

# 四种植物提取物对抵御葡萄霜霉病菌的影响

郭秀萍, 车永梅, 侯丽霞, 赵方贵, 刘新

(青岛农业大学 生命科学院, 山东省高校植物生物技术重点实验室, 山东 青岛 266109)

**摘要:**以对霜霉病具有抗性的葡萄品种‘左优红’和‘Fredonia’、委陵菜、无花果为试材, 制备丙酮和2种乙醇提取物, 研究4种植物的不同提取物在感病葡萄品种‘霞多丽’抵御霜霉病侵染中的作用, 观测其对‘霞多丽’葡萄叶片多酚氧化酶(PPO)和 $\beta$ -1,3葡聚糖酶(Glu)活性的影响。结果表明:4种植物的提取物100倍稀释液均可在一定程度上降低葡萄霜霉病菌对‘霞多丽’叶片的侵染率, 提取物作用效果强弱依次为70%乙醇委陵菜叶片提取物(60℃提取3h) > 50%丙酮的‘Fredonia’叶片提取物 > 70%乙醇的‘左优红’的提取物(50℃水浴提取5h), 而无花果提取物作用最差; 有效提取物均能不同程度地提高‘霞多丽’葡萄叶片的PPO和Glu活性。

**关键词:**葡萄; 霜霉病; 叶片提取物; 多酚氧化酶;  $\beta$ -1,3葡聚糖酶

**中图分类号:**S 436.631.1<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)03-0130-04

葡萄(*Vitis vinifera* L.)是世界范围内广泛种植的果树,在我国国民经济中占重要地位。近年来,随着国民经济的发展和人们生活水平的提高,酿酒葡萄的栽培面积逐年增大,但目前我国的主栽酿酒葡萄品种多属欧亚品种,抗逆性较差,同时随着种植面积不断扩大,各地之间插条苗木交换日益频繁,葡萄病害日渐严重,其中葡萄霜霉病是危害最大的真菌病害之一。当前葡萄霜霉病的防治主要采用栽培措施和化学防治,栽培措施自身作用存在局限性,化学防治由于农药的高毒性和残留等因素易对环境和人体健康造成危害。据报道,一些植物的有机溶剂提取物具有抑菌作用,能够提高植物的抗病性。如,大青叶和板蓝根叶片的正丁醇和乙醇提取物具有显著广谱抑菌作用<sup>[1]</sup>;辣椒乙醇提取物对酿酒酵母和黑曲霉等有明显的抑制作用<sup>[2]</sup>;虎杖提取物 Milsana 可以诱导植物的防御反应及活性氧的产生,可以降低白粉病对黄瓜叶片的侵染<sup>[3]</sup>。但植物源抗菌剂的研究与开发刚起步,其在葡萄抗病中的作用及机制的研究还较少。

植物受到病原菌侵染时,启动自身的防御系统,一些防御相关酶被诱导合成,多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)和 $\beta$ -1,3葡聚糖酶( $\beta$ -1,3-glucanase, Glu)是其中2种重要的防御酶。其中,PPO能够催化木质素单体聚合成木质素,对抗病物质如植保素等的合成也起催

化作用;Glu可以水解真菌细胞壁的主要成分之一的葡聚糖,PPO和Glu活性高低与植物抗病性关系密切<sup>[4-6]</sup>。因此,该试验拟以对霜霉病具有抗性的葡萄品种‘左优红’和‘Fredonia’以及对霜霉病免疫的植物委陵菜和无花果叶片为试材,测定其丙酮、正丁醇和乙醇提取物对葡萄霜霉病侵染率及葡萄叶片PPO和Glu活性的影响,初步研究4种植物提取物在葡萄抵御霜霉病中的作用及机制,以期利用生物学手段防治葡萄霜霉病提供理论依据和技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

葡萄霜霉病菌(*Plasmopara viticola*),采自青岛农业大学葡萄试验基地‘霞多丽’发病叶片。葡萄感病品种‘霞多丽’、抗病品种‘左优红’和‘Fredonia’、无花果种植于青岛农业大学葡萄试验基地。委陵菜由青岛农业大学辛华老师赠予。

