



## 3º Simpósio Nacional de Fruticultura

**Vila Real, 4 e 5 de dezembro de 2014**



Associação  
Portuguesa de  
Horticultura



Centre for the Research and Technology of  
Agro-Environment and Biological Sciences



Centro Operativo e Tecnológico  
Hortofrutícola Nacional

Ficha Técnica:

**Título:** 2º Simpósio Nacional de Fruticultura

**Colecção:** Actas Portuguesas de Horticultura, nº 23

**Editor:** ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DE HORTICULTURA

Rua da Junqueira, 299 – 1300-338 Lisboa

**Coordenação:** Raúl Rodrigues e Ana Paula Silva

**Autores:** vários

**Edição e Coordenação:** Raúl Rodrigues e Ana Paula Silva

**Tiragem:** 200 exemplares

**ISBN:** 978-972-8936-16-7

## **Avaliação da atividade antimicrobiana e propriedades biológicas de fungos endofíticos**

Eric Pereira, José Alberto Pereira, Elza Borges & Paula Baptista

CIMO/Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-854 Bragança, Portugal. pbaptista@ipb.pt

### **Resumo**

Os fungos endofíticos são organismos que colonizam os tecidos internos das plantas, sem aparentemente causarem quaisquer danos no hospedeiro. Nas duas últimas décadas, estes fungos têm recebido considerável atenção pela produção de compostos bioativos com aplicação no tratamento e prevenção de doenças humanas. Num estudo anterior foi avaliada a comunidade de fungos endofíticos presente em diferentes órgãos da oliveira (*Olea europaea*) do nordeste transmontano, tendo-se observado uma grande diversidade, em especial nas raízes.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana e enzimática de quatro espécies fúngicas endofíticas obtidas da raiz da oliveira: *Fusarium oxysporum*, *Bionectria ochroleuca*, *Penicillium canescens* e *Paecilomyces lilacinus*. A atividade antimicrobiana contra bactérias gram+, gram- ou leveduras, foi avaliada em meio de cultura batata dextrose agar (BDA), pela determinação dos halos de inibição. Três dos endófitos testados inibiram significativamente o crescimento de pelo menos cinco dos microrganismos utilizados, quando comparado com o controlo (cloranfenicol – bactérias; fluconazol – leveduras). Dos endófitos testados o que apresentou maior atividade contra bactérias foi *P. canescens* e contra leveduras foi *F. oxysporum*. A inibição exibida por estas duas espécies foi significativamente superior ao controlo. A identificação de enzimas hidrolíticas produzidas pelos fungos endófitos foi realizada em meio BDA pela avaliação do halo de degradação do substrato, previamente incorporado no meio de cultura, por parte da enzima. Das quatro enzimas pesquisadas foi possível identificar a produção de duas, amilase e celulase. A primeira foi produzida apenas pelo fungo *P. canescens*. Por sua vez, a celulase foi produzida por todos os endófitos estudados.

**Palavras-chave:** Oliveira, antibióticos, antifúngicos, atividade enzimática.

### **Abstract**

#### **Evaluation of antimicrobial activity and biological properties of endophytic fungi**

The endophytic fungi are organisms which colonize the inner tissues of plants, apparently without causing any damage to the host. In the past two decades, these fungi have received considerable attention due to the production of bioactive compounds with application in the treatment and prevention of human diseases. In a previous study we have evaluated the community of endophytic fungi present in different organs of the olive tree (*Olea europaea*) in the north-eastern of Portugal (Trás-os-Montes region), and it was observed a great diversity, especially in the roots.

This study aimed to evaluate the antimicrobial and enzymatic activity of four endophytic fungal species isolated from olive tree roots: *Fusarium oxysporum*, *Bionectria ochroleuca*, *Penicillium canescens* and *Paecilomyces lilacinus*. The antimicrobial activity against gram+ and gram- bacteria or yeasts was evaluated in potato dextrose agar (PDA) medium by calculation of the diameter of the zone of inhibition. Three of the endophytes tested inhibited significantly the growth of five microorganisms when compared to the

control (chloramphenicol - bacteria, fluconazole - yeast). Among the endophytes tested, *P. canescens* and *F. oxysporum* showed the greatest antimicrobial activity against bacteria and yeast, respectively. The inhibition displayed by these fungi was significantly higher in relation to the control. The production of hydrolytic enzymes by fungal endophytes was assessed in PDA medium by evaluating the degradation of the substrate, previously incorporated into the culture medium, by the enzyme. Among the four enzymes evaluated, only two (amylase and cellulase) were produced by endophytic fungi. Amylase was only produced by the fungus *P. canescens* whereas cellulase was produced by all the endophytes studied.

