

ATIVIDADE BIOLÓGICA DE EXTRATOS DE *Baccharis trimera* (LESS.) D.C. SOB A INFLUÊNCIA DA MINERAÇÃO CARBONÍFERA

Ana Paula Simões Menezes¹
Graciela Maldaner²

RESUMO: Poluentes liberados pelos processos industriais podem agir como agentes estressores das espécies vegetais, ocasionando modificações dos constituintes químicos das plantas e conseqüentemente de sua atividade biológica. A *Baccharis trimera*, também conhecida como carqueja, é uma das plantas medicinais mais utilizada na região do Pampa gaúcho e cresce espontaneamente em solos ácidos degradados pela mineração do carvão. O presente estudo objetiva avaliar a influência ambiental da contaminação do carvão na atividade antimicrobiana e antifúngica da espécie *B. trimera* (LESS.) DC. A planta foi coletada em região próxima a mineração de carvão (Candiota) e controle (Bagé). Realizou-se a secagem em estufa de ar circulante (30°C), moagem em moinho de facas e extração à frio com metanol, sendo obtidos extratos Candiota (EM-BtC) e Bagé (EM-BtB). Posteriormente os extratos foram incubados com distintas cepas padrão bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas e com padrão antifúngico nistatina. Os EM-BtC apresentaram melhores valores de CIM e CLM para as bactérias Gram-positivas *Bacillus cereus* e *Enterococcus spp.* e para os fungos *Cândida tropicalis*, *Cryptococcus gatti*. Os dados inferem que a exposição ambiental carbonífera possa estar modulando a atividade biológica da *B. trimera*. Essa resposta mostra a importância da procedência de materiais de origem vegetal considerando o potencial biológico dos mesmos.

PALAVRAS-CHAVE: *Baccharis trimera*, Atividade biológica, Pressão ambiental.

1 Doutora em Biologia Molecular e Celular aplicada à Saúde, URCAMP.

2 Doutora em Química, URCAMP.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF BACCHARIS TRIMERA EXTRACTS (LESS.) DC UNDER THE INFLUENCE OF COAL MINING

ABSTRACT: Pollutants released by industrial processes can act as stressing agents of plant species, causing changes in the chemical constituents of plants and consequently their biological activity. *Baccharis trimera*, also known as carqueja, is one of the most commonly used medicinal plants in the Pampa region of Brazil and grows spontaneously in acid soils degraded by coal mining. The present study aims to evaluate the environmental influence of coal contamination on the antimicrobial and antifungal activity of *B. trimera* (LESS.) DC. The plant was collected in a region close to coal mining (Candiota) and control (Bagé). Drying in a circulating air oven (30°C), milling of knives and cold extraction with methanol, Candiota (EM-BtC) and Bagé (EM-BtB) extracts were obtained. Subsequently the extracts were incubated with distinct Gram-positive and Gram-negative bacterial standard strains and with anti-fungal standard nystatin. The EM-BtC presented better MIC and CLM values for the Gram-positive bacteria *Bacillus cereus* and *Enterococcus* sp. and for the fungi *Candida tropicalis*, *Cryptococcus gatti*. The data infer that carboniferous environmental exposure may be

modulating the biological activity of *B. trimera*. This answer shows the importance of the origin of materials of vegetal origin considering the biological potential of the same ones.

KAY-WORDS: *Baccharis trimera*, Biological activity, Environmental pressure.

INTRODUÇÃO

A demanda pela utilização de plantas medicinais tem-se intensificado continuamente em função de sua facilidade de acesso, seja no contexto rural quanto urbano, aliado às crescentes pesquisas envolvendo eficácia de produtos naturais. Além disso, o Brasil possui uma “farmacopéia popular” muito diversa, resultante da miscigenação cultural o que impulsiona a utilização de espécies vegetais com base no saber popular (SIMÕES et al., 1999; TOMAZZONI et al., 2006).

