

## Avaliação da atividade antimicrobiana e efeito alelopático na germinação de sementes e fungo de solo com extratos de *Bidens pilosa* (Asteraceae)

Cassieli Dalposso Bee<sup>1</sup>, Brunna Ricci Falcão<sup>2</sup>, Khoanny Souza<sup>3</sup>, Patricia Terron Ghezzi da Mata<sup>4</sup>, Mariana Dalmagro<sup>5</sup>, Jaqueline Hoscheid<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Escola de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Toledo - PR, Brasil. E-mail: cassielidalposso@hotmail.com; <sup>2</sup>Escola de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Toledo - PR, Brasil. E-mail: brunnariccif@gmail.com; <sup>3</sup>Escola de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Toledo - PR, Brasil. E-mail: khoanny15@gmail.com; <sup>4</sup>Escola de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Toledo - PR, Brasil. E-mail: oipatty@hotmail.com; <sup>5</sup>Universidade Paranaense, Umuarama-PR, Brasil. E-mail: mariana.dal@edu.unipar.br; <sup>6</sup>Universidade Paranaense, Umuarama-PR, Brasil. E-mail: jaqueline.hoscheid@gmail.com. \*Autor Correspondente: jaqueline.hoscheid@gmail.com

**RESUMO:** *Bidens pilosa*, popularmente conhecida como picão-preto, é uma herbácea ereta, considerada invasora de culturas comerciais, crescendo espontaneamente em lavouras brasileiras. Apesar do seu emprego na medicina popular para tratamento de angina, diabetes e hepatite, estudos sobre a espécie são escassos. Este trabalho realizou a pesquisa dos constituintes químicos em extratos de *B. pilosa*, avaliou atividade antimicrobiana e o potencial inibitório sobre o fungo de solo *Penicillium* sp., bem como o efeito alelopático na germinação. Foram utilizadas sementes e folhas, para preparo dos extratos aquosos à 5%. Os extratos foram submetidos à triagem fitoquímica, e avaliação da atividade antimicrobiana, pela técnica de Pour-plate. Testes de fitotoxicidade foram avaliados por alelopatia em sementes de *Lactuca sativa* e *Capsicum annuum*, e ação antifúngica frente ao fungo *Penicillium* sp. Os resultados fitoquímicos demonstraram variabilidade na constituição química dependente da parte do vegetal empregada. A avaliação frente a microrganismos patogênicos demonstrou ausência de atividade nas condições e concentrações testadas (0,5; 1,0; 2,0 e 4,0%). Testes alelopáticos demonstraram estímulo do desenvolvimento da radícula e do hipocótilo de sementes de *Lactuca sativa* e *Capsicum annuum*, na concentração de 1% do extrato das folhas de *B. pilosa*, enquanto na concentração de 4% observou-se inibição do crescimento de ambas as partes. A avaliação da ação antifúngica frente o fungo demonstrou inibição de 26,7% na concentração de 4% do extrato. Estes resultados indicam que a espécie pode ser utilizada na busca de novas moléculas herbicidas, menos tóxicas ao meio ambiente e ao homem.

**Palavras-chave:** Picão-preto; *Penicillium* sp.; Fitotoxicidade; *Lactuca sativa*; *Capsicum annuum*.

**ABSTRACT:** Evaluation of antimicrobial activity and allelopathic effects on seed germination and soil fungus with *Bidens pilosa* extracts (Asteraceae). *Bidens pilosa*, popularly known as picão-preto, is an erect herbaceous, considered invasive of commercial crops, growing spontaneously in Brazilian crops. Despite its use in folk medicine to treat angina, diabetes and hepatitis, studies of the species are scarce. This research work carried out for the chemical constituents *Bidens pilosa* extract, evaluated antimicrobial activity and the inhibitory potential of the soil fungus *Penicillium* sp., as well as allelopathic effect on germination. Seeds and leaves were used for preparation of aqueous extracts to 5%. The extracts were subjected to phytochemical screening, and evaluation of the antimicrobial activity by Pour-plate technique. Phytotoxicity tests were evaluated by allelopathy in *Lactuca sativa* seeds and *Capsicum annuum*, and action antifungal against the fungus *Penicillium* sp. The results showed phytochemicals chemically dependent variability in the part of the plant used. The evaluation against pathogenic micro-organisms showed no activity under the conditions and concentrations tested (0.5, 1.0, 2.0 and 4.0%). Allelopathic tests showed stimulation of the radicle and hypocotyl *Lactuca sativa* seeds and *Capsicum annuum*, at a concentration of 1% extract of leaves of *Bidens pilosa*, while the concentration of 4% was observed inhibition of growth both the parts. The evaluation of

the antifungal action fungus showed 26.7% inhibition at a concentration of 4% extract. These results indicate that the species can be used in the search for new herbicides molecules less toxic to the environment and to humans.

