

**BIOCHEMICAL STUDIES ON NAKED BARLEY  
(*Hordeum vulgare*) GROWN UNDER DIFFERENT  
SALINE CONDITIONS AND GROWTH  
REGULATORS**

**BY**

**AMR RAMADAN HUSSEIN HASSAN**

B.Sc. Agric. Sc. (Agric. Biochemistry), Ain Shams University, ١٩٩٩

A thesis submitted in partial fulfillment  
of

the requirements for the degree of

**MASTER OF SCIENCE**

**In**

**Agricultural science  
(Agricultural Biochemistry)**

**Department of Agric. Biochemistry**

**Faculty of Agriculture**

**Ain Shams University**

Approval Sheet

**BIOCHEMICAL STUDIES ON NAKED BARLEY  
(*Hordeum vulgare*) GROWN UNDER DIFFERENT  
SALINE CONDITIONS AND GROWTH  
REGULATORS**

**BY**

**AMR RAMADAN HUSSEIN HASSAN**

B.Sc. Agric. Sc. (Agric. Biochemistry), Ain Shams University, ١٩٩٩

**This thesis for M. Sc. degree has been approved by:**

**Prof. Dr. Assem Fathy Mahmoud Al-Magraby** .....

Prof. of Agric. Biochemistry, Fac. of Agric. El-Azhar University

**Prof. Dr. Kamal Roshdy Fouad Hussein** .....

Prof. Emeritus of Agric. Biochemistry, Fac. of Agric. Ain Shams  
University

**Dr. Mostafa Ibrahim Sarwat** .....

Associate Prof. of Agric. Biochemistry, Dep. of Agric. Biochemistry,  
Fac. of Agric. Ain Shams University.

**Prof. Dr. Mohammed Abd El-Rahman Shatla** .....

Prof. of Agric. Biochemistry, Fac. of Agric. Ain Shams University

**Date of examination:** ٨ / ٤ / ٢٠٠٧

**BIOCHEMICAL STUDIES ON NAKED BARLEY  
(*Hordeum vulgare*) GROWN UNDER DIFFERENT  
SALINE CONDITIONS AND GROWTH  
REGULATORS**

**BY**

**AMR RAMADAN HUSSEIN HASSAN**

B.Sc. Agric. Sc. (Agric. Biochemistry), Ain Shams University, ١٩٩٩

**Under the supervision of:**

**Prof. Dr. Mohammed Abd El-Rahman Shatla**

Prof. of Agric. Biochemistry, Dep. of Agric. Biochemistry, Fac. of  
Agric. Ain Shams University.

**Dr. Mostafa Ibrahim Sarwat**

Associate Prof. of Agric. Biochemistry, Dep. of Agric. Biochemistry,  
Fac. of Agric. Ain Shams University.

**Prof. Dr. Hosny Abo El-Ezz Sallam**

Prof. of Agric. Biochemistry, Dep. of Plant Genetic Resources,  
Desert Research Center.

## ACKNOWLEDGEMENT

Praise be to Allah in the present life and at the Hereafter

The writer wishes to express his deepest gratitude to **Prof. Dr. Mohammed Abd El-Rahman Shatla** Prof. of Agric. Biochemistry, Department of Agricultural Biochemistry, Faculty of Agriculture, Ain Shams University for his supervision, kind help, patience, valuable suggestion and encouragement during the course of this investigation.

The author wishes also to express his deepest thanks to **Prof. Dr. Hosny Abo El-Ezz Sallam** Prof. of Agricultural Biochemistry, Department of Plant Genetic Resources, Desert Research Center, for guiding, valuable cooperation and criticism.

Much appreciation is also expressed to **Dr. Mostafa Ibrahim Sarwat** Associate Prof. of Agricultural Biochemistry, Department of Agricultural Biochemistry, Faculty of Agriculture, Ain Shams University, for his supervision, assistance, guidance and cooperation during the course and the writing of this work.

