

# Hochschule Anhalt (FH)

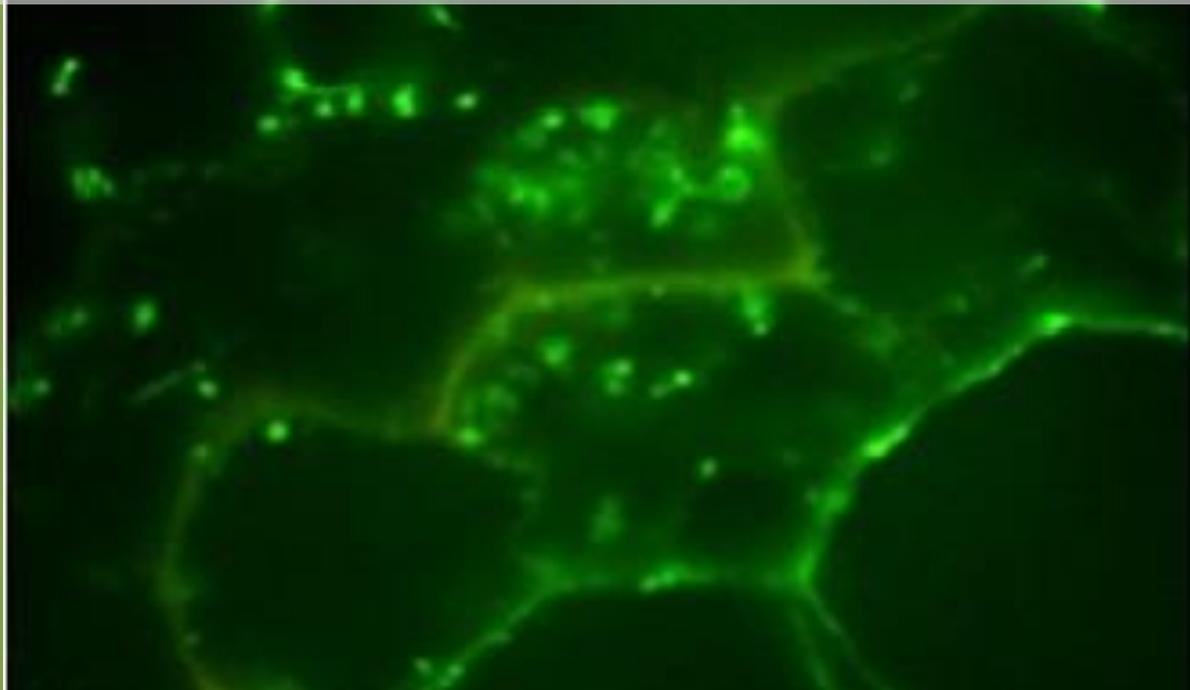
Fachbereich Angewandte Biowissenschaften und Prozesstechnik

Pflanzenbiotechnologie (dual)

## Bachelorarbeit

Endophytische Mikroorganismen als Produzenten von Pflanzenmetaboliten -

Ein Überblick



**vorgelegt von:** Regina Devrient

**Matrikelnummer:** 4045223

**geboren am:** 04.06.1984

**Gutachter:** Prof. Dr. Schellenberg

**Zweitgutachten:** Dr. Schneider

**Abgabetermin:** 10.04.2014

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>2</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>2</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>2</b>
<b>1 Zusammenfassung</b>	<b>3</b>
<b>2 Einleitung</b>	<b>4</b>
<b>3 Stand der Forschung</b>	<b>5</b>
3.1 Endophyten . . . . .	5
3.2 Endophyten-Wirtspflanzen-Interaktion . . . . .	8
3.3 Stoffgruppen und ihre Wirkung . . . . .	12
3.4 Gewinnung der Metaboliten . . . . .	17
3.5 Anwendung . . . . .	19
<b>4 Diskussion</b>	<b>21</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>22</b>
<b>A Anlagen</b>	<b>28</b>
A. Gegenüberstellung der Interaktionen von Bakterien und Pilz mit der Pflanzenwurzel . . . . .	29
B. Metaboliten von pilzlichen Baumendophyten . . . . .	30
C. Metaboliten von pilzlichen Endophyten - Eine Auswahl . . . . .	34

## Abkürzungsverzeichnis

<b>ACC</b>	1-Aminocyclopropan-1-Carbonsäure
<b>DSE</b>	dunkle, septierte Endophyten
<b>GFP</b>	grün fluoreszierendes Protein
<b>HA</b>	Habitat-adapted
<b>IAA</b>	Indol-3-Essigsäure
<b>ISR</b>	induzierte systemische Resistenz
<b>NHA</b>	Nonhabitat-adapted

## Abbildungsverzeichnis

1	Endophytische Kolonisierung einer Pflanzen mit wachstumsförderndem Bakterium ( <i>Burkholderia phytofirmans</i> PsJN), beobachtet durch FISH, zeigt die Bakterienzellen als grüne Stäbchen innerhalb der Rinde mit grüner Fluoreszenz. Maßstabsbalken: 25 mm (Compant <i>et al.</i> , 2010) . . . . .	1
2	Ausgewogener Antagonismus zwischen pilzlicher Virulenz und pflanzlicher Abwehr . . . . .	5
3	Abgestimmter Lebenszyklus von <i>Epichloë festucae</i> und seinem Wirtsgras <i>Festuca rubra</i> . . . . .	6
4	Endophyten-Pflanzen-Interaktion . . . . .	9
5	Wirkungen von <i>Bacillus mojavensis</i> auf Wurzelwachstum, Anzahl und Größe der Seitenwurzeln . . . . .	10
6	An „Ryegrass Staggers“ erkrankte Schafe (Champness, Stand: 2009) . . . . .	12
7	Vom Endophyten zum Produkt . . . . .	17
8	Aufnahmen von GFP-markierten Endophyten . . . . .	18
9	Das Medikament: Taxol . . . . .	20

## Tabellenverzeichnis

1	Einteilung der Pilze (Rodriguez <i>et al.</i> , 2009) . . . . .	7
2	Pflanzenmetaboliten gewonnen aus Endophyten, Teil 1 (Alkaloide, Phytohormone) . . . . .	14

# 1 Zusammenfassung

In vorliegender Bachelorarbeit werden publizierte Pflanzenmetaboliten, die von endophytischen Mikroorganismen produziert werden, in einer Übersicht zusammengefasst. Endophyten sind Mikroorganismen, die symptomlos in Pflanzen vorkommen. Sie verursachen keine offensichtlichen Schäden, da sie nach ersten Definitionen nicht pathogen sind. Spätere Publikationen geben an, dass durch Veränderungen des ausgewogenen Erreger-Wirts-Antagonismus eine pathogene Interaktion auftreten kann. Mögliche Endophyten-Wirts-Interaktionen werden genannt. Anschließend wird auf produzierte Metaboliten wie z. B. Phytohormone oder Alkaloide eingegangen, die das Pflanzenwachstum oder die Insektenabwehr beeinflussen. Die Gewinnung der Metaboliten aus den Endophyten wird anschließend angeschnitten. Letztendlich werden Produkte vorgestellt, die auf dem Markt verfügbar sind. Als durchgehendes Beispiel wird Paclitaxel benutzt, ein anticancerogener Wirkstoff, der ursprünglich aus der Rinde der Pazifischen Eibe gewonnen wurde.

## 2 Einleitung

„Eure Nahrung soll euer Heilmittel sein und euer Heilmittel soll Eure Nahrung sein“  
Hippokrates (460–370 v. Chr.)

In Zeiten, in denen der Ruf nach nachhaltigen Alternativen zur biologischen Kontrolle von Pflanzenpathogenen laut wird, sind Endophyten<sup>1</sup>, die symptomlos in der Pflanze leben, eine nicht zu vernachlässigende Möglichkeit, um die Gabe von Pflanzenschutzmitteln und Düngern zu reduzieren. Die von Endophyten besiedelten Pflanzen sind durch Endophyten-Wirts-Interaktionen unter anderem in der Lage, schadhafte Stoffe im Boden abzubauen. Endophyten können Luftstickstoff binden und verhelfen dadurch der Pflanze zum Wachstum. Pflanzen können durch Endophyten besser mit physischen Umweltbelastungen wie Trockenheit umgehen. Um den Zusammenhang zum eingehenden Zitat herzustellen, sei erwähnt, dass Endophyten unzählige antibiotische Stoffe metabolisieren, die in der Medizin eine große Rolle, z.B. in der Krebsbehandlung, spielen.

In den letzten Jahren wurden immer mehr Verbindungen gefunden, die Grundlage für bioaktive Produkte sind und in Landwirtschaft, Medizin oder anderen Lebensbereichen Anwendung finden könnten. Waren es 1986 ca. 750 Endophyten (meist Pilze) in ca. 200 verschiedenen Pflanzenarten, die bekannt waren (Butin, 1986), sind laut einem Artikel von Proksch *et al.* (2010) in allen 300 000 höheren Pflanzen auch mehrere Endophyten vorhanden. Heute wird davon ausgegangen, dass von den 1 Millionen Arten weniger als 1 % beschrieben worden sind.

„Endophyten sind hypervielfältig auf Artenebene, phylogenetisch reich, ökologisch wichtig, evolutionär dynamisch und stellen eine kaum untersuchte Fundgrube der taxonomischen, genetischen und funktionellen Vielfalt dar.“ (übersetzt nach Endo-Biodiversity.org. (2011)). Deshalb ist es bei der Vielfalt der gewonnenen Erkenntnisse wichtig, dass die verschiedenen publizierten metabolischen Produkte zusammengefasst werden. Ziel dieser Arbeit soll ein Ansatz hierfür sein.

Ausgehend von dem vorliegenden Kompendium: „Endophytes for plant protection: the state of the art“, herausgegeben von C. Schneider *et al.* (2013), werden verschiedene Reviews, Artikel sowie Bücher über Endophyten und deren Metaboliten gelesen. Ein grober Überblick über das vorhandene Material soll gewonnen und schon vorselektiert werden. Anschließend wird eine Übersicht der relevanten Endophyten erstellt, ausgehend von den Stoffgruppen und ihrer Wirkung.

Zusammenfassend soll eine Arbeit vorliegen, die einen Überblick über die Begriffsdefinition des Endophyten und seine Interaktion mit der Wirtspflanze gibt. Es geht darum, welche Pflanzenmetabolite gebildet werden und wie sie im Labor gewonnen werden können. Im letzten Abschnitt soll ermittelt werden, welche Produkte vielleicht schon auf dem Markt erhältlich sind.

---

<sup>1</sup>von griech.: *endon* „innen“ und *phytón* „Pflanze“; Bakterien und Pilze.

## 3 Stand der Forschung

### 3.1 Endophyten

1866 wurde der Begriff des Endophyten von de Bary eingeführt (Hyde & Soyong, 2008). 1898 veröffentlichte Vogl erstmals eine Schrift über isolierte symptomlose Endophyten aus Samen von *Lolium temulentum* [Tausend-Lolch, RD] (Hyde & Soyong, 2008).

ENDOPHYTEN sind Mikroorganismen (Pilze und Bakterien), die symptomlos im gesunden Gewebe ihrer Wirtspflanze vorkommen und keine offensichtlichen Schäden verursachen (Bacon & Hinton, 2006). Das heißt, sie können zwar parasitisch sein, aber nicht pathogen, weshalb sie keine Krankheitssymptome ausprägen (Butin, 1986).

Neuere Veröffentlichungen sind nicht mehr der Ansicht, dass Endophyten symptomlos sein müssen. Laut Schardl (1997, zitiert nach Ardanov [2013]) leben einige Endophyten nicht ihren ganzen Lebenszyklus als Endophyten. So kann es bei einer Schwächung der Wirtspflanze oder bei Seneszens geschehen, dass der ehemals mutualistische Endophyt zu einem Pathogen wird und eine Infektion der Pflanze nach sich zieht (Proksch *et al.*, 2010) (siehe Abbildung 2). Endophyten können demzufolge latente Krankheitserreger und latente Saphrotropen sein (nach Porras-Alfaro & Bayman [2011] aus Ardanov [2013]).