**Keywords:** Picão-preto; *Penicillium* sp.; Phytotoxicity; *Lactuca sativa*; *Capsicum annum*.

## INTRODUÇÃO

Plantas medicinais da flora brasileira são utilizadas com pouca ou nenhuma confirmação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes. Muitas vezes essas plantas são, inclusive, empregadas para fins medicinais diferentes daqueles utilizados pelos silvicultores (Junior et al. 2005). É inegável que o uso popular não é o suficiente para validar plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros. Nesse sentido, as plantas medicinais não se diferenciam de qualquer outro xenobiótico sintético, e a preconização ou a autorização oficial do seu uso medicamentoso deve ser fundamentada em evidências experimentais comprobatórias quanto aos benefícios que possam advir (Brasil 1995).

Para incentivar o consumo de fitoterápicos, o governo brasileiro publicou uma lista, a Relação de Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) na qual está presente *Bidens pilosa* e outras 70 plantas medicinais, com a finalidade de auxiliar o desenvolvimento da cadeia produtiva e ações para amplificar o seu uso na população brasileira (Carvalho 2008).

*B. pilosa*, pertencente à família Asteraceae, popularmente conhecida como picão-preto, é uma herbácea ereta, anual, de 50-130 cm de altura, considerada como invasora de culturas comerciais, que cresce espontaneamente em lavouras agrícolas de todo o Brasil, sendo considerada planta daninha, e originária das Américas (Lorenzi, Matos 2008). Utilizada empiricamente como medicinal, para tratamento de picadas de inseto, feridas, choque após acidentes, problemas pulmonares, febre, disenteria (Khan et al. 2001), malária (Abajo et al. 2004), como antirreumático, anti-inflamatório, diurético, antibiótico (Chiang et al. 2004) além de propriedades antidiabéticas (Chien et al. 2009), além de ser usada pelos povos indígenas para: dores de dente (principalmente a raiz), inflamação da garganta, retenção hídrica, lacerações, alívio de calafrios, infecções urinárias e vaginais (Haida et al. 2007; Lorenzi, Matos 2008).

Todas as suas partes são empregadas, principalmente contra angina, diabetes e hepatite (Sousa et al. 2011). Os relatos populares referenciam principalmente o combate às moléstias infecciosas de origem bacteriana, fúngica, helmíntica e viral, além da reputada ação anti-inflamatória. As folhas são usadas na forma de infusão, decocto ou suco. O extrato aquoso obtido por cozimento é indicado

para o combate à leucorreia, diabetes, inflamação da garganta, obstrução hepática e hepatite, cólicas e disenteria e como vermífugo e cicatrizante. O suco das folhas é usado em feridas, machucados, contusões e dermatites, além de ser útil no combate à icterícia e febres em quadros de rubéola e escarlatina (Duke, Martinez 1994; Mors et al. 2000).

A prevalência de metabólitos especiais para o gênero é marcante no que se refere a poliacetilenos e flavonoides. Alguns autores (Haida et al. 2007; Gonçalves 2010) têm se referido à atividade antimicrobiana de *B. pilosa*, como sendo maior frente às bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, porém não há estudos específicos com a semente.

Muitas plantas utilizadas na medicina tradicional popular para tratar várias desordens orgânicas apresentam sua utilidade ainda não totalmente compreendida. *B. pilosa* é um exemplo dessas espécies. Embora alguns estudos concentrados sobre ela tenham sido conduzidos em alguns países, a complexidade da sua constituição fitoquímica ainda dificulta as conclusões acerca de muitas informações necessárias para a explicação das suas utilidades populares e mesmo para prospecção (Valdés, Rego 2001; Franco, Fontana 2004).

Diversas plantas medicinais demonstram atividade alelopática, pois os mesmos constituintes químicos responsáveis pelas atividades medicinais podem também influenciar positiva ou negativamente no crescimento de outras espécies. Substâncias químicas com potencial alelopático estão presentes em diferentes órgãos como folhas, flores, frutos, caules, raízes e em sementes. A resistência ou tolerância aos metabólitos secundários é uma característica espécie-específica, existindo aquelas mais sensíveis como *Lactuca sativa* L. (alface) e *Capsicum annum* L. var. (pimentão), consideradas plantas indicadoras da presença de aleloquímicos (Soares, Vieira 2000).

Espécies vegetais podem fazer uma interação benéfica ou prejudicial com fungos de solo, como o *Penicillium* sp. A espécie *B. pilosa* está disseminada em quase todo o território brasileiro e sua maior concentração é verificada nas áreas agrícolas do centro-sul, onde constitui uma das mais agressivas plantas daninhas a infestar culturas anuais (Smith, Read 2008).

O uso de agentes antimicrobianos derivados de produtos naturais é muito importante no

tratamento terapêutico de várias patologias. Todavia, para muitas das plantas em uso, a real eficácia e os princípios ativos relevantes não são conhecidos. Consequentemente, estudos que objetivem demonstrar as atividades farmacológicas destas plantas e que identifiquem os princípios ativos são necessários (Ferreira et al. 1998).

