

稻瘟菌诱导的水稻几丁酶、 β -1,3-葡聚糖酶活性及分布

杜良成* 王 钧

(中国科学院上海植物生理研究所, 上海 200032)

S511.101

提 要

稻瘟菌(*Pyricularia oryzae* C.) 孢子感染或菌丝培养液处理后, 水稻的几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶活力被分别诱导提高 6~9 倍和 3~5 倍。用亲和层析初步纯化的几丁酶在体外能降解稻瘟菌细胞壁和抑制它的孢子萌发。这两个酶在细胞间隙和细胞内都有分布。

关键词: 几丁酶, β -1,3-葡聚糖酶, 水稻, 稻瘟菌

高等植物中普遍存在着几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶, 但至今还未发现有几丁质存在, 而 β -1, 3-葡聚糖也仅在植物体部分细胞中少量存在 (Boller 1985)。相反, 很多植物的病原真菌细胞壁的主要成分却是几丁质和 β -1, 3-葡聚糖 (Wessels 和 Sietsma 1981)。病原真菌及其细胞壁成分能诱导这两个酶在植物体内快速累积 (Boller 1985)。而在体外, 病原和非病原真菌生长受这两个酶的抑制 (Schlumberg 等 1986, Mauch 等 1988b, Molano 等 1979, Roberts 和 Selitrennikoff 1986, Leah 等 1987)。因此, 这两个酶被看作是植物抗真菌病的潜在抗性物质。目前, 水稻中有关几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶的研究还未见报道, 为了解这两个酶在水稻抗稻瘟菌中的可能作用, 我们作了一些初步的工作。

材 料 与 方 法

材料 水稻品种 (*Oryza sativa*) 由中国水稻所提供, 在人工气候室 (25°C, 12 h 光照) 中水培至三叶期。稻瘟菌 (*Pyricularia oryzae* C.) 菌种为

上海市农科院陈全庆惠赠。

孢子感染和菌丝培养液处理 孢子采用喷雾法接种。液体培养的菌丝经 3 号砂蕊漏斗抽滤, 镜检无孢子, 此滤液即为菌丝培养液。将培养液直接喷到水稻苗上。孢子或菌丝培养液处理后的稻苗置于 28°C、90% 以上相对湿度、遮光的接种箱中过夜, 第 2 天将材料移回人工气候室中继续培养。对照材料分别用蒸馏水或液体培养基喷后, 按上法同样处理。液体培养基配方 (ppm): $\text{NH}_4\text{-NO}_3$ 114, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 50, K_2SO_4 89, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 147, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 41, EDTA- Fe^{3+} 12, H_3BO_3 3, $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.08, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.2, H_2MoO_4 0.04 和 2% 葡萄糖。

酶的提取 剪碎的叶片在液氮中粉碎后, 于 0.1 mol/L 的柠檬酸钠缓冲液 (pH 5) 中提取 2 h (约 1 ml/g FW), 15 000×g 离心 15 min (4°C), 所得上清液即为粗酶提取液。

几丁酶的测定 按照 Boller 等 (1983) 的方法。一个酶活力单位为每秒钟从胶状几丁质中释放出的乙酰葡糖胺的 nmol 数。

几丁酶的初步纯化 三叶期水稻苗经稻瘟菌 ZG₁ 生理小种的菌丝培养液处理后, 取约 150 g 叶片, 剪碎, 液氮中粉碎, 加入约 150 ml 0.1 mol/L 的柠檬酸钠缓冲液 (pH 5) 提取 2 h, 15 000×g 离心 15 min。沉淀重复提取 1 次, 合并上清液, 此为粗酶提取液。加入 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 至 20% 饱和度 (0°C), 磁力搅拌 1 h, 15 000×g 离心 15 min, 去沉淀。上清液中继续加入 $(\text{NO}_3)_2\text{SO}_4$ 至 60% 饱和度 (0°C), 同样搅拌、离心, 弃去上清液。沉淀重溶于 30 ml 10 mmol/L 的 NaAc (pH 5) 缓冲液中, 加入 NaHCO_3 至

