

巩培杰,康 军,包若煊,等. 葡萄霜霉菌株的收集及侵染 12 个葡萄品种后症状差异分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(4):149–156.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.04.022

葡萄霜霉菌株的收集及侵染 12 个葡萄品种后 症状差异分析

巩培杰^{1,2}, 康 军², 包若煊², 王 晨², 房经贵²

(1. 江苏省农业科学院植物保护研究所/江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地,江苏南京 210014;
2. 南京农业大学园艺学院,江苏南京 210095)

摘要:葡萄霜霉病的广泛传播会对我国葡萄的产量及质量造成极大的危害。为了科学地防治葡萄霜霉病的传播,从江苏、浙江和上海等长三角省(市)的葡萄栽培区采集编号为 BS 的霜霉菌菌株样品进行鉴定,之后以 12 个葡萄品种为寄主材料进行致病力试验。将霜霉菌株侵染葡萄后的表型划分为 5 类:易感病(A 型)、感病(B 型)、较感病(C 型)、较抗病(D 型)、抗病(E 型)。结果表明,17 份菌株的致病力程度多在 A 型到 C 型之间,具有欧亚种背景的葡萄品种对所有菌株均较感病,其中以紫甜无核和黑比诺最为感病(A 型);3 种砧木葡萄对其中 12 份菌株较为抗病,叶片侵染部位有超敏反应的坏死斑点,其中以砧木 Kober 5BB 最抗病(E 型);具有欧美杂交背景的品种抗病性居中,其中以夏黑和阳光玫瑰较为抗病(D 型)。为了验证该分级系统的可行性,挑选了 E 型葡萄品种砧木 Kober 5BB 和 A 型葡萄品种紫甜无核进行进一步的致病力测试和霜霉孢子囊形态观察,发现试验结果一致。该研究为不同遗传背景的葡萄抗病杂交育种提供了一定的理论基础。

关键词:葡萄;病原寄主互作;霜霉病;超敏死亡;致病力

中图分类号:S436.631.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)04-0149-08

葡萄(*Vitis vinifera* L.)属于葡萄科葡萄属落叶藤本植物,是全球栽培范围最广、经济价值最高的

收稿日期:2023-06-28

基金项目:国家自然科学基金青年基金(编号:32202433);江苏省自然科学基金青年项目(编号:BK20200541);江苏高校优势学科建设工程资助项目(编号:130809007);江苏省农业科学院基本科研业务专项[编号:ZX(23)3016]。

作者简介:巩培杰(1988—),男,甘肃庆阳人,博士,助理研究员,研究方向为葡萄遗传育种与逆境生物学。E-mail: gongpeijie@jaas.ac.cn。

通信作者:房经贵,博士,教授,研究方向为葡萄遗传育种与发育生物学等。E-mail: fanggg@njau.edu.cn。

水果之一。然而,各种病原物的广泛传播、发病对我国葡萄的产量及质量造成极大的危害。其中,葡萄霜霉病是危害最严重且影响最为广泛的病害之一^[1-2]。葡萄霜霉病由霜霉菌(*Plasmopara viticola*)引起,在全球各地的葡萄主栽区都有发生,主要危害葡萄叶片、穗轴、新梢、果梗、卷须等组织,造成葡萄植株大量枯斑、干枯甚至提早落叶并形成大量烂果,严重影响葡萄产量和果实品质^[3-5]。葡萄园一旦遭受霜霉病侵染,很难防治彻底^[6-8]。

葡萄霜霉病多发生在潮湿环境中,如果不采取及时的防治措施,该卵菌能够在短时间内给葡萄园

[17] Hemingway J. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2000, 30(11): 1009–1015.

[18] 魏也茗. 3 种杀虫剂对细足捷蚁的室内毒力测定[J]. 农业科技与信息, 2021(19): 61–62, 65.

[19] 韩丽娟. 研究农药复配剂的意义及其要求[J]. 江苏农业科学, 1989, 17(7): 25–26.

[20] 孙守慧, 高道雄, 闫秀英, 等. 2 种杀虫剂对美国白蛾的联合毒力作用研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2022, 53(6): 717–722.

[21] 张 睿, 何 超, 李 河, 等. 吡虫啉对异迟眼蕈蚊抗性筛选及其对解毒酶活性的影响[J]. 河南农业科学, 2021, 50(7): 110–116.

[22] 全林发, 仇贵生, 孙丽娜, 等. 高效氯氟菊酯亚致死浓度对桃小食心虫生物学特性的影响[J]. 昆虫学报, 2017, 60(7): 799–808.

[23] Boo K S, Park K C. Insect semiochemical research in Korea: overview and prospects[J]. Applied Entomology and Zoology, 2005, 40(1): 13–29.

[24] Gao Y, Shi S S, Xu M L, et al. Current research on soybean pest management in China[J]. Oil Crop Science, 2018, 3(4): 215–227.

[25] 高 宇, 朱诗禹, 田 径, 等. 大豆主要害虫防控技术研究进展[J]. 大豆科技, 2022(3): 18–25.

[26] 闫 祺, 杨婷婷, 董双林. 蛾类昆虫混合型信息素研究进展[J]. 应用昆虫学报, 2023, 60(2): 323–334.

