

ISOLASI CENDAWAN ENDOFIT DARI AKAR WANGI (*Vetiveria zizanioides L.*) DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTIMIKROBA

Israwati Harahap dan Elsie

Program Studi Biologi, Fakultas MIPA dan Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Riau
Jln. Tuanku Tambusai Ujung No. 1 Pekanbaru 28285
e-mail: israwatiharahap@umri.ac.id

ABSTRACT

Endophytic fungi are microorganisms living in healthy tissue of their host plants without causing disease. Endophytic fungi live in every plant, including *Vetiveria zizanioides L.* medicinal plant intracellular and/or intercellular. This plant was screened pharmacologically for antibacterial, antifungal, anticataleptic, analgesic and anti-inflammatory, rheumatism, anti oxidant and anti arthritic activity. This research aimed to isolation endophytic fungi from *V. zizanioides L.* and to screening their antimicrobial potency against microflora *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans*. Endophytic fungi isolation from *V. zizanioides L.* was done by surface sterilization method. A total of 33 isolates were recovered from 88 leaves and 88 root segments. Based on antimicrobial activity test, most of the fungal extracts showed in vitro inhibition of microbes growth.

Keywords: Endophytic fungi; *Vetiveria zizanioides L.*; Antimicrobial

1. PENDAHULUAN

Resistensi bakteri terhadap antibiotik telah menjadi masalah global yang serius. Berdasarkan laporan terakhir dari Badan Kesehatan Dunia (WHO) menunjukkan bahwa Asia Tenggara memiliki angka tertinggi dalam kasus resistensi antibiotik di dunia, khususnya infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin, sehingga mengakibatkan menurunnya fungsi antibiotik tersebut (www.depkes.go.id). Di Indonesia, sekitar 135.000 kematian per tahun diakibatkan karena resistensi antibiotik. Munculnya resistensi antibiotik pada bakteri patogen menuntut adanya penemuan obat baru yang lebih efektif dengan toksisitas yang rendah.

Eksplorasi untuk mendapatkan jenis antibiotik baru masih sangat diperlukan baik lewat sintesis kimia, biokimia baru maupun penemuan isolat mikrobia baru. Dalam dua dekade ini, mikroorganisme endofit merupakan salah satu sumber utama penghasil antibiotik baru. Endofit merupakan mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tumbuhan, setidaknya satu bagian dari siklus hidupnya tanpa menyebabkan gejala penyakit (patogen) pada inangnya (Petrini 1991). Mikroorganisme endofit dapat berupa cendawan, bakteri dan aktinomiset. Hampir

semua jenis tumbuhan merupakan inang bagi satu atau lebih endofit (Tan & Zou 2001).

Cendawan endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya (Petrini *et al.* 1992). Produk metabolit sekunder dapat berfungsi sebagai antimikroba (Lu *et al.*, 2000), antifungi dan sitotoksik (Santiago, 2011), antivirus, antikanker, antidiabetes, antimalaria, antioksidan dan antiimmunosupresif (Strobel dan Daisy, 2003). Selain itu, cendawan endofit berperan dalam melindungi inangnya terhadap hama serangga (Azevedo *et al.*, 2006), zat pengatur tumbuh (Tan dan Zou, 2001), penghasil enzim-enzim hidrolitik seperti amilase, selulase, xilanase, ligninase (Choi *et al.*, 2005) dan kitinase (Zinniel *et al.*, 2002).

Penelitian tentang cendawan endofit dari berbagai jenis tanaman obat telah banyak dilakukan diantaranya oleh Hsiao *et al.* (2016) telah melakukan isolasi senyawa metabolit sekunder cytochalasan yang bersifat anti-inflammatory dari cendawan endofit *Phomopsis theicola* BCRC asal tanaman endemik Taiwan *Litsea hypophaea*. Martin & James (2015) melakukan isolasi cendawan endofit dari rumput disepanjang pesisir Oregon dan memperoleh cendawan endofit yaitu *Penicillium* sp., *Phlebia* sp. *Heterobasidium* sp. *Phaeosphaeria* sp. dan

Aureobasidium sp. yang memperlihatkan aktivitas dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus* sp. Sejauh ini belum ada data mengenai cendawan endofit yang dilaporkan berasal dari Akar wangi (*Vetiveria zizanioides* L.).

