

Zadanie 102 Opracowanie genetycznych, fizjologicznych i biochemicznych podstaw tolerancji ogórka na stres niedoboru wody

W roku 2016 badania prowadzono w ramach dwóch tematów badawczych. Celem badań było: (i) ocena parametrów morfologicznych kolejnych 14 linii ogórka pod względem tolerancji/wrażliwości na deficyt wody w fazie kiełkowania nasion oraz w fazie liścieni, (ii) określenie parametrów fizjologicznych w dwóch fazach wzrostu i rozwoju ogórka uprawianego w warunkach stresu suszy oraz optymalnej wilgotności gleby, (iii) porównanie wielkości systemu korzeniowego wybranych linii ogórka w warunkach optymalnego nawadniania oraz suszy glebowej.

Temat badawczy 1

Ocena parametrów fizjologicznych i morfologicznych w różnych fazach wzrostu i rozwoju ogórka uprawianego w warunkach stresu suszy oraz optymalnej wilgotności gleby.

Kontynuowano badania nad poszukiwaniem linii ogórka z tolerancją na stres niedoboru wody zarówno w fazie kiełkowania nasion, jak i w fazie siewek. W tym celu oceniono 14 nowych linii ogórka według metody zoptymalizowanej w roku 2015, stosując 18% PEG₈₀₀₀ obniżający potencjał wody. Wyniki wykazały zróżnicowane reakcje ocenianych linii w odpowiedzi na stres suszy. Trzy linie B 3, SU 12 i B 8 wyróżniły się najlepszymi parametrami kiełkowania w warunkach deficytu wody. Natomiast najdłuższym hypokotylem i systemem korzeniowym oraz największą biomasą siewki odznaczały się linie SU 9 i B 3. Podobnie jak w roku poprzednim, wzrost korzenia był w większym stopniu ograniczony przez PEG niż wzrost hypokotyli. Zdolność kiełkowania nasion ogórka oraz długość korzeni i hypokotyli w fazie siewek były wyraźnie skorelowane z tolerancją lub wrażliwością na stres suszy fizjologicznej.

W fazie rozsady i kwitnienia oceniono parametry fizjologiczne i morfologiczne 8 innych linii ogórka uprawianych w szklarni w warunkach stresu suszy glebowej (-)40 kPa oraz optymalnej wilgotności gleby (-)5 kPa. Deficytowy poziom wilgotności wprowadzono w doświadczeniu I (faza rozsady) od momentu wykształcenia liścieni, natomiast w doświadczeniu II (faza kwitnienia), od pojawienia się inicjalnych pąków kwiatowych w 5. pierwszych węzłach. W trakcie oddziaływania stresu suszy oceniono natężenie fotosyntezy, transpiracji, przewodność szparkową, fluorescencję i zawartość względną chlorofilu. Znacznie większe obniżenie badanych parametrów fizjologicznych obserwowano w fazie kwitnienia niż w fazie rozsady. Spośród ośmiu badanych linii najmniejszą redukcją wszystkich parametrów fizjologicznych charakteryzowały się linie SU 1 i SU 2, które również fenotypowo nie wykazywały objawów wędnięcia, co pozwoliło zaklasyfikować je do linii tolerancyjnych na stres wodny. Natomiast do linii wrażliwych zaliczono linie SU 8 i SU 9, odznaczające się w obu fazach rozwoju znacznym obniżeniem natężenia fotosyntezy, transpiracji i przewodności szparkowej, co świadczy o niskiej zdolności aklimatyzacyjnej ich aparatu fotosyntetycznego do warunków stresu wodnego.

Stres wodny ograniczył wzrost i rozwój roślin wszystkich linii ogórka w fazie rozsady i kwitnienia, czego potwierdzeniem była redukcja wysokości roślin, masy korzenia i części nadziemnej oraz zahamowanie kwitnienia. Spośród ocenianych parametrów morfologicznych, deficyt wody najmniej redukował wzrost rośliny, a najsilniej masę korzenia. Najmniejszy stopień redukcji masy korzenia w stosunku do kontroli stwierdzono u linii PW 1. Zanotowano także, że stres suszy najstąbiej ograniczył kwitnienie u linii SU 2.