Special thanks is presented to the soul of the forgiven (God willing) **Prof. Dr. Fathee Abd El-Naeem** Prof. of Agric. Biochemistry, Department of Agricultural Biochemistry, Faculty of Agriculture, Ain Shams University for his guidance, valuable advice and efforts which had not been accomplished by him

## ABSTRACT

**Amr Ramadan Hussein Hassan. Biochemical studies on naked barley (*Hordeum vulgare*) grown under different saline conditions and growth regulators. Unpublished M. Sc. Thesis, Biochemistry Department, Faculty of Agriculture, Ain Shams University, ٢٠٠٧.**

Two field experiments were carried out during two seasons (٢٠٠٢/٢٠٠٣ and ٢٠٠٣/٢٠٠٤) at Ras-Sudr Agricultural Experimental Station, South Sinai on three genotypes of barley (*Hordeum vulgare* L.), namely one covered (hulled) cultivar (Giza-١٢٣) and two hull-less barley lines (Line-١ & Line-٢), to evaluate the effect of variable salinity of irrigation water and foliar application of indole acetic acid (IAA) and ethephon (٢-chloroethylphosphonic acid) individually and “both together” on barley genotypes as well as the efficiency of incorporating their flours with wheat flour into balady bread making.

Results proved that, plant growth regulators (PGRs) treatments affected growth traits with different significant responses referring to the used plant growth regulators/genotypes interaction. For all genotype, IAA recorded the highest increments for plant height in the ٢<sup>nd</sup> growth stage, whereas the other treatments recorded the highest increments in both the ١<sup>st</sup> and the ٢<sup>nd</sup> growth stages, meanwhile the mixture of (IAA+ Ethephon) treatment recorded the highest values in the ١<sup>st</sup> and ٢<sup>nd</sup> growth stages for both fresh and dry weight/plant. Concerning the no. of tillers/plant, Ethephon and (IAA+Ethephon) treatments showed the highest values at low salinity level at the ١<sup>st</sup> growth stage. Whereas at the ٢<sup>nd</sup> growth stage (IAA+Ethephon) treatment showed the highest values for the same parameter at low salinity level, at high salinity level, IAA recorded the highest value of n<sup>o</sup> of tillers/plant, compared to control one at low salinity level.

IAA alone slightly affected chlorophyll a, b & carotenoids contents at the ١<sup>st</sup> growth stage, while, at the ٢<sup>nd</sup> growth stage, IAA treatment on Giza-١٢٣ and Line-١ genotypes, significantly enhanced the mean contents of chlorophyll a and carotenoids, both under low salinity level. Increasing salinity level was followed by a gradual increase in total content of amino acid in shoots specially proline. There is no significant effect of all PGRs treatments on the used three genotypes at high salinity level, specially the number of polypeptides.

Otherwise, the absence of some polypeptides in addition to the other obtained results may be a part of metabolic adjustment modifications in response to salt/PGR treatment in addition to genetic background interaction.

The changes in pigment content by using PGRs treatment under salinity conditions depended markedly on the sensitivity degree of the genotypes (Giza-123 & Line-1 more tolerant than Line-2), growth stage under salt stress (1<sup>st</sup> growth stage more effective than 2<sup>nd</sup> one) and the kind of PGR treatment. Also, IAA may be used to avoid barley plant under salt stress conditions, furthermore, the use of Ethephon in a mixture with IAA more effective under high salinity levels than Ethephon alone.

Increasing irrigation water salinity led to reduction in terms of biological, grain and straw yields. However, each of IAA and Ethephon raised slightly grain yield. Meanwhile, Giza-123 recorded the highest yields followed by Line-1.

Determination of ash and crude protein content in the resultant grains showed increasing ash content in the naked genotypes and a decrease in Giza-123 ash with increasing salinity, but the later was higher in ash content than the naked genotypes. On contrary, crude protein content of grains was negatively affected by increasing salinity and Line-2 was the highest crude protein content.

Composite flour blends of each of the three barley genotypes and wheat flour (Giza 168) were used at a ratio of 30 : 70 (w/w) for each. The influence of barley flour substitution on bread quality was examined. The substitution of wheat flour altered the bread loaf diameter, color and loaf texture. The changes were found to be dependent on the barley genotype. Barley flours from all genotypes increased dough water absorption property, causing variable developing time. Blends with Line-2 recorded the highest developing time. Incorporating barley had no effect with Giza-123 flour from both salinity levels, while the dough with naked barley lines flour increased its stability. Dough resulted from composite flours gave less weakening values ranging between 90, for blends containing Giza-123 or Line 1 flour, and 100 B.U. for the blend containing flour of Line-2 both obtained from low salinity tolerant. Dough extensibility of most blends was less extensible ranging from 70 to 80 mm comparing with wheat. Adding barley genotypes flours to wheat flour (cv. Giza-