Akar wangi (*Vetiveria zizanioides* L.) merupakan tanaman aromatik yang banyak digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Berdasarkan analisis fitokimia dari ekstrak akar wangi diketahui memiliki kandungan alkaloid, asam amino, flavonoid, saponin dan tanin (Ratha *et al.* 2012) yang bermanfaat sebagai agen antifungi, antioksidan dan antibakteri (Moffitt *et al.* 2002). Soni *et al.* (2015) menguji ekstrak akar wangi terhadap 9 isolat bakteri dan 4 isolat cendawan. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak akar wangi mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar $15 \pm 0,12$ mm

Penelusuran dan pemanfaatan senyawa aktif dari akar wangi masih terbatas dalam isolasi senyawa yang dihasilkan oleh akar wangi tersebut sehingga akan membutuhkan banyak biomassa. Oleh karena itu, cara yang efisien untuk memperoleh senyawa bioaktif tersebut adalah dengan menggunakan cendawan endofit. Besar kemungkinan cendawan endofit yang menetap pada akar wangi tersebut memiliki kemampuan untuk mensintesis senyawa antimikroba yang sama seperti tanaman inangnya.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain *Laminar Air Flow* (LAF) oven (Memmert), inkubator (Memmert), autoklaf (All American), kompor listrik, timbangan digital, spatula, batang pengaduk, cawan Petri, bunsen, pipet volume, gelas ukur, gunting, jarum ose, mikropipet dan Tip, *shaking incubator*, sedotan steril, spritus, tisu, *plastic wrap*, *alumunium foil*, *cotton swab*, kapas, sarung tangan, masker serta alat-alat gelas.

Bahan yang digunakan yaitu akar dan daun tanaman akar wangi (*V. zizanioides* L.), Bakteri target (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*), cendawan target (*Candida albicans*), *Malt Extract Agar* (MEA), *Potato Dextrose Yeast*

(PDY), *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), aquades steril, alkohol 70%, natrium hipoklorit (NaOCl) 5,3 %, dan antibiotik kloramfenikol.

Pengambilan Sampel

Sampel tanaman akar wangi (*V. zizanioides* L.) diambil dari perumahan warga yang terletak di Kecamatan Rumbai Pesisir, Pekanbaru.

Prosedur Kerja

Isolasi Cendawan Endofit

Isolasi cendawan endofit dilakukan dengan mengacu pada Okane *et al.* (2008) dengan modifikasi. Isolasi cendawan endofit dari tanaman akar wangi dimulai dengan mengoleksi tanaman dari lapangan selanjutnya dibersihkan dari kotoran dengan cara mencucinya di bawah air mengalir. Bagian akar dan daun tanaman akar wangi dipotong secara aseptik dengan pisau menjadi potongan-potongan berukuran ± 1 cm. Potongan akar dan daun tersebut disterilisasi dengan cara direndam didalam larutan alkohol 70 % selama 1 menit, natrium hipoklorit 5,3 % selama 5 menit, dan terakhir dengan alkohol selama 30 detik. Setelah itu, potongan akar dan daun tersebut dibilas dengan aquades sebanyak 3 kali. Sampel akar dan daun diinokulasi di dalam cawan Petri yang sudah berisi medium MEA. Setiap cawan Petri berisi 4 potong akar atau daun. Masing-masing sampel diinokulasi dengan 3 kali pengulangan. Sebagai kontrol, aquades bilasan terakhir diambil ± 1 ml dan dituang ke dalam medium MEA secara *spread plate*. Sampel tanaman yang sudah diinokulasi, selanjutnya diinkubasi pada suhu 25-30 °C selama 5-7 hari atau sampai cendawan tumbuh

Produksi Senyawa Antimikroba dari Cendawan Endofit

Setiap isolat cendawan endofit yang tumbuh pada media PDA diambil sebanyak 6 potongan dengan menggunakan sedotan steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi 10 ml media *Potato Dextrose Broth* (PDB). Kemudian diinkubasi di dalam *shaking incubator* selama 21-28 hari dengan kecepatan 120 rpm dan suhu 28°C.