造成毁灭性的打击^[9]。自 20 世纪 80 年代初期巨峰葡萄的成功引入,我国南方葡萄栽培面积迅速扩大。现如今,长江三角洲地区已成为我国新兴的大粒鲜食葡萄商品生产区^[10]。但该产区温暖湿润,每年 6—7 月雨水多湿度高,导致霜霉病病害严重影响葡萄果实的品质及产量,因此研究并提高该产区葡萄抵抗霜霉病的能力具有重要意义。有关不同葡萄种类对霜霉病的抗性已经有较多研究,而对于霜霉菌菌株划分以及在该产区葡萄中的致病力研究有待进一步探索^[11-13]。

对于防止葡萄受霜霉菌危害的研究,国内外长期以来都在持续关注^[14-17]。目前,葡萄种植者主要通过预测天气以及使用杀真菌剂对霜霉病进行有效防控。然而,在整个栽培和果实成熟季节,必须多次施用大量杀真菌剂才可以使病原体得到控制^[6,18-20]。为了提高果实品质,降低药剂的使用效率,需要更充分、更系统地研究霜霉菌,以此更好地防治葡萄霜霉病的发生。

本研究利用表型鉴定、显微镜观察和高通量测序等手段,将田间采集的病原样品进行鉴定,确定采集到的病原菌为葡萄霜霉菌后进一步建立葡萄霜霉菌致病力可视化分类系统。在此基础上,将不同的菌株与葡萄寄主材料进行组合,明确各菌株在

葡萄中的危害程度,进而筛选出其中较为感霜霉病和较为抗霜霉病的葡萄品种,以期为田间霜霉病的防控提供一定的策略性依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

所有葡萄材料均于 2022 年 8 月取自南京农业大学白马葡萄教学科研基地。共采集 12 种葡萄品种材料,分别为巨峰、巨玫瑰、阳光玫瑰、夏黑、紫甜无核、红地球、森田尼无核、玫瑰香、黑比诺、贝达、Kober 5BB、1103 Paulsen。

霜霉菌材料:收集长三角葡萄栽培地区的霜霉菌,分别命名编号(表 1),共收集到来自江苏、浙江和上海等地的 17 个菌株样品。

1.2 葡萄霜霉病病原菌孢子囊离体收集保存

使用微生物孢子收集装置(图 1)收集孢子囊粉。叶片常温下放置除湿后,利用真空原理,从接种部分地毯式吸取霜霉孢子囊;将霜霉单孢子囊菌株进行干燥处理,真空收集孢子囊粉于 1.5 mL 离心管,分装,液氮速冻后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,可长期保存 1~2 年;使用时,在离心管中加入 ddH₂O,配制孢子囊悬浮液接种于新鲜叶片,之后用“1.3”节中的方法培养。

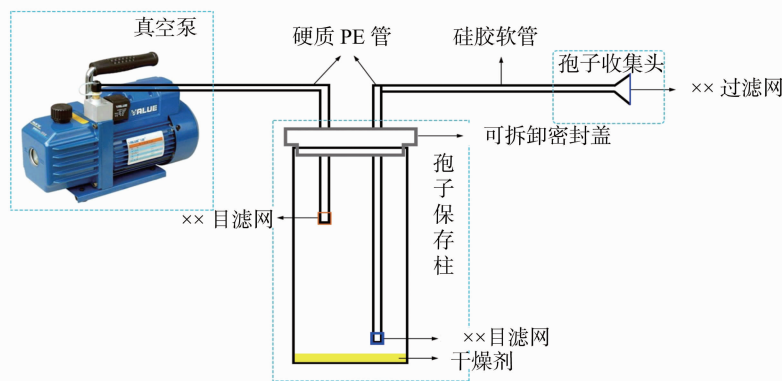


图1 霜霉病病原菌孢子囊收集装置示意

1.3 葡萄霜霉病病原菌的采集与培养

在田间采集新鲜、无杀菌剂污染的叶片病样。采集后将病原菌配制成孢子囊悬浮液,接种在无菌水清洗后的新叶背光面,将其放于人工气候箱黑暗培养 24 h。将叶片正面(光照面)向下贴放于水琼脂培养基上,在 $22\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度 80%~100%,黑暗 8 h/光照 16 h 交替的条件下培养。待新孢子囊长出后,在解剖镜下用镊子挑取,将单孢子囊接种在

新叶片上,长出新鲜霉层便可作为单孢子囊菌株。

1.4 霜霉菌侵染叶盘症状检测

对霜霉菌侵染叶盘症状进行分析,具体步骤为:(1)用蒸馏水短暂冲洗幼叶(距茎尖第 4 和第 7 张叶之间的叶片),之后用打孔器切出直径为 1.5 cm 的叶盘。将叶盘正面(光照面)向下,放置于铺好湿滤纸的培养皿中;(2)使用目的菌株的孢子囊配制成悬浮液,利用微生物孢子计数器计算孢子

囊浓度为 40 000 个/mL;(3)开始互作侵染试验时,将调节好浓度的孢子悬浮液接种 30 μL 在叶盘中心位置,黑暗孵育 24 h,之后在保湿、18 ℃、16 h 光照和 8 h 黑暗的光周期条件下进一步培养。侵染后在体视显微镜下观察症状、拍照并记录。

1.5 霜霉菌侵染过程的化学组织染色及显微镜观察

为了能够确定和比较品种间的表型反应差异,在霜霉菌处理后开始拍摄叶盘照片,每 24 h 重复 1 次,直到第 4 天;之后每 48 h 重复 1 次,直到第 10 天。此外,叶盘用 Blankophor 溶液染色,以使病原体的结构在显微镜下呈现特异的荧光,便于观察。具体操作方法:(1)将目的观测叶盘用蒸馏水清洗向光面,然后用吸水纸擦干(背光面,尤其接种部位避免清洗)。(2)将叶盘浸染面朝上,放在显微镜载玻片上,并用 30 μL Blankophor 溶液处理侵染区域。(3)使用荧光显微镜进行光学观察,在紫外光下利用相机并在 DAPI 模式(滤光片 A,激发滤光片 BP 340~380 nm,干涉滤光片 LP 425)下进行荧光染色观察。(4)使用 Leica Application Suite v3.3.1 软件保存并分析观察图片结果。