**Keywords:** Endophytic, olive tree, antibiotics, antifungal, enzymatic activity.

## Introdução

Os fungos endofíticos são organismos que colonizam os tecidos internos dos órgãos das plantas, sem aparentemente causarem quaisquer danos no hospedeiro (Hyde & Soyong, 2008). A sua capacidade de co-existir e co-evoluir com a planta hospedeira é atribuída ao equilíbrio conseguido entre a virulência do endófito e as defesas do hospedeiro (Schulz & Boyle, 2005). Este tipo de associação caracteriza-se pelo endófito aumentar o crescimento, reprodução e resistência/tolerância a stresses bióticos e abióticos, da planta hospedeira (Saikkonen et al., 2004). Por sua vez, a planta hospedeira serve de refúgio ao endófito protegendo-o, fornece-lhe os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento e possui ainda um papel importante na sua transmissão (Saikkonen et al., 2004).

Atualmente, a pesquisa de compostos naturais e de enzimas nestes fungos tem vindo a ganhar cada vez mais importância, por representarem uma fonte rica e diversa de novos compostos bioativos naturais (Ownley et al., 2010) e de enzimas (Sunitha et al., 2013). De facto, a multiplicidade de associações que se podem estabelecer entre espécies de fungos e de plantas, favorece o aparecimento de novas e diversas vias metabólicas e, conseqüentemente, a produção de novos metabolitos bioativos (Carter, 2011). Até ao momento foram descritos mais de 20 000 compostos naturais novos e bioativos obtidos de fungos endofíticos (Ownley et al., 2010), e 51% destes apresentam estruturas inéditas (Yang et al., 2012). Estes compostos naturais, produzidos por fungos endofíticos, apresentam um amplo espetro de atividades biológicas, como por exemplo antimicrobiana, antiparasitária, neuroprotetiva, antioxidante, antidiabética, propriedades imunossupressoras, antiviral, anticolinesterásica, antineoplásicos e citotóxica (Guo et al., 2000; Zhang et al., 2006; Wang et al., 2012).

Os fungos endófitos possuem ainda a capacidade de produzirem uma grande variedade de enzimas extracelulares, incluindo proteases, lípases, celulasas, pectinases, xilanasas, amílases, entre outras (Robl et al., 2013; Sunitha et al., 2013). A produção enzimática por fungos endofíticos é variável, estando relacionada com a especificidade entre a planta hospedeira e o fungo (Sunitha et al., 2013). A maioria destas enzimas está envolvida no processo de colonização da planta hospedeira pelo endófito ou no antagonismo exercido pelo endófito contra fitopatogénicos (Cao et al., 2009).

O presente trabalho pretende avaliar o potencial antimicrobiano e enzimático de quatro fungos endofíticos (*Fusarium oxysporum*, *Bionectria ochroleuca*, *Penicillium canescens* e *Paecilomyces lilacinus*) isolados da raiz da oliveira. O potencial antimicrobiano será avaliado contra bactérias gram-, gram+ e leveduras; e as enzimas avaliadas serão a amilase, celulase, lacase e lípase. Pretende-se selecionar os isolados fúngicos mais promissores para trabalhos futuros com vista à sua utilização na indústria farmacêutica como produtores de antibióticos e antifúngicos naturais, bem como de enzimas.

## Material e Métodos

**Estirpes microbianas:** Os ensaios da atividade antimicrobiana foram efetuados contra bactérias gram+ (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), bactérias gram- (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e leveduras (*Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis*). As leveduras foram cultivadas a 25°C durante 48h, em meio de cultura YPDA (agar levedura peptona dextrose). As bactérias foram cultivadas a 37°C durante 24h e mantidas em meio de cultura LB (Luria Bertani). Os fungos endofíticos testados foram *Fusarium oxysporum*, *Bionectria ochroleuca*, *Penicillium canescens* e *Paecilomyces lilacinus*. Estes fungos foram isolados da raiz de oliveira cv. Cobrançosa da região de Mirandela e mantidos em meio de cultura batata dextrose ggar (BDA) a 25 ± 1°C no escuro.