Porównano dynamikę wzrostu oraz wielkości systemu korzeniowego 10 linii ogórka rosnących w ryzoboksach w warunkach suszy glebowej oraz optymalnego nawadniania. W trakcie uprawy roślin skanowano ich systemy korzeniowe. Analiza zeskanowanych obrazów z wykorzystaniem programów ImageJ oraz WinRHIZO wykazała różnice w dynamice wzrostu systemów korzeniowych u linii niezależnie od warunków testowania. U trzech linii SU 1, SU 2 i PW 1 niedobór wody stymulował wzrost korzeni odpowiednio o 54, 40 i 34% w porównaniu do kontroli. U pozostałych 7 linii

obserwowano redukcję długości systemu korzeniowego pod wpływem stresu. Po 4 tygodniach badań (faza drugiego liścia) dokonano pomiarów wysokości roślin, powierzchni liścia, świeżej masy korzenia i części nadziemnej roślin. Najmniejszą redukcję wartości tych cech stwierdzono u linii SU 2 i SU 1, co może wskazywać na ich wyższy poziom tolerancji na stres wodny w stosunku do pozostałych linii.

Temat badawczy 2

Oznaczenia wybranych parametrów biochemicznych w reakcji wybranych genotypów ogórka na stres suszy (faza rozsady i kwitnienia)

Celem badań było określenie parametrów biochemicznych związanych z reakcją 8 linii ogórka na stres deficytu wody zadany w fazie rozsady (doświadczenie I) i kwitnienia (doświadczenie II). Stres suszy zadawano w sposób opisany w Temacie Badawczym 1. Niedobór wody utrzymywano przez 7 dni dla fazy rozsady i przez 10 dni dla fazy kwitnienia. Ostatniego dnia trwania suszy oceniono reakcję roślin ogórka na stres spowodowany deficytem wody. W tym celu oznaczono w liściach następujące parametry: względną zawartość wody (RWC), zawartość reaktywnych form tlenu: rodników nadtlenkowego ($O_2^{\cdot-}$) i hydroksylowego (OH^{\cdot}), aktywność enzymów roślinnego układu antyoksydacyjnego (peroksydaza gwajakolowa GPX, dysmutaza ponadtlenkowa SOD, katalaza CAT, peroksydaza askorbinianowa APX) oraz zawartość poliamin (putrescyny PUT, spermidyny SPD, sperminy SPM, kadaweryny CAD).

Stres suszy glebowej wywołał spadek potencjału wody gleby i obniżenie względnej zawartości wody (RWC) w tkankach liści. Największy spadek uwodnienia odnotowano u linii SU 2 zarówno w fazie rozsady, jak i kwitnienia. Deficyt wody w liściach spowodował wzrost poziomu obu reaktywnych form tlenu u wszystkich badanych linii ogórka zarówno w fazie rozsady, jak i kwitnienia, przy czym wzrost ten był wyższy u roślin młodszych niż u roślin starszych. Najwyższy poziom rodnika OH^{\cdot} w stresie suszy i jednocześnie jego największy wzrost względem kontroli zanotowano w fazie rozsady u linii PW 2A, DM 97 i SU 8, natomiast w fazie kwitnienia u PW 1 i PW 2A. Największe podwyższenie poziomu rodnika $O_2^{\cdot-}$ obserwowano w fazie rozsady u linii PW 2A i SU 8, natomiast w fazie kwitnienia u linii SU 8, SU 1 i SU 2.

Stres wodny wpłynął również na zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych: GPX, SOD, CAT, APX. Stwierdzono większy wzrost aktywności oznaczanych enzymów u roślin poddanych działaniu deficytu wody w fazie rozsady w porównaniu do roślin stresowanych w fazie kwitnienia. W fazie rozsady największą aktywność stwierdzono dla APX i GPX u linii SU 2. Znaczny wzrost aktywności GPX wykazały również linie PW 7 i DM 97. Podobnie wysoki wzrost aktywności APX zanotowano u linii SU 8. Aktywność CAT była najwyższa u linii SU 8, SU 9 i PW 1, natomiast poziom SOD u wszystkich linii był na poziomie roślin kontrolnych (niestresowanych). W fazie kwitnienia, stwierdzono obniżenie aktywności oznaczanych enzymów antyoksydacyjnych w stosunku do roślin kontrolnych u większości linii: PW 1, PW 2A, PW 7, DM 97, SU 1. Podobnie jak w fazie rozsady, największy wzrost APX odnotowano u linii SU 2. Wzrost aktywności SOD i CAT obserwowano u linii SU 9 i SU 8. Najniższą aktywność, poniżej poziomu roślin kontrolnych u wszystkich linii, stwierdzono dla GPX.

