

β -1,3-葡聚糖酶与植物的抗病性

蒋选利¹, 李振岐², 康振生²

(1. 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学植物保护学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 综述了 β -1,3-葡聚糖酶在植物抗病性方面的研究进展。 β -1,3-葡聚糖酶在体外抑制病原物的生长;病原物的侵染诱导植物 β -1,3-葡聚糖酶活性升高和产生新的 β -1,3-葡聚糖酶同工酶,这些高活性的 β -1,3-葡聚糖酶或特异性的同工酶提高了植物的抗病性;组成型表达 β -1,3-葡聚糖酶基因的转基因植物,可有效地抵抗病原物的侵袭。由于 β -1,3-葡聚糖酶和病原菌的多样性及它们在植物体内分布的不同,使得各种 β -1,3-葡聚糖酶在植物抗病性中的作用也不尽一样。

关键词: β -1,3-葡聚糖酶; 病原菌; 抗病性

中图分类号: S432.2⁺2; S432.2⁺3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-1389(2005)04-0135-05

β -1,3-glucanase and Plant Disease Resistance

JIANG Xuan-li¹, LI Zhen-qi² and KANG Zhen-sheng²

(1. College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100, China;

2. College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100, China.)

Abstract: The recent progress of research on β -1,3-glucanase in plant disease resistance is reviewed. Purified β -1,3-glucanase from the infected plants inhibits phytopathogen *in vitro*. It is induced that the β -1,3-glucanase activity increase and the β -1,3-glucanase isozymes change by pathogens infection. These increased β -1,3-glucanase activity or specific β -1,3-glucanase isozymes have enhanced disease resistance of plant. The constitutive expression of β -1,3-glucanase genes in the transgenic plant can be effective against pathogens infection. Different β -1,3-glucanase does play a different role in disease resistance of various plants because both various β -1,3-glucanase and phytopathogens are different distribution in infected plant.

Key words: β -1,3-glucanase; Phytopathogen; Disease resistance

β -1,3-葡聚糖酶(EC 3.2.1.39)是一类能够水解以 β -1,3-葡萄糖键连接的葡聚糖酶系,它广泛存在于真菌、细菌、藻类、软体动物和高等植物体内。在高等植物中,它与植物细胞的分裂、小孢子发生、花粉萌发、种子萌芽等多种正常的生长发育有关。然而,由于葡聚糖是真菌细胞壁的主要成分之一,故具有一定的抗病性。近年来,随着分子生物学技术的发展和广泛应用,有关 β -1,3-葡聚糖酶的抗病性研究取得了飞速发展,现就这一方面的研究进展做一综述。

1 β -1,3-葡聚糖酶在体外的抑菌作用

Canihos Y 等^[1]从表达节杆菌(*Arthrobacter* sp.)葡聚糖酶的lividans链霉菌培养液中,部分纯化了 β -1,3-葡聚糖酶,发现该酶在体外对莴苣盘霜霉(*Bremia lactucae*)的芽管具有类似于溶菌酶的作用,即能够溶解莴苣盘霜霉的芽管,并认为节杆菌 β -1,3-葡聚糖酶可以用于莴苣抗莴苣盘霜霉的基因工程中。Ji, C 等^[2]从受瓜类炭疽菌(*C.*

收稿日期:2005-03-09 修回日期:2005-04-22

基金项目:高等学校博士点基金(99007003)。

作者简介:蒋选利(1960—),男,陕西杨陵人,植物病理学博士,副教授。

Lagenarium) 侵染的黄瓜叶片中分离了一种酸性 β -1,3-葡聚糖酶, 经体外试验发现, 该酶在浓度为 250 $\mu\text{g/mL}$ 的缓冲液中, 具有明显地抑制瓜类炭疽菌孢子萌发的作用, 并且在浓度为 7 $\mu\text{g/mL}$ 的琼脂中, 具有抑制该菌菌丝生长的作用。Lawrence CB 等^[3,4]研究发现, 茄链格孢 (*A. solani*) 侵染的番茄叶片中, 诱导产生了 2 种 β -1,3-葡聚糖酶同工酶 (33、35kD), 纯化的这 2 种 β -1,3-葡聚糖酶在体外抑制茄链格孢的生长。

