

外施水楊酸及褪黑激素於葡萄在低溫逆境下之影響

王 思 雨¹⁾ 陳 京 城²⁾

關鍵字：葡萄、水楊酸、褪黑激素、低溫逆境

摘要：本研究以不同葡萄品種盆苗於 9°C/5°C 低溫逆境下處理 7 天後，測量葉片葉綠素螢光參數 F_v/F_m 值之變化，試驗結果顯示， F_v/F_m 值隨低溫處理時間延長而下降，由 F_v/F_m 值相對下降率比較發現相對較耐低溫品種包括：'巨峰'、'蜜紅'、'興翠'、'興峰'及'龍寶'；'義大利'及'竹峰'則為對低溫較敏感之品種。經水楊酸(salicylic acid, SA) 1 mM 及褪黑激素(melatonin, MT) 0.05 mM 處理之葡萄盆苗在低溫下的耐受性較高， F_v/F_m 值的下降減緩。施用 SA 可誘導'巨峰'、'蜜紅'及'龍寶'葡萄葉片中過氧化酶(peroxidase, POD)活性上升，且 SA 處理之'龍寶'葉片中的 POD 活性在低溫逆境下顯著高於對照組。MT 處理之'巨峰'及'龍寶'葉片中的 POD 活性在低溫逆境下也顯著高於對照組。總結而言，SA 及 MT 的施用必需考慮不同葡萄品種對溫度逆境的反應差異，實際應用時應根據不同品種反應之差異性調整，以期達到較佳之效果。

前 言

葡萄 (*Vitis* spp.) 為葡萄科 (Vitaceae) 葡萄屬 (*Vitis*) 之多年生溫帶果樹 (Mullins *et al.*, 1992)，於 2018 年全世界栽種面積為 716 萬公頃，總產量約為 7,913 萬噸 (FAOSTAT, 2020)，主要栽培地區為歐洲 (義大利、法國、西班牙)、亞洲 (中國、土耳其、印度)、美洲 (美國、阿根廷、智利) 等。臺灣目前栽培面積約 2,715 公頃，主要產地為彰化縣、臺中市、苗栗縣及南投縣 (農委會統計年報，2019)，主要的栽培鮮食品種為歐美雜交系四倍體'巨峰' (*Vitis labruscana* 'Kyoho')，佔全部生產面積 92% 以上 (農糧署，2020)，其它品種有義大利 (*Vitis labruscana* 'Italia IP65') 及釀酒品種金香 (Golden Muscat) 與黑后 (Black Queen) 等少量栽培。臺灣有些葡萄生產方式提早到 12 月催芽，新梢萌芽生長恰逢冬季 1、2 月寒流來襲的高風

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系助理教授，通訊作者。

險時期，氣溫可降至 10°C 以下，而葡萄的最適生長溫度為 25~32°C，溫度太低會抑制葡萄正常生長，嚴重影響產量及果實品質 (Goldammer, 2018)。

葉綠素螢光 (chlorophyll fluorescence) 可被用來研究溫度逆境下葡萄葉片中葉綠體光系統 II (photosystem II, PSII) 的損害與恢復能力 (Kadir *et al.*, 2007)。許多研究證實葉綠素螢光的變化與逆境下的傷害呈現高度相關性，例如以葉綠素螢光間接評估光合作用的變化，在寒害、乾旱、高溫逆境中都呈現高度的敏感性 (Bolhar-Nordenkamp *et al.*, 1989)。

水楊酸 (salicylic acid, SA) 為植物體內自然生合成的酚類化合物，近年來的研究顯示 SA 對於植物面臨非生物逆境如：鹽害 (Li *et al.*, 2014)、寒害 (Wang and Li, 2006a)、高溫 (Wang and Li, 2006a)、乾旱 (Habibi, 2012) 有正面之效果。褪黑激素 (melatonin, MT) 在植物體中的功能除了作為生長調節劑促進生長外，它本身具有清除自由基的功能，可清除超氧化物 (Proeggeier *et al.*, 1996)。外施 MT 促進植物應對非生物逆境的研究也逐漸得到重視，包括乾旱 (Meng *et al.*, 2014)、重金屬 (Hasan *et al.*, 2015)、低溫逆境 (Zhao *et al.*, 2017) 及高溫逆境 (Liang *et al.*, 2018) 等。

本研究以日/夜溫 9°C/5°C，處理不同葡萄品種之盆苗，比較不同品種之間耐低溫逆境之差異。另外，測試 SA 及 MT 處理對葡萄在低溫逆境下之保護效力。

材料與方法

一、試驗材料

以取自國立中興大學葡萄中心之'巨峰' (*V. labruscana* 'Kyoho')、'蜜紅' (*V. labruscana* 'Honey Red')、'龍寶' (*V. labruscana* 'Ryuhō')、'義大利' (*V. vinifera* 'Italia IP65')、'興翠' (*V. labruscana* 'Xingcui')、'興峰' (*V. labruscana* 'Xingfeng') 及 '竹峰' (*V. labruscana* 'Jufeng') 葡萄之枝條培育扦插盆苗。以雙節扦插在培養土 (泥炭土：珍珠石：蛭石為 2：1：1)，放置在噴霧網室中。待盆苗 (5 吋盆) 長至 10~14 片葉後用於逆境試驗。

二、試驗方法

(一) 配製水楊酸及褪黑激素溶液

秤取所需水楊酸粉劑 (Sigma, UK)，先以少許酒精溶解後，加蒸餾水進行定量，並加入 0.1% Tween 20。使用濃度分別為：1 及 5 mM SA，以'巨峰'進行測試；而'蜜紅'、'龍寶'、'義大利'、'興翠'及'興峰'則以 1 mM SA 進行試驗。秤取所需褪黑激素粉劑 (Sigma, UK)，先以少許酒精溶解後，加蒸餾水進行定量，並加入 0.1% Tween 20。使用濃度為 0.05mM，測試品種為'竹峰'、'興峰'及'興翠'。