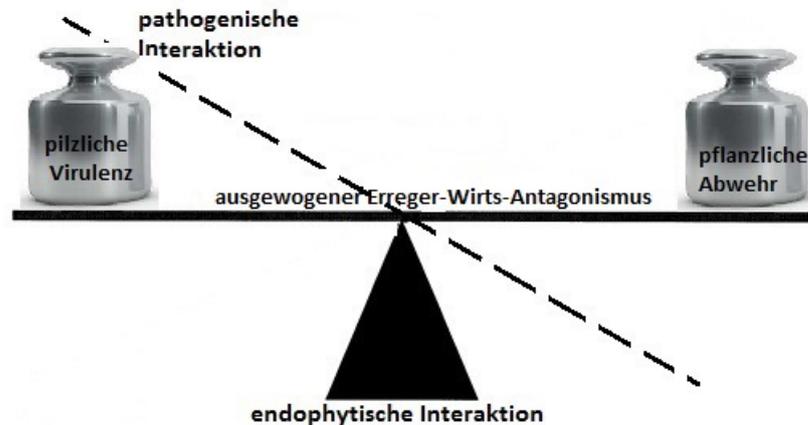


Abbildung 2: Ausgewogener Antagonismus zwischen pilzlicher Virulenz und pflanzlicher Abwehr (in Anlehnung an Schulz [2002])

Backman & Sikora (2008) geben 3 Typen von Endophyten an:

- (1) Pathogene anderer Wirte, die in der endophytischen Verbindung nicht pathogen sind;
  - (2) nicht pathogene Mikroben und
  - (3) Pathogene, die unpathogen gemacht wurden durch Selektionsmethoden oder genetische Veränderung, aber immer noch in der Lage sind, Pflanzen zu besiedeln.
- Auch Rai *et al.* (2013) schreiben, dass einige Endophyten in Symbiose mit der Wirtspflanze lebten und andere opportunistische Pathogene seien.

Die ÜBERTRAGUNG von Endophyten erfolgt durch horizontalen und/oder vertikalen Gentransfer (Schardl *et al.*, 1997). In Abbildung 3 werden die Übertragungsarten anhand des Beispiels des Endophyten *Epichloë festucae* und des Wirtsgrases *Festuca*

*rubru* gezeigt. Die horizontale Übertragung erfolgt im sexuellen Lebenszyklus über Sporen oder einen dritten Symbionten (den Zweiflügler *Phorbia phrenione*). Im asexuellen Lebenszyklus des Symbionten wird der Samen der Mutterpflanze systemisch infiziert und vertikal auf die nächste Generation übertragen.

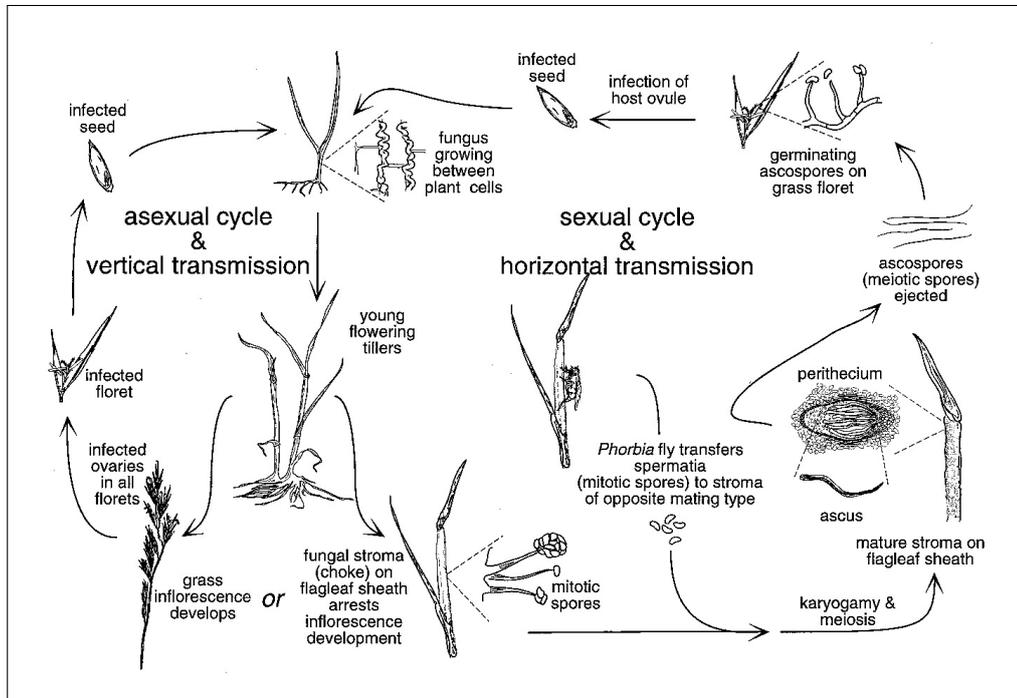


Abbildung 3: Beispiel für die pleiotrop Symbiose im abgestimmten Lebenszyklus von *Epichloë festucae* und seinem Wirtsgras, *Festuca rubra*.

Die alternativen Lebenszyklen treten auf verschiedenen Sprossen einer symbionteninfizierten Pflanze auf. Im asexuellen Lebenszyklus des Symbionten (im Uhrzeigersinn) infiziert er systemisch die produzierten Samen auf der Mutterpflanze und wird somit vertikal auf die nächste Wirtsgeneration übertragen. Der Sexualzyklus des Symbionten (gegen den Uhrzeigersinn) wird durch Pilzwachstum (Stroma) ausgelöst, das einen jungen blühenden Spross entwickelt und die Reifung des Blütenstandes verhindert. Nach Befruchtung und Reifung werden Meiose-Sporen ausgeworfen und vermitteln horizontalen Gentransfer. Antagonistische *Epichloë*-Arten sterilisieren die meisten oder alle blühende Sprosse ihrer Wirtspflanzen und sind nie vertikal übertragbar (Schardl *et al.*, 1997)

Nach Ernst (2005) gibt es zwei Typen von endophytem Mutualismus. Der erste Typ ist induzierbarer Mutualismus (horizontale Übertragung) und der zweite Typ die konstitutive Form des Mutualismus (vertikal, horizontal und Mischform).

Endophyten haben ein spezifisches oder breites Wirtsspektrum (Rodriguez *et al.*, 2009). Sie sind in jeder Pflanze zu finden (Strobel & Daisy, 2003), aber die Vielfalt der (Pilz-)endophyten ist abhängig von Umweltbedingungen (Arnold & Lutzoni, 2007), Wirtspflanzen- und Pilzgenotyp. Endophyten sind Nischenbesetzer (Bacon & Hinton, 2006), haben teilweise eine biotrophe Nährweise (Unbekannt, 2012) und fördern u. a. durch Produktion von Phytohormonen das Pflanzenwachstum (Tan & Zou, 2001). In Abhängigkeit vom Pflanzengenotyp können sowohl positive als auch

negative Endophyteneffekte in Erscheinung treten (Hesse *et al.*, 2000).

BAKTERIELLE ENDOPHYTEN können lebenslange natürliche Verbände bilden. Sie sind interzellulär und/oder intrazellulär in allen Organen der kolonisierten Pflanze zu finden (Bacon & Hinton, 2002).

Laut Rosenblueth & Martínez-Romero (2006) gibt es vorwiegend 4 Stämme von bakteriellen Endophyten:  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -*Proteobakterien*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* und *Actinobacteria*. Ausgenommen sind laut Bacon & Hinton (2006) von dem Begriff Bakterien, die alterndes Pflanzengewebe einnehmen und makroskopische Krankheitsanzeichen hervorbringen.

Endophytische Bakterien sind obligat oder fakultativ und copiotroph (Bacon & Hinton, 2011).

Für ihr Wachstum und das Überleben sind obligate Endophyten streng abhängig von der Wirtspflanze. Ihre Übertragung auf andere Pflanzen erfolgt vertikal oder über Vektoren. Fakultative Endophyten existieren eine Phase in ihrem Lebenszyklus außerhalb der Wirtspflanzen. Bakterielle Pflanzenkrankheiten könnten im Extremfall als (fakultative oder obligate) Endophyten angenommen werden, weil sie in avirulenten Formen oft in Pflanzen auftreten (Hardoim *et al.*, 2008).

PILZLICHE ENDOPHYTEN wurden in allen untersuchten gesunden Pflanzengewebe gefunden (Rai *et al.*, 2013). Endophytische Pilze umfassen nur einen Teil der nicht pathogenen Mikrofauna (British Society for Plant Pathology, 1998)

Einige pilzliche Endophyten synthetisieren die gleichen bioaktiven Verbindungen wie ihre Wirtspflanze (Alvin *et al.*, 2014).

Die Einteilung der Pilzendophyten von Rodriguez *et al.* (2009) (Tabelle 1), basiert auf Wirtskolonisation, Übertragung, der *in-planta*-Vielfalt und Fitnessvorteilen für den Wirt, in Clavicipitaceous und Nicht-Clavicipitaceous-Klassen. Die nicht dem Lebensraum angepasst (NHA - Nonhabitat-adapted-)Endophyten sind unabhängig vom Ursprung des Lebensraums, dazu zählen Trockentoleranz und

Tabelle 1: Einteilung der Pilze (Rodriguez *et al.*, 2009)

Kriterien	Clavicipitaceous Klasse 1	Nicht-Clavicipitaceous Klasse 2	Klasse 3	Klasse 4
Wirtsbereich	eng	breit	breit	breit
Gewebekolonisierung	Spross und Rhizome	Spross, Wurzel und Rhizom	Spross	Wurzel
<i>in-planta</i> -Kolonisierung	umfangreich	umfangreich	begrenzt	umfangreich
<i>in-planta</i> -Vielfalt	niedrig	niedrig	hoch	unbekannt
Übertragung	vertikal und horizontal	vertikal und horizontal	horizontal	horizontal
Fitnessvorteile	NHA	NHA / HA	NHA	NHA
Unterabteilung (AM)	Pezizomycotina	Agaricomycotina	Pezizomycotina (P); Saccharomycotina / Agaricomycotina, Pucciniomycotina, Ustilaginomycotina	
Unterabteilung (BM)		Agaricomycotina; Pucciniomycotina		
Ordnung	Hypocreales		(P:)Pezizomycetes, Leotiomycetes, Eurotio	
Beispiele	<i>Epichloë</i> , <i>Neotyphodium</i>	<i>Phoma sp.</i> , <i>Arthrobotrys spp.</i>	-mycetes, Sordariomycetes, Dothideomycetes	DSE

Wachstumsteigerung, wohingegen die Lebensraum (HA - Habitat-adapted) angepassten Vorteile sich auf Grund des spezifischen Selektionsdrucks ausbilden (pH-Wert, Temperatur, Salzgehalt). Pilze der Klasse 2 und 3 sind aus der Abteilung der Ascomycota (AM) und Basidiomycota (BM), Klasse 1 nur Ascomycota.

Es gibt zahlreiche Veröffentlichungen, in denen isolierte Endophyten aus diversen Pflanzen(-teilen) angegeben sind, z. B. bei Hallmann *et al.* (1997, S. 907): Bakteriengattungen aus verschiedenen Kulturen mit Angabe der Pflanzenteile oder Hallmann & Berg (2006, S. 17 f.): Bakterien aus verschiedenen Kulturpflanzenarten.

Mykorrhiza wird, obwohl ebenfalls symptomlos und innerhalb der Pflanzenwurzel auftretend, in der Regel nicht zu den Endophyten gezählt und ist in einer andere Kategorie einzuordnen (Brundrett, 2006; Hyde & Soytong, 2008).

### 3.2 Endophyten-Wirtspflanzen-Interaktion

Die Wirtspflanze kann durch Interaktionen mit dem Endophyten, Toleranzen gegenüber biotischen und abiotischen Umweltfaktoren ausprägen oder besser Nährstoffe aufnehmen. Infolgedessen ist sie u. a. geschützt vor Insektenfraß, kann Schwermetalle abbauen oder besser wachsen.

In Abbildung 4 sind die (hypothetischen) Eigenschaften von Bakterien dargestellt, die an der Interaktion beteiligt sind und so die Kolonisation beeinflussen. Viele Faktoren beeinflussen die Produktion der Metaboliten, aber nur wenige Informationen gibt es über die biochemischen und physiologischen Interaktionen. Im Folgenden sind die Faktoren kurz dargestellt, die zur Kolonisierung der Pflanze, Verteidigung und zum Pflanzenwachstum beitragen.

Wirtsinteraktionssysteme, die die Kolonisation beeinflussen, sind (Compant *et al.*, 2010; Frank, 2011):

**Type IV pili:** Vermittelt eine Bewegungsweise an der Oberfläche (mittels fädiger Proteinstrukturen) die für die Kolonisation unerlässlich ist. Alle neun sequenzierten Endophyten-Genome tragen Gene für Typ IV-Pili (Frank, 2011, S. 115).

**Flagellen und Chemotaxis:** Alle sequenzierten Endophyten codieren Proteine für die Chemotaxis und fast alle für die Flagellen-Biosynthese. Gründe für das Fehlen der Flagellen kann darinbestehen, dass der Wirt in hoher Anzahl besiedelt werden kann und eine bessere Adaption an die Nische erfolgt. Flagellen sind bekannt dafür, die Pflanzenabwehr auszulösen (Frank, 2011).