Gomes VM 等^[5]从豌豆种子中分离了一种 β -1,3-葡聚糖酶 (分子量为 26kD), 经体外测试发现, 该酶对菜豆炭疽菌 (*C. Lindemuthianum*) 和香蕉炭疽菌 (*C. Musea*) 具有抑制作用, 并认为如果豌豆种子管理妥当的话, 这些酶提高了其抗病性。

Egea C 等^[6]在黄瓜花叶病毒 (CMV) 侵染的具有不同抗病性的辣椒品种中发现, 抗、感病品种均诱导产生了不同的 β -1,3-葡聚糖酶, 并认为在抗病品种中产生的碱性 β -1,3-葡聚糖酶与黄瓜对 CMV 的抗病性有关。

2 β -1,3-葡聚糖酶的诱导及其活性大小与植物的抗病性

正常环境条件下, 植物体内成熟的组织细胞中, β -1,3-葡聚糖酶的含量较少, 活性很低。但是, β -1,3-葡聚糖酶可以被激发子诱导产生, 如病原菌 (病毒、类病毒、细菌、真菌) 的侵染、真菌细胞壁组分以及一些化学试剂 (如脱乙酰几丁质、水杨酸、某些盐溶液等) 的处理等均可诱导 β -1,3-葡聚糖酶的产生和积累。

Cachinero JM 等^[7]对霍尔轴霜霉 (*Plasmopara halstedii*) 侵染的向日葵研究表明, 侵染后向日葵中 β -1,3-葡聚糖酶活性明显升高, 且在向日葵根部出现了多种 β -1,3-葡聚糖酶的同工酶, 接种前后的同工酶谱不同。Niedz RP 等^[8]在蜜桔胚愈伤组织和悬浮细胞的组织培养中发现, 通过改变培养介质的碳源就能够诱导培养的组织细胞产生高水平的 β -1,3-葡聚糖酶, 诱导产生高水平 β -1,3-葡聚糖酶的活性达 6 周之长的培养组织, 显著地抑制了拟指状青霉 (*Penicillium digitatum*, 一种产后的病原真菌) 的侵染。

Paz-Lago D 等^[9]在烟草的系统诱导抗病性研究中发现, 用浓度为 250 mg/kg 和 500 mg/kg 的寄生疫霉 (*Phytophthora parasitica*) 细胞壁, 对

烟草幼苗进行处理, 然后用寄生疫霉烟草变种 (*P. parasitica* var. *Nicotianae*) 进行接种, 烟草体内的 β -1,3-葡聚糖酶活性较对照显著升高, 并认为真菌激发子的诱导具有激活植物系统抗病性的作用。

Kemp-G 等^[10]以带有 Lr29 和 Lr34 两个抗锈基因的小麦近等基因系 Palmiet (Pa) 为试材, 对小麦与叶锈菌 (*Puccinia recondite* f. sp. *Tritici*) 的互作进行了研究, 结果表明: 叶锈菌的侵染, 各品系均诱导产生了 β -1,3-葡聚糖酶, 并且通过蛋白质印迹分析发现, 受侵的寄主叶片中主要产生了 4 种 β -1,3-葡聚糖酶。Anguelova VS 等^[11,12]分别在三个不同生长时期对接种和未行接种的抗病品种 (RL6028, Thatcher/Lr35) 及感病品种 (Thatcher) 小麦叶片中的胞间蛋白的种类和 β -1,3-葡聚糖酶的活性进行了检测。结果表明, 由于叶锈菌的侵染, 诱导寄主产生较高水平的 β -1,3-葡聚糖酶表达, 其抗病性与高水平组成型表达的 β -1,3-葡聚糖酶有关, 并且与抗病性有关的四种胞间蛋白 (分子量分别为 35、33、31 和 26) 与 β -1,3-葡聚糖酶有血清学相关性。Caruso-C 等^[13]对黄色镰孢 (*Fusarium culmorum*) 侵染的小麦幼苗研究发现, 黄色镰孢的侵染诱导寄主产生了 2 种碱性 β -1,3-葡聚糖酶 (PR2) 等数种病程相关蛋白, 这些具有不同作用的数种病程相关蛋白的协同诱导, 是激活植物防卫机制、限制病原菌定殖与扩展的组成部分。