**Análise da atividade antimicrobiana:** Os ensaios da avaliação da atividade antimicrobiana foram efetuados segundo a metodologia descrita por Pereira et al. (2011), pela medição da área do halo de inibição (cm<sup>2</sup>). Como controle positivo utilizou-se discos 30 µg/ml cloranfenicol para bactérias e 25 µg/ml fluconazol para leveduras. Efectuaram-se três repetições de cada combinação (fungo endofítico x microrganismo) e cada ensaio foi repetido duas vezes.

**Avaliação da produção de enzimas extracelulares:** As enzimas avaliadas foram a amilase, celulase, lacase e lípase. A produção destas enzimas foi avaliada qualitativamente pela observação dos halos de degradação do substrato pelas enzimas produzidas pelos fungos endofíticos em meio de cultura BDA (Maria et al., 2005). Realizaram-se três repetições para cada enzima.

**Análise de dados:** Os valores das áreas dos halos de inibição (atividade antimicrobiana) e de degradação (atividade enzimática) exibidas pelos fungos endofíticos são apresentados como a média de três experiências independentes seguida pelo erro padrão. As diferenças entre as médias foram feitas por análise de variância (ANOVA), utilizando o *software* SPSS v. 21 e as médias foram comparadas no teste de Turkey ( $p < 0,05$ ).

## Resultados e Discussão

### *Atividade antimicrobiana*

Das quatro espécies endófitas estudadas, três (*F. oxysporum*, *P. canescens* e *P. lilacinus*) apresentaram potencial antimicrobiano, inibindo significativamente leveduras (Fig. 1), bactérias gram+ (Fig. 2) e gram- (Fig. 3). Os endófitos *P. canescens* e *F. oxysporum* foram os que apresentaram um maior poder inibitório, tendo *F. oxysporum* sido mais eficaz contra as leveduras e *P. canescens* contra as bactérias (gram+ e gram-). A espécie *F. oxysporum* inibiu significativamente *C. parapsilosis*, *C. albicans* e *C. glabrata*, em 116%, 83% e 64%, respectivamente face ao antifúngico comercial fluconazol (25 µL/mL). A capacidade inibitória de *F. oxysporum* contra leveduras patogénicas humanas foi anteriormente observada em isolados endofíticos obtidos de *Orchidaceae* (Vaz et al., 2009) e *Nothapodytes foetida* (Musavi & Balakrishnan, 2014). Esta capacidade inibitória poderá estar relacionada com a produção de metabolitos secundários biologicamente ativos tais como beauvericina, eniáticas e exopolissacarídeos (Jayasinghe et al., 2006) que demonstraram possuir efeitos antibióticos (Wang et al., 2011).

O fungo *P. canescens* foi o que apresentou uma maior atividade antibacteriana. Quando comparado com o controlo (30 µL/mL cloranfenicol), esta espécie inibiu significativamente as bactérias gram+ *B. cereus*, *B. subtilis* e *S. aureus* em 190%, 141% e 139%, respectivamente (Fig. 2); e as bactérias gram- *E. coli* e *P. aeruginosa* em 169% e 39%, respectivamente (Fig. 3). As espécies pertencentes ao género *Penicillium* são sobejamente conhecidas pela sua capacidade em produzir metabolitos secundários ativos, incluindo

antibióticos (Rancic et al., 2006) e antifúngicos (Nicoletti et al., 2007). A atividade antimicrobiana observada especificamente para o *P. canescens* pode ser atribuída, entre outros fatores, à produção de compostos antimicrobianos, tal como, griseofulvina, canescina, ácido clavulânico, e alcalóides que contêm triptofano (Nicoletti et al., 2007; Bertinetti et al., 2009). De entre as espécies endófitas estudadas, apenas *P. canescens* demonstrou capacidade de inibir a bactéria gram- *P. aeruginosa*, tendo sido esta inibição significativamente superior ao antibiótico cloranfenicol (30 µL/mL). Este resultado revela um grande potencial desta espécie fúngica no tratamento de doenças infecciosas causadas por *P. aeruginosa*. Este aspeto reveste-se de especial importância uma vez que tem sido frequentemente relatado o aumento de resistência de *P. aeruginosa* a muitos dos antibióticos disponíveis no mercado (Jung et al., 2005).