**Curli-Fasern:** gehören zur Klasse der Amyloide. Sie sind beteiligt an der Oberflächenhaftung und fördern die Kolonisation (Frank, 2011).

**Protein Sekretions Systeme:** (Type I und II) Möglichkeiten, die Proteine abzusondern, detailliert beschrieben bei Saad *et al.* (2006).

Einige weitere Stoffe könnten an der Endophyten-Kolonisation beteiligt sein, zum Beispiel Hämagglutinin, das als pathogener Besiedlungs-Faktor bekannt ist. Hydrolytische Enzyme, welche die Pflanzenzellwand aufweichen (ebenfalls meist von Pathogenen bekannt) und Cellulose, die von Bakterien produziert wird, um sich an der Wirtsoberfläche anzubringen (Frank, 2011).

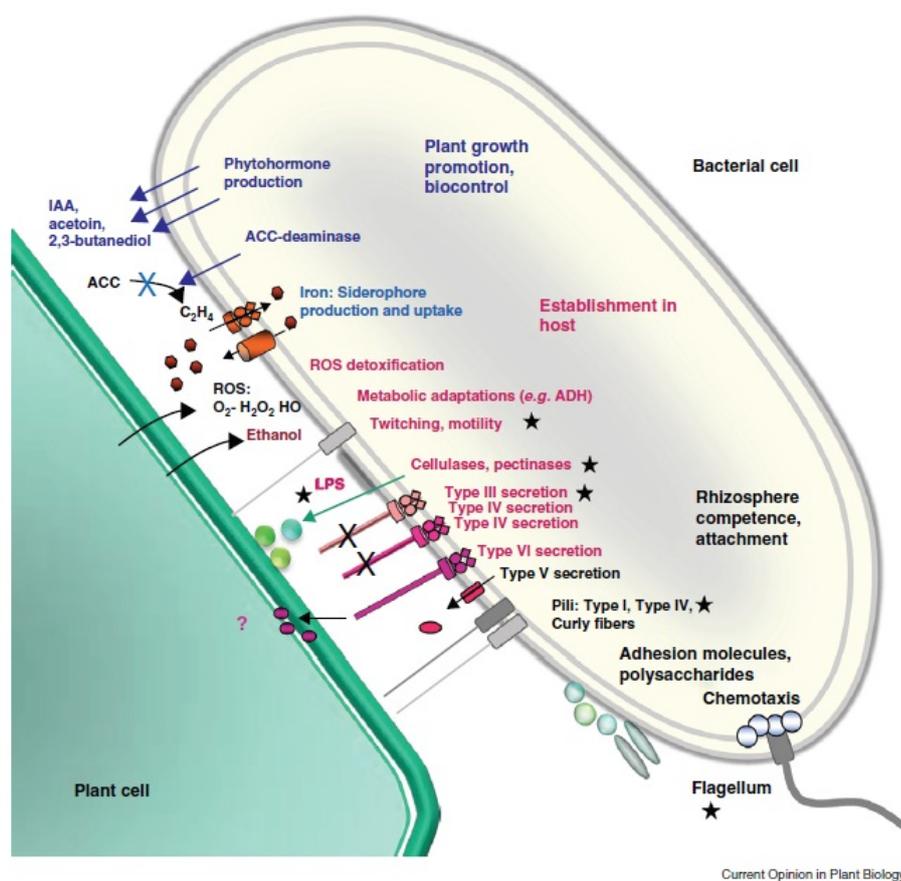


Abbildung 4: Beispielhafte bakterielle Eigenschaften, die vermeintlich an der Endophyten-Wirtspflanzen-Interaktion beteiligt sind (aus experimentellen Studien [★], aus dem Literaturzusammenhang oder durch Genom Vergleiche (Reinhold-Hurek & Hurek, 2011)).

Das direkte Pflanzenwachstum wird gefördert durch die Phytohormon- und die IAA-Synthese als auch:

**1-Aminocyclopropan-1-Carbonsäure (ACC)-Deaminase:** Ethylen ist stressinduziert und kann wachstumshemmend wirken, einige Bakterien können den Ethylen-Gehalt senken durch Abbau der Ethylen-Vorstufe ACC.

**Flüchtige bakterielle Komponenten** (vor allem Acetoin und 2,3-Butandiol): sind Auslöser für pflanzliche Abwehrreaktionen, stimulieren Wachstum und vermitteln Dürresistenz.

**Polyamine:** (Putrescin, Spermidin und Spermin): Gruppe phytohormonähnlicher Verbindungen, erhöhen die Pflanzentoleranz gegen eine Vielzahl abiotischer Stressfaktoren z.B. extreme Temperaturen, Salzgehalt, Hyperosmose, Sauerstoffmangel und Luftschadstoffe.

Die indirekte Wachstumsförderung kann durch Interaktion mehrerer Endophyten erfolgen (Bacon & Hinton, 2006), aber auch durch Stickstofffixierung oder Schutz vor Krankheiten u. a. mittels induzierter systemischer Resistenz (ISR).

**Siderophore:** Schützen vor Krankheit (Auslöser von ISR) und dienen der Eisenaufnahme.

**ISR:** aktiviert die Wirtsabwehr gegen andere Pathogene, ausgelöst durch bakterielle Metaboliten. Dazu gehören LPS (Lipopolysaccharid), Siderophore, Flagellen, Antibiotika, Quorum Sensing N-Acylhomoserinlactone, Salicylsäure und flüchtige Verbindungen wie Acetoin und 2,3-Butanediolsiderophores.

**Antimikrobielle Komponenten:** bieten u.a. Schutz gegen pilzliche Pathogene.

**Knötchenbildung:** Stickstofffixierung durch diazotrophe Endophyten:  $N_2$ -Reduktion und  $NH_3$ -Abgabe an Pflanzen. Antagonistische Wirkung gegen bodenbürtige Pathogene durch endophytische Bakterien (Hallmann *et al.*, 1997).

In Abbildung 5 erkennt man die Auswirkung zweier mit einem Endophyten infizierten Pflanzen (Mais und Buschbohne). Die Infizierten prägen ein vermehrtes Wurzelwachstum aus.



Abbildung 5: Wirkungen von *Bacillus mojavensis* auf Wurzelwachstum, Anzahl und Größe der Seitenwurzeln. (In Anlehnung an: Bacon & Hinton [2002])

Eine Kolonisation ist aber auch durch Vektoren oder Wunden möglich.

Anlage A (Schulz & Boyle, 2006, S. 3) ist eine gute Gegenüberstellung der Charakteristiken, die die Interaktion von bakteriellen und fungalen Endophyten in Pflanzenwurzeln beeinflussen.

Endophyten können Metaboliten in Pflanzen produzieren, die diese zur Pathogenabwehr oder Stressbewältigung benutzen können. Einige Stämme sind wettbewerbsfähiger in einer Wirtspflanze als in anderen (Zabalgogezcoa & Bony, 2005). In einzelnen untersuchten Systemen wurde gezeigt, dass der Genotyp der Wirtspflanze innerhalb der gleichen Art einen Einfluss auf die Auswirkung der Interaktion mit demselben Pilzstamm haben kann (Ernst, 2005).

Beispielhaft für Produkte aus der Interaktion zwischen Endophyt und Wirtspflanze seien folgend genannt.

Eine erhöhte Produktion von Antioxidantien (Flavonide und andere phenolische Antioxidantien) wird vermutlich ausgelöst durch die Produktion von reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) durch Endophyten. ROS wird produziert zum Oxidieren und Denaturieren von Wirtszellmembranen. Dadurch wird die Nährstoffausscheidung aus Pflanzenzellen, die anschließend von Pilzhyphen aufgenommen werden, erleichtert. So kann die Wirtspflanzentoleranz gegenüber ROS-beteiligten Belastungen, z.B. Trockenheit, Krankheiten und Metalltoxizitäten, verbessert werden (Aly *et al.*, 2011). Aber auch durch Abbauwege, Metallbindungen oder Chelat-Systeme in Endophyten kann die Schwermetallverträglichkeit auf z. B. kontaminierten Böden von Wirtspflanzen erhöht werden.

Phytohormone (z. B. IAA und Cytokinin) oder eine verbesserte Nährstoffabsorption durch Endophyten verbessern die Fitness oder auch die Keimfähigkeit der Wirtspflanze. Einige biologisch aktive Pilzmetaboliten hemmen die Fotosynthese der Wirtspflanze (Schulz *et al.*, 2002).

Auslöser für einen Wechsel von mutualistischer zur parasitischen Interaktion, wie schon angesprochen, können ein Ungleichgewicht im Nährstoffaustausch, Umgebungsveränderungen oder geringe genomische Veränderungen sein. Auch ein Wechsel von parasitischer zu mutualistischer Interaktion ist möglich. Beispielsweise löst *Colletotrichum magna* auf Kürbisgewächsen Anthraknose aus, auf Nicht-Kürbisarten verursacht er keine Symptome. Hier ist ein einzelnes verändertes Gen dafür verantwortlich, dass aus dem Parasiten ein Endophyt wird (Kogel *et al.*, 2006). Weitere Beispiele für den multifunktionalen Charakter der Pilze sind bei Brundrett (2006, S. 288) gegeben. Eine Eindeutige Zuteilung der Pilze in Endophyt, Pathogen oder Mycorrhiza ist demzufolge nicht möglich.

Stirbt die Pflanze oder ist sie bereits tot, kann der vor Ort befindliche Endophyt den Abbau initiieren und die Nährstoffe recyceln (Aly *et al.*, 2011).

In Nadelbäumen wurde nachgewiesen, dass die Nadeln sterben, sobald die Endophytenkolonisation einen Schwellenwert erreicht. Dies passiert i. d. R. nicht vor der natürlichen Seneszenz, da die Anzahl der Endophyten mit steigendem Alter der Nadeln zunimmt (Butin, 1986). Ebenso ist die Baumhöhe entscheidend. Mit steigender Höhe nimmt die Anzahl der pilzlichen Endophyten ab (Butin, 1986).

Eine dem Lebensraum angepasste Symbiose ermöglicht es Pflanzen, Belastungen zu überleben und zu wachsen (Aly *et al.*, 2011), so hat sie einen Konkurrenzvorteil gegenüber anderen Pflanzen. Hitzetolerante mit Endophyten besiedelte Pflanzen im Yellowstone-Nationalpark oder salztolerante Pflanzen in Küstennähe wären hierfür ein Beispiel (Aly *et al.*, 2011). Durch Umweltveränderungen, z. B. Frost oder Schadstoffbelastungen, kann es zur Ausbreitung der Endophyten kommen (Butin, 1986). Eine Adaption der Endophyten führt dazu, dass nicht nur besondere Wirtspflanzen, sondern auch spezielle Pflanzenteile besiedelt werden (Rothbaler *et al.*, 2007).

Eine Hypothese die u. a. von Proksch *et al.* (2010) angeführt wird besagt, dass die Grundlage für die Paclitaxelproduktion ein horizontaler Gentransfer sein müsse. Einer der Partner hat die Fähigkeit, das Produkt zu synthetisieren entwickelt und muss es im Laufe der Evolution mittels horizontalen Gentransfers auf den Partner übertragen haben. Proksch *et al.* (2010) führt an, dass Pilze die Fähigkeit erstmalig hatten, und auch Storch *et al.* (2013) gibt an, dass durch HGT (horizontalen Gentransfer) Sekundärstoffgene in Pflanzen übertragen werden.

Die Pflanze wird also gegen Belastungen vom Endophyten geschützt und kann wachsen, im Gegenzug gibt die Pflanze dem Endophyten eine räumliche Struktur (Lebensraum), Austrocknungsschutz, Nährstoffe und bei vertikaler Übertragung eine

Möglichkeit der Verbreitung auf die nächste Generation (Ernst, 2005). Sie kann aber auch die Lebensdauer des Endophyten, das Wachstum oder die Selbstverteidigung durch Verbindungen beeinflussen.

Kurz sei noch die Drei-Wege-Symbiose erwähnt: Ein Virus befindet sich in einem Pilz in einer Pflanze. Die Anwesenheit des Pilzvirus im Endophyten verleiht der Pflanze Hitzetoleranz (Márquez *et al.*, 2007). Insekten verzehren Sporen und können als Vektoren für Pathogene agieren.

### 3.3 Stoffgruppen und ihre Wirkung

Endophyten sind eine neue Quelle für bioaktive Komponenten. Dies sind Stoffe oder Verbindungen, die direkte Auswirkungen auf einen lebenden Organismus haben. Diese Effekte können günstig oder ungünstig je nach Substanz und Dosis sein, weswegen einige Produkte erwünschter als andere sind.

Sekundärmetaboliten von Pflanzen sind schon lange u.a. in der Medizin gegen Krankheiten bekannt und werden angewendet, so z. B. Heilkräuter oder der Inhaltsstoff Paclitaxol. Paclitaxol wurde erstmalig von Wani *et al.* (1971) aus der Rinde der Pazifischen Eibe (*Taxus brevifolia*) isoliert.