Guanggan Hu 等^[14]利用细胞化学方法, 以具有不同抗锈性的小麦品种为试验材料, 对它们在叶锈菌 (*Puccinia recondite* f. sp. *Tritici*) 侵染后的 β -1,3-葡聚糖酶进行了细胞化学研究, 结果表明在亲和性互作中, β -1,3-葡聚糖酶主要分布于寄主细胞质膜和细胞壁上, 而在非亲和性互作中, 除了在寄主细胞质膜和细胞壁外, 在叶肉细胞的细胞间隙中也表现出很高的 β -1,3-葡聚糖酶活性。并且在病原菌侵染后, 抗病品种中该酶的活性显著高于感病品种。Bera S 等^[15]对水稻纹枯病的研究发现, 当给水稻喷施一种系统性杀菌剂 iprobenfos 后, 水稻体内的 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶活性均升高, 且病害严重度明显减轻; 而当在喷施杀菌剂的同时, 用 PR 蛋白抑制剂 (细胞分裂素 + 萘乙酸) 处理水稻叶鞘时, 则抑制了水稻叶片中的 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶的活性, 病害的严重度增加, 故认为 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶

在水稻抗纹枯病方面具有作用。

Grover-A^[16]在鹰嘴豆(*Cicer arietinum*)种子萌发和叶片衰老期间,对鹰嘴豆的 β -1,3-葡聚糖酶表达的发育调控进行了研究,结果表明,诱导产生的 β -1,3-葡聚糖酶在种子萌发、叶片衰老期间,在植物的防卫反应方面可能具有一定的作用。

Narusaka Y 等^[17,18]用苯并噻二唑硫代羧酸甲酯(acibenzolar-s-methyl)对黄瓜幼苗进行处理,发现处理后46 h就系统性传递黄瓜抗疮痂病的抗病信号,酸性 β -1,3-葡聚糖酶等病程相关蛋白的基因得到了诱导表达,处理后24 h就对瓜枝孢(*Cladosporium cucumerinum*)表现出抗病性,并且由于诱导表达的 β -1,3-葡聚糖酶基因与诱导表达的几丁质酶及过氧化物酶的基因有所不同,即在黄瓜上部未行处理的叶片中没有诱导表达,仅在受处理的第一片叶上诱导表达,故认为黄瓜 β -1,3-葡聚糖酶抗疮痂病的这种诱导抗病性,可能不具有系统性。

Kim JD 等^[19]对番茄与油菜黄单胞菌疮斑致病变种(*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*)的互作进行了研究, β -1,3-葡聚糖酶活性检测表明,在未接种的健康叶片中 β -1,3-葡聚糖酶的活性很低,病原菌的侵染刺激了 β -1,3-葡聚糖酶的合成与积累,非亲合性互作较亲和性互作的叶片中该酶的活性要高得多;非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分析表明,仅各有1种酸性 β -1,3-葡聚糖酶同工酶Gal和碱性 β -1,3-葡聚糖酶同工酶Gb1分别在抗病性和症状表达方面具有重要作用;等电聚焦电泳分析表明,在非亲合性互作至少有2种 β -1,3-葡聚糖酶同工酶(pI6.4和pI8.6)。

Ramachandra Kini K 等^[20]对具有不同抗性的御谷(pearl millet)品种研究发现,其种子中所含的 β -1,3-葡聚糖酶的活性水平与其对霜霉病的抗病性有关,即活性较高的品种表现高抗霜霉病,活性较低的品种表现高感霜霉病,并建议 β -1,3-葡聚糖酶的活性可以作为筛选御谷品种抗霜霉病的一种生化标记。进一步研究发现,用霜霉病的病原菌——禾生指梗霜霉(*Sclerospora graminicola*)接种的御谷幼苗,导致抗病品种中的 β -1,3-葡聚糖酶活性升高,并且中胚轴和茎杆中的酶活性高于其根部。等电聚焦电泳分析表明,在御谷中有4种碱性(pI9.6、9.0、8.9和8.2)、两种酸性(pI4.9和6.2)的 β -1,3-葡聚糖酶同工酶,其中pI9.6同工酶是御谷幼苗中的主要同工酶,它

