نموذج رقم (٤)

Name of Candidate : Amira Hassan Mohamed Hassan
Degree : Ph.D. Agric. Sci.
Title of Thesis : Biochemical studies on root exudates of some wheat cultivars
Supervisors : Prof. Dr. Abdel-Moneim Youssef Ibrahim
Prof. of Biochemistry, Faculty of Agric., Cairo University.
Prof. Dr. Osama Mohamed Abdel-Fatah
Prof. of Biochemistry, Faculty of Agric., Cairo University.
Prof. Dr. Nadia Omar Monged
Senior Researcher in Soil, Water and environmental Research Institute, Agric Res. Center, Giza
Department : Biochemistry

Approval : / / 2004

ABSTRACT

The objectives of this work were to study the root exudates secreted by six indigenous wheat cultivars as they grow under iron stress and assessing some biochemical parameters as a tool to evaluate their efficiency to absorb and utilize iron besides ensuring their efficiency through subjecting them to extra imposed iron stress. Some morphological and yield components were implicated to picture their capability to grow under such case. Three experiments were conducted; one in vitro, using nutrient solutions and two in vivo; using greenhouse pot experiments. The nutrient solutions comprised three sets: a) Complete nutrient solution having the recommended dose of iron; 1.12 μgg^{-1} FeEDDHA (+Fe), b) Complete nutrient solution having 0.56 μgg^{-1} FeEDDHA (+1/2Fe), c) Complete nutrient solution-free of iron application (-Fe). The first pot experiment was executed using a highly calcareous soil (29.7% $CaCO_3$) where the studied cultivars were grown under 3 different levels of iron 0, 0.55 and 1.11 g FeEDDHA/pot; 7 kg each. The second pot experiment was conducted using the same soil but received heavily application of phosphorus (60 $mgKg^{-1}$) and normal basal dressing of nitrogen and potassium. From the nutrient solution experiment, it could be concluded that under iron stress, the release of phenolic compounds, total soluble sugars, total amino acids and phytosiderophores (PS), by the roots of the studied cultivars, was prominent. Presence of iron in the growing media alleviated the exuded amounts of these compounds. Based on the amounts of those root exudates; released after 20 days of plant growth under iron deficiency, differentiation among wheat cultivars could be attained. Sids-1, sakha-69 and Giza-164 were considered Fe-efficient cultivars. Nonetheless, Giza-157, Sids-7 and Sakha-8 were Fe-inefficient cultivars.

The data of the first pot experiment revealed that Sids-1, Giza-164 and Sakha-69 cultivars grown on Fe-unfertilized soil gave slightly higher number of tillers. These cultivars also exhibited longer root lengths in comparison to the other investigated cultivars. The dry weights of 1000 grains of the studied cultivars grown under such treatment could be arranged : Sids-1 > Sakha-69 ≥ Giza-164 > Giza-157 ≥ Sids-7 > Sakha-8. This reflected the capability of the former three cultivars to grow under iron stress. The yield of the studied cultivars was amounted due to iron applications. The data proposed some useful tools to be used to distinguish among wheat genotypes in their efficiency to grow under iron stress. These tools were chlorophyll A, active iron, catalase and peroxidase activities; in the leaves.

The obtained data of such in vivo experiment matched well with those inferred with in vitro experiment, in terms of wheat cultivars efficiencies.

The results of the second pot experiment ascertained the superiority of Sids-1, sakha-69 and Giza-164 to grow under multiple iron stress, imposed through intensive phosphorus applied to calcareous soil. Despite such unfavourite conditions; their yields were comparatively higher than those recorded for Giza-157, Sids-7 and Sakha-8.

نموذج رقم (٤)

إسم الطالب : أميرة حسن محمد حسن
الدرجه : دكتوراة الفلسفة في العلوم الزراعيه (كيمياء حيوية)
عنوان الرسالة : دراسات كيميائية حيوية علي إفرازات جذور بعض أصناف القمح
المشرفون :
أ.د / عبد المنعم يوسف إبراهيم أستاذ الكيمياء الحيوية ، كلية الزراعة – جامعة القاهره
أ.د/ اسامة محمد عبد الفتاح أستاذ الكيمياء الحيوية ، كلية الزراعة – جامعة القاهره
أ.د / نادية عمر منجد رئيس بحوث – معهد بحوث الأراضي والمياه – مركز البحوث الزراعية –الجيزة.

قسم : الكيمياء الحيوية تاريخ منح الدرجه : / /٢٠٠٤

الموجز العربي

لقد كانت أهداف هذا العمل دراسة إفرازات جذور ستة اصناف قمح محلية عندما تنمو تحت ظروف إجهاد الحديد وتقييم بعض المعايير الكيميائية الحيوية كأدوات لتقييم كفاءتها للإستفادة من الحديد إلي جانب تأكيد تلك الكفاءة من خلال تعريضها لظروف إجهاد نقص زائد للحديد ولإظهار ذلك الأمر فإن بعضاً من القياسات المورفولوجية والخاصة بالمحصول قد قدرت.