Pflanzen, die von Endophyten besiedelt sind, können eine verbesserte Toleranz gegenüber biotischen und abiotischen Stressfaktoren haben, wie z. B. gegen Dürre durch *Trichoderma hamatum* (Bailey *et al.*, 2011), gegen Schwermetalle von DSE (Ban *et al.*, 2012), durch *Piriformospora indica* gegen erhöhten Salzgehalt im Boden (Baltruschat *et al.*, 2008) sowie Schadinsekten (Rowan *et al.*, 1990). Problematische Wirkungen sind z. B. toxische Wirkung auf Mensch und Nutztier (Rowan, 1993).

Ein Beispiel für das nachteilige Auftreten von Endophyten ist „Ryegrass Staggers“ (West, k. A.), auch Weidelgras-Taumelkrankheit genannt (siehe Abbildung 6). Endophyten produzieren ein Toxin, das Vergiftungserscheinungen bei Pferden und Schafen auslöst.



Abbildung 6: An „Ryegrass Staggers“ erkrankte Schafe (Champness, Stand: 2009)

Die Entdeckung, dass Mikroorganismen, die sich innerhalb des Pflanzengewebes befinden können, die gleichen oder ähnliche bioaktiver Verbindungen wie ihre Wirtspflanze produzieren können (Alvin *et al.*, 2014), kann bei der Herstellung homogener Substanzen helfen. Ebenso könnte das die Ernte von langsam wachsenden Pflanzen reduzieren/vermeiden, die Biodiversität und seltene Pflanzen und Bäume wie die Pazifische Eibe schützen. Heute sind zahlreiche Endophyten von anderen Bäumen bekannt, die Taxol produzieren (Schueffler & Anke, 2011, S. 268, eine Übersicht). Bioaktive Stoffe können antibiotisch sein (antimikrobiell, antibakteriell, antifungal, antimykobakteriell, antiviral, antitumoral, anticancerogen) und u. a. aus den Stoffklassen der Alkaloide, Peptide, Steroide, Terpenoide, Isocumarin-Derivate, Chinone,

Flavonoide, Phenolsäuren (Tan & Zou, 2001), Lignane etc. stammen.

Eine Zusammenstellung pflanzlicher Metaboliten, die von Endophyten produziert werden, ist in Tabelle 2 und Tabelle 3 (Anlage C) zu finden. Beispielhaft sollen an dieser Stelle deshalb nur einige genannt werden. Viele der isolierten Verbindungen haben mehrere Wirkungsfelder. Beispielsweise können die Phenylpropanoide anticancerogen, antioxidantisch, antimikrobiel, entzündungshemmend sein.

Das Peptid Coronamycin, das gegen den Malaria-Parasiten (*Plasmodium falciparum*) wirkt, wird aus *Streptomyces sp.* isoliert, der in *Monstera sp.* vorkommt (Ezra *et al.*, 2004) Das Antibiotikum Brefeldin A (antifungal, antitumor, antiviral, anti-mitotic and cytostatic activities) von *Cladosporium sp.* aus *Quercus variabilis* (Wang *et al.*, 2006) wurde aus einer Kulturbrühe gewonnen. Cytomegalovirus-Protease-Inhibitoren (Cytonic acid A und B) wurden aus einer Feststoff-Fermentation von *Cytonaema sp* gewonnen (Guo *et al.*, 2000). Als Insektizide sind z. B. die Alkaloide (die auch als Stickstoffspeicher gelten) oder Azadirachtin bekannt. Die meisten antioxidantischen Bestandteile, produziert durch Endophyten, sind Phenole (Rai *et al.*, 2013). In Joseph & Priya (2011) wird berichtet das Endophyten mit Hilfe von Antioxidantien Polysaccharide aufbauen (nach Liu *et al.*, 2009)

Als Biotenside, d. h. oberflächenaktive Substanzen, wird z. B. Surfactin gewonnen und hier aus kultivierten *Bacillus mojavensis* (Bacon & Hinton, 2011).

Tabelle 2: Pflanzenmetaboliten gewonnen aus Endophyten, Teil 1 (Alkaloide, Phytohormone)

Metaboliten	Funktion	Endophyt	Wirtspflanze	Referenz
<b>1. Pyrrolopyrazin</b>				
Peramin	Insektizid, Frassabschreckend, nicht toxisch für Weidetiere <i>Listronotus bonariensis</i> (=Argentine stem weevil)	<i>Neotyphodium</i> (alt: <i>Acremonium</i> ) <i>Epichloë anamorph: Neotyphodium</i> <i>Acremonium lolii</i>	<i>Lolium perenne</i>	Rowan et al. 1990, Rowan 1993, Schardl et al. 1997, Bush et al. 1997, de Aldana et al. 2009 ; (Bush et al. 1997 kein Peramin nachgewiesen) Bush et al. 1997
		<i>Epichloë festucae</i>	<i>Festuca rubra</i>	Bush et al. 1997
		<i>Epichloë festucae</i>	<i>Festuca gigantea</i>	Bush et al. 1997
		<i>Epichloë festucae</i>	<i>Festuca longifolia</i>	Bush et al. 1997
		<i>Epichloë typhina</i>	<i>Lolium perenne</i>	Bush et al. 1997
		<i>N. lolii</i> X <i>E. typhina</i>	<i>L. perenne</i>	Bush et al. 1997
		<i>Neotyphodium coenophialum</i>	<i>F. arundinacea</i>	Bush et al. 1997
<b>2. Indole-diterpenes</b>				
<b>Alkaloide</b>				
Paxilline (tremorgenic)	Insektizid, toxisch für Weidetiere	<i>Acremonium lolii</i>	<i>Lolium perenne</i> L.	Rowan 1993
Lolitem		<i>E. festucae</i>	<i>Festuca longifolia</i>	Bush et al. 1997
Lolitem B (tremorgenic)	Erreger für 'ryegrass stager'	<i>N. lolii</i>	<i>F. arundinacea</i>	Bush et al. 1997
Lolitem E (nicht tremorgenic)		<i>Acremonium lolii</i>	<i>Lolium perenne</i>	Rowan 1993, Koegh et al. 1996, Miles et al. 1994
Lolitem A		<i>Acremonium lolii</i>	<i>Lolium perenne</i>	Miles et al. 1994
Lolitem N		<i>Acremonium lolii</i>	<i>Lolium perenne</i> L.	Munday-Finch et al. 1995

Metaboliten	Funktion	Endophyt	Wirtspflanze	Referenz
<b>3. Ergotalkaloide</b>				
Ergovaline/Ergonovine	Mitogen-Effekt Toxisch für Weidetiere 'summer syndrom'	<i>Shacella typhina</i> ( <i>Acremonium coenophialium</i> ) <i>Acremonium</i> <i>Myriogenospora</i> <i>Balansia</i>	<i>Festuca Arundinacea</i> <i>Lolium Perenne</i>	Oliver 2005 Lyons et al. 1986 Siegel et al. 1990 Bacon und Yates 2006 Bacon und Yates 2006
Ergovaline	Produktion abhängig von Salz- und Trockenstress.	<i>Epichloë festucae</i> <i>Neotyphodium gansuense</i>	<i>Festuca rubra</i> <i>Achnatherum inebrians</i> - Drunk horse grass	de Aldana et al. 2009 Zhang et al. 2011
lysergic acid amide	Pferde schlafen bis zu 3d		<i>Achnatherum robustum</i> - Sleepy grass	Rordiguez et al. 2009
<b>4. gesättigte Aminopyrrolizidine</b>				
Loline	Breitspektruminsektizid, gering toxisch zu Tieren und Insekten, z. B. <i>Rhopalosiphum padi</i> , <i>Schizanthus arvensis</i>	<i>Neotyphodium uncinatum</i> <i>Neotyphodium coenophialium</i> <i>Acremonium coenophialium</i>	<i>Festuca pratensis</i> <i>Festuca arundinacea</i> <i>Lolium perenne</i> L., F. <i>arundinacea</i> and <i>Poa autumnalis</i> <i>Meadow fescue</i>	Schardl et al. 1997 Schardl et al. 1997 Bush et al. 1993 Cook and Lewis 2001
N-Acetyl loline / N-Formyl loline		<i>Neotyphodium uncinatum</i>		
<b>5. Pyrroloquinoline Alkaloid</b>				
Camptothecin	Anticancer (natürlich vorkommenden DNA-Topoisomerase-I-Inhibitor)	<i>Fusarium solani</i>	<i>Apodytes dimidiata</i>	Shweta et al. 2010
Camptothecin	Antitumor	<i>Fusarium solani</i>	<i>Camptotheca acuminata</i>	Joseph und Priya 2011
10-hydroxycamptothecin	Antitumor	<i>Fusarium solani</i>	<i>Camptotheca acuminata</i>	Joseph und Priya 2011
<b>6. Chromone Alkaloid</b>				
Rohitukine	Anticancer	<i>Fusarium oxysporum</i> (MTCC-11383)	<i>Dysoxylum binectariferum</i> HÉ	Kumara et al. 2013
<b>7. cytochalasan Alkaloid</b>				
Chaetoglobosin A and C.		<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Ginkgo biloba</i>	

Alkaloide

Fortsetzung Tabelle 2

Metaboliten	Funktion	Endophyt	Wirtspflanze	Referenz
Phytohormone	Phytohormone: Luftstickstoff, gegen Pathogene			Aken et al. 2004
	Auxin	<i>Methylobacterium populi</i>	Pappel <i>Populus deltoides x nigra</i> DN34	Aken et al. 2004
	Auxin ähnliche Substanz	Wachstum der Pflanzen unter dem Baum	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Pugh und Buckley 1971
	Cytokinine	Saatgutkeimung, Wachstum	<i>Methylobacterium populi</i>	Aken et al. 2004
	Cytokinine		<i>Hypoxylon serpens</i>	Raj und Shetty 2009
	Ethylen	Induziert Ethylen in Wurzel	<i>P. indica</i>	Baltuschat et al. 2008
	Ethylen	Ethylen Herunterregulierung	<i>Sebacina vermifera</i>	Baltuschat et al. 2008
	Gibberellin	Wachstum	<i>Gibberella fujikuroi</i>	Rai et al. 2013
	IAA, indole-3-lactate (ILA)		<i>Piriformospora indica</i>	Hilbert et al. 2012

### 3.4 Gewinnung der Metaboliten

Die Gewinnung der Metaboliten erfolgt durch Extraktion vom Wirt, mikrobielle Produktion im Fermenter oder mikrobielle Transformation (Joseph & Priya, 2011).

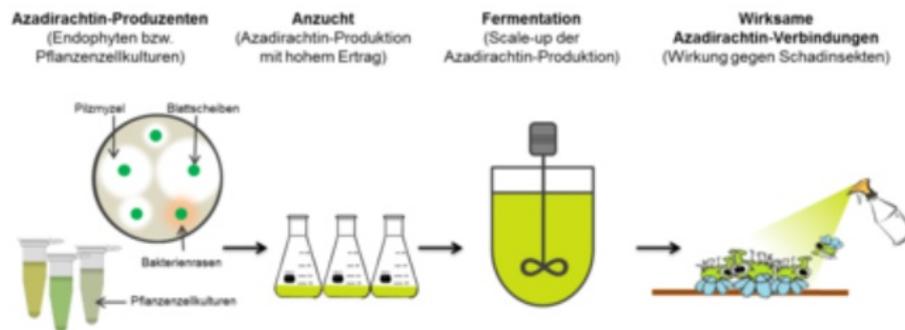


Abbildung 7: Vom Endophyten zum Produkt

Wie im Schema von Abbildung 7 an dem Beispiel der geplanten Azadirachtin-Gewinnung<sup>2</sup> (ein Insektizid) (Fachhochschule Bielefeld, k. A.) von ausplattierten Endophyten oder Pflanzenzellkulturen ersichtlich, werden die meisten Verbindungen gewonnen.

Endophyten können von oberflächensterilisiertem oder internem Pflanzengewebe durch mehrere Aufbereitungsschritte gewonnen werden. Pilze und Bakterien werden ausplattiert und wachsen auf definiertem Medium. Damit werden anschließend Schüttelkulturen (sog. Vorkultur) angeimpft. Die Endophyten vermehren sich dann, bis eine gewissen Zellzahl erreicht ist, und sind metabolisch aktiv. Von dieser Vorkultur kann anschließend die Hauptkultur im Fermenter inokuliert werden. Dies kann u. a. eine Batch-Fermentation unter definierten Bedingungen (Temperatur, pH-Wert, Sauerstoffangebot, Mediumzusammensetzung, Umdrehungen des Rührers) sein. Am Ende findet die Ernte des Stoffwechselproduktes oder des Endophyten statt und kann aufgereinigt werden. Bei einem Fermentationsprozess (aus einer Schüttelkultur) können hochwertige bioaktive Produkte gewonnen werden. Die Beschreibung eines Aufbereitungsprozesses ist bei Zinniel *et al.* (2002) zu finden.

