内被传递; 然而在有抑制剂存在下, 从铁硫蛋白簇到细胞色素 c_1 之间的最短距离是 2.7 nm, 电子传递速率为 1.0×10^{-5} nm/s 在这种情况下电子无法被传递, 因此酶也就在整个电子传递过程中失去了活性。

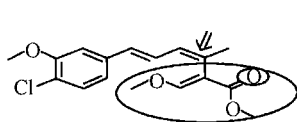
在此后的研究中, Fisher 等^[26] 通过基因突变

验证了粘噻唑属于 Q_o 位点抑制剂, 且主要作用于细胞色素 b 的氨基酸残基 G143A、F129L 和 L275F。

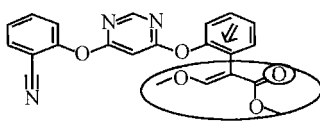
为了满足农业病害防治的需要, 人们研发出了更多的 strobilurin 类杀菌剂^[27~35]。由于这些化

合物的结构与粘噻唑等天然 β -甲氧基丙烯酸酯衍生物相似, 且具有一个共同的作用方式即都是结合于 bc_1 复合物中细胞色素 b 的 Q_o 位点, 因而均被称为 Q_o 抑制剂 (Q_oI)。部分该类化合物的结构及其活性单元见图 5 所示^[36]。

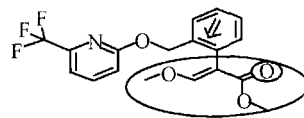
(I) Methoxyacrylates



strobilurin B

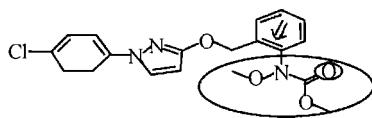


azoxystrobin



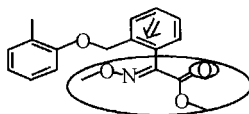
picoxystrobin

(II) Methoxycarbamates

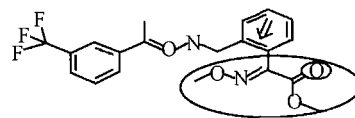


pyraclostrobin

(III) Oximinoacetates

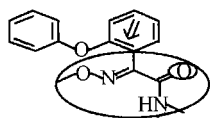


kresoxim-methyl



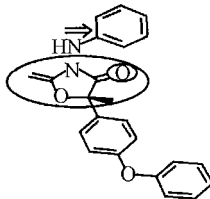
tritloxystrobin

(IV) Oximinoacetamides



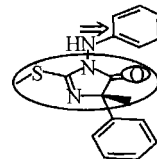
metominostrobin

(V) Oxazolidinediones



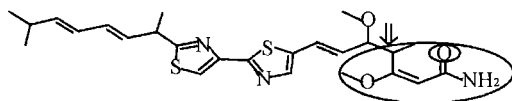
famoxadone

(VI) Imidazolinones



S-fenamidon

(VII) 'Antibiotics'



myxothiazol

Fig 5 Chemical classes and structures of Q_o site respiration inhibitors (Q_oI s)^[36]

() Methoxyacrylates: natural compounds such as strobilurin A and B, and synthetic analogues such as azoxystrobin and picoxystrobin; () Methoxycarbamates: pyraclostrobin (BAS 500); () Oximinoacetates: kresoxim-methyl, tritloxystrobin; () Oximinoacetamides: metominostrobin (SSF126); () Oxazolidinediones: famoxadone; () Imidazolinones: fenamidone (RPA 407213); () 'Antibiotics': myxothiazol

图 5 Q_o 抑制剂的化学类型及其结构^[36]

() 甲氧基丙烯酸酯类: 天然化合物如嗜球果伞素 A 和嗜球果伞素 B, 以及合成的类似物如啞菌酯和啞氧菌酯; () 甲氧基氨基甲酸酯类: 啞菌胺酯 (BAS 500); () 胍基乙酸酯类: 啞菌酯、啞菌酯; () 胍基乙酰胺类: 苯氧菌胺 (SSF126); () 噁唑烷二酮类: 啞氧菌酮; () 咪唑啉酮类: 咪唑啉酮 (RPA407213); () 抗生素类: 粘噻唑