(二) 低溫處理

取合適高度的植株標記欲測量之葉片 (由上而下 3~10 片葉中狀態良好之 6 片完全展開葉)，先置於於室內 25°C，LED (光源為 10,000 lux 之全白光，光週期為 12/12 小時) 下適應 1 天之後，以葉綠素螢光分析儀 (Photosynthesis Yield Analyzer, MINI-PAM, Walz,

Germany)測量，對照組噴施蒸餾水，處理組以不同濃度水楊酸噴施葉面及葉背，每一濃度 3 重複。於噴施後 1 天測量葉綠素螢光變化，並將植株移至低溫冷藏庫 (9°C/5°C)，相對濕度為 70~80%。

(三) 葉綠素螢光測定

植株在測量前先在黑暗下進行暗適應 (dark adaption) 30 分鐘，再以葉綠素螢光分析儀測量。以 Leaf-Clip Holder 2030-B 葉夾 (帶有微量子感應 micro-quantum-sensor 及溫度感應 temperature-sensor) 夾住葉片，光纖線 (optical fiber) 提供測量光 (measure light) 及飽和脈衝光 (saturable light) 可以測得 F_0 最低螢光值及 F_m 最高螢光值，透過 $(F_m - F_0)/F_m$ 換算出 F_v/F_m 葉綠素螢光值。每一植株測量 6 片葉，每片葉測 3 個點；分別是葉尖 (terminal lobe) 1 點及葉肩 (lower lateral lobes) 2 點。試驗期間每日於同一時段測量葉綠素螢光值，低溫處理共 7 天。低溫逆境結束後於 25°C 下回溫，再測量葉綠素螢光值變化。下降率之計算為 [噴施前 (BS, before spraying) - 低溫後] / 噴施前 (BS)。

(四) 酵素分析：

1. 取樣：'蜜紅'、'義大利'及'龍寶'分別在噴施前 (BS)、噴施後 (AS, after spraying)、低溫 7 天後 (CT7d, cold treatment 7 days) 及回溫後 (R, recovery) 進行採樣，而'巨峰'增加低溫 3 天 (LT3d, low temperature 3 days) 及低溫 5 天 (LT5d, low temperature 5 days) 的取樣點。每重複取中間 6~8 片成熟葉，以蒸餾水清洗 3 次後，再以剪刀剪成小塊狀，以液態氮冷凍，存放於 -20°C 冷凍櫃中待後續分析。
2. 過氧化酶 Peroxidase (POD) 分析步驟：稱取 0.2g 的樣品，加入 5 ml potassium phosphate buffer (pH7.0) 於冰浴中用研鉢研磨後，倒入 12 ml 離心管中，以 12,000 xg 在 4°C 下離心 20 分鐘，取上清液進行分析。參考 Wang 和 Li (2006b) 之方法。依序加入 1 ml 0.1 M potassium phosphate buffer (pH7.0)、1 ml 21.6 mM guaiacol、0.1 ml 酵素上清液及 0.9 ml 0.039 M H_2O_2 在石英比色管中混和均勻後放入分光光度計測量 470 nm 之吸光度 5 分鐘，delay time 為 2 分鐘。酵素活性 activity = unit/sample (g FW)；unit = (吸光值變化量 / min / 0.001) / min。

結 果

一、施用不同濃度水楊酸及褪黑激素對低溫逆境下葡萄之影響

試驗結果顯示噴施水楊酸 5 mM SA 後，'巨峰'盆苗葉片之 F_v/F_m 值在 9°C/5°C 之低溫逆境下顯著低於對照組及 1 mM SA 處理者 (圖 1)，且在噴施後 24 小時葉面上出現壞疽斑塊，可能是高濃度 SA 造成的藥害情形。1 mM SA 處理組之 F_v/F_m 值在低溫逆境下 7 天後顯著高於對照組及高濃度 SA 處理組，回溫 1 天時是以對照組上升較快，1 mM SA 處理者則是穩定回復，而回溫 5 天後三者皆可回復到逆境前的 95% 以上 (圖 1)。

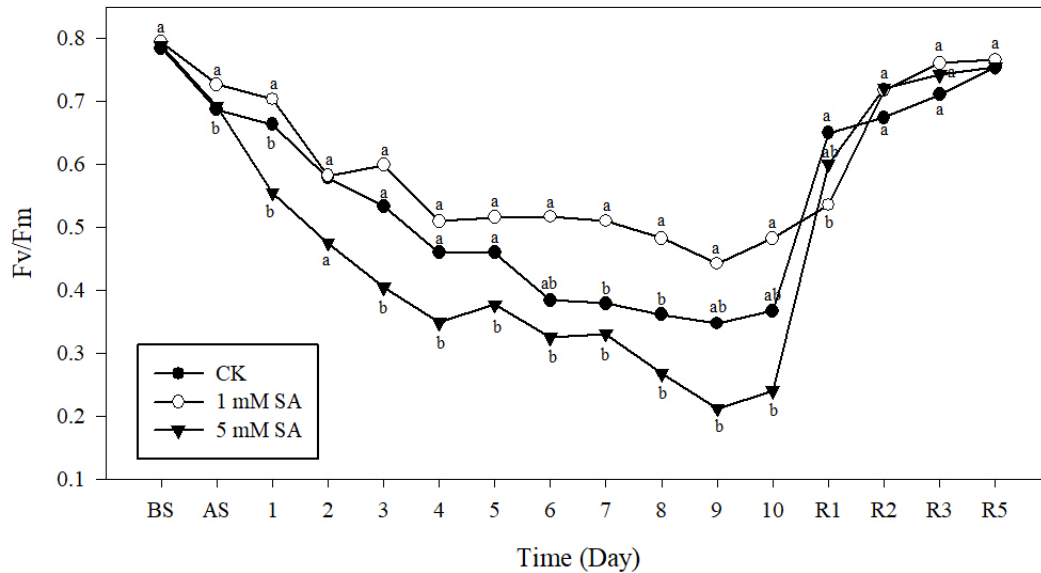


圖 1. '巨峰'葡萄經水楊酸處理後葉片 Fv/Fm 在 9°C/5°C 低溫逆境下之變化。

Fig. 1. Changes in chlorophyll fluorescence (Fv/Fm) in SA treated leaves of 'Kyoho' grapevine under 9°C/5°C cold stress and following recovery.