Der Nachteil der Extraktion aus der natürlichen Quelle (Baum, Pflanze) ist, dass eine saisonale Abhängigkeit besteht (Endophyten produzieren z. B. Lolitem B jahreszeitlich variabel (siehe Riemel, 2012)). Die klimatische Abhängigkeit und der Naturschutz seltener Pflanzen machen Alternativen nötig. Ebenso könnten sich durch Umgebungsveränderungen die durch Endophyten produzierten Verbindungen verändern. Die Gewinnung der Verbindungen aus Mikroorganismen ist reproduzierbarer und die Stoffwechselprodukte durch Medienänderung leichter zu beeinflussen. In der Gewebekultur oder im Pflanzenanbau sind spezielle Techniken erforderlich und teilweise Monate des Wachstums nötig. Mikroorganismen hingegen reagieren auf Routinekulturtechniken, und durch veränderte Kulturbedingungen kann eine effektive Entwicklung optimiert werden (Tejesvi & Pirttilä, 2011, S. 303)

<sup>2</sup>Forschungsprojekt der Fachhochschule Bielefeld [Laufzeit: 01.10.2013 bis 30.09.2016]

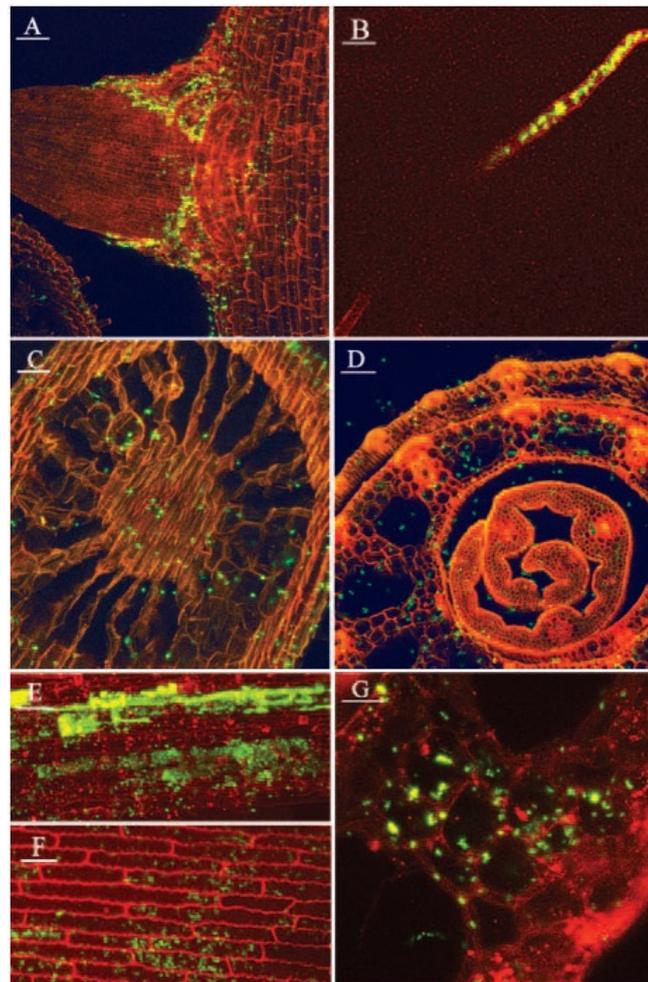


Abbildung 8: Konfokale Laser-Mikroskop-Aufnahmen von grün fluoreszierendes Protein (GFP) markierten Zellen vom Wildtyp *S. meliloti* 1021, die gesundes Reisgewebe besiedeln. (A) Entstehung Seitenwurzel, (B) lysierte Haarwurzel, (C) Querschnitt der Pfahlwurzel, (D und G) Querschnitte von der Blattscheide über der Stammbasis; (E und F) in Blättern. Maßbalken: 50  $\mu$  m in den Feldern A bis E und 20  $\mu$  m in Feldern F bis G (Chi *et al.*, 2005)

Die Überprüfung ob der Pilz ein Endophyt ist, ist umständlich und zeitaufwendig. Pilzliche Endophyten werden morphologisch anhand der Sporenproduktion und der Charakteristika der Sporen in Reinkultur bestimmt (Zaferanloo *et al.*, 2012, S. 383) oder durch molekulare Methoden. Beispielsweise, die Identifikation der Pilze über ITS-rDNA-Sequenzen, einen species-Level-Molecular-Marker vom Pilz (Combès *et al.*, 2012) sowie durch erfolgreiche Reinfektion und Reisolation erfolgen (Schueffler & Anke, 2011, S.267).

Die Überprüfung bakterieller Endophyten kann mit 3 Methoden erfolgen: durch Oberflächensterilisation der Wirtspflanze und Isolierung auf Wachstumsmedien; durch PCR von 16S rDNA oder anderen bakteriellen oder pilzlichen Markergenen von DNA oder RNA; durch In-situ-Detektion mit immunologischen Methoden wie grün fluoreszierende Markierung (GFP, siehe Abbildung 8) oder phylogenetische Oligonukleotidsonden und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) oder monoklonale Antikörper (Rothballer *et al.*, 2007).

So wurde beispielsweise der endophytische Pilz *Fusarium oxysporum* mit Submersfermentation oder Feststoff-Fermentation gewonnen. Dieser Endophyt ist pathogen

für die einen und nicht pathogen für die anderen Wirte (Alabouvette *et al.*, 2001, Kap. 8).

Problematisch an den Endophyten ist, dass sie die bioaktiven Substanzen nur für eine kurze Zeit *in vitro* produzieren und während der Subkultur sterben oder in der Produktion der Sekundärmetabolite beeinträchtigt werden oder *in vitro* sogar überhaupt nicht wachsen (Tejesvi & Pirttilä, 2011, S. 304). So erklärt Young *et al.* (2006), dass das Alkaloid Loline in Kultur nicht oder nur gering produziert werden konnte und in der Pflanze in hohem Maße ausgeprägt worden sei. Ein Problem ist, dass einige Wechselwirkungen, die *in planta* stattfinden, nicht bekannt sind und Signalwege nicht im Ganzen nachvollzogen werden können (Kawaide *et al.*, 1995).

Aus Kulturbrühen wird z. B. das Phytohormon  $GA_1$  gewonnen. Auch (Kawaide *et al.*, 1995) erwähnt, dass es Probleme mit der Detektion von  $GA_3$  gegeben habe. Bastián *et al.* (1998) haben IAA und  $GA_1$  sowie  $GA_3$  mit *Acetobacter diazotrophicus* und *Herbaspirillum seropedicae* im definierten Kulturmedium hergestellt.

Wei *et al.* (2010) beschäftigten sich erfolgreich mit der Transformation eines Taxol produzierenden endophytischen Pilzes (*Ozonium* sp.).

Verza *et al.* (2009) beschreiben die Gewinnung von Tetrahydrofuran Lignan vom endophytischen Pilz *Phomopsis* sp. durch Biotransformation der Verbindung Grandisin. Endophyten sind nach Verza *et al.* (2009) schon erfolgreich für eine erfolgreiche Biotransformation von natürlichen Produkten benutzt worden. Biotransformation wird bei Pimentel *et al.* (2011) nach Borges (2007) definiert als die Verwendung von biologischen Systemen um chemische Veränderungen auf Komponenten zu produzieren, die nicht ihre natürlichen Substrate sind. Die Biotransformation findet auch Anwendung bei der Produktion von flüchtigen Bestandteilen, wie z. B. Vanillin (Joseph & Priya, 2011). Ein wichtiger Aspekt ist das die Produkte als natürlich gekennzeichnet werden können (Joseph & Priya, 2011).

### 3.5 Anwendung

- in der Medizin

zur Therapie in der Krebserkrankung:

Taxol, Epoposid (Derivat des Podophyllotoxins), Derivate des Camptothecin als Vorstufe zum Krebsmedikamentbestandteil Topotecan und Irinotecan

- in der Landwirtschaft

1. Insektizid: Die neuseeländische Firma PGG Wrightson Seeds mit Fokus auf Forschung und Entwicklung in der Pflanzenzüchtung bietet diverse Weidelgrassorten an, die unterschiedliche Endophyten enthalten, um verschiedene Insekten natürlich zu bekämpfen. Für mehr Informationen befinden sich auf der Internetseite der Firma. (PGG Wrightson Seeds, 2012) Item Biopestizid: *Muscodor albus* QST 20799 ist in den USA als Biofungizid als Alternative für Methylbromid zugelassen. Mit dem Pilz sollen bodenbürtige Pilz- und Bakterienkrankheiten in Nahrungsmitteln, Zierpflanzen und Samen behandelt werden. Der Pilz produziert flüchtige Verbindungen, die als Begasungsmittel eingesetzt werden können. (U.S. Environmental Protection Agency, 2014)
2. Biofertilizer: vertrieben von der Aadicon Biotechnologies Ltd. (Mauritius) mit *Acetobacter* spp. für den Einsatz in Rohrzucker, Süßkartoffel, Mais etc., als ein Stickstofffixierer (Aadicon Biotechnologies 2011, 2011).



Abbildung 9: Das Medikament Taxol (Knight Science Journalism at MIT, 2010)

weitere mögliche Anwendungsgebiete:

- Mittel zur biologischen Kontrolle von Bakterien, Nematoden
- weitere antibiotische für die Humanmedizin
- Phytoremediation

## 4 Diskussion

Endophyten sind Mikroorganismen, die symptomlos intra- oder interzellulär in Pflanzen vorkommen. Durch veränderte abiotische und biotische Umweltbedingungen oder des Genoms kann unter Umständen auch ein pathogenes Erscheinungsbild ausgeprägt werden. Einige Endophyten sind ubiquitär und schützen die Pflanze durch ihre Interaktion vor Umweltbelastungen, Fressfeinden und Krankheiten. Eine gesunde Pflanze wächst besser und wird nicht nur auf diese Art zum Wachstum angeregt. Endophyten fixieren auch den atmosphärischen Stickstoff und bilden Phytohormone, die für das Pflanzenwachstum anregend sind. Noch zu wenig ist über die Signalwege während der Interaktion bekannt. Hier besteht noch ein hoher Forschungsbedarf, um Endophyten und ihre Pflanzenmetaboliten auch erfolgreich im Labor und in ausreichender Menge zu produzieren.

Ihre Metaboliten sind vielfältiger Natur, sie gehören zu den Stoffgruppen der Phytohormone, Alkaloide, Steroiden, Phenylpropanoide etc. Diese Stoffgruppen haben u. a. antibiotische Wirkungen und ein hohes Potenzial zur biologischen Kontrolle, auch die Wechselwirkungen können zur biologischen Kontrolle genutzt werden. Sie können beispielsweise zur Phytoremediation benutzt werden, um schadstoffbelastete Böden zu sanieren.

Das große Potenzial der Endophyten sollte über diese Bachelorarbeit hinaus in einer öffentlich zugänglichen Datenbank zur Verfügung gestellt werden. Die ständig wachsende Anzahl von Forschungsveröffentlichungen zu dem Themenbereich der Endophyten beginnt unüberschaubar zu werden. Zahlreichen Forschungsarbeiten über Endophyten in den höheren Pflanzen, erfolgreich isolierte und detektierte Metaboliten. Umwettoleranzen und Resistenzen sowie wachstumsfördernden Interaktionen die den Vorteil für die Pflanze bringen Antibiotische Komponenten für Mensch und Tier. Auch die Anzahl der sequenzierten Endophyten steigt allmählich an. Aus diesem Grund sollte eine Datenbank erstellt werden, in der alle Pflanzen sowie deren bis jetzt gefundenen Endophyten, nebst Auswirkung für Pflanze oder Umwelt durch die Stoffwechselprodukte, eingetragen werden. Zahlreiche Endophyten-Wirtspflanze-Beziehungen sind bereits tabellarisch zusammengefasst und veröffentlicht worden. In diesen Publikationen existieren einige Schnittmengen.