很可能与御谷的发育有关,而pI6.2和pI8.2同工酶与抗病性有关,pI4.9同工酶与御谷霜霉病的发病有关。

3 转移 β -1,3-葡聚糖酶基因植物的抗病性

Libantova J 等^[21]在CaMV 35S启动子的控制下,将白花丹叶烟草的 β -1,3-葡聚糖酶基因分别转入烟草和马铃薯中并得到了组成性表达,病原菌接种试验表明,这些转基因植物抗立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)和尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)。Nakamura Y 等^[22]将大豆 β -1,3-葡聚糖酶的cDNA,在CaMV35S RNA启动子的帮助下转入到猕猴桃中,这种引进的外源基因在转化体幼叶中得到了表达。对猕猴桃幼叶中的蛋白质检测发现,在转化体中该酶的活性增加,有的转化体较对照(非转基因的猕猴桃)高6倍之多。接种灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)发现,转化体较对照发病轻。

4 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶的抗病协同性

β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶的抗病性具有协同作用。Kang MK 等^[23]研究发现,在烟草花叶病毒(TMV)侵染及水杨酸处理的烟草中,诱导几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶等多种病程相关蛋白的基因表达。Mauch F 等^[24]研究发现, β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶在抑制真菌生长方面具有协同性,他们从豌豆荚果中分离纯化了 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶,经体外抑菌实验表明,在用这两种酶共同处理的18种真菌中,有15种真菌的生长受到抑制,而当用这两种酶分别单独处理时,仅能抑制其中的一种真菌生长。Sela-Buurlage MB 等^[25]的体外抑菌试验的研究结果表明:单独使用0.1 μ g的Ia型几丁质酶对立枯丝核菌(*R. Solani*)菌丝几乎没有影响,而0.1 μ g的Ia型几丁质酶和0.1 μ g的I型 β -1,3-葡聚糖酶则可完全水解萌发2 h的立枯丝核菌菌丝,并能完全抑制已经萌发生长3 d的立枯丝核菌菌丝的生长。Ji, C. 等^[2]从受瓜类炭疽菌(*C. lagenarium*)侵染的黄瓜叶片中分离了一种酸性 β -1,3-葡聚糖酶和三种几丁质酶(几丁质酶A、B、C),经体外试验发现,当用 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶C共同作用于瓜类炭疽菌时,对该菌的抑制作用大大超过了它们单独作用时的抑制作用。

Jongedijk E^[26]等对同时导入烟草I类几丁质酶和I类 β -1,3-葡聚糖酶基因的转基因番茄研究发现,其对真菌病害的抗病性增强,而表达这两个基因中的一个基因的转基因番茄则不能有效的抵抗病原真菌的侵袭。用尖孢镰孢菌 *lycopersici* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*) 专化型接种,在番茄的抗病品系上其病害严重度降低,当野生型番茄(非转基因型)已经死掉时,有两个转基因品系从开始的受侵状态已经基本上恢复正常。整个实验结果与I类几丁质酶和I类 β -1,3-葡聚糖酶协同抑制真菌生长的体外观察结果相一致,并且首次用实验方法支持了这种协同作用能够帮助植物增强其抗真菌性的假说。Van-den Elzen PJM等^[27]运用农杆菌介导方法将I型几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶的基因分别转到同一品种的西红柿中,虽然转基因植株能够连续表达相应的几丁质酶或 β -1,3-葡聚糖酶,但当用尖孢镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)接种发现,这两种转基因植株的抗病性均没有比对照增加。进一步将I型和II型几丁质酶基因以及两个 β -1,3-葡聚糖酶基因组装到同一载体并一起同时转入西红柿中,随后经尖孢镰孢菌接种的抗病性鉴定表明,有4个转基因品系的西红柿,明显增强了其对尖孢镰孢菌的抗病性。Yashpal等^[28]构建了两种分别带有CaMV35S启动子和两种抗真菌基因(碱性几丁质酶和碱性葡聚糖酶基因、酸性几丁质酶和酸性葡聚糖酶基因)的二元复合载体,利用这些复合载体所得到的转基因植物,较对照(仅转移其中的一种酶的基因)表现出更强的抗病性。