١٦٨) resulted in an increase of elasticity, except that of the blend containing flour of Giza-١٢٣ (covered, from low salinity level), which had less elasticity (٢٧٥ B.U.) as compared with wheat (٢٧٥ B.U.). Dough proportional number was maximized by adding barley flour in all dough's formula except for control sample. In other hand, blends containing barley flour had less energy dough. Loaves diameters from blends containing barley flours were higher than that of loaves from wheat alone. The highest mean loaf weight was achieved by (Wh+HL١) blend, while the lowest one was that of (Wh+ MG) blend. Color of balady bread top layer (crust) showed slight difference throughout the samples, except those of (Wh+ML١) and (Wh+HL٢), which were significantly lower than control. Color of bread inner layer (crumb), for blends containing barley flours, showed significant darker color than that of wheat, except bread that contained flour of Line-٢ resulting from both salinity tolerant types. Loaves textures, which contained barley flours, clearly differed from that of wheat. Bread odor and taste were slightly different from those contained barley flours. General appearance of different breads took the same trend-like odor and taste; however general appearance of (Wh+ML١) and (Wh+HL٢) had a significant lower scores, while blend of (Wh+ML٢) recorded a very good score same as control and may be acceptable as balady bread.

**Key words: naked barley, salinity, growth regulators, IAA, ethephon, substitution, balady bread**

## الملخص العربي

تم زراعة ثلاثة تراكيب وراثية من الشعير هي (الصنف المغطى ١٢٣-Giza مع سلالتين عاريتين هما Line-١, Line-٢) في موسمين متتاليين (٢٠٠٢/٢٠٠٣, ٢٠٠٣/٢٠٠٤) بمحطة بحوث رأس سدر- جنوب سيناء لتقييم درجة مقاومة الملوحة في مرحلتين نمو خضري (٤٠ و ٧٥ يوم من الزراعة) تحت تأثير مستويين من ملوحة ماء الري (٤٤١٣, ٨٧٦١ جزء/مليون) مع الرش بمنظمي نمو IAA و Ethephon منفردين (٢٠٠ جزء/مليون) أو مختلطين بنسب متساوية (٢٠٠ جزء/مليون) لكل منهما.

- أوضحت النتائج أن المعاملة بمنظمات النمو تحت الدراسة أثرت على صفات النمو بدرجات معنوية مختلفة, فالسلالات تحت الدراسة سجلت أعلى زيادة في ارتفاع النبات عند المعاملة بواسطة IAA بمرحلة النمو الثانية, في حين المعاملات الأخرى سجلت أعلى قيم في مرحلتين النمو تحت الدراسة, أما الخلط بين منظمي النمو IAA+ Ethephon سجل أعلى قيم في مرحلتين النمو لكل من الوزن الغض و الوزن الجاف, كما أعطى Ethephon و الخليط IAA+ Ethephon أعلى قيم في فترة النمو الأولى بالنسبة لعدد الأشتاء و ذلك عند الري بمستوى ملوحة منخفض, لكن عند مرحلة النمو الثانية, كانت أعلى القيم لنفس الصفة عند استخدام مستوى ملوحة منخفض, أما الري بمياه تحتوي على ملوحة عالية أعطت أعلى قيم عند استخدام IAA.
- المعاملة بواسطة IAA في مرحلة النمو الأولى أثرت بصورة إيجابية على كلوروفيل a, b و الكاروتينات, لكن في مرحلة النمو الثانية اتضح أن معاملة السلالة ١٢٣-Giza و السلالة Line-١ تزيد من محتوى الصبغات تحت مستوى الملوحة المنخفض.
- عند استخدام منظمات النمو النباتية تحت ظروف الإجهاد الملحي, فإن اختلاف محتوى الصبغات يعتمد بوضوح على (١) درجة حساسية السلالة النباتية, فقد اتضح أن السلالتين ١٢٣-Giza و Line-١ أكثر تحملاً للملوحة عن السلالة Line-٢, كذلك (٢) فترة التعرض للإجهاد الملحي, فتعرض النبات لفترة ملوحة قليلة أكثر استجابة عنه في حالة زيادة تلك الفترة.
- اتضح أيضاً من هذه الدراسة أن إندول حمض الخليك يمكن أن يساعد نبات الشعير على مقاومة الملوحة, علاوة على أن استخدام الخلط بين Ethephon و IAA أكثر تأثيراً تحت ظروف الملوحة العالية عن استخدام Ethephon منفرداً.
- زيادة درجة الملوحة يزيد من محتوى الأحماض الأمينية بالمجموع الخضري خصوصاً حمض أميني بروتين, كما لم يحدث اختلاف معنوي عند الري باستخدام ملوحة عالية خصوصاً عدد الببتيدات العديدة, غير أن غياب بعضها, مع معظم التغيرات السابقة, يمكن اعتباره جزء من التوازن الأيضي نتيجة للتدخل بين الملوحة و منظمات النمو المستخدمة مع نوع السلالة تحت الاختبار.