Wirtsspezifische Endophyten sind beschrieben, wobei der Begriff der Spezifität den bakteriellen Endophyten vorbehalten ist, die nur einen Pflanzenwirt besiedeln, andernfalls sollte der Term Wirtspräferenz benutzt werden (Rothballer *et al.*, 2007). Gerade für diejenigen Endophyten, die ein breites Wirtsspektrum haben, sollte eine Datenbank entwickelt werden. Und andere die ein breites Wirtsspektrum haben, gerade für diese wäre es wichtig eine Datenbank zu entwickeln. So könnte ein besseres Verständnis für die Interaktionen oder den Einsatz von gleichen Endophyten auf anderen Pflanzen (künstliche Infektion, Latches & Christensen (1985)) entstehen bzw. bei der Pflanzenzüchtung helfen. Es werden auch Endophyten mit neuen Eigenschaften durch gentechnische Methoden transformiert. Diese Datenbank kann das Wissen bündeln und verknüpft werden z.B. mit der Webseite des NCBI (National Center for Biotechnology Information), da in naher Zukunft sicherlich auch weitere Genome (Frank, 2011) sequenziert und weitere Endophyten und Metabolite identifiziert werden. Man könnte dann z.B. nach einem bestimmten Stoffwechselprodukt suchen und bekäme alle Endophyten genannt die bis dato bekannt sind für das Ausprägen des Metabolits, sowie ggf. die dazugehörige Pflanzenart angezeigt bekommen. Dieses Wissen könnte dann auch von der Industrie eingesetzt werden für die Entwicklung neuer Produkte für den Weltmarkt.

## Literatur

- Aadicon Biotechnologies 2011. 2011. *Products*. [http : //www.aadicon.com/en/products/Biofertilizers.html](http://www.aadicon.com/en/products/Biofertilizers.html). Abruf: 02.04.2014.
- Aken B. V, Peres C. M, Doty S. L, Yoon J. M, & Schnoor J. L.(2004):. *Methylobacterium populi sp. nov., a novel aerobic, pink-pigmented, facultatively methylotrophic, methane-utilizing bacterium isolated from poplar trees (populus deltoides6nigra dn34)*, **54**, 1191–1196.
- Alabouvette C, Edel V, Lemanceau P, Olivain C, Recorbet G, & Steinberg C.(2001):. Diversity and Interactions Among SStrain of *Fusarium oxysporum*: Application to Biological Control. *Chap. 8 of*: Jeger M. J, & Spence N. J (Hrsg.), *Biotic Interactions in Plant-pathogen Associations*. CAB International 2001.
- Alvin A, Miller K. I, & Neilan B. A.(2014):. *Exploring the potential of endophytes from medicinal plants assources of antimycobacterial compounds*.
- Aly A. H, Debbab A, & Proksch P.(2011):. *Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises*, **90**, 1829–1845.
- Arnold A. E, & Lutzoni F.(2007):. *Diversity and host range of foliar fungal endophytes: Are tropical leaves biodiversity hotspots?*, **88**(3), 541–549.
- Backman P. A, & Sikora R. A.(2008):. *Endophytes: An emerging tool for biological control*, **46**(1), 1–3.
- Bacon C, & Yates I. E.(2006):. Endophytic Root Colonization by *Fusarium* Species: Histology, Plant Interactions, and Toxicity. *Chap. 8 of*: Schulz B. J, Boyle C. J, & and T. N. S (Hrsg.), *Microbial Root Endophytes*. 9. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Bacon C. W, & Hinton D. M.(2002):. *Endophytic and biological control potential of Bacillus mojavensis and related species*, **23**, 274–284.
- Bacon C. W, & Hinton D. M.(2006):. Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility. *Pages 155–194 of*: Gnanamanickam S. S (Hrsg.), *Plant-Associated Bacteria*, vol. VI. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Bacon C. W, & Hinton D. M.(2011):. *Bacillus mojavensis*: Its Endophytic Nature, the Surfactins, and Their Role in the Plant Response to Infection by *Fusarium verticillioides*. *Pages 21–39 of*: Maheshwari D. K (Hrsg.), *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*. Berlin and Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Bailey B. A, Bae H, Melnick R, , & Crozier J.(2011):. The Endophytic *Trichoderma hamatum* Isolate DIS 219b Enhances Seedling Growth and Delays the Onset of Drought Stress in *Theobroma cacao*. *Page 157ff of*: Jain S. M, Häggman H, & Yanchuk A. D (Hrsg.), *Endophytes of Forest Trees*, vol. 80. Springer Science+Business Media B.V. 2011.
- Baltruschat H, Fodor J, Harrach B. D, Niemczyk E, Barna B, Gullner G, Janeczko A, Kogel K.-H, Schäfer P, Schwarczinger I, Zuccaro A, & Skoczowski A.(2008):. *Salt tolerance of barley induced by the root endophyte piriformospora indica is associated with a strong increase in antioxidants*, **180**, 501–510.

- Ban Y, Tang M, Chen H, Xu Z, Zhang H, & Yang Y.(2012):. *The response of dark septate endophytes (dse) to heavy metals in pure culture*, **7**(10).
- Bastián F, Cohen A, Piccoli P, Luna V, Baraldi R, & Bottini R.(1998):. *Production of indole-3-acetic acid and gibberellins a1 and a3 by Acetobacter diazotrophicus and Herbaspirillum seropedicae in chemically-defined culture media*, **24**, 7–11.
- Bitzer J. 2005. *Isolierung und Strukturaufklärung neuer Naturstoffe aus Bakterien und endophytischen Pilzen durch chemisches Screening*. Dissertation.
- British Society for Plant Pathology (Hrsg.). 1998. *ICPP 98 Abstracts*. Bacterial endophytes: ecological and practical implications.
- Brundrett M. C.(2006):. Understanding the Roles of Multifunctional Mycorrhizal and Endophytic Fungi. *In: Schulz B. J, Boyle C. J, & Sieber T. N (Hrsg.), Microbial Root Endophytes*. 9. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006.
- Bush L, Fannin F, Siegel M, Dahlman D, & Burton H.(1993):. *Chemistry, occurrence and biological effects of saturated pyrrolizidine alkaloids associated with endophyte-grass interactions*, **44**, 81–102.
- Butin H.(1986):. *Endophytische Pilze in grünen Nadeln der Fichte (Picea abies Karst.): Endophytic fungi in green needles of Norway spruce (Picea abies Karst.)*, 335–346.
- Champness D. D. Stand: 2009. *Perennial Ryegrass Toxicosis*. [http : //www.petalia.com.au/Templates/StoryTemplateprocess.cfm?specie = Beef&storyno = 2144](http://www.petalia.com.au/Templates/StoryTemplateprocess.cfm?specie=Beef&storyno=2144). Abrufdatum: 03.03.2014.
- Chi F, Shen S.-H, Cheng H.-P, Jing Y.-X, Yanni Y. G, & Dazzo F. B.(2005):. *Ascending migration of endophytic rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and assessment of benefits to rice growth physiology*, **71**(11), 7271–7278.
- Combès A, Ndoye I, Bance C, Bruzard J, Djediat C, Dupont J, Nay B, Prado S, & Chaturvedi V.(2012):. *Chemical Communication between the Endophytic Fungus Paraconiothyrium Variabile and the Phytopathogen Fusarium oxysporum*, **7**(10), e47313.
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, & Barka E. A.(2005):. *Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects*, **71**(9), 4951–4959.
- Compant S, Clément C, & Sessitsch A.(2010):. *Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization*, **42**(5), 669–678.
- Cook R, & Lewis G. C.(2001):. Fungal Endophytes and Nematodes of Agricultural and Amenity Grasses. *In: Biotic Interactions in Plant Pathogen Associations*. CABI Pub.
- EnDoBiodiversity.org. 2011. *Welcome to EnDoBiodiversity!* [http : //www.endobiodiversity.org/welcome](http://www.endobiodiversity.org/welcome) – endobiodiversity. Abruf: 29.03.2014.

- Ernst M. 2005. *Verbreitung und funktionelle Charakterisierung endophytischer Pilze in Phragmites australis am Bodensee*. Ph.D. thesis, Universität Konstanz.
- Ezra D, Castillo U. F, Strobel G. A, Hess W. M, Porter H, Jensen J. B, Condrón M. A. M, Teplow D. B, Sears J, Maranta M, Hunter M, Weber B, & Yaver D.(2004):. *Coronamycins, peptide antibiotics produced by a verticillate streptomyces sp. (msu-2110) endophytic on monstera sp.*, **150**, 785–793.
- Fachhochschule Bielefeld. k. A.. *Azadirachtin-Produktion - Entwicklung von neuartigen Fermentationsverfahren zur Produktion von Azadirachtin mit Endophyten und Pflanzenzellkulturen*. <http://www.fh-bielefeld.de/forschung/azadirachtin-produktion>. Abruf: 29.03.2014.
- Frank A. C.(2011):. The Genomes of Endophytic Bacteria. *Chap. 2 of:* Pirttilä A. M, & Frank A. C (Hrsg.), *Endophytes of Forest Trees*. Biology and Applications, vol. 80. Springer.
- Guo B, Dai J.-R, Ng S, Huang Y, Leong C, Ong W, & Carte B. K.(2000):. *Cytotoxic acids a and b: Novel tridepside inhibitors of hcmv protease from the endophytic fungus cytonaema species*, **63**(5), 602–604.
- Hallmann J, & Berg G.(2006):. Spectrum and Population Dynamics of Bacterial Root Endophytes. *Chap. 2 of:* Varma A (Hrsg.), *Microbial Root Endophytes*. Soil Biology, vol. 9. Springer.
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee W, & Kloepper J.(1997):. *Bacterial endophytes in agricultural crops*, **43**(10), 895–914.
- Hardoim P. R, van Overbeek, Leo S., & Elsas, Jan Dirk van.(2008):. *Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth*, **16**(10), 463–471.
- Hesse U, Förster K, & Diepenbrock W. 2000. *Einfluss des Endophyten Neotyphodium lolii auf den Samenertrag von Lolium-perenne-Genotypen*. Martin-Luther-Universität Halle Wittenberg.
- Hilbert M, Voll L. M, Ding Y, Hofmann J, Sharma M, & Zuccaro A.(2012):. *Indole derivative production by the root endophyte piriformospora indica is not required for growth promotion but for biotrophic colonization of barley roots*.
- Hyde K. D, & Soyong K.(2008):. *The fungal endophyte dilemma*, **33**, 163–173.
- Joseph B, & Priya R. M.(2011):. *Bioactive compound from endophytes and their potential in pharmaceutical effect: A review*, **1**(3), 291–309.
- Kawaide H, Sassa A, & Kamiya Y.(1995):. *Plant-like biosynthesis of gibberellin a1 in the fungus Phaeosphaeria sp. 487*, **39**(2), 305–310.
- Keogh R. G, Tapper B. A, & Fletcher R. H.(1996):. *Distributions of the fungal endophyte acremonium lolii, and of the alkaloids lolitrem b and peramine, within perennial ryegrass*, **39**(1), 121–127.
- Kharwar R. N, Verma V. C, Strobel G, & Ezra D.(2008):. *The endophytic fungal complex of catharanthus roseus (l.) g. don*, **95**(2), 228–233.

- Knight Science Journalism at MIT. 2010. [http : //ksj.mit.edu/sites/default/files/images/tracker/2007/taxol2.jpg](http://ksj.mit.edu/sites/default/files/images/tracker/2007/taxol2.jpg). Abruf: 29.03.2014.
- Kogel K.-H, Franken P, & Hückelhoven R.(2006):. *Endophyte or parasite – what decides?*, **9**(4), 358–363.
- Kuldau G, & Bacon C.(2008):. *Clavicipitaceous endophytes: Their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses*, **46**, 57–71.
- Latches G. C. M, & Christensen M. J.(1985):. *Artificial infection of grasses with endophytes*, **107**(1), 17–24.
- Leuchtmann A, Schmidt D, & Bush L.(2000):. *Different levels of protective alkaloids in grasses with stroma-forming and seed-transmitted Epichloë/Neotyphodium endophytes*, **26**(4), 1025–1036.
- Lyons P. C, Plattner R. D, & Bacon C. W.(1986):. *Occurrence of peptide and clavine ergot alkaloids in tall fescue grass*, **232**, 487–489.
- Miles C. , Munday S. C, Wilkins A. L, Ede R. M, & Towers N. R.(1994):. *Large-scale isolation of lolitrem b and structure determination lolitrem e*, **42**, 1488–1492.
- Márquez L. M, Redman R. S, Rodriguez R. J, & and M. J. R. 2007. *A Virus in a Fungus in a Plant: Three-Way Symbiosis Required for Thermal Tolerance*. Science Vol. 315 no. 5811 pp. 513-515.
- Munday-Finch S. C, Miles C. O, Wilkins A. L, & Hawkes A. D.(1995):. *Isolation and structure elucidation of lolitrem a, a tremorgenic mycotoxin from perennial ryegrass infected with acremonium zolii*, **43**, 1283–1288.
- Oliver J. W.(2005):. Pathophysiologic response to endophyte toxins. In: Roberts C. A, West C. P, & Spiers D. E (Hrsg.), *Neotyphodium in cool-season Grasses*. Blackwell Publishing Asia.
- PGG Wrightson Seeds. 2012. *WELCOME TO PGG WRIGHTSON SEEDS*. [http : //www.pggwrightsonseeds.com/](http://www.pggwrightsonseeds.com/). Abruf: 03.04.2014.
- Pimentel M. R, Molina G, Dionísio A. P, Maróstica Junior, Mário Roberto, & Pastore G. M.(2011):. *The Use of Endophytes to Obtain Bioactive Compounds and Their Application in Biotransformation Process*, **2011**(2), 1–11.
- Proksch P, Kjer J, Aly A. H, & Debbab A. 2010. *Endophyten als Quelle pflanzlicher Arzneistoffe: Fortbildung für Apotheker*. Pharmazeutische Wissenschaft.
- Pugh G, & Buckley N.(1971):. *Aureobasidium pullulans: An endophyte in sycamore and other trees*, **57**(2), 227–231.
- Rai M, Rathod D, Ingle A, Proksch P, & Kon K.(2013):. *Natural Antioxidants and Biocides from Wild Medicinal Plants: Kap. 5 Biocidal Metabolites from Endophytes that occur in medicinal plants*. CPI Group (UK) Ltd. Chap. 5, pages 56–64.