噴施不同濃度褪黑激素(0.05、0.1 及 0.2 mM)對'竹峰'盆苗葉片在低溫逆境下前 4 天皆可維持較高的 Fv/Fm 值 (約 0.67 左右), 與對照組 (約在 0.57 左右) 相比有顯著差異, 0.05 mM 及 0.1 mM 濃度在後續低溫 7 天中維持相對較高的 Fv/Fm 值。MT 處理組在回溫 1 天後可分別回復到逆境前(BS)的 99、98 及 97%, 而對照組為 96% (圖 2)。回溫過程中, '竹峰'在回溫 1 天後即可回復到逆境前的 90% 以上, 而'巨峰'則在 90% 以下, 對照組為 82.9%、1 mM SA 為 67.5%、5 mM SA 為 76.1%。'巨峰'在回溫 2 天後 SA 處理組才回復到逆境前的 90% 以上, 分別為 90.4 及 91.5%, 而對照組在 86.0%, 顯示'巨峰'的回復情形較'竹峰'緩慢, 可能與'巨峰'處理低溫時間達 10 天, 相對'竹峰'的低溫處理 7 天較長有關, 導致'巨峰'所需的回復時間較久。

二、水楊酸及褪黑激素處理對葡萄盆苗於低溫逆境下葉綠素螢光及酵素活性之影響

試驗結果顯示'巨峰'盆苗葉片在低溫處理 7 天後對照組 Fv/Fm 值下降率約為 34.6%, 而 1 mM SA 處理組及 0.05 mM MT 處理組之下降率較低, 分別為 19.9% 及 19.2%, 且在回溫過程中, SA 及 MT 處理組 Fv/Fm 數值皆顯著高於對照組 (圖 3)。POD 活性方面, 噴施 1 mM SA 後 POD 活性顯著提升且高於對照組及 MT 處理組, 低溫 5 天後 MT 處理組則顯著高於對照組 (圖 3)。

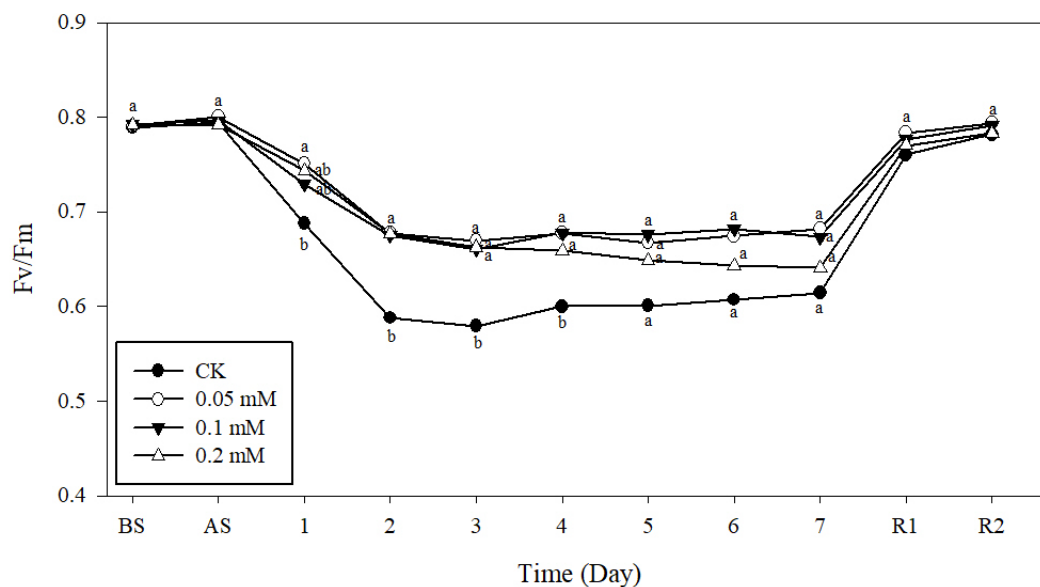


圖 2. '竹峰'葡萄經褪黑激素處理後葉片 F_v/F_m 在 $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ 低溫逆境下之變化。

Fig. 2. Changes in chlorophyll fluorescence (F_v/F_m) in MT treated leaves of 'Jufeng' grapevine under $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ cold stress and following recovery.

'龍寶'盆苗葉片在低溫試驗中 F_v/F_m 值變化與'巨峰'相似，低溫 7 天後 SA 及 MT 處理組分別維持在 0.7 及 0.6 左右，相對下降率約為 13.0% 及 21.4%，顯著高於對照組之 0.5 (相對下降率為 37.8%)，回溫 2 天過程中，對照組回升數值顯著低於 SA 及 MT 處理組(圖 4)。而在噴施 SA 後 POD 活性顯著高於對照組及 MT 處理組，在低溫 7 天後 MT 處理組顯著高於對照組，維持到回溫後 2 天皆顯著高於其他處理者 (圖 4)。

'蜜紅'盆苗葉片在低溫 7 天後各處理間並無顯著差異，低溫 3~5 天時 SA 處理組的 F_v/F_m 值顯著低於對照組及 MT 處理組，SA 及 MT 處理組回溫第 1 天後數值回到 0.78 左右，恢復速率顯著高於對照組 (0.7 左右)(圖 5)。噴施 SA 後'蜜紅'盆苗葉片的 POD 活性顯著高於對照組與 MT 處理組，低溫逆境後的回溫過程 SA 處理組的 POD 活性則是顯著低於其他 2 組 (圖 5)。