O gênero *Baccharis* é o maior gênero da família *Compositae*, com mais de 500 espécies distribuídas em todo o Norte e continente sul-americano (ABAD e BERMEJO, 2007). Uma de suas espécies mais utilizadas é a *Baccharis trimera*, conhecida como “carqueja”, que cresce espontaneamente no Sul do Brasil. Seu uso foi introduzido pelos indígenas sob forma de decocção e infusões, sendo também utilizada na bebida típica “chimarrão” (SIMÕES et al., 2001; DIAS et al., 2007). Popularmente seu emprego foi

difundido para auxiliar em problemas de saúde envolvendo os distúrbios digestivos, as doenças renais e hepáticas, o reumatismo, e também como antisséptico para afecções de uso externo (ABAD e BERMEJO, 2007).

Tem sido evidenciado o potencial antimicrobiano e antifúngico de *B.trimera* principalmente para bactérias Gram-positivas e alguns fungos patogênicos, respectivamente (AVANCINI e MUNDSTOCK, 2000). A atividade biológica de *B.trimera* é justificada pela presença de compostos secundários produzidos pela planta, tais como fenóis, saponinas, flavonóides, taninos, cumarinas, entre outros (Simões et al., 2001). Esses metabólitos podem sofrer modificações frente variações regionais, sazonais e ambientais (SILVA et al., 1999).

Segundo Dias et al. (2007) a *B. trimera* é uma das planta mais utilizada da Região do Pampa, que está situada na metade sul do estado do Rio Grande do Sul. Nessa localidade, o município de Candiota contempla a Usina Termelétrica Presidente Médici (UTPM) geradora de uma potência de 446MW e com consumo médio de 100 mil toneladas de carvão por mês. O carvão utilizado na UTPM tem um baixo teor calórico e alto teor de cinzas, o que agrava o impacto no ambiente (PIRES e QUEROL, 2004).

Os poluentes liberados podem agir como agentes estressores das espécies vegetais, podendo levar a uma modificação dos constituintes químicos, e conseqüentemente de sua atividade biológica. A *B. trimera* por crescer espontaneamente em solos ácidos, incluindo os impactados pela mineração do carvão fica vulnerável a modificações químicas-biológicas diante da pressão do ambiente (COSTA; ZOCHE; ZOCHE-DE-SOUZA, 2006). Nesse sentido, o presente estudo objetiva determinar a presença de atividade antimicrobiana e antifúngica da espécie *B. trimera* da região do Pampa, além de verificar a influência da contaminação ambiental na atividade biológica, partindo da comparação entre planta coletada de região exposta e não exposta à contaminação do carvão.

MATERIAL E MÉTODO

Coleta do vegetal

Foram coletadas partes aéreas de *B.trimera*, na região do Pampa gaúcho, no mês de abril de 2013, selecionadas em um ponto localizado ao entorno da usina termoeletrica de Candiota (coordenadas 31° 17' 35" S/ 54° 10' 58" O) e outro no município de Bagé (controle externo), que dista cerca de 57 Km (coordenadas 31° 31' 42.13"S / 54° 04' 61.74"O) do barlavento da usina. As coordenadas geográficas dos locais foram obtidas por meio de um GPS (Sistema de Posicionamento Global). A exsicata da espécie foi depositada no Herbário Nicanor Rich da Universidade da Região da Campanha (URCAMP) e as amostras identificadas pelo botânico Dr. Fernando Menezes.

Preparação dos Extratos Brutos

Após a coleta, o material vegetal foi selecionado, seco em estufa (30°C), triturado em moinho de facas e pesado. O material foi exposto ao metanol (500ml) durante 48 horas para promoção da extração. Após filtração, as amostras foram submetidas a evaporação por rotaevaporador obtendo-se o extrato bruto. Dessa forma, obteve-se os Extratos metanólicos de *Bacharis trimera* provenientes de Candiota (EM-BtC) e de Bagé (EM-BtB).