- Raj S. N, & Shetty H. S.(2009):. Endophytic Fungi: Mutualism, Bioactive Metabolites and Bioprospecting. *In: K.R.Sridhar (Hrsg.), Frontiers in Fungal Ecology, Diversity and Metabolites*. IK International.
- Reinhold-Hurek B, & Hurek T.(2011):. *Living inside plants: bacterial endophytes*, **14**, 435–443.
- Rodriguez R. J, White J. F, Arnold A. E, & Redman R. S.(2009):. *Fungal endophytes: diversity and functional roles*, **182**(2), 314–330.
- Rosenblueth M, & Martínez-Romero E.(2006):. *Bacterial endophytes and their interactions with hosts (review)*, **19**(8), 827–837.
- Rothballer M, Schmid M, & Hartmann A.(2007):. Diazotrophic Bacterial Endophytes in Gramineae and Other Plants. *Page 273–302 of: Pawlowski K (Hrsg.), Prokaryotic Symbionts in Plants*. Microbiology Monographs, vol. 8. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009.
- Rowan D. D.(1993):. *Lolitrems, peramine and paxilline: mycotoxins of the ryegrass/endophyte interaction*, **44**, 103–122.
- Rowan D. D, Dymock J. J, & Brimble M. A.(1990):. *Effect of fungal metabolite peramine and analogs on feeding and development of argentine stem weevil /Listronotus bonariensis*, **16**(5), 1683–1695.
- Saad M. M, Broughton W. J, & Deakin W. J.(2006):. Role of Proteins Secreted by Rhizobia in Symbiotic Interactions with Leguminous Roots. *In: Schulz B. J, Boyle C. J, & Sieber T. N (Hrsg.), Microbial Root Endophytes*, vol. 9. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006.
- Schardl C, Leuchtman A, Chung K, Penny D, & Siegel M.(1997):. *Coevolution by common descent of fungal symbionts (Epichloe spp.) and grass hosts*, **14**(2), 133–143.
- Schueffler A, & Anke T.(2011):. Antimicrobial Compounds from Tree Endophytes. *Page 265ff of: Pirttilä A. M, & Frank A. C (Hrsg.), Endophytes of Forest Trees*. Springer Science+Business Media B.V. 2011.
- Schulz B, & Boyle C.(2006):. What are Endophytes? *Chap. 1 of: Schulz B. J, Boyle C. J, & and T. N. S (Hrsg.), Microbial Root Endophytes*, vol. 9. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006.
- Schulz B, Boyle C, Draeger S, Römmert A.-K, & Krohn K.(2002):. *Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites - review*, **106**(9), 996–1004.
- Siegel M, Latch G, Bush L, Fannin F, Rowan D, Tapper B, Bacon C, & McJohnson.(1990):. *Fungal endophyte-infected grasses: Alkaloid accumulation and aphid response*, **16**(12), 3301–3315.
- Storch, Welsch, & Wink (Hrsg.).(2013):. *Evolutionsbiologie*. Springer Verlag Berlin Heidelberg.

- Strobel G, & Daisy B.(2003):. *Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products*, 491–502.
- Tan R. X, & Zou W. X.(2001):. *Endophytes: a rich source of functional metabolites (1987 to 2000)*, **18**(4), 448–459.
- Tejesvi M. V, & Pirttilä A. M.(2011):. Potential of Tree Endophytes as Sources for New Drug Compounds. *Page 259 fff of: Endophytes of Forest Trees*. Springer Science+Business Media B.V. 2011.
- Unbekannt.(2012):. *The secret world of endophytes in perspective*, 287–288.
- U. S. Environmental Protection Agency. 2014. *New Biopesticide Active Ingredients - 2005*. [http : //www.epa.gov/opbppd1/biopesticides/productlists/new\\_a\\_i2005.htm](http://www.epa.gov/opbppd1/biopesticides/productlists/new_a_i2005.htm). 03.04.2014.
- Verza M, Arakawa N. S, Lopes N. P, Kato M. J, Pupo M. T, Said S, & Carvalho I.(2009):. *Biotransformation of a tetrahydrofuran lignan by the endophytic fungus Phomopsis sp.*, **20**(1), 195–200.
- Wang F. W, Jiao R. H, Cheng A. B, Tan S. H, & Song Y. C.(2006):. *Antimicrobial potentials of endophytic fungi residing in quercus variabilis and brefeldin a obtained from cladosporium sp.*, **23**, 79–83.
- Wani M, Taylor H, Wall M, Coggon P, & McPhall A.(1971):. *The isolation and structure of taxol, a novel antileukenic and antitumor agent from Taxus brevifolia*, **93**(9), 2325–2327.
- Wei Y, Zhou X, Liu L, Lu J, Wang Z, Yu G, Hu L, Lin J, Sun X, , & Tang K.(2010):. *An efficient transformation system of taxol-producing endophytic fungus efy-21 (Ozonium sp.)*, **9**(12), 1726–1733.
- West C. P. k. A.. *Physiology and drought tolerance of endophyte-infected grasses*.
- Young C. A, Felitti S, Shields K, Spangenberg G, Johnson R. D, Bryan G. T, Saikia S, & Scott B.(2006):. *A complex gene cluster for indole-diterpene biosynthesis in the grass endophyte Neotyphodium lolii*, **43**, 679–693.
- Zabalgoeazcoa I, & Bony S.(2005):. Neotyphodium research and application in Europe. *Chap. 1.2 of: Roberts C. A, West C. P, & Spiers D. E (Hrsg.), Neotyphodium in cool-season grasses*. Blackwell Publishing Professional.
- Zaferanloo B, Mahon P. J, & Palombo E. A.(2012):. Endophytes from Medicinal Plants as Novel Sources of Bioactive Compounds. *Chap. 13 of: Medicinal Plants Biodiversity and Drugs*. CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group, an Informa business.
- Zinniel D. K, Lambrecht P, Harris N. B, Feng Z, Kuczmariski D, Higley P, Ishimaru C. A, Arunakumari A, Barletta R. G, & Vidaver A. K.(2002):. *Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants*, **68**(5), 2198–2208.

# A Anlagen

## 1 What are Endophytes?

3

Table 1.1. Characteristics of the interactions of bacterial vs. fungal endophytes with plant roots (see also all other book chapters)

Criteria	Bacteria	Fungi
Host spectrum	Broad, depends on habitat, host, season	Broad, depends on habitat, host, season
Mode and site of infection	Passive through wounds and other tissue openings or active with enzymes or vectors, e.g. insects	Active: through stomata, cell wall or wounds
Nutritional source during first stage infection	Host exudates, dead cortex cells, plant debris	Storage material in the spores, dead cortex cells, plant debris, host exudates
Nutritional source during colonisation, i. e. during a “steady state” status	Components of the symplast and apoplast	Components of the symplast and apoplast
Growth in root	Inter- and/or intra-cellular, slow, low colonisation densities	Inter- and/or intracellular, often extensive
Growth from roots into the shoot	Yes	Sometimes
Systemic growth in roots	Possible	Possible
Tissue colonised	Primarily intercellular, also vascular tissue	Usually not within vascular tissue
Specialised structures for nutrient access	Nodules, glands	Sometimes
Physiological status	Only little data available	Balanced antagonisms, active interaction
Outcome of the interaction	Commensalism, mutualism or latent pathogenicity	Commensalism, mutualism or latent pathogenicity
Benefits for the microbial symbiont	A reliable supply of nutrients and protection from environmental stresses, passive transfer and spread between hosts via vectors, e.g. insects	A reliable supply of nutrients and protection from environmental stresses, advantages for reproduction and colonisation at host senescence
Potential benefits for the plant symbiont	Induced resistance, improved growth (N-fixation, phytohormones), synthesis of metabolites antagonistic to plant pathogens and parasites	Induced resistance, improved growth (phytohormones, improved access to minerals and nutrients), synthesis of metabolites antagonistic to predators and antagonists
Reproduction	Usually passive transfer and spread between hosts via vectors, e.g. insects, but also active, e.g. Pseudomonads	Active and passive following host senescence, sometimes with vectors

**Table 1** Metabolites isolated from tree fungal endophytes

Plant	Endophyte	Isolated metabolite	Reference
<i>Pinus</i> sp	<i>Microdiploдия</i> sp. strain KS 75-1	<b>8<math>\alpha</math>-Acetoxypomadecalin C</b> <b>Phomadecalin E</b> Phomadecalins C, D	Hatakeyama et al. 2010
<i>Picea glauca</i>	Strain CBS 120379 (unidentified)	<b>2,8-Dihydroxy-3-methyl-9-oxoxanthene-1-carboxylic acid methylester</b> (3R)-Mellein	Sumarah et al. 2008b
	Strain CBS 120380 (unidentified)	<b>2-Acetyl-4,6-dimethoxybenzoic acid</b> 5,7-Dimethoxy-3-methylphthalide 3,4-Dihydro-8-hydroxy-6-methoxy-(3R)-propyl-isocoumarin	
	Strain CBS 120381 (unidentified)	(3R)-5-Carbomethoxymellein (3R)-5-Formylmellein (3R)-5-Methylmellein	
		<b>3-Butyl-4-methyl-5H-furan-2-one</b> tyrosol	
<i>Picea rubens</i>	Strain CBS 121942 (unidentified)	<b>(9E,12Z)11-Hydroxy-6-methyl-7,15-dioxabicyclo [12.1.0]penta-deca-9,12-diene-2,8-dione</b> 4-Oxo-5-phenyl-pentanoic acid 5-Benzyl-dihydro-furan-2-one Isopetasol	Sumarah et al. 2010
	Strain CBS 121944 (unidentified)	<b>15-Hydroxy-3-episopetasol</b>	
	DAOM 239833 (related to <i>Dwayaangam colodena</i> )	Cordyanhydrides A, B <b>7-(4-But-1-enyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-furan-3-ylmethyl)-4,5-dicarboxy-non-5-enoic acid</b>	

(continued)



## Antimicrobial Compounds from Tree Endophytes

273

<i>Azadirachta indica</i>	<i>Chloridium</i> sp.	Javanicin	Kharwar et al. 2009
	<i>Phomopsis</i> sp. YM 311483	<b>8<math>\alpha</math>-Acetoxy-5<math>\alpha</math>-hydroxy-7-oxodecan-10-olide</b> <b>7<math>\alpha</math>,8<math>\alpha</math>-Dihydroxy-3,5-decadien-10-olide</b> <b>7<math>\alpha</math>-Acetoxymultiplolide A</b> <b>8<math>\alpha</math>-Acetoxymultiplolide A</b> Multiplolide A	Wu et al. 2008
<i>Laurus azorica</i>	<i>Phomopsis</i> sp.	<b>Cycloepoxylactone</b>	Hussain et al. 2009
		<b>Cycloepoxytriols A, B</b> <b>Phomolactones A-C</b>	
<i>Piptadenia adiantoides</i>	<i>Cochliobolus</i> sp. UFMGCB-555	Cochlioquinone A	Campos et al. 2008
		Isocochlioquinone A	
	<i>Fusarium</i> sp. UFMGCB-551	T2-Toxin	Campos et al. 2010
		8-n-Butyrylneosolaniol 8-Isobutyrylisolaniol	
<i>Sandoricum koeijape</i>	<i>Xylaria</i> sp.	<b>2-Chloro-5-methoxy-3-methylcyclohexa-2,5-diene-1,4-dione</b> <b>Xylariaquinone A</b> 2-Hydroxy-5-methoxy-3-methylcyclohexa-2,5-diene-1,4-dione 4-Hydroxymellein	Tansuwan et al. 2007

(continued)