Tendo em vista o uso indiscriminado de plantas para o tratamento e cura dos mais diversos males (Junior et al. 2005) e a escassez de estudos para avaliação da atividade antimicrobiana das folhas e sementes de *B. pilosa* (Costa-Lotufo et al. 2009), entendeu-se como importante a realização de estudos que avaliassem o potencial antimicrobiano para a espécie. Bem como avaliar a possibilidade de inibição do *Penicillium* sp. e avaliar a germinação de sementes de *C. annuum* e *L. sativa* e o desenvolvimento da plântula pelo teste alopático observando atividade herbicida ou estimulante dos extratos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material plantar

O material vegetal foi coletado em novembro de 2015, na cidade de Foz do Iguaçu/PR, no remanescente da Itaipu. Após a identificação botânica macroscópica, realizada pela professora Marizete Gonçalves da Silva da PUC-PR, uma excisada foi encaminhada para depósito no Herbário da PUCPR (HUCP 24524), campus Curitiba.

### Preparo dos extratos

Após a coleta, sementes e folhas foram levadas para estufa com circulação de ar, a 40 °C, por quatro dias, realizando a movimentação diária. Feito isso, as partes vegetais foram trituradas em moinho de facas até a obtenção de um pó e, conservadas em recipiente hermeticamente fechado e protegido da luz.

O extrato aquoso 5% (p/v) foi preparado pelo método de infusão em água fervente (100 °C) por 12 minutos. O extrato hidroalcoólico 5% (p/v) foi preparado com álcool 70% pelo método de maceração a frio. Este foi submetido a três agitações diárias durante 25 dias, e armazenado ao abrigo da luz. Ambos os extratos foram filtrados, concentrados em evaporador rotatório e congelados para posterior liofilização (Dias 1929; Younes et al. 2000).

Após a liofilização, foram armazenados em frascos fechados rotulados e mantidos no freezer a -18 °C até o momento do uso.

### Screening fitoquímico preliminar

Os extratos liofilizados foram submetidos à triagem fitoquímica, para identificação dos grupos: açúcares redutores, alcaloides, antraquinonas,

carboidratos, esteroides, flavonoides, glicosídeos, saponinas e taninos, segundo metodologias de coloração e precipitação (Goyal et al. 2010).

### Ensaio Microbiológico

Foram utilizadas para verificação da atividade antimicrobiana cepas padronizadas de: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922), *Escherichia coli* (ATCC 25923), *Salmonella typhimurium* (NEWP 0028), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Streptococcus pyogenes* (NEWP 0015), *Candida albicans* (NEWP 0031), *Candida krusei* (ATCC 14243), *Candida tropicalis* (ATCC 201380) e *Proteus mirabilis* (NEWP 0133).

Suspensões microbiológicas de cada cepa padronizada foram adicionadas a tubos de ensaio contendo 5 ml de solução salina 0,9% estéril. Para a comparação dos tubos foi utilizado fotocolorímetro ajustando em 580 nm e transmitância a  $25 \pm 2\%$ . Em seguida as suspensões foram inoculadas no meio de cultura pela técnica de Pour-Plate (Trabulsi, Alterthum 2008; CLSI 2009a). Após solidificação, foram realizados os testes de difusão por poço conforme atualizações do (CLSI 2009b), em triplicata, onde orifícios de 6 mm de diâmetro foram perfurados e impregnados com os extratos nas concentrações 0,5; 1; 2 e 4%. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica ( $35 \pm 2$  °C) por 24 horas.

Após o período de incubação, realizou-se a leitura dos diâmetros dos halos de inibição (mm) com o auxílio de um paquímetro. A interpretação foi realizada de acordo com os critérios preconizados pela *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS 2003).

Como padrão comparativo foram utilizados medicamentos referências (Amoxicilina, Neomicina, Cetoconazol e Sulfeto de Selênio todas na concentração de 10 mg/ml) (Bauer et al. 1996).

### Avaliação Fitotoxicidade

Para a determinação da fitotoxicidade foram realizados os testes em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo duas folhas de papel germiteste embebidas em extrato aquoso nas concentrações de 1, 2, 3 e 4%, em quatro repetições para cada concentração. Foram adicionadas 25 sementes de *Lactuca sativa* L. variedade Grand rapids e *Capsicum annuum* L. aleatoriamente sobre o papel. Utilizou-se água destilada nas placas controle (Miró et al. 1998).

Os tratamentos foram transferidos para uma câmara de germinação com temperatura controlada (25 °C). A avaliação foi iniciada 24 h após incubação e prosseguiu diariamente por 7 dias, sendo consideradas germinadas aquelas sementes que apresentaram protrusão da radícula a partir de

2 mm de comprimento (Hadas 1976).

Após 7 dias da instalação do teste, foi avaliado o percentual de germinação e desenvolvimento da parte aérea e radicular.

#### Avaliação de inibição do fungo de solo

As plantas podem fazer uma interação com fungos do solo se beneficiando dessa relação por aumentar a absorção de minerais e água do solo (Smith, Read 2008), mas existem os fungos oportunistas que prejudicam as plantas pelo parasitismo. Extratos obtidos a partir das folhas e sementes foram utilizados para os testes fúngicos. As amostras de solo coletadas em área agrícola na cidade de Cascavel, Paraná, foram diluídas até  $10^{-3}$ , colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio BDA acrescido de antibiótico e submetidas a incubação a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas por 7 dias. A maior incidência de fungos isolados pertence aos gêneros *Penicillium* sp., sendo este submetido aos testes com extratos de *B. pilosa*, em placa de Petri com os 10 ml do meio de cultura BDA juntamente com os extratos nas concentrações de 1, 2, 3 e 4% organizadas em quatro repetições para cada concentração. As placas com inoculação do fungo foram acondicionadas em estufa a 20 °C, sendo realizada a medição diária do halo de crescimento até o preenchimento total da placa, o qual ocorreu no quarto dia.

