

**University of Hohenheim
Institute of Phytomedicine
Department of Weed Science
Prof. Dr. Karl Hurler**



**Allelopathic potential of
Parthenium hysterophorus,
an alien invasive plant in South Africa**

Diploma Thesis

Presented to the Department of Weed Science,
University of Hohenheim

In partial fulfillment
Of the Requirements for the Degree
Dipl. Agrarbiologe

By
Sabrina Maria Kraus

October 2003

This work was funded by the Eiselen Foundation Ulm.

5.2 Summary

Parthenium hysterophorus L. is a declared category one weed in South Africa. Its alarming rate of spread in many countries, including South Africa is partly due its ability to inhibit the growth and development of other species through allelopathy. Its extensive negative impacts have been reported on diverse production systems such as crop production, animal husbandry, human health and biodiversity. Although the allelochemicals and their biological activity on specific test species are fairly well documented, less is known about their specific location in the plant. As there is a lack of knowledge about the allelopathic influence of *P. hysterophorus* originating from South African populations, studies were conducted to evaluate the allelopathic potential of those plants.

In bioassays under controlled conditions, early growth responses (seed germination, radicle and shoot growth) of *Zea mays*, *Cucumber sativus* and *Eragrostis curvula* in the presence of aqueous extracts prepared from leaves and stems of *P. hysterophorus* were tested. All tested species exhibited reduced radicle development. The grass species *E. curvula* also showed inhibition of seed germination. These results show that the weed can negatively affect the establishment of desirable grass species in pastures and as well is capable to influence agriculture.

The test species *Lactuca sativa* exhibited significant reduction in germination percentage, radicle length and shoot length when treated with aqueous extracts of *P. hysterophorus*. Results suggest that stems and leaves contain water soluble phytotoxic compounds. The toxicity of plant extracts was concentration-dependent and an increased inhibitory activity of the extracts with increasing concentrations was evident. Morphological abnormalities such as retarded radicle growth and necrotic root tips were observed. The results have been graphically presented in dose-response curves by the non-linear regression model according to STREIBIG & KUDSK (1993).

Leachates collected from pots in which *P. hysterophorus* was grown inhibited the early seedling development of *L. sativa* in petri dishes. It could be concluded that the highest inhibitory effects occurred in the rosette stage of the plant. *Lactuca sativa* root growth was also reduced when grown in association with *P. hysterophorus* in a hydroponic system. These observations indicate that soil inhabited by *P. hysterophorus* is rendered toxic by the release of allelochemicals.

Trichome studies revealed the presence of five different trichome types located on the plant. Density and occurrence varied depending on the plant organ observed and the age of the plant. Uniseriate and moniliform trichomes occurred nearly in uniform levels, whereas macrohairs were only present on stems and leaf veins. Macrohairs emerged in highest numbers on the primary leaf veins. On the abaxial leaf surface the primarily uniseriate trichomes and capitate sessile trichomes occurred.

Brief dipping of leaves in an organic solvent proved to be a rapid method to yield selectively pure parthenin accumulated in the capitate sessile trichomes. Dipping in methylene chloride destroyed the cuticle of the capitate sessile trichomes completely. The extracts, obtained by brief dipping of leaves in methylene chloride, inhibited *L. sativa* germination and early seedling development with increasing extract concentrations. At lowest extract concentration tested (7.5 mg/ml), radicle length was about 36 % of control and shoot length was inhibited to 60 % of control.

The coupling of chromatic methods such as high pressure liquid chromatography (HPLC) with diode array detection, mass spectrometry (MS) and bioassays revealed to be an important tool for the screening of parthenin. Parthenin occurred in highest concentrations in capitate sessile trichomes. The second highest concentration was found in the fruit, specifically in those parts that enclose the achenes. High concentrations of parthenin were also detected on the surface of juvenile leaves, where capitate sessile trichomes occur densely. Chemical analyses of aqueous extracts and extracts obtained by organic solvent extraction, indicated that parthenin is more soluble in the organic solvent than in water.