Persiapan Mikroba Uji

Sebanyak satu ose koloni *Candida albicans* diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi 10 ml media *Potato Dextrose Yeast* (PDY) cair, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 18-24 jam. Sebanyak satu ose koloni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diinokulasikan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang sudah berisi 10 ml media *Nutrient Broth* (NB), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Uji Aktivitas Antimikroba dari Isolat Cendawan Endofit Asal Tanaman Akar Wangi.

Uji aktivitas antimikroba dari cendawan endofit menggunakan metode sumuran. *Candida albicans* yang sudah ditumbuhkan pada media PDY cair selama 18-24 jam diambil menggunakan *cotton bud*. Selanjutnya di *swab* secara horizontal ke media PDY Agar dan dibiarkan selama 5 menit. Kemudian, media PDY Agar dilubangi dengan menggunakan sedotan steril yang berdiameter 6 mm sebanyak 3 sumuran percawan. Setiap sumuran diisi dengan 0,1 μ l dari hasil fermentasi cendawan endofit yang telah ditumbuhkan pada media PDB. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu ruang dan diamati zona hambat yang terbentuk selama 24-48 jam.

Bakteri uji yang sudah ditumbuhkan pada media NB selama 24 jam diambil dengan menggunakan *cotton bud*. Selanjutnya di *swab* secara horizontal ke media NA. Cawan Petri yang sudah berisi media NA dilubangi dengan menggunakan sedotan steril yang berdiameter 6 mm sebanyak 3 sumuran percawan. Setiap sumuran diisi dengan 0,1 μ l dari hasil fermentasi isolat cendawan endofit. Kemudian, diinkubasi pada suhu 37°C dan diamati zona hambat yang terbentuk selama 24-48 jam.

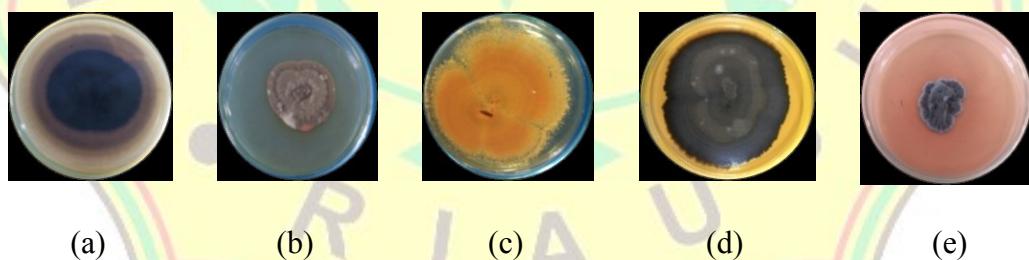
Analisis Data

Data yang telah diperoleh dari hasil isolasi cendawan endofit dari tanaman akar wangi (*V. zizanioides* L.) disajikan dalam bentuk tabel dan gambar, serta dijelaskan secara deskriptif berdasarkan ukuran zona hambat.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Cendawan Endofit dari Akar Wangi

Sebanyak 33 isolat cendawan endofit berhasil diisolasi dari 88 segmen akar dan 88 segmen daun dari tanaman akar wangi (*V. zizanioides* L.). Cendawan endofit yang berhasil diisolasi memiliki morfologi makroskopis yang berbeda-beda yang meliputi warna koloni, bentuk koloni, elevasi koloni dan tekstur koloni (Gambar 3.1).



Gambar 3.1. Beberapa isolat cendawan endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman akar wangi (*Vetiveria zizanioides* L.); (a) IH 4, (b) IH 9, (c) IH 14, (d) IH 17, dan (e) IH 26.

Uji Aktivitas Antimikroba

Hasil uji aktivitas antimikroba yang telah dilakukan, diperoleh 29 isolat cendawan endofit mampu menghambat

pertumbuhan *S. aureus*, 30 isolat mampu menghambat *E. coli* dan 21 isolat menghambat pertumbuhan *C. albicans* (Tabel 3.1).

Tabel 3.1. Uji Aktivitas Antimikroba dari Isolat Cendawan Asal Tanaman Akar Wangi (*Vetiveria zizanioides* L.)