A espécie endófito *P. lilacinus* apesar de ter inibido todos os microrganismos testados, os valores dos halos de inibição foram geralmente significativamente inferiores aos do controlo. A capacidade inibitória desta espécie endófito pode estar relacionada com a produção de uma toxina característica das espécies *Paecilomyces spp.*, a paecilotoxina, tendo já sido comprovada a sua atividade antimicrobiana contra bactérias gram+ (Mikami et al., 1989).

#### *Análise da atividade de enzimas extracelulares*

Os fungos endofíticos foram estudados quanto à sua capacidade em produzir as enzimas extracelulares amilase, celulase, lacase e lipase. Destas enzimas, apenas se observou a produção da amilase e da celulase (Fig. 4). A amilase foi produzida exclusivamente pelo endófito *P. canescens*. Estudos anteriores, observaram igualmente a capacidade de várias estirpes de *Penicillium* de produzirem amilase (Khokhar et al., 2011). Esta enzima tem vindo a ganhar muito destaque devido à sua enorme aplicabilidade em vários processos industriais, em especial no alimentar (Emmanuel et al., 2000) e farmacêutico (Sunitha et al., 2012). As amilases são ainda importantes na indústria têxtil, de bebidas, de detergentes, alimentação animal e química (Khokhar et al., 2011).

A produção de celulase foi observada em todos os fungos testados, sendo superior nas espécies *P. canescens* e *F. oxysporum*, e inferior nas espécies *P. lilacinus* e *B. ochroleuca* (Fig. 4). À semelhança do presente estudo, a produção de celulase por *F. oxysporum* (Onofre et al., 2013) e *Penicillium sp.* (Khokhar et al., 2011) foi anteriormente observada. As celulases têm uma enorme aplicação na indústria têxtil, de bebidas para a produção de sumos de frutas, vinificação e nutrição animal (incorporação em rações) (Miettinen-Oinonen et al., 2004).

É de notar ainda que as espécies endofíticas (*F. oxysporum* e *P. canescens*) que exibiram maior atividade antimicrobiana foram também as que exibiram maior atividade enzimática. Este resultado sugere que a produção destas enzimas, em especial da celulase, possa contribuir em parte para a inibição dos microrganismos testados. Esta sugestão é reforçada pelo facto da acumulação de enzimas extracelulares (incluindo a celulase) na zona de interação entre microrganismos já ter sido referenciado (Srinon et al., 2006).

## **Conclusões**

Dos quatro fungos endofíticos isolados da raiz de oliveira, três apresentaram actividade antimicrobiana e todos apresentaram actividade enzimática para a celulase. De entre as espécies estudadas, *F. oxysporum* e *P. canescens*, parecem ser os mais promissores no tratamento de doenças infecciosas causadas por bactérias e leveduras por originarem halos de inibição significativamente superiores aos antibióticos/antifúngicos comerciais. Este estudo confirma o potencial dos fungos endofíticos como uma fonte promissora na procura de antibióticos/antifúngicos naturais, assim como uma fonte natural de enzimas com aplicações em várias áreas.

## Agradecimentos

Este trabalho é financiado por Fundos FEDER através do Programa Operacional Factores de Competitividade – COMPETE e por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do projeto “EndoBio - Isolamento e seleção de fungos endofíticos da oliveira para luta biológica contra *Colletotrichum acutatum* e *Verticillium dahliae*” (PTDC/AGR-PRO/4354/2012).