1.6 葡萄霜霉菌 DNA 提取

将分离得到的霜霉菌孢子囊粉收集至 1.5 mL 离心管,放入液氮速冻,使用研磨机粉碎研磨后进行 DNA 提取。

1.7 菌种鉴定 18S 测序分析

为了在分子生物学层面鉴定获得霜霉菌菌株的菌种以及纯度,以奥维森公司通用引物 18S 进行 PCR 扩增,以 ddH₂O 作阴性对照,之后将 PCR 产物条带回收,纯化后进行测序比对和鉴定分析等。

2 结果与分析

2.1 葡萄霜霉菌分离结果

尽量在田间采集背面附着有霜霉菌孢子囊的叶片,叶片上不要有其他病原菌存留,并记录采集病叶的葡萄品种。从中成功分离获得菌株 17 株(表 1),均妥善存储于 -80 ℃ 冰箱。

2.2 葡萄霜霉菌菌株在解剖镜、显微镜下的形态学特征

通过继代扩繁发现,叶片普遍接菌后 7~10 d 在叶背部观察到白色的霉层。将叶盘置于解剖镜下观察到典型的葡萄霜霉菌孢囊梗及孢子囊。挑取少量叶片背部白色菌层在显微镜下观察,可更加

表 1 葡萄霜霉病田间样品来源以及分离菌株信息

菌株编号	采集地点	采集时间	寄主葡萄品种
BM-1	江苏省	2019 年 8 月	森田尼无核、紫甜无核
BS-1	江苏省	2019 年 8 月	巨峰
BS-2	江苏省	2019 年 8 月	紫甜无核
BS-3	江苏省	2019 年 8 月	紫甜无核
BS-4	江苏省	2019 年 9 月	巨峰
BS-5	江苏省	2019 年 9 月	夏黑
BS-6	江苏省	2019 年 9 月	红地球
BS-7	江苏省	2019 年 9 月	红地球
ZJ-1	浙江省	2019 年 8 月	夏黑
HZ-1	浙江省	2019 年 8 月	红地球
YK-1	浙江省	2019 年 8 月	巨峰
PJ-1	浙江省	2019 年 8 月	巨峰
FP-1	上海市	2019 年 9 月	赤霞珠
SH-CH-1	上海市	2019 年 9 月	霞多丽
SH-Ca-1	上海市	2019 年 9 月	赤霞珠
M-SH-1	上海市	2019 年 9 月	梅洛
S-SH-1	上海市	2019 年 9 月	西拉

清晰地观察到孢囊梗单轴式近直角分支。分支末端平钝,孢子囊卵圆形,有乳突(图 2)。通过解剖镜、显微镜观察说明离体获得的病原菌为单轴葡萄霜霉病菌。

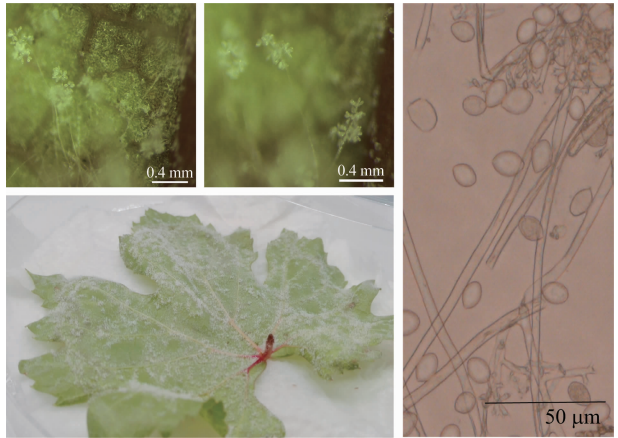


图2 葡萄霜霉病鉴定与分析

2.3 葡萄霜霉菌 18S 多态性分析及菌种鉴定结果

18S rDNA 为编码真核生物核糖体小亚基 rRNA 的 DNA 序列,在结构上分为保守区和高变区。保守区反映生物物种间的亲缘关系,高变区反映物种间的差异。利用卵菌、真菌 18S rDNA 扩增子保守区域进行 PCR,在样品中克隆获得 1 300 bp 的特异片段。经测序之后鉴定,片段来源于霜霉菌,证明试验中所分离的病原物为葡萄霜霉菌(图 3)。