Isolat	Zona hambat (mm)					
	<i>S. aureus</i>	Kategori	<i>E. coli</i>	Kategori	<i>C. albicans</i>	Kategori
IH 1	9	Sedang	14	Kuat	12	Kuat
IH 2	23	Sangat kuat	9	Sedang	4	Lemah
IH 3	13	Kuat	5	Sedang	6	Medium
IH 4	20	Sangat kuat	9	Sedang	2	Lemah
IH 5	-	-	8	Sedang	8	Medium
IH 6	1	Lemah	15	Kuat	-	-
IH 7	-	-	22	Sangat Kuat	12	Kuat
IH 8	6	Sedang	15	Kuat	13	Kuat
IH 9	21	Sangat kuat	12	Kuat	-	-
IH 10	19	Kuat	15	Kuat	-	-
IH 11	21	Sangat kuat	13	Kuat	-	-
IH 12	5	Sedang	-	-	-	-
IH 13	4	Lemah	14	Kuat	4	Lemah
IH 14	2	Lemah	-	-	-	-
IH 15	21	Sangat kuat	14	Kuat	3	Lemah
IH 16	21	Sangat kuat	-	-	-	-
IH 17	10	Sedang	5	Sedang	-	-
IH 18	2	Lemah	12	Kuat	-	-
IH 19	21	Sangat kuat	16	Kuat	19	Kuat
IH 20	-	-	21	Sangat kuat	-	-
IH 21	21	Sangat Kuat	19	Kuat	-	-
IH 22	3	Lemah	16	Kuat	5	Medium
IH 23	2	Lemah	12	Kuat	-	-
IH 24	3	Lemah	14	Kuat	3	Lemah
IH 25	3	Lemah	16	Kuat	6	Medium
IH 26	2	Lemah	13	Kuat	5	Medium
IH 27	14	Kuat	14	Kuat	6	Medium
IH 28	-	-	14	Kuat	5	Medium
IH 29	9	Sedang	14	Kuat	19	Kuat
IH 30	5	Sedang	19	Kuat	-	-
IH 31	19	Kuat	11	Kuat	6	Medium
IH 32	6	Sedang	19	Kuat	6	Medium
IH 33	23	Sangat kuat	13	Kuat	2	Lemah

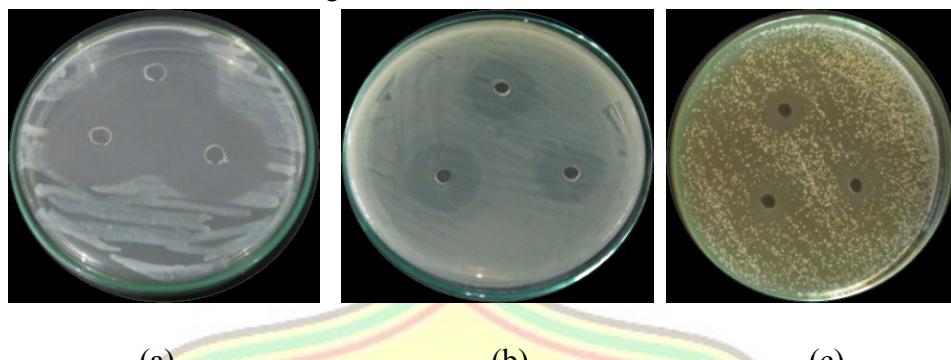
Keterangan: -: tidak ada zona hambat

Berdasarkan tabel 3.1, zona hambat yang dihasilkan oleh isolat cendawan endofit terhadap *S. aureus* terdapat 4 isolat dengan kategori kuat yaitu isolat IH 3, IH 10, IH 27, dan IH 31; 9 isolat dengan kategori sangat kuat yaitu isolat IH 2, IH 4, IH 9, IH 11, IH 15, IH 16, IH 19, IH 21, dan IH 33. Zona hambat yang dihasilkan oleh isolat cendawan endofit terhadap *E. coli* terdapat 23 isolat dengan kategori kuat yaitu isolat IH 1, IH 6, IH 8, IH 9, IH 10, IH 11, IH 13, IH 15, IH 18, IH 19, IH 21, IH 22, IH 23, IH 24, IH 25, IH 26, IH 27, IH 28, IH 29, IH 30, IH 31, IH 32, dan IH

33; 2 isolat dengan kategori sangat kuat yaitu isolat IH 7 dan IH 20. Sedangkan zona hambat yang dihasilkan oleh cendawan endofit terhadap *C. albicans* yang termasuk ke dalam kategori kuat yaitu isolat IH 1, IH 7, IH 8, IH 19 dan IH 29. Penghambatan antimikorba pada penelitian ini menggunakan pengkategorian dari Davis & Stout (1971) yaitu untuk kategori lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (11-20 mm) dan sangat kuat (>20) berdasarkan diameter zona hambat yang diperoleh.