以上各化合物的活性单元 (图 5 大圈) 中都含有一个羰基氧原子 (图 5 小圈), 该氧原子被认为是用来与酶结合的, 且大多数化合物中的活性单元都是通过苯环相连接的。Gisi 等^[36] 根据 bc_1 复合物的晶体结构和 bc_1 复合物与抑制剂结合后的晶体结构^[21~24], 建立了最适合于 Q_o 抑制剂的结合口袋模型 (图 6): 抑制剂中活性单元的羰基氧原子与 272 位谷氨酸中氨基上的氢原子、或者与螺旋 ef 中 271 位脯氨酸中亚氨基上的氢原子形成

氢键; 活性单元中丙烯酸基团上甲氧基中的氧原子与 129 位的苯丙氨酸以及 132 位的酪氨酸邻近; 起连接作用的苯环 (或具有开链结构的嗜球果伞素 B 和粘噻唑中的 C=C 双键) 与螺旋 cd 中的 143 位甘氨酸邻近, 且处于 147 位异亮氨酸、275 位苯丙氨酸和其他的一些氨基酸所包围的一个较大的空腔内。

在 bc_1 复合物的晶体结构得到解析后, 人们主要从基因的角度来研究各个 strobilurin 类化合物

的具体作用位点。通过单点基因突变^[26 36 37]发现,如果把螺旋 cd 中 143 位的甘氨酸突变为丙氨酸(即突变体 G143A),则病原菌会对这些抑制剂产生很高的抗性。此抗性的产生可能是由于甘氨酸突变为丙氨酸后抑制剂与细胞色素 b 之间的位阻增加了。突变体 G143A 已在小麦白粉病菌 *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* 单囊壳白粉病菌 *Sphaerotheca fuliginea*、瓜类霜霉病菌 *Pseudoperonospora cubensis*、葡萄霜霉病菌 *Plasmopara viticola*、香蕉叶斑病菌 *Mycosphaerella fijiensis* 和苹果黑星病菌 *Venturia inaequalis* 的抗性菌株中被检测到。说明 G143 是大多数 Q_o 抑制剂的一个结合位点^[38 39]。然而, G143A 并不是存在于抗性菌株中的唯一突变体, F129L、L275F 和 L275S 等突变体也存在于不同的菌株中,只是它们不如突变体 G143A 普遍。这些突变体使病原菌对抑制剂产生抗性可能是由于靶蛋白与抑制剂分子间的结合能增加所致^[37]。

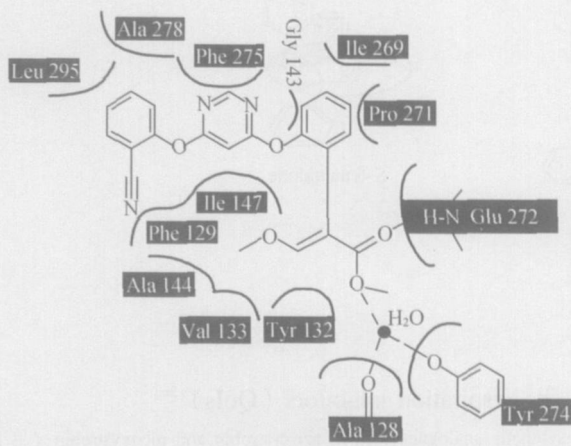


Fig 6 Binding pocket with amino acids (yeast numbering) of the cytochrome bc_1 enzyme complex (of bovine heart) based on the co-crystal structure with the Q_o inhibitor azoxystrobin^[36]

图 6 根据 Q_o 抑制剂与 bc_1 复合物相互作用的晶体结构建立的嘧菌酯与 bc_1 复合物中氨基酸的结合口袋模型^[36]