أجريت ثلاث تجارب إحداها في المعمل بإستخدام محاليل مغذية ، واثنين في أصص في الصوبة. المحاليل المغذية المستخدمة إشتملت علي ثلاث مجموعات :

أ) محلول مغذي كامل يحتوي علي الحديد بالكمية الموصي بها في صورة مخلبية FeEDDHA وبتركيز ١,١٢ جزء في المليون (Fe+)

ب) محلول مغذي كامل يحتوي علي الحديد بتركيز ٠,٥٦ جزء في المليون (1/2Fe)

ت) محلول مغذي كامل خالي من الحديد (Fe-)

أجريت تجربة الأصص الأولي بإستخدام تربة جيرية عالية المحتوي من كربونات الكالسيوم (٢٩,٧%) حتي نميت فيها اصناف القمح تحت ثلاث مستويات من الحديد صفر ، ٠,٥٥ ، ١,١١ جرام FeEDDHA/أصيص (٥٧كجم).

أما تجربة الأصص الثانية فقد أجريت بإستخدام نفس التربة الجيرية حيث سمدت بالمعدل الموصي به من النتروجين والبوتاسيوم ولكن أضيف لها الفوسفور بمعدل كبير (٦٠ جزء في المليون).

من نتائج تجربة المحلول المغذي أمكن إستنتاج أنه حدث إنطلاق للمركبات الفينولية والسكريات الذائبة والأحماض الأمينية ومركبات الفيتوسيدروفورز بصورة واضحة من جذور أصناف القمح عند غياب عنصر الحديد وأن إضافة ذلك العنصر أدي لإنخفاض الكميات المنطلقة من تلك المركبات.

إستناداً علي الكميات المفرزة من جذور أصناف القمح من تلك المركبات فإن المفاضلة بين أصناف القمح يمكن تحقيقها تحت ظروف نقص عنصر الحديد.

أمكن إعتبار أصناف سدس ١ ، سخا ٦٩ وجيزة ١٦٤ أصناف ذات كفاءة بالنسبة للإستفادة من الحديد بينما أصناف جيزة ١٥٧ وسدس ٧ وسخا ٨ فإنها غير ذات كفاءة.

أظهرت نتائج تجربة الأصص الأولي أن أصناف القمح سدس ١ ، جيزة ١٦٤ وسخا ٦٩ النامية في تربة غير ممسدة بالحديد تعطي تفريعاً أكثر قليلاً من بقية الأصناف ، كما أن أطوال جذورها كان يفوق نظائرها من الأصناف الأخري.

من تقدير محصول ١٠٠٠ حبة لأصناف القمح أمكن ترتيبها كما يلي :

سدس ١ > سخا ٦٩ ≥ جيزة ١٦٤ > جيزة ١٥٧ ≤ سدس ٧ > سخا ٨

وهذا عكس مقدرة الثلاث أصناف الأولي للنمو تحت ظروف إجهاد نقص الحديد. تبين أن محصول أصناف القمح تحت الدراسة يزداد نتيجة لإضافة الحديد.

إقترحت النتائج إستخدام بعض المقاييس الجديدة للتعرف علي مقدرة أصناف القمح للنمو تحت ظروف إجهاد نقص الحديد وهي كلوروفيل (أ) ، الحديد النشط ، نشاط إنزيم الكتاليز وكذلك إنزيم البيروكسيديز.

تبين أن نتائج التجربة المعملية يتماشي بصورة مرضية مع نتائج تجربة الأصص فيما يخص كفاءة أصناف القمح.

أكدت نتائج تجربة الأصص الثانية تفوق أصناف سدس ١ ، سخا ٦٩ وجيزة ١٦٤ علي النمو تحت ظروف الإجهاد الزائد من الحديد حيث بالرغم من تلك الظروف إلا أن تلك الأصناف أعطت محصولاً يفوق نظيره المسجل لأصناف جيزة ١٥٧ ، سدس ٧ وسخا ٨.

Contents

	Page
INTRODUCTION	1
REVIEW OF LITERATURE	4
1. Some factors affecting iron defieiency and its availability in soil	4
2. Metal eomplexation reactions in the soil	13
2.1. Biochemical chelating agents in soil	15
2.1.1. Low molecular weight organic acids	16
2.1.2. Hydroxamate siderophores	16
2.1.3. Polyphenols and phenolic acids	17
2.2. Artificial metal chelates	17
3. Efficiency of eultivars to take up some micronutrients	18
4. Root exudates	20
4.1. Phenolic eompounds	21
4.2. Soluble sugars	23
4.3. Amino acids	24
4.4. Phytosiderophores	25
4.5. Organie acids	35
5. Morphological changes of plant as related to micronutrients additions	38
6. Yield response to some micronutrients	40
7. Biochemical reactions of plant related to iron deficiency	45
7.1. Amino acid content and iron deficiency	45
7.2. Chlorophyll content and iron deficiency	47
7.3. Enzyme activity and iron deficicncy	50