Atividade biológica

A análise da atividade antimicrobiana e antifúngica foi realizada no laboratório de produtos naturais na Universidade Federal de Santa Maria (NPPN). Utilizaram-se cepas padrão da American Type Culture Collection (ATCC), constituídas de microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e fungos, conforme a tabela 1. Os padrões de antimicrobianos utilizados foram preparados conforme FDA (1991) sendo os mesmos ampicilina, azitromicina e levofloxacina. Para atividade antifúngica foi utilizado o padrão nistatina.

Tabela 1: Microorganismos indicadores para teste biológico padronizados para o ensaio.

Microorganismos		
Gram-negativos	Gram-positivos	Fungos
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Cândida albicans</i> ATCC 10231
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 1304	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Cândida tropicalis</i> ATCC 18803
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 33019	<i>Cândida krusei</i> ATCC 6258
<i>Burkholderia cepacia</i> ATCC 17759	Enterococcus spp. ATCC 6589	<i>Cândida parapslosis</i> ATCC 22018
<i>Shigella sonnei</i> 25931	<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	<i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 28952
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028		<i>Cryptococcus gatti</i> ATCC 2601
<i>Morganella morganii</i> ATCC 25829		<i>Sacharomyces cerevisiae</i> ATCC 2601

Fonte: Própria dos autores

Meios de Cultura

Para cultivo dos microorganismos bacterianos foram utilizados caldo caseína de soja: cloreto de sódio (5,0g), dextrose (2,5g), fosfato dibásico de potássio (2,5g), peptona de caseína (17,0g), peptona de soja (3,0g) e água destilada (1L). Para cultivo de fungos utilizou-se caldo Sabouraud dextrosado; dextrose (40,0g), peptona de carne (5,0g), peptona de caseína (5,0g) e água destilada (1L).

Determinação da atividade biológica

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo Método de Micro diluição em caldo, conforme recomendado pelo National Committee for Clinical

Laboratories Standards (NCCLS, 2000). As amostras a serem testadas foram diluídas em meio líquido (metanol/DMSO – 2,5 mg/mL) contendo 2% do surfactante Tween 80, sendo diluídas novamente em placas de cultura estéreis de 96 poços, nas concentrações de 500 a 3,12 µg/mL. Cada poço foi inoculado com os microrganismos (10^6 células viáveis) e homogeneizado. As placas foram incubadas por 24 horas a 35°C para bactérias e, por 48 horas a 25°C para leveduras. Após a incubação ocorreu a turvação do meio, indicando crescimento microbiano, determinando-se a CIM.

Determinação da Concentração Letal Mínima (CLM)

A concentração letal mínima (CLM), segundo Hammer (1999) é a menor concentração da substância capaz de alcançar uma redução maior que 99% do número das unidades formadoras de colônia (UFC).

Neste método, as culturas de microrganismos que não apresentaram crescimento ou foram inibidas no método CIM, foram inoculadas novamente utilizando 10 µL de cada uma das soluções presentes nos poços do teste anterior e 90 µL de um novo meio de cultura líquido apropriado para cada classe de microrganismo. Após a incubação, cumprindo-se o tempo necessário para o crescimento de cada microrganismo (24 h, 35-37 °C para bactérias; 48 h, 25-27 °C para fungos) determinou-se a CLM.

Todos os testes foram realizados em triplicata e comparados com os padrões. Utilizou-se também um controle positivo e um negativo para cada substância testada, de forma a garantir a reprodutibilidade do ensaio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados relativos a CIM e CLM para atividade antimicrobiana e antifúngica dos EM-BtC e EM-BtB estão apresentados respectivamente nas tabelas.

Tabela 2 : Descrição da atividade antimicrobiana de EM-BtC e EM-BtB, com base nos valores de CIM, CLM e padrões.