Deficyt wody spowodował również zróżnicowaną akumulację poliamin w liściach ogórka w obu badanych stadiach rozwojowych. Najwyższy poziom konstytutywny stwierdzono w przypadku SPD, natomiast jej średnia akumulacja po stresie wodnym była najmniejsza w stosunku do innych badanych poliamin. Najwyższą zawartość SPD w warunkach stresu wodnego obserwowano u linii SU 9 w obu badanych fazach rozwojowych. Pomimo, że zawartość konstytutywna SPM była wielokrotnie mniejsza niż SPD, to jednak jej akumulacja po stresie była najwyższa w porównaniu z innymi poliaminami w fazie rozsady. Natomiast w fazie kwitnienia największy wzrost względem kontroli stwierdzono dla KAD. Rozpatrując sumaryczną zawartość poliamin w fazie rozsady nastąpił jej wzrost w stosunku do kontroli u linii PW 1, SU 9, PW 2A, SU 1 i DM 97, natomiast w fazie kwitnienia u SU 1, PW 7, SU 9, DM 97 i SU 2.

Poster prezentowany na międzynarodowej konferencji: XIth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae 2016, Warszawa, 24-28 lipca 2016.

Kłosińska U., Kozik E.U., Treder W., Klamkowski K. 2016. Optimization of testing methods of cucumber for drought tolerance.

Optimization of Testing Methods of Cucumber for Drought Tolerance



Urszula KŁOSIŃSKA, Elżbieta U. KOZIK, Waldemar TREDER, Krzysztof KLAMKOWSKI
Research Institute of Horticulture, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland

Objectives and Materials

Drought is one of the most important abiotic factors that reduce cucumber seed germination and emergence, and as a result, the crop's productivity. We assessed 'Wisconsin SMR 18' for germinability and early seedling growth using three concentrations (15, 18, 25%) of polyethylene glycol 8000 (PEG) to induce the drought stress.

The aim of this study was to optimize the testing methods and to evaluate the drought tolerance in cucumber.

Methods

Germination test

- ✓ three concentrations of PEG₈₀₀₀: 15, 18, and 25%
- ✓ 200 seeds in four replications (50 seeds/replication/dish)
- ✓ square dishes (10x10 cm), lined with two layers of absorbent filter paper saturated with 4 mL of PEG₈₀₀₀ or 4 mL of ddH₂O (control)
- ✓ seed germination (radicles \geq 3 mm) examined daily during seven days of incubation in unlighted incubator set at 25 \pm 1°C
- ✓ data were expressed as energy of germination (GE), germination index (GI), and mean number of days to germination (DTG)

Seedling test

- ✓ growth chamber set at 24/20 \pm 1°C day/night under a 12 h photoperiod
- ✓ three concentrations of PEG₈₀₀₀: 15, 18, and 25%
- ✓ 50 germinated seeds (radicle \geq 10 mm) were placed on filter paper in each dish saturated with 5 mL PEG₈₀₀₀ or 5 mL ddH₂O (control)
- ✓ seedlings growth was scored after seven days using a camera image and the WinRHIZO program (Regent Instruments, Québec, Canada)
- ✓ measurements of entire root systems (main and lateral) and hypocotyl length were provided on scanned images of seedlings

Results

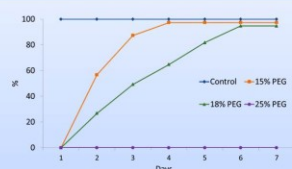


Figure 1. Energy of germination of cucumber 'Wisconsin SMR 18' under the control treatment (H₂O) and under 15, 18, and 25% PEG treatment

Table 1. Germination ability of cucumber 'Wisconsin SMR18', after 7 days under control treatment (H₂O) and under 15, 18, 25% PEG₈₀₀₀ treatment

Treatment	Germination index (GI)	Days to germination (DTG)
Control	25 a	1.0 d
15% PEG	10.1 b	2.5 c
18% PEG	7.9 b	3.7 b
25% PEG	0.0 c	7.0 a

Means followed by the same letter within each column are not significantly different at $P = 0.05$.