1990-04-04 收到, 1991-08-09 接受。

国家高科技“863”项目基金资助课题。

* 现工作单位: 中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204。

终浓度为 20 mmol/L,再用 0.1 mol/L 的 NaOH 调 pH 至 8.4,此液用于再生几丁质柱的亲层析。再生几丁质的制备参照 Molano 等 (1979) 的方法。层析过程中缓冲液和 pH 梯度的选择参照 Boller 等 (1983) 的方法。

β -1, 3-葡聚糖酶测定 根据从还原的昆布糖中释放出的葡萄糖的量来决定。昆布糖的还原用硼氢化钠法 (Mauch 等 1984)。葡萄糖的测定按 Somogyi (1952) 的方法。一个酶活力单位为 30 min 内从还原昆布糖中释放出的葡萄糖的毫克量。

硝酸还原酶测定 参照林振武等 (1985) 体外法。

蛋白质测定 按 Bradford (1976) 方法。

真空渗透提取胞间物质 按 Boller 和 Metraux (1988) 的方法。

原生质体制备 参照 Boller 和 Metraux (1988) 的方法。解壁酶液包括:甘露醇 0.6 mol/L, NaH_2PO_4 10 mg/ml, MES 25 mmol/L, 2% 纤维素酶 (Onozuka R-10), 0.5% 离析酶 (Macerzyme R-10), 和 2% 半纤维素酶 (Sigma), 调 pH 至 5.6, 于 28°C、80 r/min 振荡 4 h。用 0.1 mol/L 的柠檬酸钠提取缓冲液 (pH 5) 重悬浮制得原生质体。

SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳 参照 Laemmli (1970) 的方法。分离胶为 15%, 浓缩胶为 5%。各样品在电泳前均经透析去盐。分子量标准为磷酸化酶 b, 牛血清白蛋白, 肌动蛋白, 碳酸酐酶, 和 TMV 外壳蛋白。

几丁酶对稻瘟菌细胞壁的降解 ZG₁ 小种在液体培养基中 200 r/min 振荡培养 3 d 后 (28°C), 菌丝通过 3 号砂蕊漏斗抽滤, 反复用无菌水冲洗菌丝, 仔细匀浆。匀浆液于 2000 × g 离心 5 min, 沉淀再用无菌水洗, 离心, 重复 4 次。所得沉淀置于氯仿和甲醇 (1:1, v/v) 混和液中研磨, 再于 4000 × g 离心 5 min, 沉淀置于丙酮中, 37°C 下干燥后即菌丝细胞壁的分离子。测定时, 反应混合液为 0.2 ml 细胞壁分离子 (10 mg/ml) + 0.2 ml 0.1 mol/L 的 NaAc (pH 5.8) + 0.2 ml 酶液, 反应与显色过程与几丁酶活力测定时相同。

几丁酶对稻瘟菌孢子萌发的抑制 大麦粒上洗下的孢子经 4 层纱布过滤, 100 × g 离心 5 min, 弃去离心管的上半部, 下半部用 40 μm 尼龙网过

滤, 滤液于 200 × g 离心 10 min, 收集底部孢子, 重悬于液体培养基中, 加入氯苄青霉素 (终浓度为 100 μg/ml) 抑制细菌生长, 最后制得每个视野 (10 × 10 倍) 有约 100 个孢子的悬浮液。将 0.2 ml 孢子液与 0.2 ml 酶液 (0.75 U/ml) 混合后, 在 28°C 保温 20 h, 对照用 0.2 ml 0.1 mol/L 的 NaAc (pH 5.8) 缓冲液代替酶液。

结 果

水稻中几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶的基础活力

表 1 中的 11 个水稻品种对稻瘟菌有不同的抗感反应, Tetep 对多种稻瘟菌生理小种都表现强烈抗性, 新叶冠等与之类似, 黑谷能为国内各稻瘟菌小种感染, 是极敏感的品种, 蒙古稻, 爱知旭, 草笛等与之相近, 其它品种处于中间。从表 1 可知, 所有品种都有低的几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶活力, 在抗感能力不同的品种间酶活力没有明显区别。

