5

ผลทางแอลลิลโลพาธิคของยูคาลิปตัส (EUCALYPTUS CAMALDULENSIS) ที่มีต่อต้นอ่อนของไมยราบยักษ์

นายวิชัย แซ่เบียว

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาพฤกษศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2530

ISBN 974-567-448-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

012598 i 10297418

ALLELOPATHIC EFFECTS OF *EUCALYPTUS CAMALDULENSIS* DEHN. ON *MIMOSA PIGRA* LINN. SEEDLINGS

Mr. Wichai Sae-Seow

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Botany

Graduate School

Chulalongkorn University

1987

ISBN 974-567-448-6

Thesis Title Allelopathic Effects of Eucalyptus camaldulensis Dehn. on Mimosa pigra Linn. Seedlings

By Mr. Wichai Sae-Seow

Department Botany

Thesis Advisor Assistant Professor Rajanee Virabalin

Jiro Harada, Ph.D.

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

.....Vajrabhaya Dean of Graduate School

(Professor Thavorn Vajarabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee

..... Chairman

(Associate Professor Obchant Thaithong, Ph.D.)

..... Thesis Advisor

(Assistant Professor Rajanee Virabalin)

..... Thesis Advisor

(Jiro Harada, Ph.D.)

..... Member

(Assistant Professor Preeda Boon-Long, Ph.D.)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลทางแอลลิลโลพาธิคของยูคาลิปตัส (Eucalyptus camaldulensis) ที่มีต่อต้นอ่อนของไมยราบยักษ์
ชื่อนิสิต	นายวิชัย แซ่เฮียว
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชนี วีรพลิน
	ดร. ฮิโร่ ฮาราดะ
ภาควิชา	พฤกษศาสตร์
ปีการศึกษา	2529

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาผลทางแอลลิลโลพาธิคของยูคาลิปตัส (Eucalyptus camaldulensis) ที่มีต่อต้นอ่อนของไมยราบยักษ์ พบว่าสิ่งสกัดที่ได้จากการใช้เมธานอลสกัดใบสด และใบร่วงของยูคาลิปตัสยับยั้งไมยราบยักษ์ทั้งในด้านการงอกและการเติบโตของต้นกล้า สิ่งสกัดที่ได้จากการใช้เมธานอลสกัดเปลือกของยูคาลิปตัสไม่ยับยั้งการงอกของเมล็ดไมยราบยักษ์ แต่ยับยั้งการเติบโตของต้นกล้าได้ สิ่งสกัดที่ได้จากการใช้เมธานอลสกัดจากใบสดมีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดข้าว กข 23 น้อยกว่าการงอกของเมล็ดไมยราบยักษ์มาก

ได้นำวิธีทางโครมาโตกราฟี 2 วิธี คือ column chromatography และ thin-layer chromatography มาใช้แยกสารพิษออกจากสิ่งสกัดที่ได้จากการใช้เมธานอลสกัดใบสดของยูคาลิปตัส ด้วยวิธีการดังกล่าวได้พบสารพิษ 2 ชนิด บนแผ่นโครมาโตแกรมในจำนวนนี้ชนิดหนึ่งพบว่า คือ กรดคลอโรเจนิคซึ่งเป็นกรดที่ละลายในน้ำได้ดี แม้ว่าผู้วิจัยจะไม่สามารถตรวจสอบว่าสารพิษอีกชนิดหนึ่งเป็นสารใด ผลจากการเปรียบเทียบกับสารที่รู้จักชื่อดีแล้วโดยวิธี thin-layer chromatography แสดงว่าสารพิษดังกล่าวไม่ใช่ กรดแกลลิค, กรดเฟรูลิค, กรดพาราคูมาลิค และกรดคาเฟอิค

ได้ทำการศึกษาผลของสารประกอบ 13 ชนิด ที่มีต่อการเติบโตของต้นอ่อนของไมยราบยักษ์และข้าว สารดังกล่าวได้แก่ กรดเบนโซอิค, กรดซาลิซิลิค, กรดเจนทิซิค, กรดโปรโตคาเทชูอิค, กรดแกลลิค, วานิลลิน, ไธมอล, กรดแทรน-ซินนามิค,