### 1.2 试验方法

1.2.1 葡萄霜霉病菌的采集与繁殖 从田间感病葡萄品种‘霞多丽’植株采回被霜霉病侵染的叶片,清水冲去旧孢子囊,在20℃、相对湿度100%下培养24h,待新孢子囊长出后,用毛刷轻轻刷下孢子囊,无菌水配制成孢子囊 $8 \times 10^4$ /mL悬浮液。接种前载玻片萌芽法测定孢子囊生活力,萌芽率85%以上为有效。

1.2.2 叶片提取物的制备 分别取‘左优红’、‘Fredonia’、委陵菜或无花果1a生枝条上的功能叶片,称鲜重,于烘箱50℃烘至恒重,利用微型植物粉碎机粉碎,过40目筛子。称取0.5g粉碎的叶片,以固液比1:20的比例,分别在50%的丙酮60℃提取3h、70%乙醇溶液60℃提取3h(70%乙醇提取流程A)或50℃水浴提

**第一作者简介:**郭秀萍(1987-),女,在读硕士,现主要从事葡萄抗病生理分子机制研究工作。E-mail:guoxiuping1987222@163.com。

**基金项目:**农业部“948”资助项目(2006-G26);青岛市自然科学基金资助项目(10-3-4-5-5-jch)。

**收稿日期:**2011-10-25

取 5 h(70%乙醇提取流程 B),过滤收集滤液,得到粗提取物。

1.2.3 材料处理 取盆栽健康无病的易感葡萄品种‘霞多丽’第3~6叶位叶片,自来水冲洗数次后,叶背向上平摆在 10%的琼脂培养基上,分成 2 组,A 组喷施水及不同稀释倍数的 4 种植物提取物,B 组喷施水及有效植物提取物[I:70%乙醇(提取流程 A)的委陵菜叶片提取物、II:50%丙酮的‘Fredonia’叶片提取物、III:70%乙醇的‘左优红’的提取物(提取流程 B)]。处理后 12 h 用微量移液器接种  $8 \times 10^4$  个/mL 孢子囊悬浮液 100  $\mu$ L,然后置于 20℃培养箱中,保持湿度为 90%以上。A 组 7 d 后统计发病率,B 组分别于接种后 0、1、2、3、4、5、6 d 测定 PPO 和 Glu 活性。

1.2.4 霜霉病发病率的统计 发病率(%)=(发病叶片数/总叶片数) $\times 100\%$ 。

1.2.5 PPO 活性测定 PPO 活性测定参照朱广廉等<sup>[7]</sup>的方法,以 1 g 鲜组织 1 min 产生 OD 值变化 0.01 为 1 个酶活性单位(U),以 PBS 代替酶液为对照。

1.2.6 Glu 活性测定 按照史益敏等<sup>[8]</sup>的方法测定  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性,以 1 g 鲜组织 1 min 产生 1  $\mu$ g 还原糖的酶量为 1 个酶活性单位(U)。