稻瘟菌对水稻几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶的诱导

用国内分布最广、出现频率最高的稻瘟菌生理小种 ZG₁ 的孢子接种 Tetep、东农 363、关东 51 和黑谷, 其中只有黑谷能感染。在三叶期接种 7 天后出现明显病斑时, 检测各品种叶片中的酶活力 (表 2), 几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶活力分别诱导提高达基础活力的 6~9 和 3~5 倍, 几丁酶的提高主要是由于具有强降解几丁质活性的内切几丁酶活力的提高。单用水处理并不影响两酶的活力。

用 ZG₁ 小种菌丝培养液作相同处理后, 几丁酶活提高 7~10 倍, 主要是内切酶的提高; β -1, 3-葡聚糖酶提高 3~6 倍 (表 3), 单用无菌培养液处理并不影响两酶活力。可见, 菌丝培养液中含有病原菌

表 1 水稻幼苗中几丁酶和 β -1,3-葡聚糖酶的基础活力Table 1 Basic activities of chitinase and β -1,3-glucanase in rice seedlings

Cultivars	Chitinase (U/mg protein)			β -1,3-glucanase (U/mg protein)
	Exo-	Endo-	Total-	
Tetep	0.7	0.6	1.3	3.9
Xinyeguan	1.2	1.4	2.6	6.9
Dongnong 363	1.0	0.4	1.4	3.6
Guandong 51	0.8	0.4	1.2	3.0
Fujin	1.0	0.5	1.5	3.9
Shishoubaimao	0.9	0.3	1.2	3.6
H-jiang 18	0.9	0.2	1.1	3.0
Caodi	0.9	0.1	1.0	2.7
Aizhixu	1.4	0.4	1.8	2.7
Menggudao	0.7	0.3	1.0	2.7
Heigu	1.3	0.3	1.6	3.4

表 2 稻瘟菌 ZG₁ 孢子接种后水稻幼苗中几丁酶和 β -1,3-葡聚糖酶的活力Table 2 The activities of chitinase and β -1,3-glucanase in rice seedlings inoculated with spores of *P. oryzae* (ZG₁)

Cultivars	Chitinase (U/mg protein)			β -1,3-glucanase (U/mg protein)
	Exo-	Endo-	Total-	
Tetep	1.5	6.4	7.9	10.5
Dongnong 363	2.7	9.6	12.3	16.8
Guandong 51	3.1	6.4	9.5	15.0
Heigu	2.2	7.1	9.3	19.8

表 3 稻瘟菌 ZG₁ 菌丝培养液处理后水稻幼苗中几丁酶和 β -1,3-葡聚糖酶的活力Table 3 The activities of chitinase and β -1,3-glucanase in rice seedlings treated with the filtrate of cultured mycelia of *P. oryzae* (ZG₁)

Cultivars	Chitinase (U/mg protein)			β -1,3-glucanase (U/mg protein)
	Exo-	Endo-	Total-	
Tetep	1.4	9.2	10.6	11.7
Dongnong 363	2.9	9.1	12.0	23.1
Guandong 51	2.4	5.9	8.3	15.3
Heigu	2.1	10.8	12.9	23.1

诱导这两个酶的物质。从表 2, 3 看, 感病品种(黑谷)的酶活(特别是内切几丁酶)比抗性品种高, 可能是由于病原菌能在黑谷中生长, 起到了持续诱导的作用。孢子感染或菌丝培养液处理后, 抗病品种和感病品

种中的几丁酶和 β -1,3-葡聚糖酶都被诱导提高。

几丁酶的初步纯化及其对稻瘟菌细胞壁的降解和孢子萌发的抑制

用再生几丁质的亲和柱把经 ZG₁ 菌

表 4 稻瘟菌 ZG₁ 菌丝培养液诱导的黑谷幼苗几丁酶的部分纯化Table 4 Partial purification of chitinase induced by treatment with mycelial cultured filtrate of *P. oryzae* (ZG₁) in Heigu seedlings