#### Análise estatística

Os resultados foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey a 5%, programa ASSISTAT. Porcentagem de germinação e velocidade média de germinação foram calculados pelo método descrito por Labouriau (1983), já a média do comprimento radicular foi obtido com o auxílio de régua. O delineamento experimental foi completamente casualizado, em esquema fatorial (5x4), sendo cinco formas de extração e quatro diluições com quatro

repetições de 25 sementes por tratamento (Ranieri et al. 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Triagem fitoquímica

Os resultados fitoquímicos demonstraram uma grande gama de metabólitos secundários extraídos de sementes de picão-preto (Tabela 1), variando em relação a parte vegetal utilizada. A presença destes compostos é importante, pois permite indicar possíveis efeitos terapêuticos e/ou tóxicos do material vegetal (Lopez 2006).

O *screening* fitoquímico permitiu observar a presença de saponinas, flavonoides, e esteroides em extratos provenientes de sementes e folhas. Saponinas apresentam grande importância devido a potencial ação antimicrobiana, larvicida, anti-inflamatória e moluscicida (Pinho et al. 2012; Garcez et al. 2013; Silva et al. 2013; Cartaxo-Furtado et al. 2015), flavonoides apresentam efeitos marcantes quanto a proteção natural, atuando como antioxidantes e antimicrobianos (Nascimento et al. 2015; Santos, Cury 2011).

Os esteroides têm recebido atenção especial devido à sua capacidade de baixar os níveis séricos de colesterol em humanos (Hicks, Moreau 2001), também são considerados importantes por terem atividades anti-inflamatória, antibacteriana, antiulcerativa e antitumoral (Beveridge et al. 2002).

Alcaloides e carboidratos foram encontrados apenas nos extratos obtidos a partir de sementes. Alcaloides apresentam atividades importantes quanto a ação contra predadores, atuando especificamente contra herbívoros (Larcher 2006) na medicina popular podem atuar como agentes analgésicos poderosos, anti-hipertensivos (Kouznetsov et al. 2005). Já os carboidratos têm apresentado diversas atividades biológicas, incluindo propriedades antiviral (Talarico et al. 2004), leishmanicida (Nolet et al. 2002), antitumoral e anticoagulante (Stuelp-campelo et al. 2002; Peng et al. 2005).

**TABELA 1.** Resultado da triagem fitoquímica realizada no extrato aquoso das sementes e folhas de *Bidens pilosa*.

	Açúcares reductores	Alcaloides	Antraquinonas	Carboidratos	Esteroides	Flavonoides	Glicosídeos	Saponinas	Taninos
<b>Extrato Aquoso Sementes</b>	-	+	-	+	+	+	-	+	-
<b>Extrato Aquoso Folhas</b>	-	-	-	-	+	+	-	+	+

(+) positivo, (-) negativo.

Já nas folhas observou-se a presença de taninos, compostos que atuam como captadores de radicais livres, e tem atividade antimicrobiana, antiviral, antifúngica, antidiarreica e antisséptica (Monteiro et al. 2006). Apresentam também a habilidade de precipitar proteínas, oferecendo defesa a planta contra a herbivoria (Gurib-fakim 2006).

#### Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos pela metodologia de pour-plate

No teste da atividade antimicrobiana pelo método pour-plate em ágar não foram obtidos resultados satisfatórios para nenhum dos extratos testados, com ausência de halos de inibição nas concentrações testadas, indicando ausência de atividade antimicrobiana para a condição avaliada. *B. pilosa* possui predominantemente em sua composição poliacetilenos e flavonoides, além de terpenoides, fenilpropanoides, saponinas, alcaloides e esteroides. Apesar de possuir esses compostos, foram poucos os estudos em que houve inibição de crescimento de patógenos, corroborando com o resultado obtido nesse trabalho, o que pode ser devido a uma maior atividade dos princípios ativos, vinculado às outras atividades da espécie, como anti-hipertensiva, anti-inflamatória, anti-hiperglicêmica (Okoli et al. 2006).

Borges (2009) relata que a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *B. pilosa* é, aparentemente, relacionada aos terpenos, como o mirceno, limoneno, ocimeno, linalol e verbenol. O óleo essencial extraído da *B. pilosa* apresentam quarenta e quatro componentes identificados,

sendo que os principais terpenos extraídos de óleos essenciais foram cariofileno (10,9% e 5,1%) e cadineno (7,82% e 6,13%), nas folhas e flores, respectivamente.