表 1

4 种植物提取物对葡萄品种‘霞多丽’感病率的影响

不同植物	处理	对照	1	10	100	1 000
‘左优红’	水	70.4 $\pm$ 1.8a	74.0 $\pm$ 1.8a	72.2 $\pm$ 1.8a	74.0 $\pm$ 1.8a	74.0 $\pm$ 1.8a
	50%丙酮	66.7 $\pm$ 2.8ab	63.0 $\pm$ 1.7ab	51.9 $\pm$ 2.8b	51.9 $\pm$ 2.1b	55.6 $\pm$ 1.8b
	70%乙醇(提取流程 A)	68.5 $\pm$ 1.8ab	61.1 $\pm$ 2.2ab	63.0 $\pm$ 1.9ab	55.6 $\pm$ 2.8b	70.4 $\pm$ 1.9a
	70%乙醇(提取流程 B)	68.5 $\pm$ 1.8ab	63.0 $\pm$ 1.7ab	66.7 $\pm$ 22.8ab	44.4 $\pm$ 1.8c	48.1 $\pm$ 1.8c
‘Fredonia’	50%丙酮	66.7 $\pm$ 2.8ab	50.0 $\pm$ 1.9b	70.4 $\pm$ 2.4a	40.7 $\pm$ 2.8c	61.1 $\pm$ 1.9ab
	70%乙醇(提取流程 A)	68.5 $\pm$ 1.8ab	57.4 $\pm$ 2.8b	59.3 $\pm$ 2.5b	50.0 $\pm$ 1.7b	57.4 $\pm$ 1.9b
	70%乙醇(提取流程 B)	68.5 $\pm$ 1.8ab	64.8 $\pm$ 2.2ab	57.4 $\pm$ 2.4b	53.7 $\pm$ 1.8b	59.3 $\pm$ 2.1b
	委陵菜	66.7 $\pm$ 2.8ab	63.0 $\pm$ 2.3ab	62.2 $\pm$ 1.9ab	53.7 $\pm$ 2.8b	61.1 $\pm$ 2.4ab
委陵菜	50%丙酮	66.7 $\pm$ 2.8ab	63.0 $\pm$ 2.3ab	62.2 $\pm$ 1.9ab	53.7 $\pm$ 2.8b	61.1 $\pm$ 2.4ab
	70%乙醇(提取流程 A)	68.5 $\pm$ 1.8ab	50.0 $\pm$ 2.8b	44.4 $\pm$ 2.8c	35.2 $\pm$ 1.7c	51.0 $\pm$ 1.9b
	70%乙醇(提取流程 B)	68.5 $\pm$ 1.8ab	57.4 $\pm$ 1.8b	44.4 $\pm$ 1.8c	42.6 $\pm$ 2.7c	59.3 $\pm$ 2.3b
	无花果	66.7 $\pm$ 2.8ab	66.7 $\pm$ 2.2ab	68.5 $\pm$ 2.4ab	51.9 $\pm$ 1.8b	55.6 $\pm$ 2.8b
无花果	50%丙酮	66.7 $\pm$ 2.8ab	66.7 $\pm$ 2.2ab	68.5 $\pm$ 2.4ab	51.9 $\pm$ 1.8b	55.6 $\pm$ 2.8b
	70%乙醇(提取流程 A)	68.5 $\pm$ 1.8ab	72.2 $\pm$ 2.4a	70.4 $\pm$ 2.5a	51.9 $\pm$ 1.8b	68.5 $\pm$ 1.7ab
	70%乙醇(提取流程 B)	68.5 $\pm$ 1.8ab	79.7 $\pm$ 1.9a	72.2 $\pm$ 1.8a	59.3 $\pm$ 2.1b	57.4 $\pm$ 1.8b

注:同列不同小写字母表示处理间在 0.05 水平上差异显著。

## 2.2 4 种植物提取物对‘霞多丽’葡萄叶片 PPO 活性的影响

由图 1 可知,正常情况下在测定时间范围内,‘霞多丽’叶片 PPO 活性随时间延长无显著变化( $P>0.05$ ),接种霜霉病菌后‘霞多丽’叶片 PPO 活性呈先升高后降低的趋势,于处理 3 d 时达最大值( $P<0.05$ );70%乙醇(提取流程 A)的委陵菜叶片提取物、50%丙酮的‘Fredonia’叶片提取物及 70%乙醇的‘左优红’的提取物(提取流程 B)预处理后接种霜霉病菌的‘霞多丽’叶片其 PPO 活性升高迅速,于接种霜霉病菌 2 d 时达最大值,并且 PPO 活性升高幅度显著大于单独接种霜霉病菌的‘霞多丽’叶片( $P<0.05$ ),以对霜霉病抑制效果最好的 70%乙醇(提取流程 A)的委陵菜叶片提取物对 PPO 活性的诱导作用最强( $P<0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 4 种植物提取物对‘霞多丽’葡萄抵御葡萄霜霉菌的影响

由表 1 可知,用不同溶剂和提取流程获得的‘左优红’提取物都可不同程度地降低葡萄霜霉菌对‘霞多丽’叶片的侵染,均为稀释 100 倍的效果最为明显。在 4 种植物的提取物中,以 70%乙醇(提取流程 A)的叶片提取物作用最强,稀释 100 倍的提取物可使‘霞多丽’叶片感病率降低 38.8%;其次是 50%丙酮的‘Fredonia’叶片提取物,可使‘霞多丽’感病率降低 33.3%;然后是 70%乙醇的‘左优红’的提取物(提取流程 B),使‘霞多丽’感病率下降 29.6%,无花果提取物作用最弱。

PPO 和 Glu 是植物体内重要的防御酶,与葡萄抗病性关系密切,因此,该试验进一步研究了 70%乙醇(提取流程 A)的委陵菜叶片提取物、50%丙酮的‘Fredonia’叶片提取物及 70%乙醇的‘左优红’的提取物(提取流程 B)对葡萄霜霉菌具有较强抑制作用的提取物对感病葡萄品种‘霞多丽’叶片 PPO 和 Glu 活性的影响,以期探讨提取物抵御霜霉菌的作用机制。