胡萍等^[29]将烟草几丁质酶和烟草 β -1,3-葡聚糖酶的结构基因分别克隆到原核表达系统中进行表达,并对两种基因的表达产物的粗提物分别进行体外抗菌活性检测,发现这两种酶在体外均具有抗真菌活性,并且这两种酶组合起来,其抗真菌活性显著高于单组分的抗真菌活性。蓝海燕等^[30]构建了组成型表达的双价植物表达载体pBLGC,利用农杆菌介导法,将烟草碱性 β -1,3-葡聚糖酶及菜豆几丁质酶基因转入烟草中,并得到了转基因植株。经活体接菌的抗病性鉴定实验发现,转基因植株与对照相比,对赤星病的抗病性明显增强。由于 β -1,3-葡聚糖酶种类较多,它们在植物体内的分布具有特定的位置,有些分布于细胞间隙,而有些则分布于液泡中。病原真菌的种类也非常多,有活体营养的病原真菌,也有死体营养的病原真

菌;有仅在细胞间隙生长的病原真菌,也有可以侵入到细胞里面的病原真菌。因此,某种 β -1,3-葡聚糖酶在对各种病原菌的抗病性中所起的作用必然有差异,同一病原真菌受各种 β -1,3-葡聚糖酶的抑制和水解也不同,这些不同不仅在于酶活性的大小,而且也存在一定的位置效应。细胞间隙的 β -1,3-葡聚糖酶可以抑制和水解刚入侵植物的病原真菌,而液泡中的 β -1,3-葡聚糖酶则随着细胞的崩解而释放,进一步起抑制和水解病原真菌的作用。所以,高活性的 β -1,3-葡聚糖酶有时不一定就表现出高的抗病性。

参考文献:

- [1] Cachinero JM, Cabello F, Jorin J, *et al.* Induction of different chitinase and beta-1,3-glucanase isoenzymes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings in response to infection by *Plasmopara halstedii*[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 1996, 102(4):401~405.
- [2] Ji C, Kuc J. Antifungal activity of cucumber beta-1,3-glucanase and chitinase[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1996,49(4):257~265.
- [3] Lawrence CB, Joosten MHA, Tuzun S. Differential induction of pathogenesis-related proteins in tomato by *Alternaria solani* and the association of a basic chitinase isozyme with resistance[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*,1996, 48(6):361~377.
- [4] Lawrence CB, Singh NP, Qiu J, *et al.* Constitutive hydrolytic enzymes are associated with polygenic resistance of tomato to *Alternaria solani* and may function as an elicitor release mechanism[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2000,57(5):211~220.
- [5] Gomes VM, Oliveira AEA, Xavier-Filho J. A chitinase and a beta-1,3-glucanase isolated from the seeds of cowpea (*Vigna unguiculata* L Walp) inhibit the growth of fungi and insect pests of the seed[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*,1996,72(1): 86~90.
- [6] Egea C, Alcazar MD, Candela ME. beta-1,3-Glucanase and chitinase as pathogenesis-related proteins in the defense reaction of two *Capsicum annuum* cultivars infected with cucumber mosaic virus [J]. *Biologia Plantarum*,1996, 38(3):437~443.
- [7] Cachinero JM, Cabello F, Jorin J, *et al.* Induction of different chitinase and beta-1,3-glucanase isoenzymes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings in response to infection by *Plasmopara halstedii*[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 1996, 102(4):401~405.
- [8] Niedz RP, Doostdar H, McCollum TG, *et al.* Plant defensive proteins and disease resistance in citrus [J]. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*,