由于 strobilurin 类杀菌剂中各化合物的化学结构存在着一定的差别,它们在 bc_1 复合物中的具体结合位点也会有一些差异。如有报道认为:突变体 F129L 对粘噻唑和嘧菌酯产生抗性,却对唑菌酯敏感^[26];苯氧菌胺的作用位点为 bc_1 复合物中铁硫蛋白亚基上 161 位的组氨酸 (H161)^[40];噻唑菌酮具有不同于其他 Q_o 抑制剂的新的作用位点^[41]等。而所有这些在作用位点上的细微差异

均有待于通过对不同抑制剂与 bc_1 复合物结合后的晶体结构来进一步确定。

4 结论与展望

研究表明,作为 strobilurin 类杀菌剂的重要代表化合物,粘噻唑是通过两个氢键分别与 bc_1 复合物中的铁硫蛋白及细胞色素 b 中的氨基酸残基结合的,即结合于所谓的 Q_o 位点,从而抑制线粒体的呼吸作用。通过晶体结构和基因突变的研究,证实了其他 strobilurin 类杀菌剂均具有与粘噻唑相同的作用方式,即都是通过两个氢键而与 bc_1 复合物中铁硫蛋白及细胞色素 b 相结合。细胞色素 b 是细胞色素 bc_1 复合物的一部分,位于真菌和其他真核生物线粒体的内膜。一旦抑制剂与之结合,便会阻断细胞色素 b 和细胞色素 c_1 之间的电子传递,从而通过阻止 ATP 的产生而干扰真菌内的能量循环。同时也发现它们的具体作用位点或者说各抑制剂和细胞色素 b 中氨基酸残基的结合并不是完全相同的,这取决于各抑制剂的分子结构及其空间构象。

研究高效杀菌剂的作用靶标具有十分重要的意义,可以使更确切地掌握酶和抑制剂之间的相互作用关系,为设计新型杀菌剂先导化合物提供重要的理论基础。相信在不久的将来,随着分子生物学的进一步发展,对 strobilurin 类杀菌剂作用靶标的研究会进一步完善,关于 strobilurin 类杀菌剂的具体作用位点也会更为明确。知道了该类化合物与靶标大分子之间的结合位点以及二者相互作用的空间构象,就可以为先导化合物的进一步结构优化提供更多的思路,从而设计合成出更多安全、高效的杀菌剂。

参考文献:

- [1] Anke T, Obeninkler F, Steglich W, et al. The strobilurins—new antifungal antibiotics from the basidiomycete *strobilurus tenacellus* [J]. *J Antibiot*, 1977, 30(10): 806-810.
- [2] Anke T, Hecht H J, Schramm G, et al. Antibiotics from basidiomycetes. K. Oudemansin, an antifungal antibiotic from *Oudemansia mucida* (Schrader ex Fr) Hoehnel (Agaricales) [J]. *J Antibiot*, 1979, 32: 1112-1117.
- [3] Gerth K, Irshik H, Reichenbach H, et al. Myxothiazol, an antibiotic from *Myxococcus fukus* (myxobacterales) [J]. *J Antibiot*, 1980, 33(12): 1474-1479.
- [4] Sauter H, Steglich W, Anke T. Strobilurins: evolution of a new class of active substances [J]. *Angew Chem Int Ed*, 1999, 38(10): 1328-1349.
- [5] Bartlett D W, Clough J M, Godwin J R, et al. The strobilurin fungicides [J]. *Pest Manag Sci*, 2002, 58(7): 649-662.