**Table 1** (continued)

Plant	Endophyte	Isolated metabolite	Reference
<i>Vatica mangachapoi</i>	<i>Endothia gyrosa</i> IFB-E023	Cytochalasins H, J Epoxycytochalasin H <b>Cytochalasins Z10, Z11</b>	Xu et al. 2009a
<i>Garcinia dulcis</i>	<i>Xylaria</i> sp. PSU-D14	<b>Xylarosides A, B</b> Sordaricin 2,3-Dihydro-5-hydroxy-2-methyl-4H-1-benzopyran-4-one	Pongcharoen et al. 2008
<i>Piper aduncum</i>	<i>Xylaria</i> sp.	<b>9,15-Dihydroxy-presilphiperfolan-4-oic acid</b> <b>15-Acetoxy-9-hydroxy presilphiperfolan-4-oic acid</b> Phomenone Phaseolinone	Silva et al. 2010
<i>Ligustrum lucidum</i>	<i>Xylaria hypoxylon</i> AT-028	<b>Xylariols A, B</b>	Gu and Ding 2008
<i>Quercus variabilis</i>	<i>Penicillium</i> sp. IFB-E022 f	<b>Penicidones A-C</b>	Ge et al. 2008
Unidentified tree	<i>Pestalotiopsis theae</i>	<b>Pestalotheols A-D</b>	Li et al. 2008
Unidentified tree	<i>Pestalotiopsis fici</i>	<b>Pestalofofiols A-E</b>	Liu et al. 2008b

Bold: Newly described compounds

Tabelle 3: Metaboliten von pilzlichen Endophyten - Eine Auswahl

Metaboliten	L	biologische Kontrolle	Endophyt	Referenz
(-)mycorrhizin A		fungal und herbizid, algizid antibakteriel	<i>Pezizula</i>	Joseph und Priya (2011)
(-)Oocydin A		fungal	<i>Serratia marcescens</i>	Gunatilaka (2006)
(+)cryptosporiopsin		fungal und herbizid, algizid antibakteriel	<i>Pezizula</i>	Joseph und Priya (2011)
(+)epiepoxydon		anticancer	<i>Hormonema dematioides</i>	Joseph und Priya (2011)
(+)rugulosin	K		strains 53 und 143	Calhoun et al. (1992)
1,3-dihydroisobenzofuran		antioxidant	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Joseph und Priya (2011)
1,5a,6,7,8,9a-hexahydro-6-(1-methyl-ethyl)-1-oxo-spiro				
[2-benzoxepin-9(3H),2'oxirane]-4-carboxylic acid	K		<i>Phyllosticta sp. strain 77</i>	Calhoun et al. (1992)
1893 A, 1893 B				Gunatilaka (2006)
2,6-Dihydroxy-2-methyl-7-(prop-1E-enyl)-1-benzofuran-3(2H)-one		antifungal	<i>Verticillium sp.</i>	Joseph und Priya (2011)
22-oxa-12-cytochalasin		antitumor	<i>Rhinochaetia sp.</i>	Joseph und Priya (2011)
2-hexyl-3-methyl-butanedioic acid		antifungal	<i>Xylaria sp.</i>	Joseph und Priya (2011)
5-hydroxy-2-(1-hydroxy-5-methyl-4-hexenyl)benzofuran		insektizid	unidentifiziert	Joseph und Priya (2011)
5-hydroxy-2-(1-oxo-5-methyl-4-hexenyl)benzofuran		insektizid	unidentifiziert	Joseph und Priya (2011)
acromisol A				Casella et al. (2013)
alterpenylenol				Casella et al. (2013)
ambucic acid			<i>Pestalotiopsis sp.;</i>	
antibiotics			<i>Monochaetia sp</i>	Gunatilaka (2006)
asperfumoid		antifungal		Compant et al. (2005)
biocidal volatiles			<i>Aspergillus fumigatus CY018</i>	Joseph und Priya (2011)
brefeldin A		antibiotic		Compant et al. (2005)
brefeldin A		bacterial, insect, animals	<i>Clasosporium sp.</i>	Joseph und Priya (2011)
brefeldin A		bacterial, insect, animals	<i>Aspergillus clavatus;</i>	Gunatilaka (2006)
Chaetomugilin A und D		bacterial, insect, animals	<i>Paecilomyces sp</i>	Gunatilaka (2006)
cochlidinol,		Antifungal	<i>C. globosum</i>	Joseph und Priya (2011)
coniferin				Casella et al. (2013)
Coranamycin		fungizid	<i>Xylariaceae sp.</i>	Joseph und Priya (2011)
Coranamycin		antifungi	<i>Streptomyces sp.</i>	Joseph und Priya (2011)
cytochalasin D		antifungal	<i>Streptomyces sp.</i>	Ezra et al. (2004)
Cytonic Acids A and B	K	Novel Tripeptide Inhibitors of hCMV Protease	<i>Xylaria sp.</i>	Joseph und Priya (2011)
cytonic acids A und B	K	antiviral: human cytomegalovirus protease inhibitor	<i>Cytonaema sp.</i>	Guo et al. (2000)
			<i>Cytonaema sp.</i>	Joseph und Priya (2011)

Fortsetzung Tabelle 3

Metaboliten	L	biologische Kontrolle	Endophyt	Referenz
cytoskyrins		antitumor		Joseph und Priya (2011)
Cytoporone B und C		antifungi	<i>Phomopsis</i> sp.	Joseph und Priya (2011)
cytoporone B,		antifungal und cytotoxic		Gunatilaka (2006)
cytoporone D, E		antibact	<i>Cytospora</i> sp. <i>Diaporthe</i> sp.	Gunatilaka (2006)
detoxification enzymes				Compant et al. (2005)
Emodin		Antimikrobielle	Pilz	Joseph und Priya (2011)
Enfumafungin		antifungal	<i>Hormonema</i> sp.	Gunatilaka (2006)
Ergoflavin		antitumor	Pilz	Joseph und Priya (2011)
ergosterol peroxide		antifungi	<i>Verticillium</i> sp.	Joseph und Priya (2011)
ethyl 2,4-dihydroxy-5,6-dimethylbenzoate		antifungi	<i>Phomopsis cassiae</i>	Joseph und Priya (2011)
exopolysaccharide (EPS)		antioxidant	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Joseph und Priya (2011)
fumigaclavine C		antifungi	<i>Aspergillus fumigatus</i> CY019	Joseph und Priya (2011)
funitremorgin C		antifungi	<i>Aspergillus fumigatus</i> CY020	Joseph und Priya (2011)
Fusidilactones A,B,C			<i>Fusidium</i> sp.	Gunatilaka (2006)
globosumones A – C		cytotoxicity,	<i>Chaetomium globosum</i>	Gunatilaka (2006)
glycosphingolipid cerebroside, fusaruside			<i>Fusarium</i> sp. IFB-121	Gunatilaka (2006)
Graphislactone A		antioxidant	<i>Cephalosporium</i> sp.	Joseph und Priya (2011)
Guanacastepenes A – O			unidentifiziert	Gunatilaka (2006)
helvolic acid		antifungi	<i>Aspergillus fumigatus</i> CY022	Joseph und Priya (2011)
heptelidic acid	K		<i>Phyllosticta</i> sp. strain 76	Calhoun et al. (1992)
heptelidic acid chlorohydrin	K		<i>Phyllosticta</i> sp. strain 78	Calhoun et al. (1992)
hydroheptelidic acid	K		<i>Phyllosticta</i> sp. strain 79	Calhoun et al. (1992)
hydroxyjesterone			<i>Pestalotiopsis jesteri</i>	Gunatilaka (2006)
Hypericin		Antimikrobielle	Pilz	Joseph und Priya (2011)
illicicolins C, E, F,			<i>Nectria galligena</i>	Gunatilaka (2006)
iron-chelating siderophores				Compant et al. (2005)
isopestacin		antioxidant	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Joseph und Priya (2011)
isopestacin		Antifungal, antioxidant	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Gunatilaka (2006)
isopestacin		antioxidant	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Gunatilaka (2006)
jesterone		fungi	<i>Pestalotiopsis jesteri</i>	Gunatilaka (2006)
kakadumycin A		Malaria parasit	<i>Streptomyces</i> sp.	Joseph und Priya (2011)
kotantin			<i>Cladosporium herbarum</i>	Gunatilaka (2006)

Fortsetzung Tabelle 3

Metaboliten	L	biologische Kontrolle	Endophyt	Referenz
Leptosphaeric acid			<i>Leptosphaeria</i> sp.	Gunatilaka (2006)
Lignan		anticancer	<i>Epichloe typhina</i>	Joseph und Priya (2011)
lytic enzymes				Compant et al. (2005)
immunobincins,		antibiotic, antifungi	<i>Streptomyces</i> sp.	Compant et al. (2005)
naphthalene		insektizid	<i>Muscodor vitigenus</i>	Joseph und Priya (2011)
Nargenicin A <sub>1</sub>	K	Antibiotikum	<i>Actinomyces</i> sp. Gó 301	Bitzer (2005)
nonpeptidal (L-783,281)		antidiabetic	<i>Pseudomonas</i> sp.	Joseph und Priya (2011)
novae zelandin A				Casella et al. (2013)
p-aminoacetophenonic acids			<i>Streptomyces griseus</i>	Gunatilaka (2006)
periconicins A, B		antimicotic	<i>Periconia</i> sp.	Gunatilaka (2006)
Pestacin		Antifungal, antioxidant	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Gunatilaka (2006)
Pestacin		antioxidant	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Jalgaonwala et al (2011)
Pestacin		antioxidant, antimycotic und antifungal	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Joseph und Priya (2011)
Pestalochlorides A und B		antifungal	<i>Pestalotiopsis adusta</i>	Joseph und Priya (2011)
Pestalothol C		anti-HIV	<i>Pestalotiopsis theae</i>	Joseph und Priya (2011)
Phenylpropanoid			<i>Penicillium brasilianum</i>	Joseph und Priya (2011)
Phenylpropanoid			<i>Epichloe typhina</i>	Joseph und Priya (2011)
Phomol		antibakteriell, antifungal, entzündungshemmend	<i>Phomopsis</i> sp.	Gunatilaka (2006)
phomopsilactone		antifungi	<i>Phomopsis cassiae</i>	Joseph und Priya (2011)
phomoxanthones A und B		anticancer		Joseph und Priya (2011)
photinides A-F		anticancer		Joseph und Priya (2011)
physcion acid		antifungal	<i>Aspergillus fumigatus</i> CY021	Joseph und Priya (2011)
podophylotoxin		Vorläufer zu Anticancer Arzneimittel	<i>Trametes hirsute</i>	Joseph und Priya (2011)
podophylotoxin			<i>Aspergillus fumigatus</i>	Joseph und Priya (2011)
podophylotoxin			<i>Phialocephala fortinii</i>	Joseph und Priya (2011)
podophylotoxin			<i>Fusarium oxysporum</i>	Joseph und Priya (2011)
preussomerins J, K, L			<i>Mycelia sterilia</i>	Gunatilaka (2006)
pumilacidin		antifungal	<i>B. pumilus</i>	Joseph und Priya (2011)
pyrenocin A				Casella et al. (2013)
pyrrolicine C			<i>Lewia infectaria</i> SNB-GTC2402	Casella et al. (2013)
quinoxaline		antibiotic	<i>Streptomyces</i> sp.	Joseph und Priya (2011)
rubrofusarin B		anticancer		Joseph und Priya (2011)

Fortsetzung Tabelle 3

Metaboliten	L	biologische Kontrolle	Endophyt	Referenz
secalonic D		mycotoxin, anticancer		Joseph und Priya (2011)
semiochloiodinol A				Casella et al. (2013)
siderophores		Eisenaufnahme		Compant et al. (2005)
subglutinin A und B		immunosuppressive, noncytotoxic	<i>Fusarium subglutinans</i>	Joseph und Priya (2011)
syringin			<i>Xylariaceae</i> sp.	Joseph und Priya (2011)
Taxol	F	anticancer	<i>Taxomyces andreanae</i>	Joseph und Priya (2011)
torreyanic acid		cytotoxisch	<i>Pestalotia microspora</i>	Joseph und Priya (2011)
tryptophan				Gunatilaka (2006)
		Antimikrobiel		Joseph und Priya (2011)
	K	biologische Aktivitäten	<i>E. typhina</i>	Joseph und Priya (2011)
		antifungal, bakterien	<i>Muscador albus</i>	Joseph und Priya (2011)

K - in Kultur

F - mittels Fermentation

# Selbstständigkeitserklärung

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst, in gleicher oder ähnlicher Fassung noch nicht in einem anderen Studiengang als Prüfungsleistung vorgelegt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen (einschließlich der angegebenen oder beschriebenen Software) benutzt habe.

Bernburg, den 10.04.2014