- 1995,107:79~82.
- [9] Paz-Lago D, Gutierrez A, Luzardo L. Biological relevance of the enzyme beta-1,3-glucanase on the activation of systemic resistance of tobacco induced by the fungal cell wall[J]. *Cultivos Tropicales*, 1998,19(3):25~27.
- [10] Kemp G, Botha AM, Klopers FJ, *et al.* Disease development and beta-1,3-glucanase expression following leaf rust infection in resistant and susceptible near-isogenic wheat seedlings[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1999,55(1):45~52.
- [11] Anguelova VS, Westhuizen AJ. Intercellular proteins and beta-1,3-glucanase activity associated with leaf rust resistance in wheat[J]. *Physiologia Plantarum*, 1999, 106(4):393~401.
- [12] Anguelova-Merhar VS, Van-der-Westhuizen AJ, Pretorius ZA. Beta-1,3-glucanase and chitinase activities and the resistance response of wheat to leaf rust[J]. *Phytopath-Z.*, 2001,149(7/8):381~384.
- [13] Caruso C, Chilosi G, Caporale C, *et al.* Induction of pathogenesis-related proteins in germinating wheat seeds infected with *Fusarium culmorum* [J]. *Plant Science Limerick*, 1999,140(1):87~97.
- [14] Ganggan Hu, Rijkenberg HJ. Subcellular localization of β -1,3-glucanase in *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*-infected wheat leaves[J]. *Planta*, 1998,204:324~334.
- [15] Bera S, Purkayastha RP. Multicomponent coordinated defence response of rice to *Rhizoctonia solani* causing sheath blight[J]. *Current Science*, 1999,76(10):1376~1384.
- [16] Grover A. Induction of beta-1,3-glucanase during germination and leaf senescence in chickpea[J]. *Plant Physiology and Biochemistry New Delhi*, 1997,24(2):75~78.
- [17] Narusaka Y, Narusaka M, Horio T, *et al.* Comparison of local and systemic induction of acquired disease resistance in cucumber plants treated with benzothiadiazoles or salicylic acid[J]. *Plant-cell-physiol.*, 1999,40(4):388~395.
- [18] Narusaka Y, Narusaka M, Horio T, *et al.* Induction of disease resistance in cucurbit by acibenzolar-S-methyl and expression of resistance-related genes[J]. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 1999,65(2):116~122.
- [19] Kim JD, Hwang BK. Activities and isoforms of beta-1,3-glucanases and chitinases in tomato leaves infected by compatible and incompatible strains of *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* [J]. *Korean Journal of Plant Pathology*, 1996,12(1):1~10.
- [20] Ramachandra Kini K, Vasanthi NS, Shekar Shetty H. Induction of β -1,3-glucanase in seedlings of pearl millet in response to infection by *Sclerospora graminicola* [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2000,106:267~274.
- [21] Libantova J, Bauer M, Mlynarova L, *et al.* Transgenic tobacco and potato plants expressing basic vacuolar beta-1,3-glucanase from *Nicotiana plumbaginifolia* [J]. *Biologia Bratislava*, 1998,53(6):739~748.
- [22] Nakamura Y, Sawada H, Kobayashi S, *et al.* Expression of soybean beta-1,3-glucanase cDNA and effect on disease tolerance in kiwifruit plants[J]. *Plant Cell Reports*, 1999, 18(7/8):527~532.
- [23] Kang MK, Park KS, Choi D. Coordinated expression of defence-related genes by TMV infection or salicylic acid treatment in tobacco[J]. *Molecules and Cells*, 1998, 8(4):388~392.
- [24] Mauch F, Mauch-Mazi B, Boller T. Antifungal hydrolases in pea tissue: Inhibition of fungal growth by combinations of chitinase and beta-1,3-glucanases [J]. *Plant Physiol.*, 1988, 88:936~942.
- [25] Sela Buurlage MB, Ponstein AS, Brea Vlogeli U, *et al.* Only specific tobacco (*Nicotiana tabacum*) chitinases and β -1,3-glucanases exhibit antifungal activity [J]. *Plant Physiology*, 1993,101:857~863.
- [26] Jongedijk E, Tigelaar H, Roekel SC, *et al.* Synergistic activity of chitinases and glucanases enhances fungal resistance in transgenic tomato plants [J]. *Euphytica*, 1995, 85(1-3):173~180.
- [27] Van den Elzen PJM, Jongedijk E, Mechers LS, *et al.* Virus and fungal resistance: from laboratory to field[J]. *Phil Trans R Soc Lond B*, 1993,342:271~278.
- [28] Yashpal, Sen A, Venkateshwari J, *et al.* Pyramiding of chitinase and glucanase for fungal resistance [J]. *Indian Journal of Experiment Biology*, 1999,37(6):579~583.
- [29] 胡萍,安成才,李毅,等. 原核表达的天花粉蛋白和另外两种蛋白具有体外抗真菌活性[J]. *微生物学报*, 1999, 39(3):234~240.
- [30] 蓝海燕,田颖川. 表达 β -1,3-葡聚糖酶及几丁质酶基因的转基因烟草及其抗真菌病的研究 [J]. *遗传学报*, 2000,27(1):70~77.