Microorganismos	Atividades de Extratos – µg.mL ⁻¹									
	Amostras									
	EM-BtC		EM-BtB		Ampicilina		Azitromicina		Levofloxacina	
	CIM/CLM		CIM/CLM		CIM/CLM		CIM/CLM		CIM/CLM	
Gram-positivos										
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>250	-	>250	-	0,77	50	0,77	50	0,77	0,77
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	250	-	250	250	0,77	50	0,77	0,77	0,77	0,77
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 33019	125	250	125	125	50	50	1,55	1,55	0,77	0,77
<i>Enterococcus</i> spp. ATCC 6589	250	250	125	250	25	50	1,55	6,2	0,77	0,77
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	125	250	125	250	50	50	12,5	12,5	0,77	0,77
Gram-negativos										
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	250	250	250	250	3,1	25	1,55	3,1	0,77	0,77
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 1304	250	250	250	250	50	50	0,77	1,55	0,77	0,77
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	125	125	125	125	25	50	12,5	25	0,77	0,77
<i>Burkholderia cepacia</i> ATCC 17759	250	250	250	250	50	50	1,55	3,1	0,77	0,77
<i>Shigella sonnei</i> 25931	125	125	125	125	25	50	3,1	3,1	0,77	0,77
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	250	250	250	250	0,77	0,77	3,1	6,2	0,77	0,77
<i>Morganella morganii</i> ATCC 25829	250	250	250	250	0,77	6,2	3,1	6,2	0,77	0,77

Tabela 3: Descrição da atividade antifúngica de EM-BtC e EM-BtB, com base nos valores de CIM, CLM e padrão Nistatina.

Microorganismos	Atividades de Extratos – $\mu\text{g.mL}^{-1}$					
	EM-BtC		EM-BtB		Nistatina	
Fungos	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM
<i>Cândida albicans</i> ATCC 10231	250	250	250	250	0,77	3,1
<i>Cândida tropicalis</i> ATCC 18803	250	250	125	250	1,52	3,1
<i>Cândida krusei</i> ATCC 6258	62,5	125	62,5	125	0,77	1,52
<i>Cândida parapslosis</i> ATCC 22018	125	125	125	125	0,77	3,1
<i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 28952	125	125	125	125	1,52	3,1
<i>Cryptococcus gatti</i> ATCC 2601	125	125	62,5	125	3,1	3,1
<i>Sacharomyces cerevisiae</i> ATCC 2601	125	250	125	250	1,52	3,1

Observando-se os valores de CIM e CLM verifica-se que o crescimento das bactérias *Gram*-positivas e *Gram*-negativas, de um modo geral, foram inibidos por ambos os extratos.

A atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de *B. trimera*, obtidos na região do Pampa Gaúcho (RS) estiveram com valores de CIM para *S. aureus* ATCC 29213 ($> 250 \mu\text{g.mL}^{-1}$) similares ao estudo realizado por Carvalho et al. (2013) que encontrou para extratos hidroalcóolicos de *B. trimera* coletado no estado de Minas Gerais, valores para a mesma bactéria CIM=300 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Entretanto, encontramos para *Enterococcus* spp. ATCC 6589 (CIM=250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) melhor resultado, pois este autor encontrou valor de CIM numa concentração duas vezes maior (CIM=500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

A atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de *B. trimera* para as bactérias *Gram*-negativas (125-250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) também foram melhores em comparação ao estudo de Avancini et al. (2000), os quais encontraram para as bactérias *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 27736), *Salmonella typhimurium* (ATCC 19430), *Escherichia coli* (43895) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) valores de CIM $> 1250 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Ainda, Schimidt et al. (2008), em estudo realizado com extrato hidroalcóolico de *B.trimera* encontraram uma Concentração Bactericida Mínima (CBM) valores entre

512ug/ml a 625ug/ml para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella typhimurium*.