三、噴施水楊酸或褪黑激素對不同品種葡萄耐低溫效果之差異

低溫逆境期間，'義大利'盆苗的 F_v/F_m 值低於其他品種，低溫 7 天後降到 0.4 左右，其他在低溫前 3 天較低的品種為'竹峰'及'龍寶'，而在低溫 7 天後較高的品種為'蜜紅'及'興翠'(圖 6)。SA 及 MT 處理組中，低溫前 5 天中'興翠'(MT)及'蜜紅'(MT)的 F_v/F_m 值高於其他品種，而'義大利'(SA)、'蜜紅'(SA)及'竹峰'(MT)則在低溫前 3 天中較低 (圖 7)。

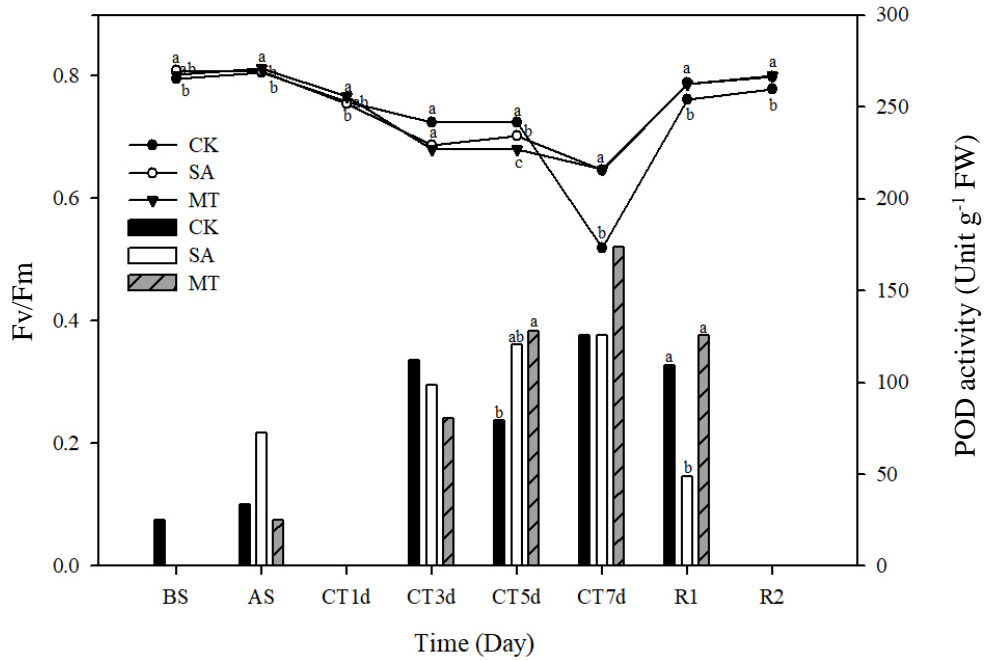


圖 3. '巨峰'葡萄經水楊酸或褪黑激素處理後葉片 F_v/F_m 及 POD 活性在 $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ 低溫逆境下之變化。

Fig. 3. Changes in chlorophyll fluorescence (F_v/F_m) and POD activity in SA or MT treated leaves of 'Kyoho' grapevine under $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ cold stress and following recovery.

BS: before salicylic acid (SA) and melatonin (MT) spraying; AS: 24 hours after spraying 1 mM SA or 0.05 mM MT; CT: cold treatment; R: recovery at 25°C . Each value represents the mean of three replicates. Different letters indicate significant difference between treatments by Fisher's LSD test at $p < 0.1$.

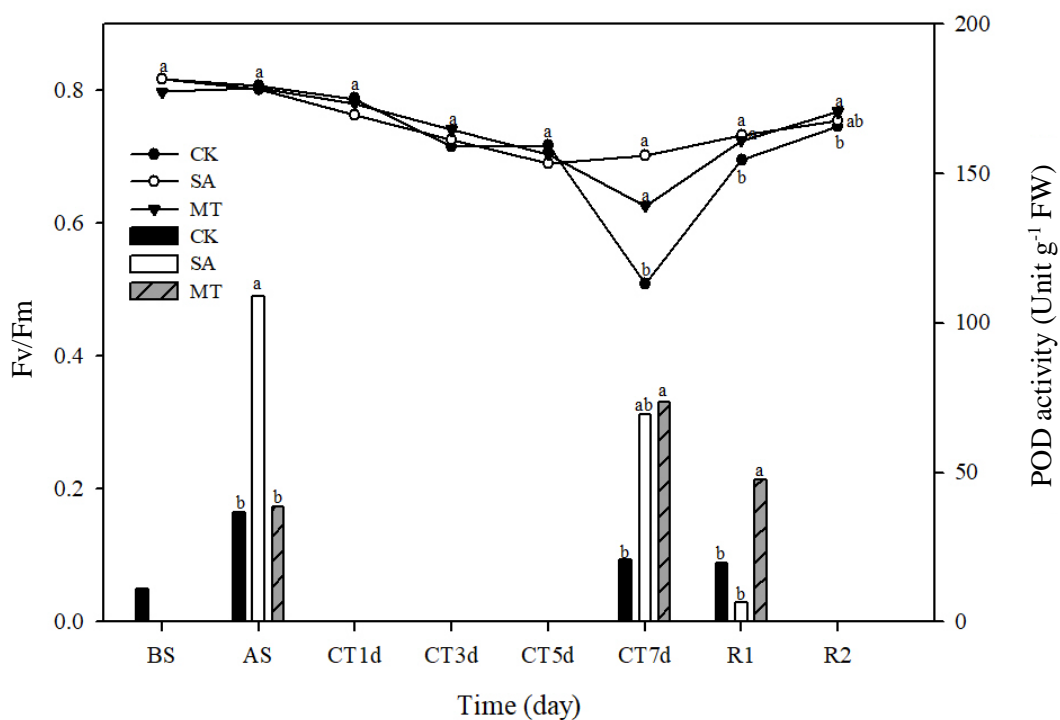


圖 4. '龍寶'葡萄經水楊酸或褪黑激素處理後葉片 F_v/F_m 及 POD 活性在 $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ 低溫逆境下之變化。

Fig. 4. Changes in chlorophyll fluorescence (F_v/F_m) and POD activity in SA or MT treated leaves of 'Ryuhō' grapevine under $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ cold stress and following recovery.