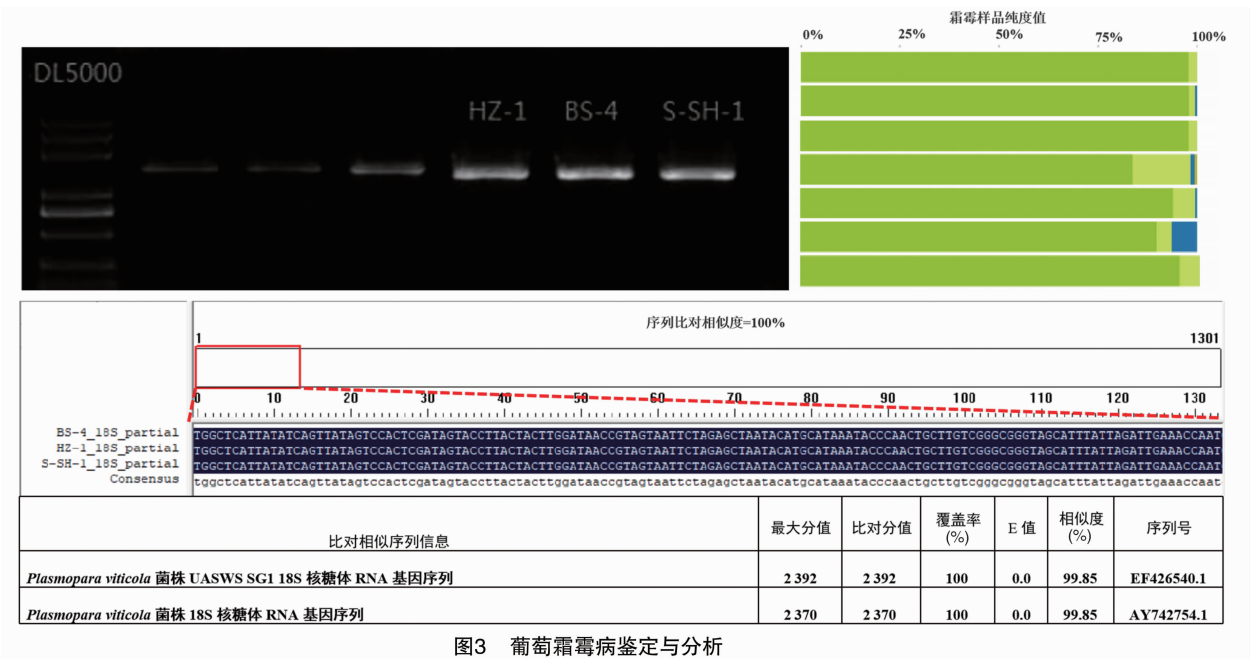


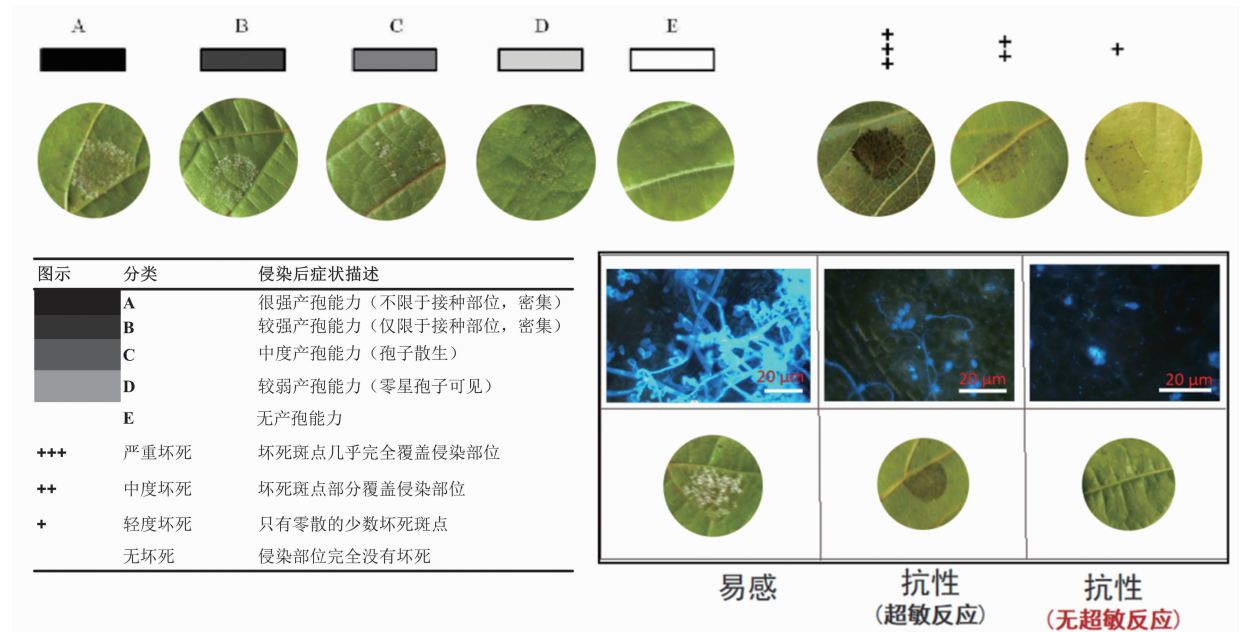
图3 葡萄霜霉病鉴定与分析

此外,18S 多态性分析结果显示,离体收集霜霉菌孢子囊样品的纯度均在 85% 以上,其中纯度高于 95% 的有 3 个,说明病原菌材料纯度高,可基本排除其他病原物的干扰。

2.4 葡萄霜霉菌侵染不同葡萄品种后症状分级系统的制定

本研究以 12 个葡萄品种为寄主材料,以 17 个霜霉菌株为病原材料进行霜霉病原与葡萄寄主的

互作试验。为了更好地量化霜霉菌侵染力与超敏反应的程度,在前人研究^[23]的基础上,划分了不同株系侵染葡萄寄主后的症状级别(图 4)。将霜霉菌菌株侵染后葡萄叶片的表型划分为 5 类,描述如下:易感病(A 型)、感病(B 型)、较感病(C 型)、较抗病(D 型)和抗病(E 型)。将超敏反应引起的坏死现象划分为 3 类:+(轻度)、++(中度)、+++ (重度)。