## Bibliografia

- Bertinetti, B.V., Peña, N.I. & Cabrera, G.M. 2009. An Antifungal Tetrapeptide from the Culture of *Penicillium canescens*. *Chemistry & Biodiversity* 6:1178-1184.
- Cao, R., Liu, X., Gao, K., Mendgen, K., Kang, Z., Gao, J., Dai, Y. & Wang, X. 2009. Mycoparasitism of endophytic fungi isolated from reed on soilborne phytopathogenic fungi and production of cell wall-degrading enzymes in vitro. *Current Microbiology* 59:584-592.
- Guo, B., Dai, J., Ng, S., Huang, Y., Leong, C., Ong, W. & Carte, B. 2000. Cytonic acids A and B: novel tridepside inhibitors of hCMV protease from the endophytic fungus *Cytonaema* species. *Journal of Natural Products* 63:602 – 604.
- Hyde, K. & Soyong, K. 2008. The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity* 33:167 – 173.
- Jayasinghe, L., Abbas, H.K., Jacob, M.R. & Herath, W.H.M.W. 2006. N-Methyl-4-Hydroxy-2-Pyridinone Analogs from *Fusarium oxysporum*. *Journal of Natural Products* 69:439-442.
- Jung, R., Fish, D.N., Obritsh, M.D. & Maclaren, R. 2005. Surveillance of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an urban tertiary-care teaching hospital. *Pharmacotherapy* 25:1353-1364.
- Khokhar, I., Mukhtar, I. & Mushtaq, S. 2011. Isolation and screening of amylolytic filamentous fungi. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 15:203-206.
- Emmanuel, L., Stephan, J., Bernard, H. & Abdel, B. 2000. Thermophilic archeal amylolytic enzymes. *Enzyme and Microbial Technology* 26:3-14.
- Miettinen-Oinonen, A., Londesborough, J., Joutsjoki, V., Lantto, R., Vehmaanpera, J. & Primalco Ltd. Biotec. 2004. Three cellulases from *Melanocarpus albomyces* for textile treatment a neutral pH. *Enzyme and Microbial Technology* 34:332-341.
- Mikami, Y., Yazawa, K., Fukushima, K., Arai, T., Udagawa, S. & Samson, R. 1989. Paecilotoxin production in clinical or terrestrial isolates of *Paecilomyces lilacinus* strains. *Mycopathologia* 108:195-199.
- Nicoletti, R., Lopez-Gresa, M.P., Manzo, E., Carella, A. & Ciavatta, M.L. 2007. Production and fungitoxic activity of Sch 642305, a secondary metabolite of *Penicillium canescens*. *Mycopathologia* 163: 295-301.
- Onofre, S.B., Mattiello, S.P., Silva, G.C., Groth, D. & Malagi, I. 2013. Production of cellulases by the endophytic fungi *Fusarium oxysporum*. *Journal of Microbiology Research* 3:131-134.
- Ownley, B., Gwinn, K. & Vega, F. 2010. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl* 55:113 – 128.
- Pereira, E., Santos, A., Reis, F., Tavares, R., Baptista, P., Lino-Neto, T. & Almeida-Aguiar, C. 2013. A new effective assay to detect antimicrobial activity of filamentous fungi. *Microbiological Research* 168:1 – 5.

- Rancic, A., Sokovic, M., Karioti, A., Vukojevic, J. & Skaltsa, H. 2006. Isolation and structural elucidation of two secondary metabolites from the filamentous fungus *Penicillium ochrochloron* with antimicrobial activity. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 22:80 – 84.
- Robl, D., Delabona, P., Mergel C.M., Rojas, J.D., Costa, P., Pimentel, I., Vicente, V.P. Pradella, J. & Padilla, G. 2013. The capability of endophytic fungi for production of hemicellulases and related enzymes. *BMC Biotechnology* 13:94.
- Saikkonen, K., Wäli, P., Helander, M. & Faeth, S.H. 2004. Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trend in Plant Science* 9:275-280.
- Schulz, B. & Boyle, C. 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research* 109:661-686.
- Srinon, W., Chuncheon, K., Jirattiwatukul, K., Soyong, K. & Kanokmedhakul, S. 2006. Efficacies of antagonistic fungi against *Fusarium* wilt disease of 40 cucumber and tomato and the assay of its enzyme activity. *Journal of Agricultural Technology* 2:191-201.
- Sunitha, V.H., Ramesha, A., Savitha, J. & Srinivas, C. 2012. Amylase production by endophytic fungi *cylindrocephalum* sp. isolated from medicinal plant *Alpinia Calcarata* (Haw.) Roscoe. *Brazilian Journal of Microbiology* 1:1213-1221.
- Sunitha, V.H., Devi, D.N. & Srinivas, C. 2013. Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. *World Journal of Agricultural Sciences* 9:1-9.
- Vaz, A., Mota, R., Bomfim, M., Vieira, M., Zani, C., Rosa, C. & Rosa, L. 2009. Antimicrobial activity of endophytic fungi associated with *Orchidaceae* in Brazil. *Canadian Journal of Microbiology* 55:1381 – 1391.
- Wang, Q.X., Li, S.F., Zhao, F., Dai, H.Q., Bao, L., Ding, R., Gao, H., Zhang, L.X., Wen H-A & Liu, H-W. 2011. Chemical constituents from endophytic fungus *Fusarium oxysporum*. *Fitoterapia* 82:777–781.
- Wang, L., Xu, B., Su, Z., Lin, F., Zhang, C. & Kubicek, C. 2012. Bioactive metabolites from *Phoma* species, an endophytic fungus from the Chinese medicinal plant *Arisaema erubescens*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 93:1231 – 1239.
- Yang, X., Zhang, J. & Luo, D. 2012. The taxonomy, biology and chemistry of the fungal *Pestalotiopsis* genus. *Nature Products Report* 29: 622.
- Zhang, H., Song, Y. & Tan., R. 2006. Biology and chemistry of endophytes. *Natural Products Reports* 23:753-771.
- Maria, G.L., Sridhar K.R. & Raviraja N.S. 2005. Antimicrobial and enzyme activity of mangrove endophytic fungi of southwest coast of India. *Journal of Agricultural Technology* 1:67-80