Fraction	Total protein (mg)	Total chitinase (U)	Specific activities (U/mg Prot)	Yield (%)
Clude extract	61	602	9.9	100
Precipitate in ammonium sulfate (20%~60%)	24	305	12.7	51
Chitin column elute	0.8	88.4	110.5	15

丝培养液诱导 7 天后的黑谷几丁酶纯化了 11 倍, 得率为 15% (表 4)。几丁酶活力的洗脱峰与蛋白峰成单峰重迭 (图 1)。在 SDS-PAGE 板上主要有 37.1 和 28.0 kD 两种蛋白, 可能是同工酶 (图 2)。

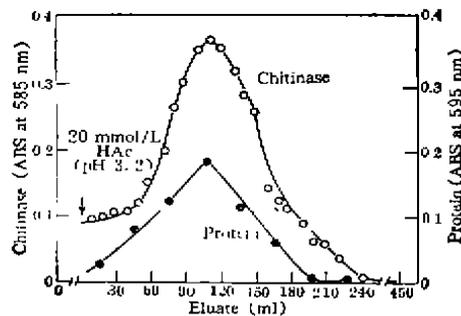


图 1 水稻几丁酶的亲和柱层析

Fig. 1 Chromatography of rice chitinase on a chitin column

初步纯化的几丁酶能从 ZG₁ 小种细胞壁游离出乙酰葡萄糖胺 (构成几丁质的基本单位) (图 3), 也能抑制孢子萌发时芽管的伸展 (图 4)。

几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶活力的分布

用真空渗透法抽提水稻叶细胞间隙的几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶, 以胞内酶硝酸还原酶为标记酶。在实验条件下, 胞间只有 4% 的硝酸还原酶活力, 而提取后所剩碎片中的酶活力占总活力的 90%, 可见, 只有少量胞内物质外溢。用这种提取法证明细胞间隙液中含有高浓度的几丁酶

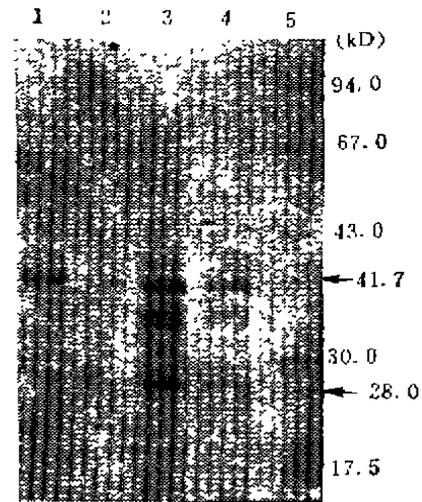


图 2 黑谷几丁酶的 SDS 凝胶电泳

Fig. 2 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of crude proteins and partially purified chitinase of rice cultivar Heigu

1. Proteins precipitated by ammonium sulfate (20%~60%).
2. About 8 μ g partially purified chitinase.
3. 40 μ g crude protein.
4. 20 μ g crude protein.
5. 10 μ g of a marker protein mixture.

和 β -1, 3-葡聚糖酶活力 (表 5, 6)。

从分离的原生质体也证明其中两酶的活力只占总活力的一部分, 反证这两个酶的另一部分活力在细胞间隙 (表 7)。三叶期以上的水稻叶片较难游离原生质体, 所以只测了两个酶的基础活力。从表 5, 6, 7 看, 感病品种和抗病品种的细胞间隙和细胞内都有几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶存在。

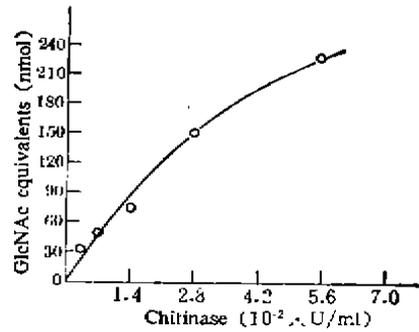


图 3 初步纯化的黑谷几丁酶对稻瘟菌 ZG₁ 小种细胞壁的降解

Fig. 3 Lysis of cell walls of *P. oryzae* (ZG₁) by partial purified chitinase of rice cultivar Heigu