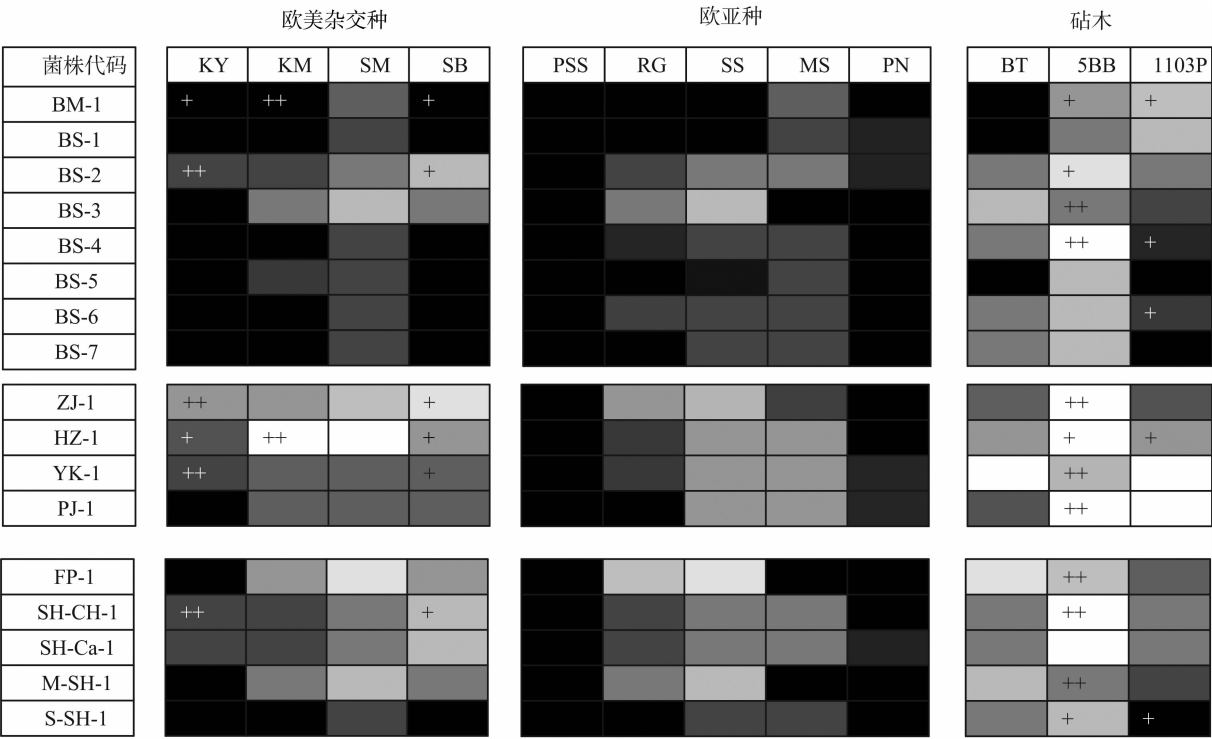
易感是紫甜无核品种,抗性(超敏反应)是 5BB 品种,抗性(无超敏反应)是 1103P 品种

图4 霜霉菌侵染葡萄寄主后的症状可视化分析

2.5 葡萄霜霉菌感染不同葡萄品种后症状分析

从 12 种不同葡萄品种中进行霜霉菌菌株感染后的症状差异分析(图 5)。结果显示,欧亚种葡萄对所有菌株均感病,各菌株的致病力程度多在 A 型到 C 型之间;其中以紫甜无核、黑比诺最为感病。紫甜无核对所有菌株的感病程度均达到 A 型。此外,在所有欧亚种葡萄感染过程中没有发现明显的超敏坏死斑点。在试验的 12 个品种中,3 种砧木葡萄对霜霉菌最为抗病。除菌株 BM-1、BS-1、BS-5、BS-7 以及 S-SH-1 可以对部分砧木品种形成 A 型的致病程度之外,其余 12 个菌株对砧木葡萄品种的致病能力相较欧亚、欧美种葡萄均明显下降,致

病力程度多在 C 型到 E 型之间。并且 Kober 5BB 和 1103 Paulsen 品种在叶盘上形成坏死斑点,其中砧木 Kober 5BB 的抗霜霉病表现以及超敏死亡现象最为明显。具有欧美杂交背景的品种抗病性则居中,其中以夏黑和阳光玫瑰较为抗病且夏黑对 6 个菌株 BM-1、BS-2、ZJ-1、HZ-1、YK-1、SH-CH-1 伴有超敏反应的坏死斑点。通过以上试验结果可筛选出河岸葡萄杂交后代 Kober 5BB 为其中最抗霜霉病的品种且伴有明显的超敏反应,筛选出欧亚种葡萄紫甜无核为其中最感霜霉病的品种且未观察到超敏反应现象。



欧美杂种葡萄: KY 为巨峰, KM 为巨玫瑰, SM 为阳光玫瑰, SB 为夏黑; 欧亚种葡萄: PSS 为紫甜无核, RG 为红地球, SS 为森田尼无核, MS 为玫瑰香, PN 为黑比诺; 砧木葡萄: BT 为贝达, 5BB 为 Kober 5BB 砧木, 1103P 为 1103 Paulsen 砧木

图5 霜霉菌不同株系感染12个葡萄品种后症状差异分析

2.6 抗/感病葡萄受霜霉菌菌株感染后的叶片症状分析

根据以上试验结果,在相同的霜霉菌感染条件下筛选出 2 个分别抗/感霜霉菌的代表品种(Kober 5BB 与紫甜无核),分别在感染后 1、7、14 d 时观察其症状差别。结果表明,野生美洲河岸葡萄后代品种 Kober 5BB 较抗霜霉病,叶片和叶盘上均没有观察到霜霉孢子囊霉层并且叶面上伴有明显的超敏反应坏死斑点现象(图 6-A)。而传统欧亚葡萄品种 紫甜无核易感霜霉病,可以在接种 7 d 后的叶片