Testes envolvendo extrato metanólico das raízes de *B. pilosa*, nas concentrações de 5 a 10 mg/ml, inibiram o crescimento de cepas de bactérias gram-positivas: *Aureus aureus*, *Epidermidus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus kristinae*, *Streptococcus faecalis*; e gram-negativas: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Flexneri shigelia*, *Klebsella pneumoniae* e *Serratia marcescens*. Inferindo-se que uma atividade antibacteriana mais potente possa ser alcançada com a preparação de extratos das raízes de *B. pilosa*, explicando, em parte, a utilização da planta inteira no tratamento de infecções microbianas na medicina popular (Santos, Cury 2011).

#### Avaliação da Fitotoxicidade

A alelopatia é a ação direta ou indireta de uma planta sobre a outra, sendo que compostos químicos alelopáticos são liberados por uma espécie vegetal para minimizar a competição com outras plantas. O presente trabalho avaliou o efeito dos extratos aquoso das partes aéreas folha e semente da espécie da família Asteraceae, considerada medicinal *B. pilosa* sobre o crescimento de plântulas de *L. sativa* e *C. annuum* a partir da verificação do potencial alelopático.

O extrato aquoso obtido das folhas de *B. pilosa* demonstrou efeito significativo sobre a germinação de *L. sativa*. Concentrações  $\geq 3\%$  do extrato exibiram interferência no desenvolvimento

**TABELA 2.** Medidas em mm no desenvolvimento de sementes de *Lactuca sativa* frente a extratos de sementes e folhas de *Bidens pilosa*.

	Concentração %	Extratos	
		Folhas	Semente
Hipocótilo (mm)	0	19,01 ± 1,94	19,01 ± 1,94
	1	31,83 ± 2,54	28,64 ± 1,87
	2	16,04 ± 1,05	42,25 ± 0,69
	3	11,22 ± 3,51	38,86 ± 4,82
	4	2,25 ± 4,50	30,43 ± 3,19
Comprimento radicular (mm)	0	9,11 ± 1,96	9,11 ± 1,96
	1	23,18 ± 2,83	26,15 ± 1,74
	2	7,72 ± 5,40	30,61 ± 2,89
	3	3,00 ± 1,36	26,28 ± 5,19
	4	0,25 ± 0,50	17,92 ± 4,72

radicular, e foram mais severos em 4%, onde as radículas apresentaram-se praticamente ausentes. Tanto o crescimento radicular (47,29%) como a parte aérea (60,63%), frente as maiores concentrações testadas (4%), foram inibidas, enquanto, em baixas concentrações (1%) observou-se um efeito estimulador do desenvolvimento de ambas as estruturas (Tab. 2).

Contrariamente a estes resultados, o extrato aquoso das sementes de *B. pilosa* estimulou o desenvolvimento, tanto radicular quanto do hipocótilo, em todas as concentrações avaliadas. Da mesma maneira que observado para *L. sativa*, e exposição do extrato de folhas de *B. pilosa* frente a sementes de *C. annuum* permitiu observar o estímulo do crescimento do hipocótilo (48,11%) em baixas concentrações (1%), enquanto que, em altas concentração (4%) ocorreu redução no crescimento do hipocótilo (93%) e radícula (94%). Por outro lado, o extrato aquoso das sementes de *B. pilosa* sobre *C. annuum* demonstrou potencial inibitório em todas as concentrações avaliadas, sendo esta resposta dose-dependente (Tab. 3).

Alguns vegetais liberam produtos do seu metabolismo secundário que podem impedir ou estimular a germinação e/ou o desenvolvimento de outras plantas relativamente próximas, caracterizando um processo alelopático (Soares, Vieira 2000). Sobre certas condições estes compostos são liberados para o meio em quantidades suficientes para afetar a planta vizinha ou sucessional. De acordo com Rice (1984), as substâncias químicas identificadas como agentes alelopáticos se enquadram em

quatorze categorias, destacando-se os terpenoides, saponinas, flavonoides (taninos, proantocianinas) e alcaloides.

Adicionalmente, compostos já relatados como eficazes no efeito alelopático a patógenos e/ou a outras espécies vegetais, como o poliacetileno PHT, flavonoides, alcaloides, esteroides, taninos, ácido linoleico e ácido linolênico, já foram encontrados em *B. pilosa* (Santos, Cury 2011) justificando o efeito alelopático observado.

#### **Avaliação de inibição do fungo *Penicillium* sp.**

Foi possível observar que o extrato das sementes de *B. pilosa* tendeu a inibir o crescimento de *Penicillium* sp. de forma dose-dependente, ou seja, quanto maior a concentração do extrato, maior a inibição. Os dados apresentam regressão linear ( $y = -141,6x + 20,774$  e  $R^2 = 0,8803$ ), atingindo 26,7% de inibição na maior concentração do extrato (4%) (Tab. 4).

O extrato das folhas demonstrou um maior potencial em comparação as sementes, atingindo uma inibição no crescimento do fungo de 52,6% na dose mais elevada, observados por meio da regressão linear representada por  $y = -260,9x + 20,394$  e  $R^2 = 0,9456$ .

De forma geral, o fungo *Penicillium* sp. apresentou uma pequena inibição não significativa na maior concentração testada nos extratos da semente, o que não afetaria em uma provável utilização do extrato em concentrações menores como fertilizante.

**TABELA 3.** Medidas em mm no desenvolvimento de sementes de *Capsicum annuum* com extrato de sementes e folhas de *Bidens pilosa*.