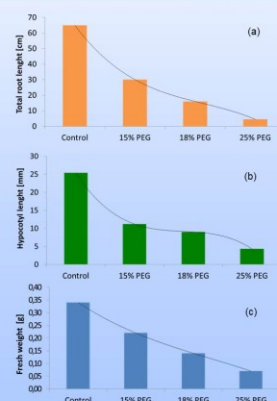
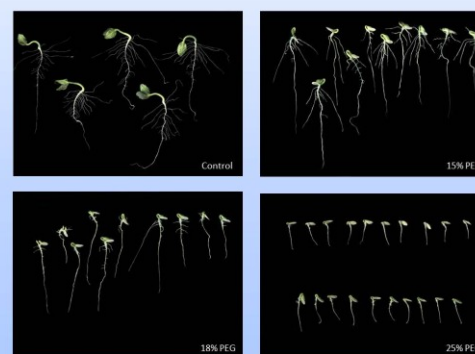


Figure 2. Total root length (a), hypocotyl length (b), and fresh weight (c) of seedlings of cucumber 'Wisconsin SMR 18'. Data taken after 7 days under the control treatment (H₂O) and under 15, 18, and 25% PEG treatment



Influence of three concentrations PEG on seedlings growth of cucumber 'Wisconsin SMR 18', in comparison with the control treatment (H₂O)

Results and Conclusions

Significant influence of PEG concentration on the germination percentage, root length, hypocotyl length, and fresh weight was obtained. All values decreased with increasing PEG concentration. Differences in germination ability were noticed regarding following parameters: energy of germination (GE), germination index (GI), and mean number of days to germination (DTG) (Figure 1, Table 1). No significant differences for germinability was noticed under 15% PEG treatment in comparison with the control conditions (H₂O). However, 25% PEG treatment completely inhibited germination of 'Wisconsin SMR 18'. PEG 15, 18, and 25%, limited the root growth by 54, 75, and 93% respectively (Figure 2a). The smallest losses in fresh weight were observed under 15% PEG treatment (Figure 2c).

The level of drought stress at 18% PEG defined in this study as most suitable for differentiating drought tolerance of cucumber genotypes, will be used in the subsequent search for sources of this trait.

Streszczenie w materiałach z międzynarodowej konferencji: XIth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae 2016, Warszawa, 24-28 lipca 2016.

Kłosińska U., Kozik E.U., Treder W., Klamkowski K. 2016. Optimization of testing methods of cucumber for drought tolerance.

[P42] Optimization of Testing Methods of Cucumber for Drought Tolerance

Urszula Kłosińska, Elżbieta U. Kozik, Waldemar Treder, and Krzysztof Klamkowski

Research Institute of Horticulture, Skierniewice, Poland

Drought is one of the most important abiotic factors that reduces cucumber seed germination and emergence and, as a result, crop productivity. The aim of this study was to optimize the testing methods and to evaluate drought tolerance in cucumber. We assessed 'Wisconsin SMR 18' for germinability and early seedling growth using three concentrations (15, 18, and 25%) of polyethylene glycol 8000 (PEG) to induce the drought stress. The results showed a significant influence of PEG concentration on germination percentage, root length, hypocotyl length, and fresh weight. All values decreased with increasing PEG concentration. Differences in germination ability were noticed regarding the following parameters: energy of germination (GE), germination index (GI), and mean number of days to germination (DTG). No significant differences for germinability were noticed under the 15% PEG treatment in comparison with the control conditions (H₂O). However, 25% PEG treatment completely inhibited germination of 'Wisconsin SMR 18'. Our findings showed that PEG 15, 18, and 25% limited root growth by 54, 75, and 93%, respectively. The smallest losses in fresh weight were observed under the 15% PEG treatment. The level of drought stress defined in this study as most suitable for differentiating drought tolerance of cucumber genotypes, 18% PEG, will be used in the subsequent search for drought-tolerant cucumber germplasm.

Poster prezentowany na międzynarodowej konferencji: XIth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae 2016, Warszawa, 24-28 lipca 2016.

Kłosińska U., Kozik E.U., Treder W., Klamkowski K. 2016. Differential effects of drought stress on germination and seedling growth of cucumber accessions.

Differential Effects of Drought Stress on Germination and Seedling Growth of Cucumber Accessions



Urszula KŁOSIŃSKA, Elżbieta U. KOZIK, Waldemar TREDER, Krzysztof KLAMKOWSKI

Research Institute of Horticulture, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland

Objectives and Materials

The objective of this study was to search for and identify sources of drought tolerance in cucumber germplasm, based on seed germination and growth of young seedlings subjected drought stress. We screened 16 cucumber accessions. Four of them, PW 2, PW 2A, SU 2 and DM 97, were bred at the Research Institute of Horticulture, Skierniewice, Poland and the remaining ones were obtained from the NCRPIS, Ames, Iowa, U.S.A.

Methods

Germination Test

Germination testing was conducted in an unlighted incubator set at 25±1°C. For each of the 16 accessions, 200 seeds in four replicates (50 seeds/replication/dish) were placed in square dishes (10x10 cm), lined with two layers of absorbent filter paper saturated with 4 mL of 18% PEG₈₀₀₀ or 4 mL of ddH₂O (control). Seeds were considered germinated when the radicle had extended for at least 3 mm. Seed germination was observed and recorded daily for seven days. Data were expressed as energy of germination (GE), germination index (GI), and mean number of days to germination (DTG).