BS: before salicylic acid (SA) and melatonin (MT) spraying; AS: 24 hours after spraying 1 mM SA or 0.05 mM MT; CT: cold treatment; R: recovery at 25°C . Each value represents the mean of three replicates. Different letters indicate significant difference between treatments by Fisher's LSD test at $p < 0.1$.

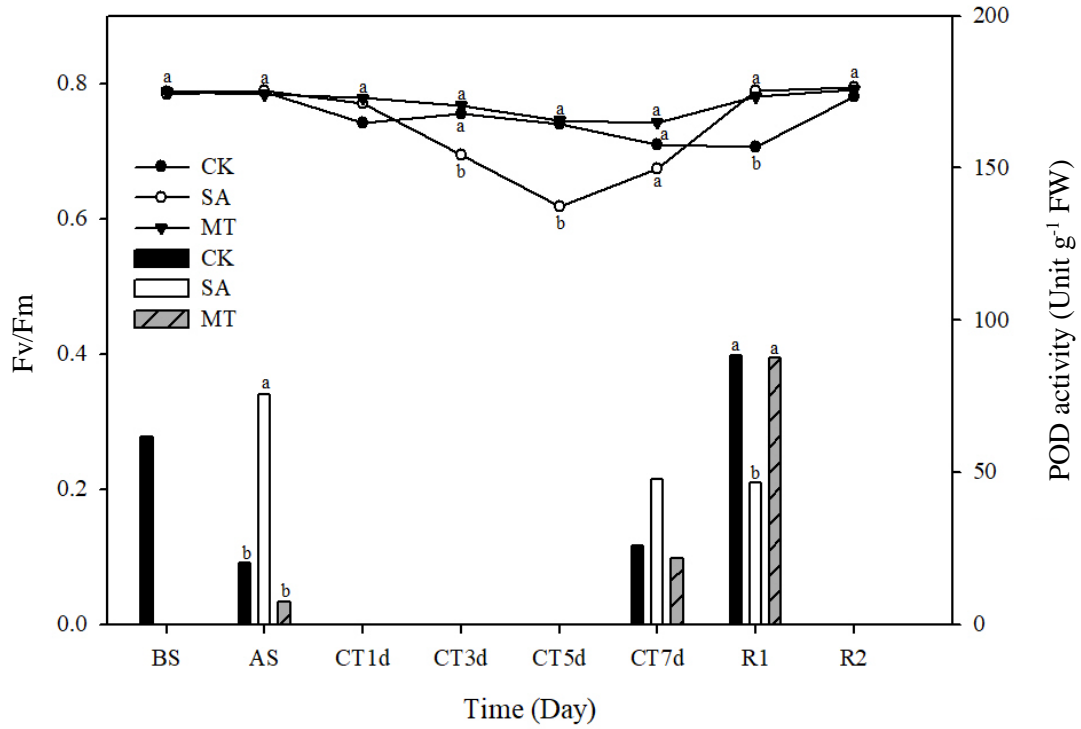


圖 5. '蜜紅'葡萄經水楊酸或褪黑激素處理後葉片 F_v/F_m 及 POD 活性在 $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ 低溫逆境下之變化。

Fig. 5. Changes in chlorophyll fluorescence (F_v/F_m) and POD activity in SA or MT treated leaves of 'Honey Red' grapevine under $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ cold stress and following recovery.

BS: before salicylic acid (SA) and melatonin (MT) spraying; AS: 24 hours after spraying 1 mM SA or 0.05 mM MT; CT: cold treatment; R: recovery at 25°C . Each value represents the mean of three replicates. Different letters indicate significant difference between treatments by Fisher's LSD test at $p < 0.1$.

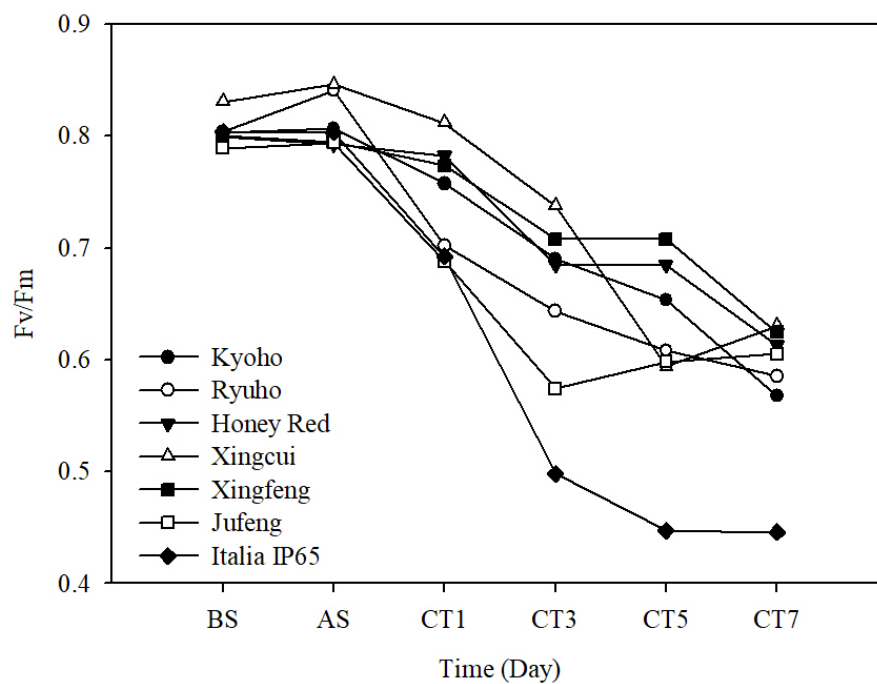


圖 6. 不同品種葡萄葉片 F_v/F_m 在 $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ 低溫逆境下之變化。

Fig. 6. Changes in chlorophyll fluorescence (F_v/F_m) in leaves of different grapevine cultivars under $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ cold stress for 7 days and following recovery.