	Concentração %	Extratos	
		Folhas	Semente
Hipocótilo (mm)	0	21,24 ± 1,49	21,24 ± 1,49
	1	31,4 ± 6,03	39,10 ± 1,80
	2	27,44 ± 3,34	38,73 ± 4,45
	3	12,04 ± 1,39	30,78 ± 1,96
	4	6,33 ± 4,36	23,73 ± 5,64
Comprimento radicular (mm)	0	20,57 ± 1,70	20,57 ± 1,70
	1	19,08 ± 4,74	33,61 ± 3,87
	2	14,02 ± 2,50	33,56 ± 2,89
	3	2,07 ± 0,62	19,53 ± 1,51
	4	1,07 ± 0,78	22,61 ± 6,98

**TABELA 4.** Medidas em mm dos halos desenvolvidos do fungo *Penicillium* sp. com extrato de sementes e folhas de *Bidens pilosa*

	Concentração %	Extratos	
		Folhas	Semente
<i>Penicillium</i>	0	19,99 ± 2,19	19,99 ± 2,19
	1	18,75 ± 0,32	19,66 ± 1,56
	2	13,99 ± 1,66	19,24 ± 1,45
	3	13,66 ± 3,52	16,16 ± 0,79
	4	9,49 ± 0,96	14,66 ± 1,36

Dessa forma, o uso de extratos poderia ser potencialmente estudo para o controle de *Penicillium* sp. visando baixos danos ao meio ambiente, preocupação que é destacada entre os pesquisadores (Andrews 1992; Yu, Sutton 1997; Fortes et al. 2007).

*Penicillium* sp. é um fungo filamentosos, capaz de produzir micotoxinas do tipo patulia, ocratoxina, citrinina, penitrina a e ácido ciclopiazóico (Steyn 1995). Estas substâncias podem estar presentes nos alimentos ao serem absorvidos pelas plantas ou ainda liberados no interior das mesmas, tendo efeitos tóxicos como carcinogênicos, mutagênicos, teratogênicos, citotóxicos, neurotóxicos, nefrotóxicos e imunodepressores (Robison et al. 2000). Dessa forma, a grande preocupação em testes antifúngicos e com baixos danos ao meio ambiente pela baixa toxicidade, como observado nos extratos de *B. pilosa*.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que as sementes de *Bidens pilosa* apresentam uma grande variedade de constituintes químicos, contudo neste estudo, não foi encontrada atividade antimicrobiana frente as condições e concentrações avaliadas. Em contrapartida, o extrato aquoso de sementes de *B. pilosa* apresentou tendência de inibição, não significativa, frente ao fungo de solo *Penicillium* sp. Os resultados obtidos indicam que a espécie analisada pode ser utilizada na busca de novas moléculas herbicidas menos tóxicas ao meio ambiente e ao homem. Portando incentivando estudos de isolamento dos compostos com atividade herbicida, evidenciada pela inibição na germinação de sementes de *L. sativa* e *C. annuum*, ou atividade estimulante, na concentração de 1%.

Uma vez que nenhum estudo fora feito isoladamente com sementes de *B. pilosa*, os resultados obtidos neste trabalho conferem um padrão para eventuais pesquisas futuras.

## REFERÊNCIAS

- ABAJO C, BOFFILL MA, CAMPO J, MÉNDEZ MA, GONZÁLEZ Y, MITJANS M, VINARDELL MP (2004) *In vitro* study of the antioxidant and immunomodulatory activity of aqueous infusion of *Bidens pilosa*. J Ethnopharmacology 93:319-323. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.03.050>
- ANDREWS JH (1992) Biological control in the phyllosphere. Annu Rev Phytopatol 30:603-635. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.30.090192.003131>
- BEVERIDGE THJ, LI TSC, DROVER JCG (2002) Phytosterol content in american ginseng seed oil. J Agric Food Chem 50:744-750. <https://doi.org/10.1021/jf010701v>
- BORGES CC (2009) Análise Farmacognóstica de *Bidens pilosa* (L.) (Asteraceae). 27p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação – área de concentração em Farmácia). Departamento de Farmácia. Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Brasil.
- BRASIL (1995) Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria SVS nº 6 de 31.01.95. Institui e normaliza o registro de produtos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União. 200:1-1523.
- CARVALHO ACB (2008) Plantas Medicinais e Fitoterápicos: Regulamentação Sanitária e Proposta de Modelo de Monografia para Espécies Vegetais Oficializadas no Brasil. 318p. Tese (Doutorado – área de concentração em Ciências da Saúde), Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Distrito Federal, Brasil.
- BAUERAW, KIRBY WM, SHERRIS JC, TURCK M (1996) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol 45:493-496. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5325707/>
- CARTAXO-FURTADO NADEO, SAMPAIO TO, XAVIER MA, MEDEIROS ADDE, PEREIRA JV (2015) Perfil fitoquímico e determinação da atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) frente a microrganismos bucais. Rev Bras Plantas Med 17:1091-1096. [https://doi.org/10.1590/1983-084X/14\\_153](https://doi.org/10.1590/1983-084X/14_153)
- CHIANG YM, CHUANG DY, WANG SY, TSAI PW, SHYUR LF (2004) Metabolite profiling and chemopreventive bioactivity of plant extracts from *Bidens pilosa*. J Ethnopharmacol. 95:409-419. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.08.010>