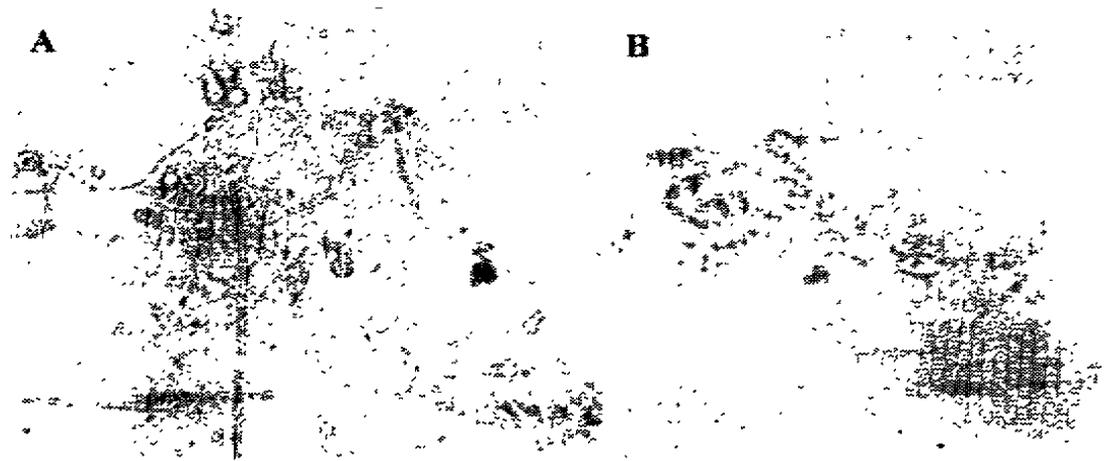


图 4 几丁酶对稻瘟菌 ZG₁ 孢子萌发的抑制

Fig. 4. Light micrographs (400 \times) of spores of *P. oryzae* (ZG₁) after incubation 20 h with (A) NaAc buffer (0.1 mol/L) and (B) partial purified chitinase (0.75 U/ml)

表 6 稻瘟菌 ZG₁ 菌丝培养液处理 3 天后不同水稻品种的幼苗中的酶活力

Table 6 Enzyme activities (U/mg protein) in seedlings of rice cultivars after 3 days treatment with mycelial cultured filtrate of *P. oryzae* (ZG₁)

Extracts	Heigu		Tetep	
	Chitinase	Glucanase	Chitinase	Glucanase
(1)	7.1	6.3	4.1	3.2
(2)	51.9	75.4	36.0	81.0
(3)	5.1	4.6	3.8	2.9
(2):(1)	7.3	12.0	8.8	25.3
(2):(3)	10.2	16.4	9.5	27.9

(1): Intact leaves; (2): Intercellular fluid; (3): Leaf residue after intercellular fluid extraction.

表 5 稻瘟菌 ZG₁ 菌丝培养液处理 3 天后黑谷幼苗中的酶活力

Table 5 Enzyme activities (U) in Heigu seedlings after 3 days treatment with filtrate from cultured mycelia of *P. oryzae* (ZG₁)

Extra-cts	Total protein (mg)	Total activities (U)	Total activities (U)	
			Chitinase(%)	Glucanase(%)
(1)	4.8	100	34.0 (100)	30.2 (100)
(2)	0.1	2.1	3.6 (10.6)	5.2 (17.2)
(3)	3.9	81.3	20.0 (58.8)	17.8 (58.9)

(1) Intact leaves. (2) Intercellular fluid. (3) Leaf residue after intercellular fluid extraction.

表 7 不同水稻品种幼苗的完整叶片和原生质体中的酶活力

Table 7 Enzyme activities (U/mg protein) in intact leaves and protoplasts from seedlings of rice cultivars

Extracts	Heigu		Tetep	
	Chitinase	Glucanase	Chitinase	Glucanase
(1)	0.4	0.4	0.5	1.2
(2)	0.6	2.5	1.6	2.4
(1):(2)	0.7	0.2	0.3	0.5

(1) Protoplasts; (2) Intact leaves.