Seedling Test

Seedling growth tests were conducted in a growth chamber set at 24±1°C under a 12 h photoperiod. For each of the 16 accessions, 50 germinated seeds (radicle ≥10 mm) were placed on filter paper in each dish saturated with 5 mL 18% PEG₈₀₀₀, while for the control 5 mL ddH₂O were added. For each accession under each condition (stress or control), three independent biological replicates of one dish were scored after seven days using a camera image and the WinRHIZO program (Regent Instruments, Québec, Canada). Measurements of entire root systems (main and lateral) and hypocotyl length were provided on scanned images of seedlings.

Results

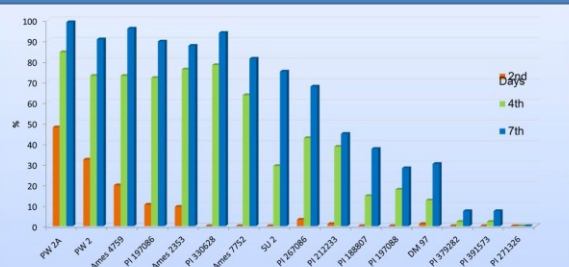


Figure 1. Energy of germination at 18% PEG of 16 cucumber accessions



Germination ability of three cucumber accessions after 7 days under 18% PEG treatment

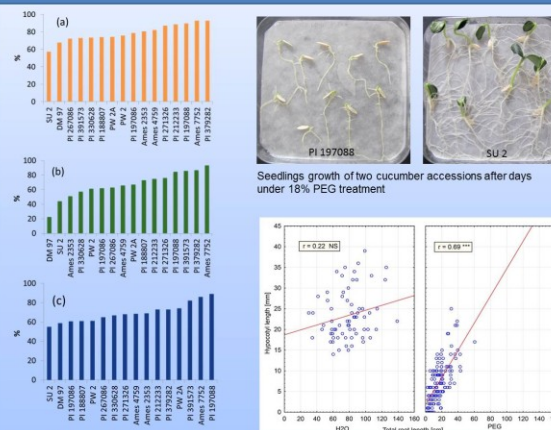
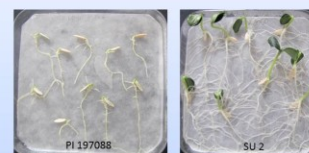


Figure 2. Percent decrease in total root length (a), hypocotyl length (b), and fresh weight (c) under the 18% PEG treatment in comparison with the control treatment (H₂O).



Seedlings growth of two cucumber accessions after days under 18% PEG treatment

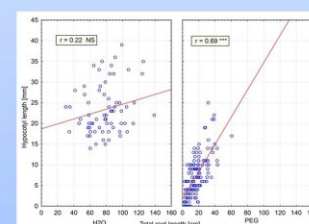


Figure 3. Correlation between total root and hypocotyl length for 16 cucumber accessions grown under control treatment (H₂O) and under 18% PEG treatment.

Conclusions

- Seed germination, fresh weight, and root and hypocotyl length can be used as traits for rapid selection of drought-tolerant genotypes of cucumber
- Three accessions: Ames 4759, PW 2, and PW 2A, expressed the highest germination ability under PEG-induced drought stress
- The accessions SU 2 and DM 97 had the highest drought tolerance level at the seedling stage
- Mechanisms mediating drought-stress tolerance during germination are probably different from those that mediate drought-stress tolerance of seedlings
- The most tolerant and most sensitive genotypes might prove useful for elucidating the genetic mechanism(s) of drought tolerance in cucumber
- The accessions identified as possessing drought tolerance are potentially useful in breeding programs directed toward drought tolerance in cucumber

Załącznik 4

Publikacja w Proceedings z międzynarodowej konferencji XIth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae 2016, Warszawa, 24-28 lipca 2016.

Kłosińska U., Kozik E.U., Treder W., Klamkowski K. 2016. Differential effects of drought stress on germination and seedling growth of cucumber accessions. In: Kozik E.U., Paris H.S. (eds) Proceedings of Cucurbitaceae 2016. Warsaw: 217-221.

Publikacja dostępna na stronie:

www.inhort.pl/files/konferencje_2016/cucurbitaceae/Conference%20proceedings%20book.pdf

e-mail autora do korespondencji: elzbieta.kozik@inhort.pl