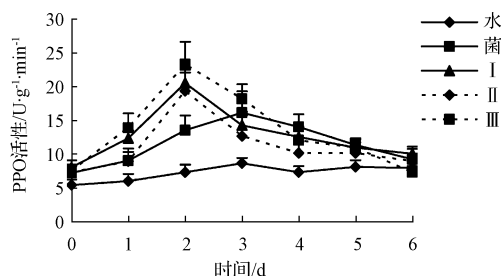


图 1 植物提取物对感染葡萄霜霉菌后‘霞多丽’葡萄叶片 PPO 活性的影响

注:图中 I、II、III 分别表示 70%乙醇(提取流程 A)的委陵菜叶片提取物、50%丙酮的‘Fredonia’叶片提取物和 70%乙醇的‘左优红’的提取物(提取流程 B),图 2 同。

### 2.3 4种提取物对‘霞多丽’葡萄叶片 Glu 活性的影响

由图 2 可知,正常条件下‘霞多丽’叶片 Glu 活性随时间延长无显著变化,受到霜霉病菌侵染后 Glu 活性呈先升高后降低的趋势,于处理 3 d 时 Glu 活性达最高值 ( $P<0.05$ )。70%乙醇(提取流程 A)的委陵菜叶片提取物、50%丙酮的‘Fredonia’叶片提取物及 70%乙醇的‘左优红’的提取物(提取流程 B)预处理诱导霜霉病侵染的‘霞多丽’叶片 Glu 活性明显增强,且变化快 ( $P<0.05$ ),于接种霜霉病菌 2 d 时 Glu 活性达最大值,其中委陵菜叶片提取物对 Glu 活性的诱导作用最强。

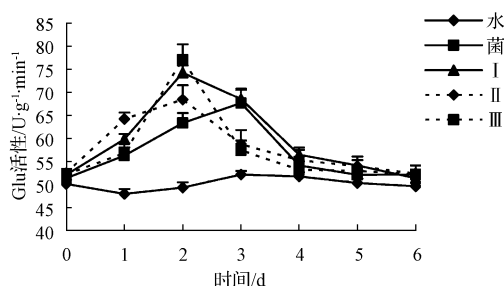


图 2 植物提取物对感染葡萄霜霉病后‘霞多丽’葡萄叶片 Glu 活性的影响

### 3 讨论与结论

葡萄霜霉病是世界范围内严重影响葡萄产业的真菌病害,研究葡萄对霜霉病的抗性及其机制具有重要理论和实践意义。已有研究表明,一些植物材料的提取物对细菌和真菌具有一定抑制作用<sup>[1-3]</sup>,如,黄易安等<sup>[9]</sup>研究认为,乙酸乙酯萃取的蛇含委陵菜提取物具有良好的抑菌作用,特别对金黄色葡萄球菌的抑制效果最佳;杨海霞等<sup>[10]</sup>研究发现,无花果叶片乙醇提取物具有明显的抑菌作用;但是目前尚未见有关植物提取物在葡萄抵御霜霉病中的作用的报道。该试验选用对霜霉病具有较强抗性的 2 个葡萄品种‘左优红’和‘Fredonia’以及对霜霉病免疫的植物委陵菜和无花果 4 种植物为试材,研究其不同有机溶剂提取物在葡萄抵御霜霉病中的作用。结果表明,4 种植物不同溶剂提取物的 100 倍稀释液都能降低霜霉病菌对感病葡萄品种‘霞多丽’叶片的侵染率,但不同植物的不同溶剂提取物作用强弱存在差异,推测与提取物中有效成分的种类、性质和含量有关。有研究表明,不同的提取物提取的成分不同,陈国刚等<sup>[11]</sup>研究表明,单宁的最佳提取物为丙酮和水的混合物,而 70%的乙醇可提取石榴皮黄酮类物质<sup>[12]</sup>。Batovska 等<sup>[13]</sup>认为,丙酮可以提取叶片表面物质而丁醇可以提取细胞内物质。葡萄科植物含有大量抗微生物活性的化学成分,如黄酮类、酚类、酚酸类、生物碱、甾醇类、挥发油及芳香化合物等<sup>[14]</sup>;Batovska 等<sup>[13]</sup>研究认为,保加利亚葡萄叶片软脂酸和单羟基羧酸含量与葡萄对霜霉病的抗性密切相关,棕榈酸的含量增加时,抗性增强。‘左优红’和