## Figuras e quadros

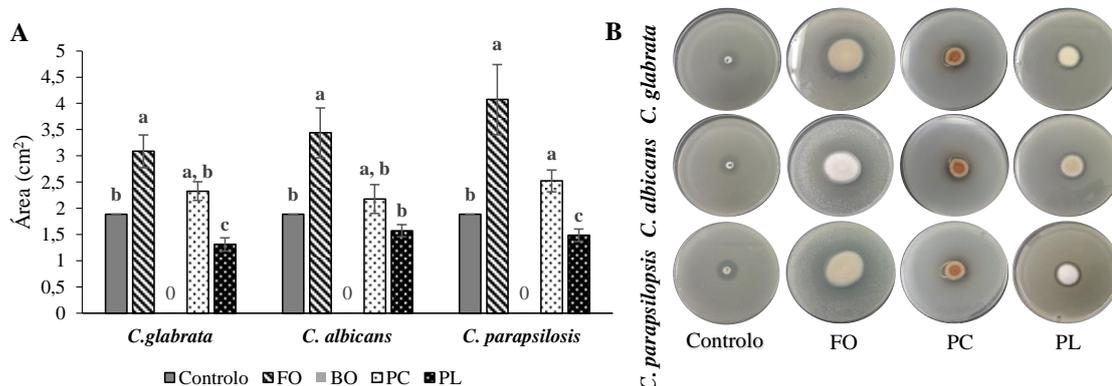


Figura 4 – Área dos halos de inibição (A) e aspeto macroscópico (B) dos ensaios da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos contra as leveduras *C. glabrata*, *C. albicans* e *C. parapsilosis*. A barra indica média  $\pm$  erro padrão (n=3). Em cada levedura valores médios com letras diferentes, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). Legenda: Controlo – 25  $\mu$ L/mL Fluconazol; FO - *Fusarium oxysporum*; BO - *Bionectria ochroleuca*; PC - *Penicillium canescens*; PL - *Paecilomyces lilacinus*.

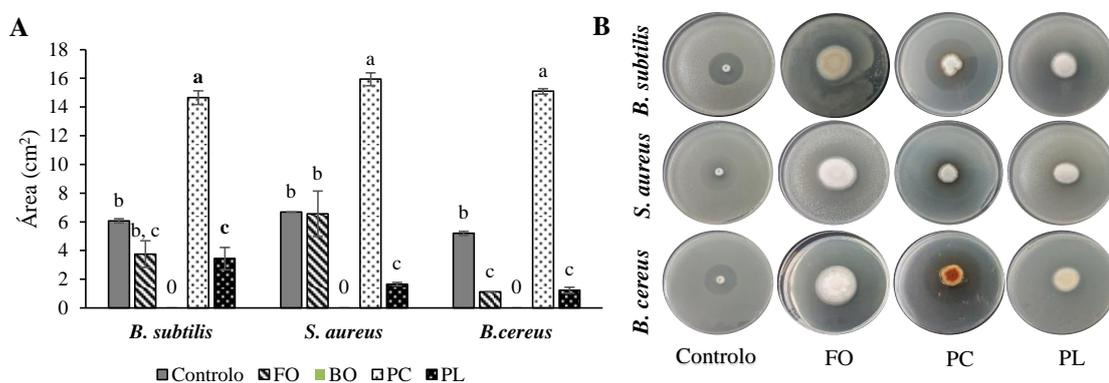


Figura 2 - Área dos halos de inibição (A) e aspeto macroscópico (B) dos ensaios da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos contra as bactérias gram+ *B. subtilis*, *S. aureus* e *B. cereus*. A barra indica média  $\pm$  erro padrão (n=3). Em cada levedura valores médios com letras diferentes, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). Legenda: Controlo – 30  $\mu$ L/mL Cloranfenicol; FO - *Fusarium oxysporum*; BO - *Bionectria ochroleuca*; PC - *Penicillium canescens*; PL - *Paecilomyces lilacinus*.