Increasing concentrations of pure parthenin progressively inhibited germination and radicle growth of *L. sativa*. The bioassay demonstrated that parthenin inhibited radicle development of *L. sativa* at concentrations as low as 1 ppm. Therefore, it can be stated that parthenin is the main allelopathic potential and moderates detrimental effects exerted by *P. hysterophorus*. But comparison of the pure parthenin activity and the organic solvent extraction of the leaf surface showed that parthenin is probably not the only compound responsible for allelopathic effects. The relative role of phenolic acids should be studied in order to determine their contribution in the mixture of compounds released. The effect of parthenin in combination with other allelopathic compounds would contribute to the knowledge of this chemical interactions. Research should be extended to more indigenous plant species like pasture grasses to relate these findings to natural conditions.

Capitate sessile trichomes are important morphological structures contributing to the allelopathic potential of *P. hysterophorus*, as this is the main source of parthenin in the plant. This biologically active compound released through the breakdown of plant tissue or by leaching has been shown to have the potential to evoke competitiveness of crops and may affect pasture production by the replacement of susceptible grass species. Therefore, the weed clearly has the potential to wreak havoc in natural and agroecosystems in South Africa.

5.3 Zusammenfassung

Parthenium hysterophorus L. ist in Südafrika zu einem „Kategorie 1“-Unkraut erklärt worden. Seine schnelle Ausbreitung in vielen Ländern, zu denen auch Südafrika gehört, ist teilweise auf seine Fähigkeit zurückzuführen, das Wachstum und die Entwicklung anderer Pflanzengattungen durch Allelopathie zu beeinträchtigen. Seine umfassenden negativen Auswirkungen sind bekannt aus der Pflanzenproduktion, aus der Tierhaltung, aus dem Einfluss auf die menschliche Gesundheit und dem Einfluss auf die Biodiversität. Obwohl die dafür verantwortlichen Allelochemikalien gut erforscht sind, und ihr biologischer Einfluss auf Testpflanzen dokumentiert ist, ist nicht sehr viel über das Auftreten der Allelochemikalien in der Pflanze bekannt. Da eine Wissenslücke über den allelopathischen Einfluss der südafrikanischen *P. hysterophorus* Population existiert, wurden Forschungen betrieben, um das allelopathische Potential der Pflanze zu bestimmen. In Biotests unter Laborbedingungen wurden die frühen Wachstumsentwicklungen (Keimung, Wurzel- und Sprosswachstum) von *Zea mays*, *Cucumis sativus* und *Ergrostis curvula* unter dem Einfluss von wässrigen Extrakten getestet, welche aus den Blättern und Stängeln von *P. hysterophorus* gewonnen wurden. Alle getesteten Pflanzenarten zeigten ein verringertes Wurzelwachstum. Das Grass *E. curvula* zeigte ebenfalls eine verminderte Keimungsrate. Diese Ergebnisse zeigen, dass sich das Unkraut negativ auf wertvolle Gräser auswirken kann, die in der Weidehaltung angepflanzt werden, und somit die landwirtschaftliche Produktion beeinflussen kann.

Die Indikatorpflanze *Lactuca sativa* zeigte durch die Einwirkung von wässrigen *P. hysterophorus* Extrakten eine deutlich verringerte Keimrate und eine reduzierte Wurzel- und Sprossentwicklung. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass Stängel und Blätter wasserlösliche phytotoxische Verbindungen enthalten. Die Toxizität der Pflanzenextrakte war konzentrationsabhängig und zunehmende Konzentrationen zeigten erhöhte inhibierende Wirkungen. Morphologische Abnormalitäten wie verkürztes Wurzelwachstum und nekrotische Wurzelspitzen wurden ebenfalls beobachtet. Dosis-Wirkungskurven wurden graphisch durch das Modell von STREIBIG & KUDSK (1993) dargestellt. Das Gießwasser aus den Töpfen von *P. hysterophorus* inhibierte das Wachstum und die Entwicklung der *L. sativa* Keimlinge. Außerdem konnte beobachtet werden, dass Pflanzen im Rosettenstadium die höchste inhibierende Wirkung aufzeigten. In Assoziation mit *P. hysterophorus* in einer Hydrokultur war das Wurzelwachstum von *L. sativa* auch reduziert. Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass Boden durch die Besiedelung mit *P. hysterophorus* toxisch verändert wird.