‘Fredonia’以及委陵菜和无花果 4 种植物中具有抑菌作用的成分需利用质谱分析等技术进一步分离鉴定,最适提取溶剂的种类和浓度也需进一步确证。

目前有关植物提取物抑菌作用的研究较多,但对提取物作用机制的研究尚不多见,证明超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (Peroxidase, POD)、苯丙氨酸解氨酶 (Phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、PPO 和 POD 活性与诱导抗性有关。陈红兵等<sup>[15]</sup>发现,万寿菊根的提取物能诱导西瓜保护酶如 SOD 和 POD 活性提高,减轻西瓜枯萎病菌粗毒素对西瓜幼苗的毒害作用;香樟叶石油醚提取物能显著提高草莓果实 PAL、PPO 和 POD 的活性,增强果实自身的抗真菌病的能力<sup>[16]</sup>。Glu 是防御反应中一种重要的细胞壁水解酶,一方面能破坏真菌细胞壁而杀死病原菌,一方面起到从真菌细胞壁释放  $\beta$ -葡聚糖的作用,而这些物质则作为激发子被植物细胞识别而激发植物防卫基因表达,从而产生抗病反应。从褐藻 (*Laminaria digitata*) 中分离的海藻多糖可以诱导霜霉病菌侵染的葡萄细胞胞质碱化,发生氧化爆发,几丁质酶和 Glu 活性增强,降低霜霉病菌对植株的侵染率<sup>[17]</sup>。有报道称, PPO 催化木质素单体聚合成木质素,且对抗病物质如植保素等的合成也起催化作用,活性的提高可作为植物抗病性增强的标志。试验进一步研究了 70%乙醇(提取流程 A)的委陵菜叶片提取物、50%丙酮的‘Fredonia’叶片提取物及 70%乙醇的‘左优红’的提取物(提取流程 B)对葡萄霜霉病具有较强抑制作用的提取物预处理对受霜霉病菌侵染的‘霞多丽’叶片 PPO 和 Glu 活性的影响,以初步探究其抑菌机制。结果表明,霜霉病菌侵染诱导‘霞多丽’叶片 PPO 和 Glu 活性显著升高(图 1、2),3 种提取物预处理后接种霜霉病菌的‘霞多丽’叶片 PPO 和 Glu 活性进一步迅速升高, PPO 和 Glu 活性峰值高且出现得早,并以 70%乙醇(提取流程 A)的委陵菜叶片提取物对 PPO 和 Glu 的诱导作用最强,这与感病率结果基本一致,推测几种植物提取物提高葡萄抗霜霉病的作用与其诱导葡萄 PPO 和 Glu 活性增强有关。

植物受到病原菌侵染时可通过增加木质素含量、合成植保素、活性氧爆发等多种机制增强对病原菌的抵抗能力<sup>[18]</sup>,‘左优红’、‘Fredonia’、委陵菜和无花果 4 种植物的不同提取物对葡萄其它抗病机制是否存在激发作用也需进一步深入研究。此外,目前人们关于植物提取物的抑菌活性研究已有不少报道<sup>[19]</sup>,但尚未探明其作用机制,更未应用于果树病害防治中,还需要植物保护、植物化学和植物分子生物学等多学科的合作,以期实现新的植物源杀菌剂的研制与开发。