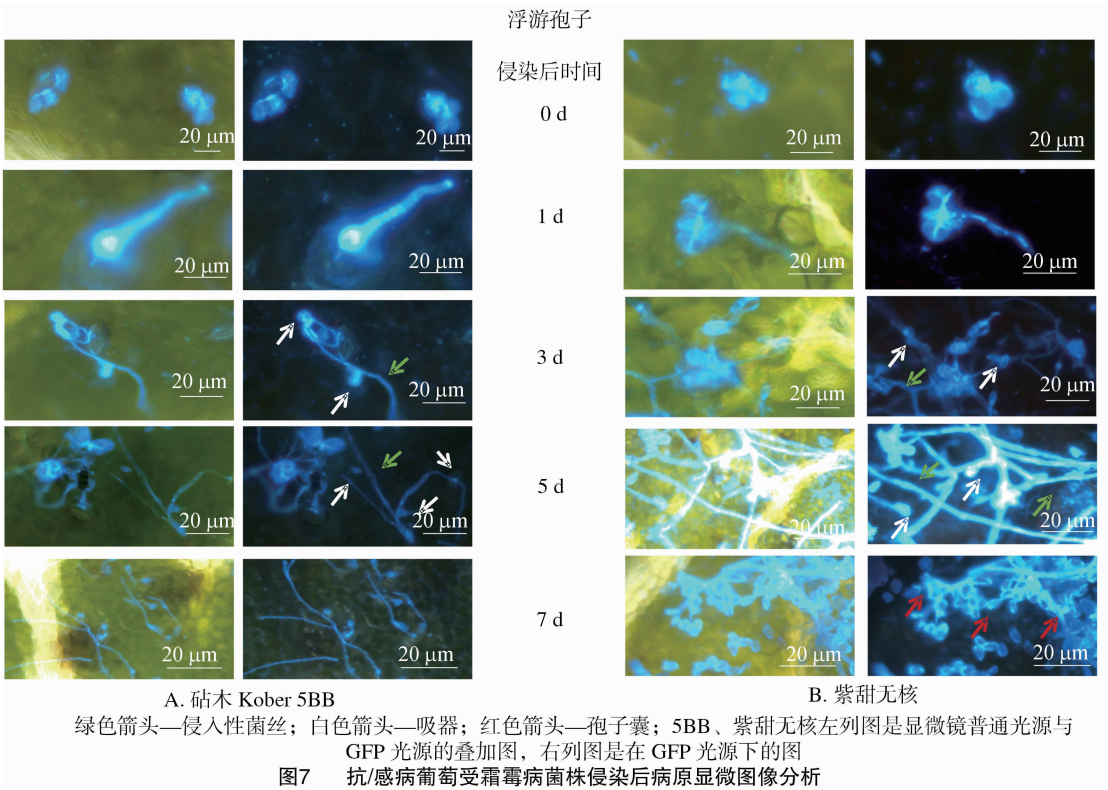
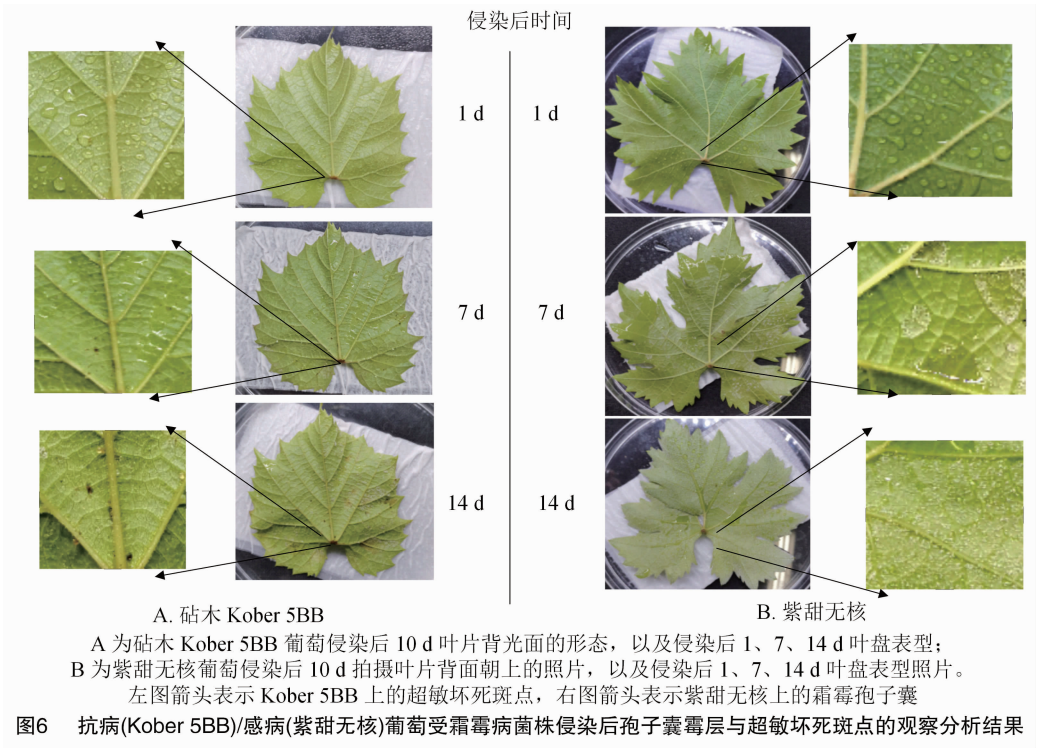
和叶盘上观察到明显的霜霉层但不伴有超敏反应现象(图 6-B)。

2.7 抗/感病葡萄叶片受霜霉菌菌株感染后的显微染色观察

为了更进一步地了解 2 个葡萄品种在感染过程中病原菌的形态变化,基于图 6 的结果进一步细化了感染后初期的 5 个时间点(0、1、3、5、7 d),对葡萄中霜霉菌的形态结构进行了对比观察。如图 7 所示,0 d 时,2 个品种叶片的气孔中均能观察到浮游孢子的侵入,被感染的气孔内大部分含有 2~4 个浮

游孢子。1 d 时均能观察到浮游孢子的囊化和萌发状态。3 d 时,2 个品种症状差异逐渐加大,紫甜无核快速形成菌丝和吸器并从气孔四周蔓延。而 Kober 5BB 中菌丝形成相对较少,仅有很少的吸器形成,这时部分气孔周围出现超敏死亡现象。5 d