讨 论

植物几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶具有直接攻击病原真菌的潜在可能性。在许多植物中已观察到这两个酶被真菌及其细胞壁成分诱导累积并在体外抑制真菌的生长(Schlumbaum等1988, Mauch等1988a)。稻瘟菌孢子感染或菌丝培养液处理后,抗病水稻和感病水稻中的几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶都被诱导提高,诱导的几丁酶在体外可以降解稻瘟菌细胞壁和抑制其孢子萌发。每克新鲜水稻幼叶平均含0.72 mg蛋白质。黑谷在ZG₁孢子诱导后内切几丁酶活力可达7.1单位/mg蛋白(表2),而体外只要0.75单位/ml几丁酶就能明显抑制孢子萌发(图4)。这样,体外抑制孢子萌发所需几丁酶浓度实际上远远低于病菌感染黑谷时的酶浓度。然而,黑谷仍被病原菌严重危害。这表明,在黑谷体内这个酶不足以抑制稻瘟菌的生长。

一般认为植物的小种特异性抗性和防卫反应的诱导有相关性。感病品种虽有防卫反应,但诱导的速度和强度比抗性品种差,来不及或不足以抑制病菌生长。炭疽病菌(*Colletotrichum lindemuthianum*)感染菜豆时,抗病品种几丁酶诱导速度快于感病品种(Hedrick等1988)。但枯萎病菌(*Fusarium solani* f. sp. *pini*)感染豌豆荚时,其几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶诱导的曲线表明,感病品种和抗病品种是相似的(Mauch等1984)。稻瘟菌处理水稻后,抗病品种中活性氧释放和植保素累积都早于感病品种(Sekizawa等1990)。我们测定了稻瘟菌孢子感染后水稻几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶诱导的动态,虽然多次试验重现性较差,但除了它们的诱导速度慢于苯丙氨酸氨基裂解酶外,没有发现在诱导

速度及强度上感病和抗病品种有明显区别(数据未列出),与豌豆荚感染枯萎病菌的结果相近(Mauch等1984)。

稻瘟菌是在细胞质内生长的。真菌菌丝尖部的生长区最易受到几丁酶、 β -1, 3-葡聚糖酶的降解(Boller 1985)。已报道的植物几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶都分布于液胞内或细胞间隙,尚无分布于细胞质的报道(Shinshi等1990)。我们的结果表明,水稻中这两个酶分布于细胞间隙和细胞内,尽管在细胞间隙它们的比活力较高,但主要分布在细胞内(表5)。根据前人结果和感病水稻细胞内含高活性几丁酶但不抗稻瘟菌的结果推测,细胞质中很难维持较高浓度的酶浓度。

水稻抗病的最初的可观察的变化是膜系统的迅速破坏,而感病品种在病原感染后能较长时间地保持膜系统的完整性(Koga 1988)。我们推测在感病品种中稻瘟菌能持久生长的原因是多方面的。一些早期的植物防卫反应(如活性氧的释放,植保素累积等)出现较晚,水稻细胞膜不能及时破坏,几丁酶、 β -1, 3-葡聚糖酶不能在细胞质内累积,诱导速度慢,难以及时接触和攻击稻瘟菌生长着的菌丝尖部。这样,这两种酶虽然具有抗稻瘟菌的潜能,但在水稻抗稻瘟病的过程中却不能脱离其它防卫系统,单独地发挥其重要作用。

致谢 中国水稻研究所沈 瑛同志提供水稻品种、上海市农业科学院陈全庆同志提供稻瘟菌菌种。本工作得到上海植物生理研究所程永昌和胡惠庆等同志的帮助。

参 考 文 献

- 林振武、孙惠珍、陈敬祥. 硝酸还原酶活力的体外测定. 植物生理学通讯 1985 (3): 33—35
Boller T, Gehri A, Mauch F, Vogeli U. Chitinase in bean leaves: Induction by ethylene, purification, properties, and possible function.