- [6] LU Ai-ping (柳爱平). Strobilurin 类生物活性化合物的研究与开发新进展 [J]. Fine Chemical Intermediates (精细化工中间体), 2003, 33(2): 1-5.
- [7] LU Chang-ling (刘长令), LI Zheng-ming (李正名). Strobilurin 类杀菌剂的创制经纬 [J]. Pesticides (农药), 2003, 42(3): 43-46.
- [8] Thiérbach G, Reichenbach H. Myxothiazol a new antibiotic interfering with respiration [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1981, 19(4): 504-507.
- [9] Ahmad K, Schneider H G, Strong F M. Studies on the biological action of antinycin A [J]. Arch Biochem, 1950, 28: 281-294.
- [10] Šubík J, Behúň M, Šmígán P, et al. Mode of action of mucidin a new antifungal antibiotic produced by the basidiomycete *Oudemansiella mucida* [J]. Biochim Biophys Acta, 1974, 343: 363-370.
- [11] Thiérbach G, Reichenbach H. Myxothiazol a new inhibitor of the cytochrome b_c_1 segment of the respiratory chain [J]. Biochim Biophys Acta, 1981, 638: 282-289.
- [12] Slater E C. The Mechanism of action of the respiratory inhibitor antinycin [J]. Biochim Biophys Acta, 1973, 301: 129-154.
- [13] Von Jagow G, Engel W D. Complete inhibition of electron transfer from ubiquinol to cytochrome b by the combined action of antinycin and myxothiazol [J]. FEBS Lett, 1981, 136(1): 19-24.
- [14] Thiérbach G, Michaelis G. Mitochondrial and nuclear myxothiazol resistance in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Molecular & General Genetics: MGG, 1982, 186(4): 501-506.
- [15] Howell N, Bantel A, Huang P. Mammalian mitochondrial mutants selected for resistance to the cytochrome b inhibitors HQNO or myxothiazol [J]. Somatic Cell Genetics, 1983, 9(6): 721-743.
- [16] Meinhart SW, Crofts A R. The site and mechanism of action of myxothiazol as an inhibitor of electron transfer in *Rhodospseudomonas sphaeroides* [J]. FEBS Lett, 1982, 149(2): 217-222.
- [17] DeVries S, Albracht S P J, Berden J A, et al. The effect of pH, ubiquinone depletion and myxothiazol on the reduction kinetics of the prosthetic groups of ubiquinol cytochrome c oxidoreductase [J]. Biochim Biophys Acta, 1983, 723: 91-103.
- [18] Von Jagow G, Ljungdahl P O, Graf P, et al. An inhibitor of mitochondrial respiration which binds to cytochrome b and displaces quinone from the iron-sulfur protein of the cytochrome b_c_1 complex [J]. J Biol Chem, 1984, 259(10): 6318-6326.
- [19] Bowyer JR, Edwards C A, Ohnishi T, et al. An analogue of ubiquinone which inhibits respiration by binding to the iron-sulfur protein of the cytochrome b_c_1 segment of the mitochondrial respiratory chain [J]. J Biol Chem, 1982, 257(14): 8321-8330.
- [20] Slater E C. The Q cycle: an ubiquitous mechanism of electron transfer [J]. Trends Biochem Sci, 1983, 8: 239-242.
- [21] Xia D, Yu C A, Kim H, et al. Crystal structure of the cytochrome b_c_1 complex from bovine heart mitochondria [J]. Science, 1997, 277(5322): 60-66.
- [22] Zhang Z L, Huang L S, Shulmeister V M, et al. Electron transfer by domain movement in cytochrome b_c_1 [J]. Nature, 1998, 392(6677): 677-684.
- [23] Iwata S, Lee J W, Okada K, et al. Complete structure of the 11-subunit bovine mitochondrial cytochrome b_c_1 complex [J]. Science, 1998, 281(5373): 64-71.
- [24] Hunte C, Koepke J, Lange C, et al. Structure at 2.3 Å resolution of the cytochrome b_c_1 complex from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* co-crystallized with an antibody Fv fragment [J]. Structure, 2000, 8(6): 669-684.