- CHIEN SC, YOUNG PH, HSU YJ, CHEN CH, TIEN YJ, SHIU SY, LI TH, YANG CW, MARIMUTHU P, TSAI LFL, YANG WC (2009) Anti-diabetic properties of three common *Bidens pilosa* variants in Taiwan. *Phytochem* 70:1246-1254. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.07.011>.
- CLSI (2009a) Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test: Approved Standard. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 1-76.
- CLSI (2009b) Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 1-13.
- COSTA-LOTUFO LV, MONTENEGRO RC, ALVES APNN, MADEIRA SVF, PESSOA C, MORAES MEA, MORAES MO (2009) A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. *Rev Virtual Quím* 2:47-58. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20100006>
- DIAS RA (1929) *Pharmacopeia dos Estados Unidos do Brasil*. 1.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 634p.
- DUKE JA, MARTINEZ RV (1994) *Amazonian Ethnobotanical Dictionary*. Boca Raton: CRC Press, 215p.
- FERREIRA SH, BARATA LES, SALLES SLM, QUEIROZ SRR, CORAZZA R, FARIAS RC (1998) Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. 1.ed. São Paulo: Academia Brasileira de Ciências, 132p.
- FORTES FO, SILVA ACF, ALMANÇA MAK, TEDESCO SB (2007) Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* ssp. *Rev Árvore* 31:221-228. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622007000200004>
- FRANCO IJ, FONTANA VL (2004) *Ervas e plantas: a medicina dos simples*. 9.ed. Erechim: Editora Livraria Vida, 178p.
- GARCEZ WS, GARCEZ FR, SILVA LMGE, SARMENTO UC (2013) Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. *Rev. Virtual Quím* 5:363-393. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130034>
- GONÇALVES JM (2010) Avaliação da atividade antimicrobiana e triagem fitoquímica dos extratos de espécies da família Asteraceae encontradas no semi-árido baiano. 91p. Dissertação (Mestrado – área de concentração em biotecnologia). Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil.
- GOYAL AK, MIDDHA SK, SEN A (2010) Evaluation of the DPPH radical scavenging activity, total phenols and antioxidant activities in Indian wild *Bambusa vulgaris* "Vittata" methanolic leaf extract. *J Nat Pharm* 1:40-45. <https://doi.org/10.4103/2229-5119.73586>
- GURIB-FAKIM A (2006) Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med* 27:1-93. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.008>
- HADASA (1976) Water uptake & germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solutions. *J Exp Botany* 27:480-489. <http://www.jstor.org/stable/23688774>
- HAIDA KS, PARZIANELLO I, WERNER S, GARCIA DR, INÁCIO CV (2007) Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. *Arq Ciênc Saúde Unipar* 11:185-192. <https://core.ac.uk/download/pdf/235581644.pdf>
- HICKS KB, MOREAU RA (2001) Phytosterols and phytostanols: functional food cholesterol busters. *Food Technol* 55:63-67.
- JUNIOR VFV, PINTO AC, MACIEL MAM (2005) Plantas medicinais: Cura segura? *Quím Nova* 28:519-528. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300026>
- KHAN MR, KIHARAM, OMOLOSO AD (2001) Anti-microbial activity of *Bidens pilosa*, *Bischofia javanica*, *Elmerilia papuana* and *Sigesbeckia orientalis*. *Fitoterapia* 72:662-665. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(01\)00261-1](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(01)00261-1)
- KOUZNETSOV VV, MÉNDEZ LYV, GÓMEZ MM (2005) Recent progress in the synthesis of quinolines. *Curr Organic Chem* 9:141-161. <https://doi.org/10.2174/1385272053369196>
- LABOURIAU LG (1983) *A germinação das sementes*. 1.ed. Washington: Secretaria da Organização dos Estados Americanos, 173p.
- LARCHER W (2006) *Ecofisiologia Vegetal*. 3.ed. São Carlos: Rima, 529p.
- LOPEZ CAA (2006) Considerações gerais sobre plantas medicinais. *Ambiente: Gestão e Desenvolvimento* 1:19-27.
- LORENZI H, MATOS FJ (2008) *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. 2.ed. São Paulo: Plantarum, 544 p.
- MIRÓ CP, FERREIRA AG, AQUILA MEA (1998) Alelopatia de frutos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. *Pesq Agropec Brasil* 33:1261-1270. <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/4959>
- MONTEIRO JM, ALBUQUERQUE UP, LINS-NETO EMF, ARAÚJO, EL, AMORIM ELC (2006) Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semi-arid northeastern region. *J Ethnopharmacol* 105:173-183. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.10.016>
- MORS WB, RIZZIN CT, PEREIRA NA (2000) *Medicinal plants of Brazil*. Michigan: Reference Publications, 372p.
- NCCLS (2003) Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard. 8.ed. Pennsylvania: NCCLS, 58p.
- NOLETO GR, MERCÊ ALR, IACOMINI M, GORIN PAJ, SOCCOL VT, OLIVEIRA MBM (2002) Effects of a lichen galactomannan and its vanadyl (IV) complex on peritoneal macrophages and leishmanicidal activity. *Mol Cell Biochem* 233:73-83. <https://doi.org/10.1023/A:1015566312032>
- OKOLI IC, NDUJIHE GE, OGBUEWU IP (2006) Frequency of isolation of *Salmonella* from 313 commercial poultry feeds and their anti-microbial resistance profiles, Imo State, Nigeria. *Online J Health Allied Scs* 5:1-10. <https://doaj.org/article/53fe4928b128464292a74345e1f136df>
- Peng Y, Zhang L, Zeng F, Kennedy JF (2005) Structure and antitumor activities of the water-soluble polysaccharides from *Ganoderma tsugae* mycelium. *Carbohydr Polym* 59: 385-392. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.10.009>
- PINHO L, SOUZA PNS, SOBRINHO EM, ALMEIDA AC, MARTINS ER (2012) Atividade antimicrobiana de

- extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim- pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. *Cienc Rural* 42:1-6. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012005000003>
- NASCIMENTO RRG, MONTEIRO JA, PIMENTA ATA, TREVISAN MTS, BRAZ-FILHO R, SOUZA EB, SILVEIRA ER, LIMA MAS (2015) Novos flavonoides de *Margaritopsis carrascoana* com atividade antioxidante. *Quím Nova* 38:60-65. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140289>
- RANIERI BD, LANA TC, NEGREIROS D, ARAÚJO LM, FERNANDES GW (2003) Germinação de sementes de *Lavoisiera cordata* e *Lavoisiera francavillana* (Melastomataceae), espécies simpátricas da Serra do Cipó, Brasil. *Acta Bot Bras* 17:523-530. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062003000400005>
- RICE EL (1984) Allelopathy. 2.ed. New York: Academic Press, 422 p.
- ROBISON RK, BATT CA, PATEL PD (2000) Encyclopédia of food microbiology. 1.ed. Sam Diego: Academic Press, 421p.
- SANTOS JB, CURY JP (2011) Picão-Preto: uma planta daninha especial em solos tropicais. *Planta Daninha* 29:1159-1171. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582011000500024>
- SILVA ICA, ALEIXO AA, ALEIXO AM, FIGUEIREDO AP, LEMUCHI MO, LIMA LARS (2013) Análise Fitoquímica e Atividade Antioxidante do Extrato Hidroetanólico das Folhas de *Psidium guajava* L. (Goiabeira). *Biochem Biotechnol Rep*, 2:76-78. <http://dx.doi.org/10.5433/2316-5200.2013v2n2esp76>
- SMITH SE, READ DJ (2008) Mycorrhizal symbiosis. 3.ed. London: Academic Press, 785p.
- SOARES GLG, VIEIRA TR (2000) Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. Grand Rapids) por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. *Floresta e Ambiente* 7:190-197.
- SOUSA LN, VIEIRA LM, SILVA MJM, LIMA A (2011) Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. *Ciênc Agrotec* 35:554-559. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000300017>
- STEYN PS (1995) Mycotoxins, geral view, Chemistry and estrutura. *Toxicol letters* 82/83:843- 851. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(95\)03525-7](https://doi.org/10.1016/0378-4274(95)03525-7)
- STUELP-CAMPELO PM, OLIVEIRA MBM, LEO AMAC, CARONERO ER, GORIN PAJ, IACOMINI M (2002) Effect of a soluble  $\alpha$ -Dglucan from the lichenized fungus *Ramalina celastris* on macrophage activity. *Int Immunopharmacol* 2:691-698. [https://doi.org/10.1016/s1567-5769\(02\)00003-6](https://doi.org/10.1016/s1567-5769(02)00003-6)
- YU H, SUTTON JC (1997) Morphological development and interations of *Gliocladium roseum* and *Botrytis cinerea* in raspberry. *CPS* 19:237-336. <https://doi.org/10.1080/07060669709500518>
- TALARICO LB, ZIBETTI RGM, FARIAPCS, SCOLARO LA, DUARTE MER, NOSEDA MD, PUJOL CA, DAMONTE, EB (2004) Anti-herpes simplex virus activity of sulfated galactans from the red seaweeds *Gymnogongrus griffithsiae* and *Cryptonemia crenulata*. *Intern J Biol Macromol* 34:63-71. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2004.03.002>
- TRABULSI LR, ALTERTHUM, F (2008) Microbiologia. 5.ed. São Paulo: Atheneu, 384p.
- VALDÉS HAL, REGO HPL (2001) *Bidens pilosa* Linné. *Rev Cubana Plant Med* 6:28-33, 2001. [scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962001000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962001000100007)
- YOUNES RN, VARELLA D, SUFFREDINI IB (2000) Extração e rastreamento de novas drogas em plantas brasileiras. *Acta Oncol Bras* 20:15-19. [https://accamargo.phlnet.com.br/Acta/AOB200020\(1\)p.15-9.pdf](https://accamargo.phlnet.com.br/Acta/AOB200020(1)p.15-9.pdf)