Die Untersuchungen der Trichome zeigten, dass *P. hysterophorus* fünf verschiedene Trichomtypen aufweist. Die Dichte und das Vorkommen der Trichome auf der Pflanze

variierte in Abhängigkeit zum untersuchten Pflanzenorgan und Pflanzenalter. Uniseriate und moniliforme Trichome kamen in fast gleicher Dichte vor, wohingegen Macro-Trichome nur auf Stängeln und Blattvenen auftraten. Sie kamen in höchster Anzahl auf den primären Blattvenen vor. Auf der abaxialen Blattseite wurden vor allem uniseriate und capitate sessile Trichomes beobachtet.

Kurzes Dippen der Blätter in einem organischen Lösungsmittel erwies sich als eine schnelle Methode, um selektiv pures Parthenin zu gewinnen, das in den capitate sessilen Trichomes akkumuliert ist. Das Dippen in Methylenchlorid zerstörte die Kutikula dieser capitate sessilen Trichome vollständig. Der Extrakt, der durch das Dippen der Blätter in Methylenchlorid erhalten wurde, verringerte die Keimung und das frühe Keimlingswachstum mit steigenden Extraktkonzentrationen. Die geringste Konzentration (7,5 mg/ml) inhibierte die Wurzellänge auf 36 % der Kontrolle und das Sprosswachstum auf 60 % der Kontrolle.

Die Verbindung von chromatographischen Methoden, wie die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit Diode-Array-Detektion, Massenspektrometrie und Biotests ermöglichten das Screening von Parthenin. Parthenin war in höchster Konzentration in den capitate sessilen Trichomes zu finden. Die zweithöchste Konzentration wurde in der Frucht, speziell in den Teilen, die die Achene umgeben, detektiert. Hohe Konzentrationen von Parthenin wurden auch auf der Blattoberfläche von jungen Blättern nachgewiesen, wo capitate sessile Trichomes dicht vorkommen. Die chemischen Analysen der wässrigen Extrakte und den Extrakten, die durch organische Lösungsmittel gewonnen wurden, ergaben, dass Parthenin leichter im organischen Extraktionsmittel löslich ist als in Wasser. Steigende Konzentrationen von purem Parthenin inhibieren die Keimung und das Wurzelwachstum von *L. sativa*. Die Biotest demonstrierten, dass Parthenin das Wurzelwachstum schon bei Konzentrationen von 1 ppm einschränken. Deshalb kann angenommen werden, dass Parthenin das wichtigste Allelochemikal ist, dass die schädlichen Wirkungen von *P. hysterophorus* verursacht. Ein Vergleich zwischen der Bioaktivität von purem Parthenin und dem Extrakt mit einem organischen Lösungsmittel zeigte, dass Parthenin wohl nicht die alleinige verantwortliche Verbindung ist, die für das allelopathische Potential von *P. hysterophorus* verantwortlich ist. Die relative Rolle von Phenolsäuren, die auch von der Pflanze ausgeschieden werden, sollte untersucht werden, um deren Beitrag in Verbindung mit anderen Allelochemikalien zu zeigen. Die Wirkung von Parthenin in der Kombination mit Phenolsäuren könnte zum Verständnis der chemischen Interaktionen beitragen. Weitere Untersuchungen sollten einheimische Pflanzenarten aus Südafrika mit einschließen, wie zum Beispiel Grassarten, um die Ergebnisse auf natürliche Begebenheiten übertragen zu können.

Capitate sessile Trichome sind wichtige morphologische Strukturen von *P. hysterophorus*, da sie die Hauptquelle des Parthenins in der Pflanze sind und damit das allelopathische Potential der Pflanze in sich tragen. Die biologisch aktive Verbindungen, die durch die Wurzeln ausgeschieden werden oder durch die Zersetzung von Pflanzengewebe entstehen,

ermöglichen es *P. hysterophorus* Feldfrüchte und Weidehaltung zu beeinflussen, da zum Beispiel empfindlichen Grassgattungen durch diese Phytotoxine verdrängt werden können. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass das Unkraut das Potential hat in natürlichen wie auch in landwirtschaftlich genutzten Ökosystemen in Südafrika deutliche Schäden anzurichten.