BS: before H_2O spraying; AS: 24 hours after spraying H_2O ; CT: cold treatment. Each value represents the mean of three replicates.

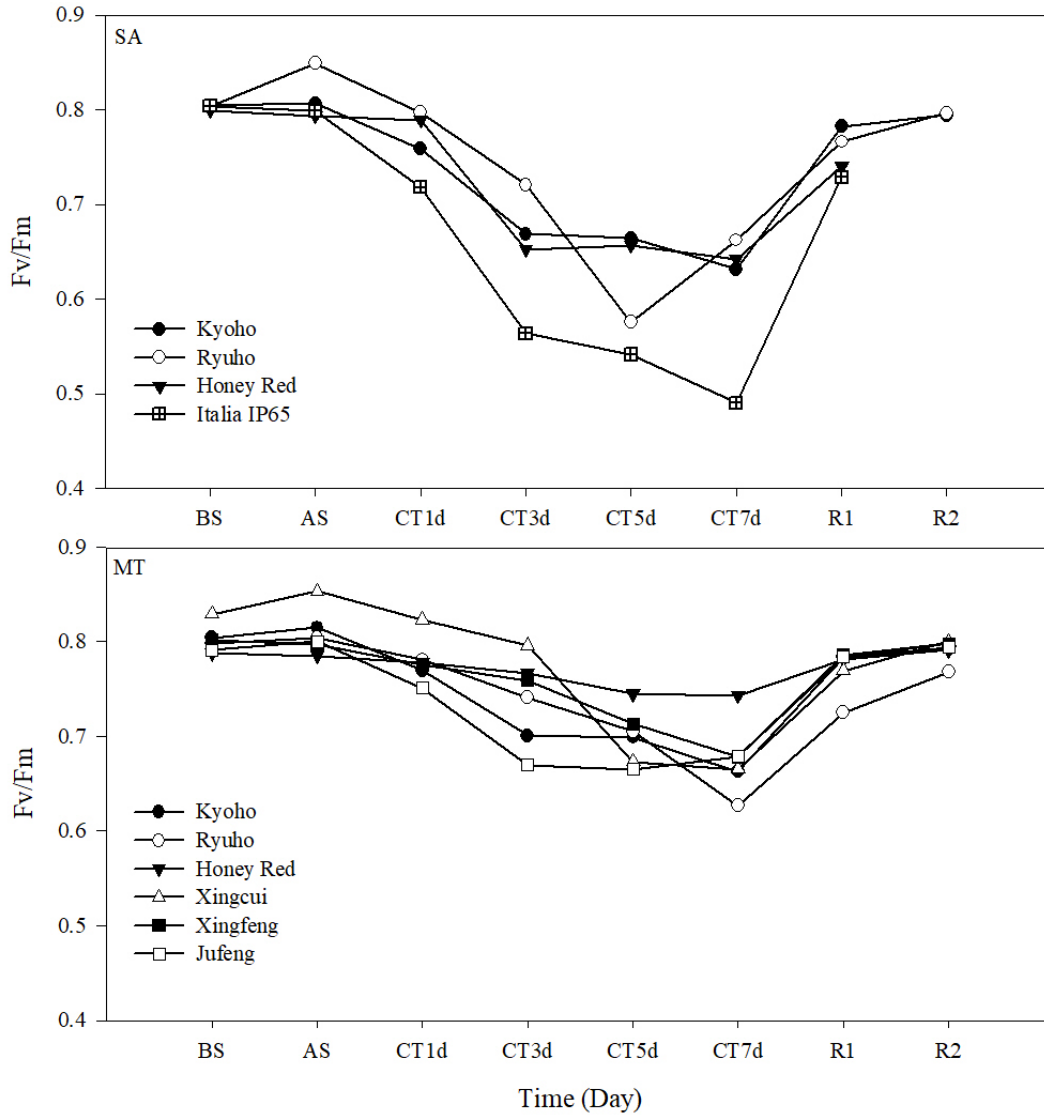


圖 7. 不同品種葡萄經水楊酸或褪黑激素處理後葉片 F_v/F_m 在 $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ 低溫逆境下之變化。

Fig. 7. Changes in chlorophyll fluorescence (F_v/F_m) in SA or MT treated leaves of different grapevine cultivars under $9^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ cold stress for 7 days and following recovery.

BS: before SA and MT spraying; AS: 24 hours after spraying 1 mM SA or 0.05 mM MT; CT: cold treatment; R: recovery at 25°C . Each value represents the mean of three replicates.

討 論

植物於逆境下會激發酵素性及非酵素性的抗氧化機制，來保護細胞免於氧化傷害，透過超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 將超氧陰離子轉化成 H_2O_2 ，隨後過氧化氫酶 (Catalase, CAT)，抗壞血酸過氧化酶 (Ascorbate peroxidase, APX) 及過氧化酶 (Peroxidase, POD) 被啟動，將 H_2O_2 還原成 H_2O (Tzortzakakis *et al.*, 2020)。葉綠體對於環境變動敏感，其中的 PSII 系統功能受損會影響光合作用以及植物生長 (Kratsch and Wise, 2000; Liu *et al.*, 2014; Tzortzakakis *et al.*, 2020)，而葉綠素螢光變化與 PSII 功能之相關性已被許多研究證實 (Gamon and Pearcy, 1989; Groom and Baker, 1992; Epron *et al.*, 1992; Maxwell and Johnson, 2000; Kadir and Michael, 2007)。