กรดพาราคูมาลิค, กรดคาเฟอิค, กรดเฟรูลิค, เมธิล ซินนาเมท และกรดคลอโรเจนิค ผลปรากฏว่าระดับความเป็นพิษของสารเหล่านี้ ที่มีต่อต้นอ่อนของไมยราบยักษ์ขึ้นอยู่กับจำนวนและตำแหน่งของหมู่ -OH และ $-OCH_3$ ในโครงสร้างของวงแหวนอะโรมาติกของสารประกอบเหล่านี้ นอกจากนั้นยังพบว่า สารประกอบทุกชนิดที่นำมาทดลองมีความเป็นพิษต่อต้นอ่อนของไมยราบยักษ์มากกว่าต้นอ่อนของข้าว

Thesis Title Allelopathic Effects of Eucalyptus camaldulensis Dehn. on Mimosa pigra Linn. Seedlings

Name Mr. Wichai Sae-Seow

Thesis Advisor Assistant Professor Rajanee Virabalin

Dr. Jiro Harada

Department Botany

Academic Year 1986

ABSTRACT

The allelopathic effects of Eucalyptus camaldulensis Dehn. on Mimosa pigra Linn. seedlings were studied. The results indicated that the methanolic extracts of green and fallen leaves of E. camaldulensis were inhibitory to both germination and growth of M. pigra seedlings. While germination was not inhibited, M. pigra seedling growth bioassay with methanolic extract from bark of E. camaldulensis demonstrated the presence of inhibitors at this state. Germination of Oryza sativa cv. RD 23 seeds was much less sensitive to the methanolic extract of green leaves than that of M. pigra seeds.

Two chromatographic methods, i.e. column chromatography and thin-layer chromatography were used for isolating the inhibitors from the methanolic extract of green leaves. Two inhibitors were detected on the thin-layer chromatogram one of which was identified as chlorogenic acid which is readily soluble in water. Although the author was unable to identify the other inhibitor through comparisons of thin-layer chromatography with authentic chemicals, gallic, ferulic, p-coumaric and caffeic acids were eliminated as possibilities.

The effects of thirteen compounds, i.e., benzoic acid, salicylic acid, gentisic acid, protocatechuic acid, gallic acid, vanillin, thymol, t-cinnamic acid, p-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid, methyl cinnamate and chlorogenic acid on seedling growth of M. pigra and O. sativa were determined. It appeared that the growth inhibitory activity of these compounds varied with the position and number of -OH and $-OCH_3$ substituents attaching to their aromatic rings. Moreover, the compounds were more inhibitory to seedling of M. pigra than that of O. sativa.

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ACKNOWLEDGMENT

The work described in this paper was supported, in part, by the Japan International Cooperation Agency (JICA). Several persons have contributed significantly to the success of this study and I wish to express my appreciation for their help.

I am greatly indebted to my thesis advisors, Assistant Professor Rajanee Virabalin and Dr. Jiro Harada, the JICA expert, for their aid throughout this work. Without their invaluable encouragement, assistance, and cooperation in this work, this task would have been much more difficult.

I owe a special debt of gratitude to Dr. Kenji Noda, the leader of the National Weed Science Research Institute (NWSRI) Project in Thailand, and Dr. Paitoon Kittipong, the chief of the Weed Science Branch who allowed me to carry out this research at the NWSRI Project in Thailand. I am also indebted to Dr. Paitoon Kittipong for his suggestion pertaining to this research.

I acknowledge with gratitude assistance of Assistant Professor Preeda Boon-Long who generously gave his advice and wisdom during this investigation.

The assistance of Preecha Srisamarnmaitree, the statistical teacher of Bangkok University, and Kittichate Sridith, the graduate student of Botany Department of the Chulalongkorn University, is also gratefully acknowledged.

And, finally, special thanks are due also to Mrs. La-ong Tamiyavanich for typing the manuscript.

CONTENTS

		Page
THAI ABSTRACT		iv
ENGLISH ABSTRACT		vi
ACKNOWLEDGMENTS		viii
LIST OF TABLES		ix
LIST OF FIGURES		xv
ABBREVIATIONS		xvi
CHAPTER		
1	INTRODUCTION	1
2	MATERIALS AND METHODS	16
3	RESULTS	25
4	DISCUSSION	67
5	CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS FOR FUTURE RESEARCH	76
LITERATURE CITED		81
APPENDIX		91
VITA		97

LIST OF TABLES

Table		Page
1	Examples of weeds exerting allelopathic effects on crop plants	2
2	Examples of crop plants exerting allelopathic effects on weeds	3
3	Allelopathic phenolic acids and their occurrence	6
4	Allelopathic monoterpenoids and their occurrence	7
5	Average volatile oil percent in the fresh samples of some Eucalyptus species	9
6	Average volatile oil percent (w/w) in the E. camaldulensis fresh leaves collected throughout the year (adapted from Abou-Dahab et al., 1973)	10
7	M. pigra seed germination in Petri dishes with methanolic extracts from .1, 1 and 5 g of green leaves of E. camaldulensis	36
8	M. pigra seed germination in Petri dishes with methanolic extracts from .1, 1 and 5 g of fallen leaves of E. camaldulensis	37
9	M. pigra seed germination in Petri dishes with methanolic extracts from .1, 1 and 5 g of bark of E. camaldulensis	38