Page

MATERIALS AND METHODS..... 52

I- Nutrient solution experiment..... 52

1-1 Plant cultivation..... 52

1-2 Root exudates collection..... 54

1-3 Biochemical analysis of root exudates of wheat plant..... 56

1-3-1 Determination of phenolic compounds..... 56

1-3-2 Determination of total soluble sugars..... 57

1-3-3 Determination of total amino acids..... 58

1-3-4 Determination of phytosiderophores (PS)..... 58

1-4 Analyses of some organic substances in shoots and roots 59

1-4-1 Extraction and determination of phenolic compounds in plant parts... 59

1-4-2 Extraction and determination of total soluble sugars in plant parts..... 60

1-4-3 Extraction and determination of total amino acids in plant parts..... 60

1-5 Determination of some nutrients in wheat plant..... 60

1-5-1 Determination of some micronutrients..... 61

1-5-2 Determination of phosphorus..... 61

1-5-3 Protein content in shoots..... 61

II- Pot experiments..... 61

II-1 Soil analysis..... 61

II-2 The first pot experiment..... 63

II-2-1 Biochemical analyses of wheat plant grown under different levels of iron application..... 65

II-2-1-1 Assay of enzyme activities..... 65

II-2-1-2 Determination of active iron in plant leaves..... 70

Page

II-2-1-3 Determination of chlorophyll a, b content and carotene..... 71

II-2-1-4 Determination of total hydrolysable carbohydrates in grains 72

II-2-1-5 Determination of some macronutrients in grains..... 72

II-3 The second pot experiment..... 73

III- Statistical analysis..... 74

RESULTS AND DISCUSSION..... 75

I- Nutrient solution experiment..... 75

A- Biochemical compounds of root exudates detected after 20 days of planting the studied wheat cultivars 77

A-1 Phenolic compounds..... 77

A-2 Total soluble sugars..... 81

A-3 Total amino acids..... 81

A-4 Total phytosiderophores compounds (PS)..... 87

B- Accumulation of some biochemical compounds in shoots and roots of wheat cultivars grown in the nutrient solution 90

B-1 Total phenolic compounds in the shoots and the roots..... 90

B-1 Total soluble sugars in the shoots and the roots..... 94

B-3 Total amino acids in the shoots and the roots..... 94

C- Content of some nutrients in the shoots and the roots of wheat cultivars..... 99

C-1 Iron concentration in the shoots and the roots..... 99

C-2 Zinc concentration in the shoots and the roots..... 102

C-3 Manganese concentration in the shoots and the roots..... 104

C-4 Copper concentration in the shoots and the roots..... 104

C-5 Phosphorus concentration in the shoots and the roots..... 107

Page

D- Protein content in shoots..... 107

II- Pot experiments..... 113

A- The first pot experiment 113

A-1 Effect of iron levels on plant height, root length and dry weight of shoots at different growth stages of wheat cultivars grown on calcarcous soil..... 113

A-1-1 Plant height..... 113

A-1-2 Root length..... 117

A-1-3 Dry weight of shoots..... 119

A-1-4 Effect of iron levels on some yield components of wheat cultivars grown on calcareous soil..... 122

A-1-4-1 Number of tillers..... 122

A-1-4-2 Number of spikes..... 126

A-1-4-3 Dry weight of spikes..... 126

A-1-4-4 Dry weight of straw..... 127

A-1-4-5 Dry weight of 1000 grains..... 128

A-2 Influence of iron supply on some biochemical compounds and active iron in shoots at different growth stages of wheat cultivars grown on calcareous soil..... 129

A-2-1 Pigments content in the leaves of wheat cultivars..... 129

A-2-1-1 Chlorophyll..... 129

A-2-1-2 Carotenoids content..... 134

A-2-2 Active iron..... 136

A-2-3 Catalase and peroxidase activities at different growth stages in the leaves of wheat eultivars grown on caleareous soil under various levels of iron..... 143

Page

A-2-3-1 Catalase..... 143

A-2-3-2 Peroxidase..... 147

A-3 Some mineral contents, erude protein and carbohydrates in the grains of wheat cultivars grown in calcareous soil under different levels of applied iron..... 148

A-3-1 Nitrogen..... 148

A-3-2 Phosphorus..... 152

A-3-3 Potassium..... 153

A-3-4 Crude proteins pereentage in the grains..... 154

A-3-5 Total hydrolysable carbohydrate percentage ion the grains 157

B- The second pot experiment..... 159

B- Some morphological features and yield parameters of wheat cultivars grown on calcareous soil; intensively fertilized with phosphorus 159

B-1 Plant height..... 160

B-2 Number of tillers..... 160

B-3 Dry weight of shoots..... 165

B-4 Dry weight of roots..... 165

B-5 Yields of spikes and straw..... 165

SUMMARY..... 167

REFERENCES..... 183

ARABIC SUMMARY.