本研究結果發現以水楊酸 (SA) 及褪黑激素 (MT) 處理葡萄盆苗在低溫逆境期間可延緩 F_v/F_m 值的下降，然而濃度過高則可能對抵抗低溫逆境無效，甚至造成更嚴重的逆境傷害。前人研究顯示 SA 啟動的相關逆境調節機制可能是藉由提升 H_2O_2 的濃度，在植物體內經由訊號傳導，使其他部位的細胞啟動抵抗逆境的生理反應 (Klessig and Malamy, 1994; Wang and Li, 2006b)。 H_2O_2 在植物逆境中具有訊息傳遞之功能，但也可能傷害細胞 (Mittler, 2002)，推測外施非適當濃度的 SA 後，植物體內多餘的 H_2O_2 如果無法經由抗氧化系統清除，將導致細胞的傷害，最終在低溫逆境下呈現更高的 F_v/F_m 值下降率。Rao 等人 (1997) 施用 5 mM SA 於阿拉伯芥離體葉片，發現 H_2O_2 濃度為 1 mM SA 處理者 1.75 倍，5 mM SA 造成的氧化損傷顯著高於對照組，而 0.1 mM 及 0.5 mM SA 處理組的氧化損傷與對照組並無顯著差異。本研究也發現 1 mM SA 為較適合施用於葡萄的濃度 (圖 1)。經 MT 處理之'竹峰'葡萄盆苗在低溫逆境期間可延緩 F_v/F_m 值的下降，然而各濃度處理間並沒有呈現濃度效應 (圖 2)，推測較低濃度 (0.05 mM) 的 MT 即可啟動葡萄於低溫逆境下的保護作用。而 Zhang 等人 (2017) 以 0.05, 0.1, 0.2 及 0.4 mM MT 處理西瓜， F_v/F_m 值與抗氧化酵素活性在低溫逆境下 (12°C/6°C) 以 0.2 mM MT 處理組顯著高於較低濃度 MT 處理者，效果在一定範圍內則會隨濃度上升而增加。因此，在使用 MT 處理來增加植物抗逆境能力時，均需找到一合適之處理濃度。

'巨峰'及'龍寶' SA 及 MT 處理組的 F_v/F_m 值於低溫逆境下 7 天，與對照組的差異才達到顯著，'龍寶'該時間點的 POD 酵素活性以 MT 處理顯著較高，而'巨峰'則是在前 2 天以 MT 處理即達到顯著較高，同時間維持較高的 F_v/F_m 值，顯示出品種間對外施 SA 及 MT 的反應時間不同。SA 及 MT 處理組與對照組 F_v/F_m 值之差距維持到回溫後，顯示 SA 及 MT 對'巨峰'及'龍寶'在低溫逆境下均有保護效力。本研究中'蜜紅'盆苗施用 SA 與 MT 的試驗中發現，SA 處理在低溫逆境期間 F_v/F_m 值顯著低於對照組與 MT 處理者，顯示對提升'蜜紅'耐低溫逆境而言，MT 可能較 SA 有效。在 POD 酵素活性方面，'蜜紅'在低溫 7 天下無顯著差異，回溫過程中則與'巨峰'及'龍寶'相似，SA 處理組的 POD 活性顯著下降。總結本研究之結果發現，噴施 1 mM SA 後，'蜜紅'與'龍寶'葉片中的 POD 酵素較'巨峰'上升幅度大，且

與對照組呈顯著差異，顯示不同葡萄品種對 1 mM SA 的反應情形不同，此結果與 Tzortzakis 等人 (2020) 以 'Chardonnay' 及 'Xynisteri' 葡萄在高溫逆境初期 POD 活性變化表現相似，前者無顯著差異，後者則高於對照組 1.5 倍，得出抗氧化機制的激活與基因型密切相關之推論。'巨峰' 之 MT 處理者隨低溫逆境時間增長，POD 活性隨之增高，與 'Chardonnay' 及 'Xynisteri' 葡萄在高溫逆境時間增長下，POD 活性上升結果一致 (Tzortzakis *et al.*, 2020)。Feierabend 等人 (1992) 研究發現不同作物在低溫逆境下 POD 活性變化可能不同，玉米及小黃瓜在處理 24 小時低溫後葉片中 POD 活性下降；小黃瓜葉片在低溫處理 2 小時下 POD 活性上升，且在回溫過程中呈現上升的趨勢。MT 處理組在回溫後的 POD 活性皆顯著高於 SA 處理組，有關 MT 對植物抗氧化酶的研究多指出在逆境下會提升抗氧化酶表現 (Hasan *et al.*, 2015; Liang *et al.*, 2018)，然而在回溫過程的情形較少人研究。本研究結果顯示 SA 處理在 '龍寶'、'蜜紅' 及 '巨峰' 葡萄在低溫下及回溫過程中 POD 酶活性無顯著變化，而回溫過程中 MT 處理組的 POD 活性大於 SA 處理組。

SA 處理在 '龍寶' 及 '巨峰' 於低溫逆境下有較顯著的正面影響，在逆境下維持較高的 F_v/F_m 值，而 MT 處理則在 '興翠'、'竹峰'、'巨峰' 以及 '龍寶' 中有顯著的正面影響。本研究證實了不同葡萄品種對溫度逆境的反應差異，以及施用 SA 或 MT 在不同葡萄品種中的最適濃度之差異，因此實際應用上可以用 1 mM SA 或 0.05 mM MT 為基礎濃度，在不同品種中進行試驗調整，以達到較好效果。未來可針對田間葡萄植株進行試驗，在溫度逆境發生前施用 SA 或 MT，測試其是否可有效提升田間葡萄植株之逆境耐受性。

參 考 文 獻

- Bolhar Nordenkamp, H. R., S. P. Long, N. R. Baker, G. Oquist, U. L. E. G. Schreiber, and E. G. Lechner. 1989. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Funct. Ecol.* 3: 497-514.
- Feierabend, J., C. Schaan, and B. Hertwig. 1992. Photoinactivation of catalase occurs under both high- and low-temperature stress conditions and accompanies photoinhibition of photosystem II. *Plant Physiol.* 100: 1554-1561.
- Gamon, J. A. and R.W. Pearcy. 1989. Leaf movement, stress avoidance and photosynthesis in *Vitis californica*. *Oecologia* 79: 475-481.
- Goldammer, T. 2018. Grape grower's handbook. APEX Publishers, USA.
- Groom, Q. J. and N. R. Baker. 1992. Analysis of light-induced depressions of photosynthesis in leaves of a wheat crop during the winter. *Plant Physiol.* 100: 1217-1223.
- Habibi, G. 2012. Exogenous salicylic acid alleviates oxidative damage of barley plants under drought stress. *Acta Biol. Szeged.* 56: 57-63.