Zona hambat yang terbentuk disekitar sumuran menunjukkan kemampuan dari isolat cendawan endofit tersebut dalam menghambat

pertumbuhan *E.coli*, *S. aureus* dan *C.albicans* (Gambar 3.2).



Gambar 3.2 Uji aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* (a), *E.coli* (b) dan *C.albicans* dengan metode difusi agar.

Pada pengujian antimikroba dengan hasil fermentasi isolat cendawan endofit diperoleh nilai zona hambat yang berbeda berdasarkan bakteri dan cendawan uji masing-masing. Frazier & Westhoff (1988) menyatakan bahwa kemampuan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain konsentrasi zat antimikroba, suhu lingkungan, waktu penyimpanan, sifat-sifat mikroba seperti (jenis, jumlah, umur dan keadaan mikroba), serta fisik dan kimia makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah senyawa di dalamnya.

Kemampuan antibakteri yang dihasilkan oleh isolat cendawan endofit berbeda-beda. Menurut Pelczar dan Chan (1998) semakin tinggi daya zat antibakteri yang dihasilkan, maka semakin tinggi daya hambat yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening. Zona hambat tersebut menunjukkan aktivitas suatu senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri patogen.

Rata-rata hasil uji aktivitas antimikroba terbesar dari isolat cendawan endofit ditemukan pada *S. aureus*. Secara umum penghambatan lebih besar terhadap bakteri Gram positif yaitu *S. aureus* dibandingkan dengan bakteri Gram negatif *E. coli*, hal ini disebabkan karena struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan

yang tidak terlindungi oleh membran luar (Navarre dan Schneewind 1999). Perbedaan struktur lapisan membran tersebut menyebabkan bakteri Gram negatif kurang sensitif terhadap antibakteri daripada bakteri Gram positif (Giguère *et al.*, 2006). Menurut Fajrina *et al.* (2008), mekanisme penghambatan yang dilakukan oleh senyawa antibakteri dapat melalui beberapa cara yaitu kerusakan pada dinding sel, perubahan permeabilitas sel, dan menghambat sintesis protein dan asam nukleat. Banyak faktor dan keadaan yang dapat mempengaruhi kerja antibakteri, antara lain konsentrasi antibakteri, jumlah bakteri, spesies bakteri, adanya bahan organik, suhu, dan pH lingkungan.

Beberapa isolat yang tidak menghasilkan zona hambat, kemungkinan menghasilkan senyawa lain seperti pemberi warna atau pigmen, racun, agen pertumbuhan, pestisida (Demain, 1998) dan sebagai antikanker (Chandra, 2012). Menurut Tan & Zou (2000), mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang karakternya mirip atau sama dengan inangnya. Hal ini disebabkan adanya pertukaran genetik yang terjadi antara inang dan mikroba endofit secara evolusioner.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian tentang isolasi cendawan endofit dari tanaman akar wangi (*Vetiveria zizanioides* L.) dan uji aktivitas

antimikroba terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans* dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi cendawan endofit dari tanaman akar wangi diperoleh 33 isolat. Uji aktivitas antifungi terhadap *C. albicans* diperoleh 20 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*, 29 isolat cendawan endofit mampu menghambat *S. aureus* dan 30 isolat mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Penelitian selanjutnya agar dapat melakukan penelitian untuk mengetahui jenis-jenis senyawa kimia dari cendawan endofit asal tanaman akar wangi yang dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans* sehingga dapat diproduksi dalam jumlah yang banyak dan melakukan identifikasi mikroskopis dan molekuler isolat cendawan endofit dari tanaman akar wangi yang potensial