Table		Page
10	O. sativa cv. RD 23 seed germination in Petri dishes with methanolic extracts from .1, 1 and 5 g of green leaves of E. camaldulensis ..	39
11	Growth of M. pigra seedlings when treated with methanolic extracts from .1, 1 and 5 g of green leaves of E. camaldulensis	40
12	Growth of M. pigra seedlings when treated with methanolic extracts from .1, 1 and 5 g of fallen leaves of E. camaldulensis	41
13	Hypocotyl growth of M. pigra seedlings when treated with various solvent extracts from .1, 1 and 5 g of green leaves of E. camaldulensis.	42
14	The longest root growth of M. pigra seedlings when treated with various solvent extracts from .1, 1 and 5 g of green leaves of E. camaldulensis	43
15	Growth of M. pigra seedlings when treated with methanolic extracts from .1, 1 and 5 g of bark of E. camaldulensis	44
16	Hypocotyl growth of M. pigra seedlings when treated with various solvent extracts from .1, 1 and 5 g of bark of E. camaldulensis	45

Table		Page
17	Growth of the longest root of M. pigra seedlings treated with various solvent extracts from .1, 1 and 5 g of bark of E. camaldulensis.	46
18	Growth of M. pigra seedlings (means with standard deviations) treated with various fractions from charcoal-celite column chromatography of methanolic extracts from .1, 1 and 5 g of green leaves of E. camaldulensis	47
19	Growth of M. pigra seedlings (percent of control treated with various fractions from charcoal-celite column chromatography of methanolic extracts from .1, 1 and 5 g of green leaves of E. camaldulensis	48
20	Thin-layer chromatogram and toxicity date for the water-acetone (50:50) fraction from chancoal-celite column chromatography towards M. pigra growth	49
21	Effect of two substances from the thin-layer chromatogram showing toxicity towards M. pigra seedlings on O. sativa cv. RD 23 seedling growth	50
22	Effect of phenolic compounds (.1, 1, 10, 100 and 1000 ppm) on the hypocotyl length of M. pigra seedlings (means with standard deviations)	51

Table		Page
23	Effect of phenolic compounds (.1, 1, 10, 100 and 1000 ppm) on the hypocotyl length (percent of control) of M. pigra seedlings	53
24	Effect of phenolic compounds (.1, 1, 10, 100 and 1000 ppm) on the length of the longest root of M. pigra seedlings (means with standard deviations)	55
25	Effect of phenolic compounds (.1, 1, 10, 100 and 1000 ppm) on the length of the longest root (percent of control) of M. pigra seedlings	57
26	Effect of phenolic compounds (.1, 1, 10, 100 and 1000 ppm) on the length of the second leaf sheath of O. sativa cv. RD 23 seedlings (means with standard deviations)	59
27	Effect of phenolic compounds (.1, 1, 10, 100 and 1000 ppm) on the length of the second leaf sheath (percent of control) of O. sativa cv. RD 23 seedlings	61
28	Effect of phenolic compounds (.1, 1, 10, 100 and 1000 ppm) on the length of the longest root of O. sativa cv. RD 23 seedlings (means with standard deviations)	63

Table | Page

29 Effect of phenolic compounds (.1, 1, 10, 100 and 1000 ppm) on the length of the longest root (percent of control) of O. sativa cv. RD 23 seedlings 65

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Thin-layer chromatographic pattern of five phenolic acids and the 50% acetone fraction derived from charcoal-celite column chromatography of green leaf methanolic extract of *E. camaldulensis*	31
2	Biosynthesis of cinnamic, hydroxycinnamic, benzoic and hydroxybenzoic acids (adapted from Haslam, 1979)	94
3	Synthesis of terpene precursors isopentenyl pyrophosphate and dimethylallyl pyrophosphate (from Bidwell, 1979)	96

ABBREVIATIONS

^{o}C	degree celcius
EtOAC	ethyl acetate
M	molar
MeOH	methanol
ml	millilitre (10^{-3} litre)
mm	millimetre
min	minute
nn	nanometre
ppm	part per million
rpm	revolution per minute
R_f	mobility relative to front
TLC	thin-layer chromatography
UV	ultraviolet