- أدت زيادة الملوحة إلى انخفاض كل من المحصول البيولوجي ومحتوى الحبة وكذلك محصول القش، بينما أدى كل من IAA وكذلك الإيثيفون إلى زيادة طفيفة في محصول الحبة. وقد حقق الصنف جيزة ١٢٣ أعلى محصول للحبة.
- أظهر تقدير كل من البروتين الخام والرماد في الحبوب الناتجة زيادة محتوى الرماد في سلالات الشعير العارى بينما انخفض في الصنف جيزة ١٢٣ بزيادة الملوحة، بينما كان الأخير الأعلى في محتوى الرماد عن سلالتى الشعير العارى، وعلى العكس تأثر محتوى الحبوب من البروتين الخام سلباً بزيادة الملوحة، وكانت Line-٢ أعلى التراكيب الوراثية في محتوى البروتين الخام تليها Line-١.
- تم اختبار تأثير الإحلال الجزئي على جودة الخبز الناتج، لخلطات مؤلفة من دقيق أحد التراكيب الوراثية من الشعير بنسبة ٣٠% (Giza-١٢٣, Line-١, Line-٢) ناتجة من محصولين ناتج الزراعة تحت ملوحة منخفضة وعالية، مع ٧٠% دقيق قمح جيزة ١٦٨، هذا الإحلال أدى إلى تغيير قطر، لون، قوام الرغيف، ويمكن أن يُعزى التغيير الحادث إلى اختلاف التراكيب الوراثية المستخدمة.
- دقيق الشعير (استخلاص ٨٢%) الناتج من جميع التراكيب الوراثية السابقة يزيد من خاصية امتصاص العجينة للماء مسبباً اختلافاً في زمن تكوين العجينة، فالخلطة الموجودة بها دقيق السلالة Line-٢ أعطت أعلى قيمة، في حين إدخال السلالة جيزة ١٢٣ المقاومة لمستويين من الملوحة، لم يكن لهما أي تأثير، كما ازداد ثبات العجين الناتج من إدخال دقيق السلالتين العاريتين.
- التوليفات الناتجة من أنواع الدقيق السابقة أظهرت درجة ضعف للعجين في مستوى ٩٠ وحدة باربندر للخلطات التي تحتوي على دقيق شعير جيزة ١٢٣ أو Line-١، أما الخلطة الناتجة من دقيق Line-٢ أعطت ١٠٥ وحدة باربندر.
- مرونة العجين لمعظم الخلطات تحت الدراسة زادت في حدود من ٢٩٠ إلى ٤٤٠ وحدة باربندر، أيضاً المطاطية انخفضت (في حدود ٧٥- ٨٠ ملليمتر) مقارنة بالقمح.
- إضافة دقيق التراكيب الوراثية السابقة إلى دقيق قمح جيزة ١٦٨ زاد من مقاومة العجين للمطاطية عدا الإضافة الناتجة من دقيق جيزة ١٢٣ (مقاومة لملوحة قليلة) فقد سجلت ٢٧٥ وحدة باربندر مقارنة بالقمح الذي سجل ٢٧٥ وحدة باربندر.
- أعطت نتائج رقم تناسب العجين قيمة عظمى لجميع الخلطات عدا Control، في حين انخفضت طاقة قطع العجين.