时,紫甜无核中已经可以观察到大量带有吸器的菌丝体并有少量孢子囊的出现。而 Kober 5BB 中没有观察到孢子囊的形成,但此时气孔周围的超敏死亡现象更加明显。7 d 时,紫甜无核叶片已经到了发病的旺盛阶段,大量孢子囊附着在孢子梗上。在



Kober 5BB 中观察到菌丝体在葡萄叶片内进一步发展,但极少能观察到孢子囊的形成。以上结果说明超敏坏死现象可以帮助 Kober 5BB 葡萄增强抗霜霉病能力。

3 讨论与结论

葡萄霜霉病是一种极具破坏性的病原体,在全球范围内给葡萄栽培带来巨大的经济损失。在多雨潮湿环境中,如果不采取及时的防治措施,该病菌能够在短时间内给葡萄园造成严重损失。本研究对不同霜霉菌株和不同品种葡萄寄主进行组合侵染,以深入了解葡萄和霜霉菌的互作机理。此外,本研究利用改进的微生物孢子收集技术,将不同毒性的霜霉菌菌株鉴定、分类、分装和长期 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,改善了之前葡萄霜霉菌离体保存期短的问题。最后,本研究通过不同生态类型的霜霉菌菌株,在主栽鲜食葡萄上对霜霉病症状进行深入的多样性分析,为田间霜霉病的防控提供依据。

19 世纪后期,伴随着欧洲葡萄向全球引种栽培过程,葡萄霜霉病几乎传播到了全世界所有的葡萄主要栽培区^[21-23]。霜霉病具体传入我国的地点以及方式目前尚不清楚,但在许多省份都有分布^[9,24-25]。几乎所有的欧亚种葡萄都感霜霉病,病害症状也都相似。如果防治不及时,霜霉病对葡萄树的长势及产量都有很大的影响。在病原体和寄主植物共同进化的漫长历史中,植物已经进化出多层防御策略^[17,26]。美洲的野生葡萄由于长期与霜霉菌共存、进化,形成了较高的防御体系^[27-28]。砧木品种的亲本,如 110R、5BB、1103P、SO4 等都有美洲野生葡萄的亲缘关系,本试验的结果与之相符合。砧木葡萄中的抗病反应可以作为葡萄抗病机制研究的寄主材料。

在霜霉菌收集和离体扩繁方面,主要制约因素是该病菌属于活体寄生型病原体,只能在活体葡萄叶上进行人工培养^[29]。目前收集孢子仍然需要利用传统的毛刷,收集过程费时费力。在离体保存孢子方面,现有的技术很难保证收集到干燥和无杂质的纯孢子。在潮湿的环境下,孢子的保存期很难超过 3 个月,这导致很多科研工作无法高效展开。本试验建立了一种收集植物病原菌孢子囊的简易装置,解决了葡萄霜霉菌难收集、难长期保存的问题。收集好的孢子囊用封口膜封闭后放入液氮中速冻,可置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱长期保存。经检测,利用

此装置收集的孢子囊在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的环境中可以保存 1 年以上。

本试验提供了一种简便的方法来评估菌株感染不同抗性水平宿主的能力,并基于其致病力为病原菌表型建立分类系统。使用此系统可在选定菌株中发现表型差异。由于田间种群的多样性,在采样中尽量采集单一来源的孢子来获得稳定遗传材料用于随后的试验。

此外,本试验前期使用叶盘生物测定法来观察霜霉菌及其宿主的相互作用。通过砧木葡萄和具有代表性的 12 个葡萄品种与来自 3 个省/市葡萄产区的霜霉菌分离株或菌株进行互作,发现欧亚种葡萄较感病,其中以紫甜无核、黑比诺最感病。3 种砧木葡萄最抗病且有坏死斑点,其中 Kober 5BB 最抗病。欧美杂交种的抗病性居中,其中以夏黑、阳光玫瑰较为抗病。结果显示河岸葡萄杂交后代 Kober 5BB 为其中最抗霜霉病的品种且伴有明显的超敏反应现象。超敏反应是植株在抵抗病原物入侵时一种特殊的细胞程序性死亡形式。这种形式的细胞死亡可以有效抑制病原菌的扩散,使寄主其他部位受病原菌侵染的可能性大幅降低,提高寄主植物的抗病能力^[30-31]。

霜霉菌是通过吸器从寄主葡萄细胞中汲取养分的。可以确定 Kober 5BB 中霜霉菌产生了吸器结构并有明显的超敏死亡现象发生。Kober 5BB 受侵染后的表现形态,与河岸葡萄更为贴近,推测这可能与河岸葡萄是 Kober 5BB 的亲本有关。此外,笔者所在课题组观察到在感病葡萄品种中,孢子囊的形成相对之前报道的晚 2 d 左右,推测可能与菌株的侵染力或者侵染效率的强弱有关^[32]。

本研究利用前期建立的一种收集植物病原菌孢子囊的简易装置收集和长期保存葡萄霜霉菌。利用病原菌与寄主为材料建立了可视化的霜霉菌侵害寄主葡萄的症状分级系统,筛选出 E 型葡萄 Kober 5BB 最抗霜霉病,有明显的超敏死亡现象;筛选出 A 型葡萄紫甜无核最感霜霉病,未观察到超敏死亡现象。

参考文献:

- [1] Kamoun S, Furzer O, Jones J D G, et al. The top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2015, 16(4): 413-434.
- [2] 王忠跃. 中国葡萄病虫害与综合防控技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009: 1-30.