DAFTAR PUSTAKA

- Azevedo, J. L., W. Maccheroni Jr, J. O. Pereira., dan W. L. de Araujo. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology* 3:1.
- Chandra, S. (2012). Endophytic fungi: novel sources of anticancer lead molecules. *Appl Microbiol Biotechnol*, 95, 47-59.
- Choi, Y. W. I. J. Hodgkiss and K. D. Hyde. 2005. Enzyme production by endophytes of *Brucea javanica*. *Journal of Agriculture Technology*. 1: 55-65.
- Departemen Kesehatan. 2015. Penggunaan Antibiotik Bijak dan Rasional Kurangi Beban Penyakit Infeksi. www.depkes.go.id . [18 April 2016]
- Demain, A.L. (1998). Induction of microbial secondary metabolism. *Internatl microbiol*, 1, 259-264
- Fajrina IH, Djamarudin AM, Habibie MS, Harantanti, Sari RF. 2008. Potensi Kitosan Sebagai Bahan Antibakteri. Laporan Akhir PKM, Institut Pertanian Bogor.
- Giguere, S. Prescott J. F., Baggot J. D., Walkwer R. D., Dowling PM. 2006. Antimicrobial Therapy In Veterinary Medicine, 4th Ed. Blackwell Publishing, Ames Iowa.
- Hsiao Y, Hsun SC, Ta WL, Sung YH, Gwo FY, Ming JC, Ih SC. 2016. Secondary metabolite and bioactivity of the endophytic fungus *Phomopsis theicola* from Taiwanese endemic plant. *Rec.Nat.Prod.* 10(2):189-194
- Lu H, Zou WX, Meng JC, Hu J, Tan RX. 2000. New Bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Sci.* 151:76-73.
- Martin RC, James ED. 2015. Isolation and Identification of Fungal Endophytes from Grasses along the Oregon Coast. *American Journal of Plant Sciences*. 6:3216-3230
- Moffitt, B.A. Neilan. —Evolutionary Affiliation Within the Superfamily of Ketosynthases Reflect Complex Pathway Associations|. *J. Mol. Evol*, vol. 56, pp. 446-457. 2002.
- Okane I, Praset S, Kyoko T, Thomas L, Somsak S, Nigel HJ, Akira N, Wancharn P, Suzuki K. 2008. Study of endophytic *Xylariaceae* in Thailand: diversity and taxonomy inferred from rDNA sequence analyses with saprobes forming fruit bodies in the field. *Mycoscience* 49: 359-3772.
- Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan. 1998. Elements of Microbiology. New York: McGraw-Hill Book Company, Inc diterjemahkan oleh R.S..
- Petrini O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In *Microbial ecology of leaves*, Eds., J.H. Andrewsand S.S. Hirano. New York: Springer Verlag 179-197.
- Petrini O, Thomas NS, Toti L, Viret O. 1992. Ecology, metabolite production and substrat utilization in endophytic fungi. *Nat toxin*. 1:185-196.
- Ratha, M, Subha. K, Senthilkumar. G dan Panneerselvam.A. (2012). Screening of phytochemical and antibacterial activity of *Hemidesmus indicus* (L.) and *Vetiveria zizanoides* (L.). *Europ J. Exp. Biol.* 2(2): 363-368.
- Santiago C, Fitchett C, Munro MHG, Jalil J, Santhanam. 2011. Cytotoxic and

- antifungal activities of 5-Hydroxyramulosin, a compound produced by an endophytic fungus isolated from *Cinnamomum mollisimum* Evidence-Based complementary & alternative medicine 2012:6
- Soni A, Dahiya P. 2015. Screening of Phytochemicals and Antimicrobial Potential of Extracts of *Vetiver zizanoides* and *Phragmites karka* Against Clinical Isolates. *Int. J. App. Pharm.* 7 (1): 22-24
- Strobel G, Daisy B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*; 67(4): 491-502.
- Tan, RX, Zou WX. 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat Prod Rep.* 18:448-459.
- Zinniel, D. K., P. Lambrecht, N. B. Haris, Z. Feng, D. Kuczmarski, P. Higley, C. A. Ishimaru, A. Arunakumari, R. G. Barletta, and A.K. Vidader. 2002. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 68 (5):2198-2208.