- [25] Hunte C. Insights from the structure of the yeast cytochrome b_c_1 complex crystallization of membrane proteins with antibody fragments [J]. FEBS Lett, 2001, 504(3): 126-132.
- [26] Fisher N, Brown A C, Sexton G, et al. Modeling the Qo site of crop pathogens in *Saccharomyces cerevisiae* cytochrome b [J]. Eur J Biochem, 2004, 271(11): 2264-2271.
- [27] Godwin JR, Anthony V M, Cough JM, et al. CIA5504: a novel broad spectrum, systemic β -methoxy acrylate fungicide [A]. Brighton Crop Protect Conference—Pests and Diseases BCPC [C]. Famham, Surrey, UK, 1992, 1: 435-442.
- [28] Godwin JR, Bartlett D W, Cough JM, et al. Picoxystrobin a new strobilurin fungicide for use on cereals [A]. Brighton Crop Protect Conference—Pests and Diseases BCPC [C]. Famham, Surrey, UK, 2000, 2: 533-540.
- [29] Ammann E, Lorenz G, Schelberger K, et al. BAS 500 F—the new broad-spectrum strobilurin fungicide [A]. Brighton Crop Protect Conference—Pests and Diseases BCPC [C]. Famham, Surrey, UK, 2000, 2: 541-548.
- [30] Ammann E, Lorenz G, Schelberger K, et al. BAS 490 F—the new broad-spectrum fungicide with a new mode of action [A]. Brighton Crop Protect Conference—Pests and Diseases BCPC [C]. Famham, Surrey, UK, 1992, 1: 403-410.
- [31] Margot P, Huggenberger F, Amrein J, et al. CGA 279202: a new broad-spectrum strobilurin fungicide [A]. Brighton Crop Protect Conference—Pests and Diseases BCPC [C]. Famham, Surrey, UK, 1998, 2: 375-382.
- [32] Masuko N, Ninkawa M, Kataoka T, et al. Novel antifungal alkoxyiminoacranile derivatives [A]. Sixth Internat Cong Plant Pathol [C]. Montreal Canada ICPP, 1993, 3(7): 16-91.
- [33] Joshi M M, Stenberg J A. DPX-JE874 a broad-spectrum fungicide with a new mode of action [A]. Brighton Crop Protect Conference—Pests and Diseases BCPC [C]. Famham, Surrey, UK, 1996, 21-26.
- [34] Dutzmann S, Mauler-Machnik A, Ker Mohlendik F, et al. HEC5752: A novel leaf-systemic fungicide [A]. Brighton Crop Protect Conference—Pests and Diseases BCPC [C]. Famham, Surrey, UK, 2002, 365.
- [35] Mercer R T, Lacroix G, Goulet J M, et al. RPA 407213 a novel fungicide for the control of downy mildew, late blight and other diseases on a range of crops [A]. Brighton Crop Protect Conference—Pests and Diseases BCPC [C]. Famham, Surrey, UK, 1998, 2: 319-326.
- [36] Gisi U, Sierotzki H, Cook A, et al. Mechanisms influencing the evolution of resistance to QoI inhibitor fungicides [J]. Pest Manag Sci, 2002, 58(9): 859-867.
- [37] Fisher N, Munier B. Re-examination of inhibitor resistance conferred by QoI-sites mutations in cytochrome b using yeast as a model system [J]. Pest Manag Sci, 2005, 61(10): 973-978.
- [38] Grasso V, Sierotzki H, Garbaldia, et al. Characterization of the cytochrome b gene fragment of *Puccinia* species responsible for the binding site of QoI [J]. Pestic Biochem Physiol, 2006, 84(2): 72-82.
- [39] Kim Y S, Dixon E W, Vincelli P, et al. Field resistance to strobilurin (QoI) fungicides in *Pyricularia grisea* caused by mutations in the mitochondrial cytochrome b gene [J]. Phytopathology, 2003, 93(7): 891-900.
- [40] Tamura H, Mizutani A. Mode of action of strobilurin fungicides [J]. J Pestic Sci (Nihon Noyaku Gakkaishi), 1999, 24(2): 189-196.
- [41] Jordan D B, Livingston R S, Bisaha J J, et al. Mode of action of famoxadone [J]. Pestic Sci, 1999, 55(2): 105-108.

(Ed. TANG J)