- [3] 刘会宁,姚晓雯. 葡萄霜霉病抗性与叶片生理生化指标的关系[J]. 江苏农业科学,2015,43(11):180–182.
- [4] 付晴晴,褚燕南,王跃进,等. 葡萄霜霉病抗性育种研究进展[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2019(5):69–75.
- [5] Casagrande K, Falginella L, Castellarin S D, et al. Defence responses in *Rpv3* – dependent resistance to grapevine downy mildew [J]. *Planta*,2011,234(6):1097–1109.
- [6] Gessler C, Pertot I, Perazzolli M. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management[J]. *Phytopathologia Mediterranea*,2011,50(1):3–44.
- [7] Burruano S. The life – cycle of *Plasmopara viticola*, cause of downy mildew of vine[J]. *Mycologist*,2000,14(4):179–182.
- [8] 李博雅,冉隆贤,施李鸣,等. 葡萄霜霉病研究进展[J]. 中国农学通报,2023,39(4):125–131.
- [9] 张 玮,燕继晔,刘 梅,等. 葡萄霜霉病流行与预测研究进展[J]. 中国果树,2020(3):11–15.
- [10] 林 玲,黄 羽,卢 江,等. 南方湿热地区不同葡萄品种霜霉病抗性鉴定[J]. 西北农业学报,2013,22(2):136–140.
- [11] 王壮伟,吴伟民,王西成,等. 江苏地区葡萄种质资源霜霉病抗性鉴定[J]. 江西农业学报,2015,27(9):41–44.
- [12] 陈 展,魏建国,赵艳卓,等. 不同鲜食葡萄品种对霜霉病菌的抗性分析[J]. 北方园艺,2019(20):25–30.
- [13] 唐兴敏,孙 磊,张 玮,等. 葡萄霜霉病抗病性鉴定方法及品种抗病性测定[J]. 植物保护,2018,44(1):166–169.
- [14] Kennelly M M, Gadoury D M, Wilcox W F, et al. Primary infection, lesion productivity, and survival of sporangia in the grapevine downy mildew pathogen *Plasmopara viticola* [J]. *Phytopathology*,2007,97(4):512–522.
- [15] 吕良玉,温晓蕾,杨娜娜,等. 葡萄生长后期不同叶位与霜霉病发病级下叶片的光合特性[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):141–142.
- [16] Bosshard E, Schuepp H. Variability of selected strains of *Plasmopara viticola* with respect to their metalaxyl sensitivity under field conditions[J]. *Pflanzenschutz*,1983,90(5):449–459.
- [17] 乔宝营,孙雷明,张 柯,等. 葡萄抗霜霉病机制研究进展[J]. 植物保护,2018,44(4):15–19,35.
- [18] 李宝燕,王英姿,刘学卿,等. 3 种杀菌剂对葡萄霜霉病菌的毒力测定和田间药效试验[J]. 江苏农业科学,2014,42(1):98–99.
- [19] 夏丽娟,卿尚飞,苏正川,等. 噁唑菌酮与精甲霜灵复配对葡萄霜霉病的防效及药剂在葡萄中的残留[J]. 农药学报,2022,24(2):326–331.
- [20] 张凯皓,罗大成,薄 鑫,等. 16 种杀菌剂对葡萄霜霉病的田间药效试验[J]. 西北农业学报,2023,32(1):164–168.
- [21] Gómez – Zeledón J, Zipper R, Spring O. Assessment of phenotypic diversity of *Plasmopara viticola* on *Vitis* genotypes with different resistance[J]. *Crop Protection*,2013,54:221–228.
- [22] Gong P J, Kang J, Sadeghnezhad E, et al. Transcriptional profiling of resistant and susceptible cultivars of grapevine (*Vitis* L.) reveals hypersensitive responses to *Plasmopara viticola* [J]. *Frontiers in Microbiology*,2022,13:846504.
- [23] Gómez – Zeledón J, Kaiser M. An extended leaf disc test for virulence assessment in *Plasmopara viticola* and detection of downy mildew resistance in *Vitis* [J]. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*,2016,7(5):353.
- [24] 聂茹霞,任如冰. 葡萄霜霉病的发生与防治[J]. 现代园艺,2020,43(11):172.
- [25] 杨 波,姜彩鸽,宋 双,等. 不同药剂对宁夏葡萄霜霉病田间药效及对葡萄果面微生物群落的影响[J]. 江苏农业科学,2022,50(9):103–110.
- [26] 刘 丽,刘长远,王 辉,等. 不同葡萄品种对霜霉病的抗性[J]. 植物保护,2017,43(2):177–182,195.
- [27] Gong P J, Riemann M, Dong D, et al. Two grapevine metacaspase genes mediate ETI – like cell death in grapevine defence against infection of *Plasmopara viticola* [J]. *Protoplasma*,2019,256(4):951–969.
- [28] Kang J, Gong P J, Ge M Q, et al. The PLCP gene family of grapevine (*Vitis vinifera* L.): characterization and differential expression in response to *Plasmopara viticola* [J]. *BMC Plant Biology*,2021,21(1):499.
- [29] Samarth R R, Shetty D, Saha S. Leaf micro – morphological diversity in *Vitis* species and its association with resistance to *Plasmopara viticola* [J]. *Research on Crops*,2021,22(2):334–341.
- [30] Heath M C. Hypersensitive response – related death [M]//Lam E, Fukuda H, Greenberg J. Programmed Cell Death in Higher Plants. Dordrecht: Springer,2000:77–90.
- [31] Kim B M, Lotter – Stark H C T, Rybicki E P, et al. Characterization of the hypersensitive response – like cell death phenomenon induced by targeting antiviral lectin griffithsin to the secretory pathway[J]. *Plant Biotechnology Journal*,2018,16(10):1811–1821.
- [32] Liu R Q, Wang L, Zhu J L, et al. Histological responses to downy mildew in resistant and susceptible grapevines [J]. *Protoplasma*,2015,252(1):259–270.