- Hasan, M., G. J. Ahammed, L. Yin, K. Shi, X. Xia, Y. Zhou, J. Yu, and J. Zhou. 2015. Melatonin mitigates cadmium phytotoxicity through modulation of phytochelatin biosynthesis, vacuolar sequestration, and antioxidant potential in *Solanum lycopersicum* L. *Front. Plant Sci.* 6: 601. doi:10.3389/fpls.2015.00601
- Kadir, S., M. Von Weihe, and K. Al-Khatib. 2007. Photochemical efficiency and recovery of photosystem II in grapes after exposure to sudden and gradual heat stress. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 132: 764-769.
- Klessig, D. F. and J. Malamy. 1994. The salicylic acid signal in plants. *Plant Mol. Biol.* 26: 1439-1458.
- Kratsch, H. A. and R. R. Wise. 2000. The ultrastructure of chilling stress. *Plant Cell Environ.* 23: 337-350.
- Li, T., Y. Hu, X. Du, H. Tang, C. Shen, and J. Wu. 2014. Salicylic acid alleviates the adverse effects of salt stress in *Torreya grandis* cv. Merrillii seedlings by activating photosynthesis and enhancing antioxidant systems. *PLoS ONE* 9: e109492. doi:10.1371/journal.pone.0109492
- Liang, D., F. Gao, Z. Ni, L. Lin, Q. Deng, Y. Tang, X. Wang, X. Luo, and H. Xia. 2018. Melatonin improves heat tolerance in kiwifruit seedlings through promoting antioxidant enzymatic activity and glutathione S-transferase transcription. *Mol.* 23: 584. doi:10.3390/molecules23030584
- Liu, G. T., L. Ma, W. Duan, B. C. Wang, J. H. Li, H. G. Xu, and L. J. Wang. 2014. Differential proteomic analysis of grapevine leaves by iTRAQ reveals responses to heat stress and subsequent recovery. *BMC Plant Biol.* 14: 110-127.
- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7: 405-410.
- Mullins, M. G., A. Bouquet, and L. E. Williams. 1992. *Biology of the grapevine*. Cambridge University Press, New York.
- Poeggeler, B., R. J. Reiter, R. Hardeland, D. X. Tan, and L. R. Barlow-Walden. 1996. Melatonin and structurally-related, endogenous indoles act as potent electron donors and radical scavengers *in vitro*. *Redox Rep.* 2: 179-184.
- Rao, M. V., G. Paliyath, D. P. Ormrod, D. P. Murr, and C. B. Watkins. 1997. Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress, and H₂O₂-metabolizing enzymes (salicylic acid-mediated oxidative damage requires H₂O₂). *Plant Physiol.* 115: 137-149.
- Tzortzakis, N., A. Chrysargyris, and A. Aziz. 2020. Adaptive response of a native mediterranean grapevine cultivar upon short-term exposure to drought and heat stress in the context of climate change. *Agronomy* 10: 249. doi:10.3390/agronomy10020249

- Wang, L. J. and S. H. Li. 2006a. Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca^{2+} homeostasis and antioxidant systems in young grape plants. *Plant Sci.* 170: 685-694.
- Wang, L. J. and S. H. Li. 2006b. Thermotolerance and related antioxidant enzyme activities induced by heat acclimation and salicylic acid in grape (*Vitis vinifera* L.) leaves. *Plant Growth Regul.* 48: 137-144.
- Zhang, Y. P., S. J. Yang, and Y. Y. Chen. 2017. Effects of melatonin on photosynthetic performance and antioxidants in melon during cold and recovery. *Biol. Plant.* 61: 571-578.
- Zhao, H., K. Zhang, X. Zhou, L. Xi, Y. Wang, H. Xu, T. Pan, and Z. Zou. 2017. Melatonin alleviates chilling stress in cucumber seedlings by up-regulation of CsZat12 and modulation of polyamine and abscisic acid metabolism. *Sci. Rep.* 7: 1-12.

Effect of Exogenous Salicylic Acid and Melatonin on Grapevines under Cold Stress

Ssu-Yu Wang ¹⁾ Ching-Cheng Chen ²⁾

Key words: *Vitis*, Salicylic acid, Melatonin, Cold stress

Summary

In this study, the changes in leaf chlorophyll fluorescence parameter (F_v/F_m) of potted plants of different grapevine cultivars were measured after exposure to a 9°C/5°C (day/night) cold stress for 7 days. The results showed that F_v/F_m declined along with the low temperature treatment. Based on the results, 'Kyoho', 'Honey Red', 'Xingcui', 'Xingfeng', and 'Ryoho' were the relative cold tolerant cultivars; 'Italia IP65' and 'Jufeng' were the relative cold sensitive cultivars. It was found that exogenous application of 1 mM SA or 0.05 mM MT can alleviate the decline of F_v/F_m under low temperature stress. Exogenous SA application induced peroxidase (POD) activity in leaves of 'Kyoho', 'Honey Red', and 'Ryoho' grapevines and the POD activity was significantly higher in leaves of SA-treated 'Ryoho' than the control under cold stress. The POD activity was also significantly higher in leaves of MT-treated 'Kyoho' and 'Ryoho' grapevines than the control under cold stress. In summary, the application of SA and MT needs to be adjusted according to the different responses to cold stress among cultivars to achieve a better result.

1) Student in M.S. program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Assistant professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

Corresponding author.