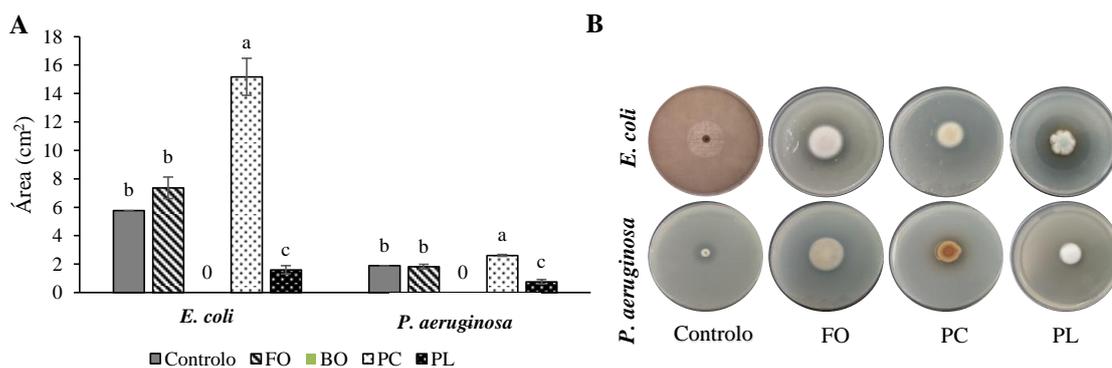


Figura 3 – Área dos halos de inibição (A) e aspeto macroscópico (B) dos ensaios da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos contra as bactérias gram- *E. coli* e *P. aeruginosa*. A barra indica média  $\pm$  erro padrão (n=3). Em cada levedura valores médios com letras diferentes, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). Legenda: Controlo – 30  $\mu$ L/mL Cloranfenicol; FO - *Fusarium oxysporum*; BO - *Bionectria ochroleuca*; PC - *Penicillium canescens*; PL - *Paecilomyces lilacinus*.

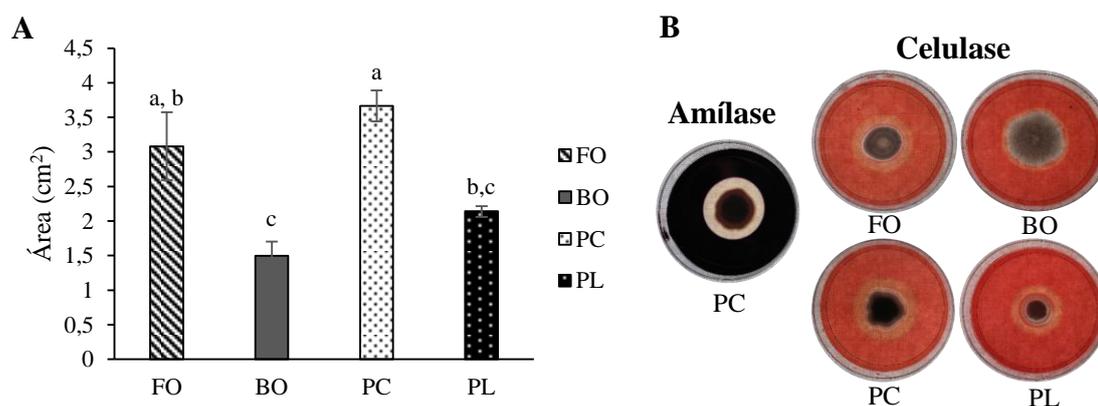


Figura 4 - Atividade enzimática da celulase em fungos endofíticos (A). A barra indica média  $\pm$  erro padrão (n=3). Valores médios com letras diferentes, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). Aspeto macroscópico dos ensaios da atividade enzimática (B) dos fungos endofíticos evidenciando os halos de degradação dos substratos da amilase e celulase. Legenda: FO - *Fusarium oxysporum*; BO - *Bionectria ochroleuca*; PC - *Penicillium canescens*; PL - *Paecilomyces lilacinus*.