- Planta* 1983, **157**: 22—31
- Boller T. Induction of hydrolases as a defense reaction against pathogens. In Key JL, Kosuge T (eds), *Cellular and Molecular Biology of Plant Stress*. Alan R. Liss, New York 1985, pp.247—262
- Boller T, Metraux JP. Extracellular location of chitinase in cucumber. *Physiol Mol Plant Path* 1988, **33**: 11—16
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976, **72**: 248—254
- Hedrick SA, Bell JN, Boller T, Lamb CJ. Chitinase cDNA cloning and mRNA induction by fungal elicitor, wounding, and infection. *Plant Physiol* 1988, **96**: 182—186
- Koga H. Ultrastructure of compatible and incompatible reactions of rice to *Pyricularia oryzae*. In Abstracts of papers of the 5th International Congress of Plant Pathology. Kyoto, Japan 1988, p.239
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970, **227**: 680—685
- Leah R, Mikkelsen J, Mundy J, Svendsen I. Identification of a 28000 Dalton endochitinase in barley endosperm. *Carlsberg Res Commun* 1987, **52**: 31—37
- Mauch F, Hadwiger L, Boller T. Antifungal hydrolases in pea tissue I. Purification and characterization of two chitinases and two β -1,3-glucanases differentially regulated during development and in response to fungal infection. *Plant Physiol* 1988a, **87**: 325—333
- Mauch F, Mauch-mani B, Boller T. Antifungal hydrolases in pea tissue II. Inhibition of fungal growth by combination of chitinase and β -1,3-glucanase. *Plant Physiol* 1988b, **88**: 936—942
- Mauch F, Hadwiger L, Boller T. Ethylene: symptom, not signal for the induction of chitinase and β -1,3-glucanase in pea pods by pathogens and elicitors. *Plant Physiol* 1984, **76**: 607—611
- Molano J, Polachek I, Duran A, Cabib E. An endochitinase from wheat germ. *J Biol Chem* 1979, **254**: 4901—4907
- Roberts WK, Selitrennikoff CP. Isolation and partial characterization of two antifungal proteins from barley. *Biochim Biophys Acta* 1986, **880**: 161—170
- Schlumbaum A, Mauch F, Vogeli U, Boller T. Plant chitinases are potent inhibitors of fungal growth. *Nature* 1986, **324**: 365—367
- Sehizawa Y, Haruyawa T, Kano M, Urushizaki S, Saka H, Matsumoto K, Haga M. Dependence on ethylene of induction of peroxidase and lipoxygenase activity in rice leaf infected with blast fungus. *Agric Biol Chem* 1990, **54**: 471—478
- Shinshi H, Neuhaus JM, Ryals J, Meins F Jr. Structure of a tobacco endochitinase gene: evidence that different chitinase genes can arise by transposition of sequences encoding a cysteine-rich domain. *Plant Mol Biol* 1990, **14**: 357—368
- Somogyi M. Notes on sugar determination. *J Biol Chem* 1952, **195**: 19—23
- Wessels JGH, Sietsma JH. Fungal cell walls: A survey. In Tanner W, Loewus FA (eds), *Encyclopedia of Plant Physiol, New Series*, Vol 13B. Springer-Verlag, New York 1981 pp.352—394

Activities and Distribution of Chitinase and β -1,3-Glucanase in Rices Induced by *Pyricularia oryzae* C

DU Liang-Cheng and WANG Jun

(Shanghai Institute of Plant Physiology, Academia Sinica, Shanghai 200032)

The activities of chitinase and β -1, 3-glucanase increased by 6~9 and 3~5 times respectively in one week in rices (*Oryza sativa* L) after infection by the spores of *Pyricularia oryzae* C or treatment with filtrate from its cultured mycelia. Partially purified rice chitinase on an affinity

chromatography column degraded the mycelial cell walls of *P. oryzae* and inhibited the germination of its spores. Rice chitinase and β -1, 3-glucanase existed in both intra- and extra-cellular spaces.

Key words: chitinase, β -1,3-glucanase, rice, *Pyricularia oryzae* C