- قطر الأرغفة لخلطات الشعير أكبر من الناتج عن استخدام القمح فقط , كما كان أكبر متوسط لوزن الرغيف عند استخدام التوليفة المكونة من ( ٧٠% قمح + ٣٠% سلالة Line-١ ناتج الزراعة تحت الملوحة العالية), في حين أقل متوسط نتج عن ( ٧٠% قمح + ٣٠% سلالة جيزة ١٢٣ مقاومة للملوحة المنخفضة).
- لون الطبقة العليا للخبز البلدي الناتج من خلط الشعير يختلف قليلاً, عدا ذلك الناتج عن خلط القمح مع السلالتين Line-١ أو Line-٢ ناتج الزراعة تحت الملوحة العالية, مع أن كلاهما منخفض القيمة معنوياً عند المقارنة بالـ Control. لون الرغيف من الداخل أكثر دكانة بدرجة معنوية مقارنة باللون الناتج عن دقيق القمح عدا السلالة Line-٢ الناتجة من مستويي الملوحة المنخفض أو العالي.
- لبابة الأرغفة التي تحتوي على دقيق شعير تختلف عن تلك الناتجة من دقيق القمح, كذلك الحال في كل من الرائحة و الطعم و المظهر العام للأرغفة, جميعهم يختلف قليلاً, حيث أظهرت الخلطات التي تحتوي على السلالة Line-١ (ناتج الزراعة تحت الملوحة المنخفضة) و السلالة Line-٢ (ناتج الزراعة تحت الملوحة العالية) اختلافاً أكبر معنوياً.
- التوليفة الوحيدة التي أعطت مواصفات جيدة تشبه تلك الناتجة عن الـ Control أمكن الحصول عليها بخلط دقيق القمح مع السلالة Line-٢ ناتج الزراعة تحت الملوحة المنخفضة.

# CONTENTS

	Page
<b>LIST OF TABLES</b> .....	v
<b>LIST OF FIGURES</b> .....	viii
<b>LIST OF ABBRIVATIONS</b> .....	ix
<b>INTRODUCTION</b> .....	
<b>REVIEW OF LITERATURE</b> .....	
. Effect of salinity.....	
. Effect of salinity concentration on growth characteristics.....	
. Effect of salinity on chemical constituents.....	
. Photosynthetic pigments.....	
. Carbohydrates.....	
. Proline, free amino acids and protein content.....	
. Mineral content.....	
. Potassium and Sodium	
.....	
Calcium and Magnesium .....	
. Effect of salinity on grain yield and its components.....	
. Electrophoretic fractionation of barley proteins.....	
. Effect of IAA.....	
. Effect of IAA on barley growth.....	
. Effect of IAA on yield.....	
. Effect of auxin on carbohydrate content.....	
. Effect of Ethephon.....	
. Effect of Ethephon on growth	
parameter.....	
. . Effect of Ethephon on yield.....	
. Effect of Ethephon on carbohydrate and protein content.....	
. Effect of incorporation of hull-less barley flours on dough properties	
and baking quality of balady bread.....	
<b>MATERIALS AND METHODS</b> .....	
. Genotypes	

.....	
. Planting.....	
. Application of treatments.....	
. Sampling .....	
. Harvesting.....	
. Chemical analysis of plant.....	
. . Determination of photosynthetic pigments.....	
. . Determination of free	
proline.....	
. . Determination of carbohydrates fractions.....	
. . Extraction of carbohydrates fractions.....	
. . Determination of total carbohydrate and reducing sugars.....	
. . Determination of total soluble sugars.....	
. . Calculation of non-reducing sugars:.....	
. . Determination of soluble protein.....	
. . Quantitative determination of total amino acid.....	
. . Determinations of minerals.....	
. . Potassium and sodium determination.....	
. . Calcium and magnesium determination.....	
. Analysis of	
grains.....	
. . Determination of grain crude protein.....	
. . Determination of grain ash content.....	
. . SDS-PAGE of barley proteins.....	
. Technological experiments.....	
. . Preparation of wheat and other raw	
materials.....	
. . Chemical analysis of raw materials.....	
. . Preparation of different blends of flour composites.....	
. . Rheological characteristics.....	
. . Farinograph	
test.....	

