

**ELUCIDATING MODE OF 2,4-DI-TERT-BUTYLPHENOL ACTION  
AS POTENTIAL NATURAL HERBICIDE**

**NAIMAH BINTI ABDUL HALIM**

**Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirement for the  
Degree of Master of Science in the School of Food Science and Technology  
Universiti Malaysia Terengganu**

**May 2017**

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science

**ELUCIDATING MODE OF 2,4-DI-TERT-BUTYLPHENOL ACTION  
AS POTENTIAL NATURAL HERBICIDE**

**NAIMAH BINTI ABDUL HALIM**

**May 2017**

**Main Supervisor : Associate Professor Chuah Tse Seng, Ph.D.**  
**Co-Supervisor : Associate Professor Shamsul Bahri Abd. Razak, Ph.D.**  
**Ma Nyuk Ling, Ph.D.**  
**School : Food Science and Technology**

Nowadays, there is a great demand in discovering new effective natural herbicides with novel mode of action to overcome the rapid development of herbicide resistance issue in weeds. 2,4-di-tert-butylphenol (2,4-DTBP) has been reported to have herbicidal action by generating reactive oxygen species which leads to lipid peroxidation in weeds, but its mode of action remains unclear. This study aimed to elucidate mode of 2,4-DTBP action against two weed species, *Hedyotis verticillata* and *Leptochloa chinensis*. 2,4-DTBP caused ultrastructural damage to chloroplasts, including disordered thylakoid systems and undulating membranes, absence of starch grains and increase number of plastoglobuli were evident in both bioassay species three days after treatment. The destroyed chloroplast ultrastructure led to electrolyte leakage, decreased leaf greenness, quantum yield and stomatal conductance values in leaf tissues. The phytotoxicity effects of 2,4-DTBP in comparison with eight lipid peroxidation herbicides on quantum yield and membrane integrity were investigated. The results revealed that the quantum yields of 2,4-DTBP, diuron and dinoterb-

treated leaf discs were rapidly decreased during the 24 h of incubation period, whereas 2,4-DTBP, paraquat and dinoterb caused dramatic electrolyte leakage during the 24 h of incubation period. Fluridone, isoxaflutole, clomazone and oxyfluorfen had negligible effects on quantum yield and electrolyte leakage for both bioassay species. Glufosinate induced electrolyte leakage of the bioassay species whereas its effect on quantum yield was species-dependent. Among the eight lipid peroxidation herbicides, 2,4-DTBP showed potent light-independent herbicidal action comparable to that of dinoterb. A subsequent metabolomic study was carried out to examine effects of 2,4-DTBP and dinoterb on metabolomic fingerprinting of *H. verticillata* by nuclear magnetic resonance. The partial least squares discriminant analysis showed clear discrimination between 2,4-DTBP and dinoterb-treated samples by having a similar spectral pattern with different intensity of spectra two days after treatment. These results imply that 2,4-DTBP and dinoterb were likely to have a similar mode of action as uncouplers by inducing the uncoupling of photooxidative phosphorylation and oxidative phosphorylation at different or novel site of action. 2,4-DTBP could become a potential natural herbicide or serve as template for producing new eco-friendly and efficacious herbicide in the future.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Sarjana Sains.

**ELUSIDASI MOD TINDAKAN 2,4-DI-TERT-BUTILFINOL SEBAGAI  
POTENSI RACUN RUMPAI SEMULAJADI**

**NAIMAH BINTI ABDUL HALIM**

**Mei 2017**

**Penyelia Utama : Profesor Madya Chuah Tse Seng, Ph.D.**

**Penyelia Bersama : Profesor Madya Shamsul Bahri Abd. Razak, Ph.D.  
Ma Nyuk Ling, Ph.D.**

**Pusat Pengajian : Sains dan Teknologi Makanan**

Pada masa kini, terdapat banyak permintaan dalam mencari racun rumpai semulajadi baharu yang berkesan dengan mod tindakan yang baharu bagi mengatasi isu peningkatan kerintangan rumpai terhadap racun rumpai. 2,4-di-tert-butilfinol (2,4-DTBP) telah dilaporkan mempunyai tindakan sebagai racun rumpai dengan menjana spesies oksigen reaktif yang membawa kepada peroksidaan lipid dalam rumpai. Namun, mod tindakannya masih tidak jelas. Kajian ini bertujuan untuk menjelaskan mod tindakan 2,4-DTBP terhadap dua spesies rumpai, *Hedyotis verticillata* dan *Leptochloa chinensis*. 2,4-DTBP menyebabkan kerosakan ultrastruktur pada kloroplas termasuk gangguan pada sistem tilakoid dan membran beralun, ketiadaan bijiran kanji dan peningkatan bilangan plastoglobuli terbukti dalam kedua-dua spesies biocerakin pada tiga hari selepas rawatan. Kemusnahan ultrastruktur kloroplas ini membawa kepada kebocoran elektrolit, pengurangan nilai kehijauan daun, hasil kuantum dan nilai konduktans stomata dalam tisu daun. Kesan fitotoksik bagi 2,4-DTBP pada hasil kuantum dan integriti membran *H. verticillata*

dan *L. chinensis* berbanding dengan lapan racun rumpai yang menyebabkan peroksidaan lipid telah dikaji. Hasil kajian menunjukkan hasil kuantum bagi cakera daun yang dirawat dengan 2,4-DTBP, diuron dan dinoterb berkurang dengan cepat sepanjang 24 jam tempoh pengeraman, manakala 2,4-DTBP, parakuat dan dinoterb menyebabkan kebocoran elektrolit yang dramatik sepanjang 24 jam tempoh pengeraman. Fluridon, isoxaflutol, klorazon dan oksifluofen mempunyai kesan yang boleh diabaikan pada hasil kuantum dan kebocoran elektrolit. Glufosinat mengaruh kebocoran elektrolit pada kedua-dua spesies biocerakin manakala kesannya ke atas hasil kuantum adalah bergantung kepada spesies biocerakin. Hasil kajian menunjukkan 2,4-DTBP bertindak sebagai racun rumpai yang cekap dan setanding dengan dinoterb tanpa bergantung kepada kehadiran cahaya. Satu kajian metabolomik seterusnya dijalankan untuk mengkaji kesan 2,4-DTBP dan dinoterb pada pencapaian metabolomik *H. verticillata* menggunakan resonans magnet nukleus. Analisis perbezaan 'partial least squares' menunjukkan perbezaan yang jelas antara sampel 2,4-DTBP dan dinoterb yang dirawat mempunyai corak spektra yang sama dengan keamatan spektra yang berbeza pada dua hari selepas rawatan. Keputusan ini menggambarkan bahawa 2,4-DTBP dan dinoterb mungkin mempunyai mod tindakan yang sama sebagai peleraian dengan merangsang peleraian fosforilasi fotooksidatif dan fosforilasi oksidatif di tapak tindakan yang berbeza atau baharu. 2,4-DTBP boleh menjadi racun rumpai semulajadi yang berpotensi atau berfungsi sebagai templat bagi menghasilkan racun rumpai baru yang mesra alam dan berkesan pada masa depan.