#### 参考文献

[1] 郑剑玲,王美惠,杨秀珍,等. 大青叶和板蓝根提取物的抑菌作用研



- 究[J]. 中国微生态学杂志, 2003, 15(1): 18-19.
- [2] 刘锐, 张敏. 辣椒乙醇提取液的抑菌活性研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(6): 3135-3136.
- [3] Godard S, Slacanin I, Viret O, et al. Induction of defence mechanisms in grapevine leaves by emodin-and anthraquinone-rich plant extracts and their conferred resistance to downy mildew[J]. Plant Physiol Biochem, 2009, 47(9): 827-837.
- [4] 郭敏, 柳春燕, 陈靠山. 拟康氏木霉胞壁多糖对黄瓜抗病性的诱导作用[J]. 天然产物研究与开发, 2009(5): 748-751, 781.
- [5] Aziz A, Trotel-Aziz P, Dhuicq L, et al. Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew[J]. Phytopathology, 2006, 96(11): 1188-1194.
- [6] Klarzynski O, Descamps V, Plesse B, et al. Sulfated fucan oligosaccharides elicit defense responses in tobacco and local and systemic resistance against tobacco mosaic virus[J]. Mol Plant Microbe Interact, 2003, 16: 115-122.
- [7] 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990.
- [8] 史益敏, 颜季琼, 费雪南, 等. 番茄感染 TMV 诱导的  $\beta$ -1, 3-葡聚糖酶的纯化和性质[J]. 植物生理与分子生物学报, 1993(4): 333-338.
- [9] 黄易安, 黄思菊, 国兴明. 蛇含委陵菜提取物抑菌作用的研究[J]. 贵州大学学报, 2008, 25(3): 320-321.
- [10] 杨海霞, 陈廷, 张兆强, 等. 无花果叶乙醇、水提取物抑菌作用的比较研究[J]. 热带医学杂志, 2009, 9(10): 1144-1146.
- [11] 陈国刚, 邓志祥, 江英, 等. 葡萄梗中单宁的提取及含量测定[J]. 石河子大学学报, 2007, 25(6): 749-752.
- [12] 杨林, 周本宏. 石榴皮中鞣质和黄酮类化合物抑菌作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(10): 2334-2336.
- [13] Batovska D I, Todorova I T, Parushev S P, et al. Biomarkers for the prediction of the resistance and susceptibility of grapevine leaves to downy mildew [J]. J Plant Physiol, 2008, 166: 781-785.
- [14] 袁茜, 周宝利, 李之璞. 不同提取条件对葡萄叶提取物抑制两种病原菌活性的影响[J]. 植物保护, 2009, 35(2): 125-127.
- [15] 陈红兵, 王金胜, 张作刚, 等. 万寿菊根的提取物对西瓜枯萎病反应的抗性研究[J]. 植物病理学报, 2003, 33(5): 439-443.
- [16] 段丹萍, 乔勇进, 鲁莉莎, 等. 香樟叶提取物对草莓灰霉病菌的抑制效果及保护酶活性的影响[J]. 湖南农业科学, 2011, 50(4): 723-727.
- [17] Aziz A, Poinssot B, Daire X, et al. Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola* [J]. Mol Plant Microbe Interact, 2003, 16(12): 1118-1128.
- [18] 陈慧勤, 赵淑清. 植物抗病反应及系统获得抗性研究进展[J]. 山西农业大学学报, 2003, 23(3): 286-291.
- [19] 苟亚峰, 刘爱勤, 孙世伟, 等. 23 种植物提取物对胡椒疫病病原菌的抑制作用[J]. 植物保护, 2010, 36(6): 128-131.

## Effects of Extracts from Four Plant Species on Resistance of Grapevine to Downy Mildew

GUO Xiu-ping, CHE Yong-mei, HOU Li-xia, ZHAO Fang-gui, LIU Xin

(College of Life Science, Qingdao Agricultural University, Key Lab of Plant Biotechnology in Universities of Shandong, Qingdao, Shandong 266109)

**Abstract:** Using two grape cultivars ‘Zuoyouhong’ and ‘Fredonia’ that resistant to *Plasmopara viticola* as well as *Potentilla* and *Ficus carica* immune to *Plasmopara viticola* as materials, the effects of leaf extracts of acetone or ethanol on resistance of grape cultivar ‘Chardonnay’ to *Plasmopara viticola* and activities of polyphenol oxidase (PPO) and  $\beta$ -1, 3-glucanase (Glu) were studied. The results showed that all extracts from ‘Zuoyouhong’, ‘Fredonia’, *Potentilla* and *Ficus carica* extracted with different dissolvent decreased the infection rate of *Plasmopara viticola* on Chardonnay respectively, and 100-fold dilution were the best, the effects of extracts by the strength were as follows: *Potentilla* leaves extracts of 70% ethanol (extraction process A) > ‘Fredonia’ leaves extracts 50% acetone > ‘Zuoyouhong’ leaves extracts of 70% ethanol (extraction process B), but effect of extracts from *Ficus carica* was the weakest. Extracts form different plants increased PPO and Glu activity of leaves from Chardonnay infected with *Plasmopara viticola* variously.

**Key words:** grapevine; downy mildew; leaf extracts; polyphenol oxidase;  $\beta$ -1, 3-glucanase