. . Extensograph test.....	
. . Amylograph test.....	
. . Balady bread making.....	
. . Physical characters and sensory evaluation of bread.....	
. . Chemical analysis of bread.....	
. Statistical analysis.....	
<b>RESULTS AND DISCUSSION.....</b>	
١. Growth parameters.....	٥٤
١,١. Effect of salinity on some growth traits at two growth stages.....	٥٤
١,٢. Effect of plant growth regulators (PGRs) on some growth traits at the two growth stages.....	٥٥
١,٣. Genotypic variation in some growth traits at the two growth stages	٥٩
١,٤. Effect of the interaction between salinity and plant growth regulators (PGRs) on some growth traits at the two growth stages...	٥٩
١,٥. Effect of the interaction between salinity and genotypes on some growth traits at the two growth stages (٤٠ and ٧٥ days after sowing)	٦٠
١,٦. Effect of the interaction between plant growth regulators and genotypes on some growth traits at the two growth stages.....	٦٢
٢. Biological, straw and grain yields and plant height.....	٦٣
٢,١. Effect of salinity on plant height, biological yield, grain yield and straw yield.....	٦٣
٢,٢. Effect of plant growth regulators on plant height, biological yield, grain yield and straw yield.....	٦٤
٢,٣. Effect of genotypes on plant height, biological yield, grain yield and straw yield.....	٦٦
٢,٤. Effect of the interaction between salinity and plant growth regulators on plant height, biological yield, grain yield and straw yield.....	٦٦
٢,٥. Effect of the interaction between salinity and genotypes on plant height, biological yield, grain yield and straw yield.....	٦٨
٢,٦. Effect of the interaction between PGRs and genotypes on plant	٦٩

height, biological yield, grain yield and straw yield.....	
୩. Effect of salinity/genotype/PGRs interaction on Photosynthetic pigment contents.....	୮୧
୫. Effect of salinity/genotypes/PGRs interactions on total Amino acids composition of barley shoot.....	୮୫
୬. Effect of salinity/genotype/PGRs on free proline .....	୮୮
୭. Effect of salinity/genotypes/PGRs interactions on soluble protein.....	୮୯
୮. Effect of salinity/genotypes/PGRs interactions on carbohydrate fraction	୯୧
୯. Effect of salinity/genotypes/PGRs interactions on minerals content....	୯୩
୧୦. Barley grains contents of ash and crude protein as affected by salinity-genotypes-PGRs interactions.....	୯୮
୧୦. SDS-PAGE of barley proteins.....	୧୦୦
୧୦.୧. Total proteins.....	୧୦୦
୧୦.୨. Soluble proteins (albumines + globulines).....	୧୦୫
୧୦.୨.୧. Dendrogram analysis.....	
୧୧. Technological experiments.....	୧୦୦
୧୧.୧. Chemical analysis of flours.....	୧୦୦
୧୧.୨. Farinograph test.....	୧୦୦
୧୧.୨.୧. Water absorption percentage.....	୧୦୧
୧୧.୨.୨. Developing time (mixing time).....	୧୦୨
୧୧.୨.୩. Stability of the dough.....	୧୦୨
୧୧.୨.୪. Degree of softening.....	୧୦୨
୧୧.୩. Extensograph test.....	୧୦୫
୧୧.୩.୧.	୧୦୫

Elasticity.....	
۱۱,۳,۲.	۱۰,۶
Extensibility.....	
۱۱,۳,۳. Proportional	۱۰,۶
number.....	
۱۱,۳,۴. Energy of the dough.....	۱۰,۶
۱۱,۴. Amylograph test.....	۱۰,۶
۱۱,۴,۱. Gelatinization	۱۰,۶
temperature.....	
۱۱,۴,۲. Peak	۱۰,۷
temperature.....	
۱۱,۴,۳. Peak	۱۰,۷
viscosity.....	
۱۱,۵. Balady bread characteristics and sensory	۱۰,۹
evaluation.....	
۱۱,۶. Chemical analysis of balady bread.....	۱۱,۲
<b>SUMMARY AND CONCLUSION.....</b>	
<b>REFERENCES.....</b>	
<b>ARABIC SUMMARY.....</b>	

## LIST OF TABLES

<b>No. of Table</b>	<b>Page</b>
. Names, pedigrees, and sources of studied barley genotypes.....	
. Water and soil chemical analysis .....	
. Solutions required for SDS-PAGE .....	
. Blends of flours produced from wheat and different barley flours..	
. Scoring sheet used in sensory evaluation of balady bread .....	