Embora as bactérias Gram-positivas apresentem parede celular quimicamente menos complexa, com menor teor de lipídeos devido à ausência de membrana externa quando comparada as Gram-negativas (Tortora, Funke, Case 2000), nas condições deste estudo ambas apresentaram sensibilidade relativas mediante a exposição dos extratos de *B. trimera*, de maneira contrária aos estudos de Avancini, Wiest e Mundstock (1999), os quais verificaram uma maior sensibilidade das bactérias Gram-positivas à exposição do decocto de *B. trimera* (15g/L) e ao seu macerado etanólico (20% p/v).

Dentre o escopo de bactérias Gram-negativas testadas não foi contemplada atividade frente a *H.pylori*, no entanto os dados de CIM de nosso estudo (125ug/ml-250ug/ml) foram similares ao encontrado por Tascheto (2010), utilizando-se de extratos etanólicos de *B.trimera* (156,25ug/ml- 312ug/ml), mas muito inferiores quando este autor experimentou extratos aquosos de *B.trimera* (2500ug/ml) frente a esta bactéria. Dessa forma, fica evidente que a variabilidade da atividade antimicrobiana de *B.trimera* depende do método de extração, bem como do local de coleta do vegetal.

Na literatura ainda são escassas as informações referentes a ação antifúngica da *B.trimera*, estando esta mais correlacionada ao óleo da planta. Entretanto este estudo traz a CIM e a CLM como algo promissor para estudos subsequentes à partir do extrato metanólico de *B. trimera*. Corroborando, Schuch et al. (2008) avaliaram a atividade antifúngica dos extratos de plantas pertencentes ao gênero *Baccharis*, incluindo a espécie *trimera* frente a amostras de dermatófitos de interesse na saúde humana e animal e verificaram que tanto extratos hidroalcoólicos (CIM=50 mL/100 mL) quanto o decocto (CIM=25 mL/100 mL) de *B. trimera* mostraram atividade antifúngica para *M. canis*. Recentemente, extratos aquosos brutos de *B. trimera* (concentrações 1%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25% e 50%) apresentaram efeitos dose-dependente para cinco fitopatógenos - *Alternaria alternata*, *Colletotrichum graminicola*, *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia rolfisii*. As variáveis analisadas foram inibição do crescimento micelial (ICM), crescimento micelial final (CMF) e área abaixo da curva do crescimento micelial (AACCM) e para todos os parâmetros essa espécie mostrou inibir significativamente ($p<0,05$) o crescimento do fungo (BERNARDO et al., 2015).

Considerando o aspecto ambiental, os valores encontrados para CIM/CLM diante a exposição das distintas bactérias aos extratos provenientes de região exposta (EM-BtC) e não exposta a poluição do carvão (EM-BtB), verifica-se que o EM-BtB apresentou uma atividade antimicrobiana mais efetiva por inibir sensivelmente o crescimento de *Enterococcus* spp. (CIM=125 ug.ml⁻¹) e requerer menor concentração de extrato para inibir o crescimento de *Bacillus cereus* (CLM=125ug.ml⁻¹) em comparação ao EM-BtC (CIM e CLM=250 ug.ml⁻¹). Entretanto, os resultados para as bactérias Gram- negativas apresentaram-se idênticos, independentemente do extrato, não sendo observada a influência ambiental da contaminação do carvão para essa atividade. Similarmente aos achados das Gram-positivas, para as espécies de fungos estudadas foi possível observar valores de CIM mais efetivos para o EM-BtB, neste caso associado a *Cândida tropicalis* (CIM=125ug/ml⁻¹) e *Cryptococcus gatti* (CIM=62,5ug/ml⁻¹).

A similaridade encontrada para os valores de CIM e CLM dos EM-BtC e EM-BtB, sugerem que a influência da contaminação ambiental pela queima do carvão não modifica a atividade biológica antimicrobiana.

A variação da atividade antimicrobiana para as bactérias Gram-positivas e para os fungos, pode estar sendo influenciada pelo estresse ambiental proveniente da região de Candiota, pois os poluentes lançados no ambiente podem estar modulando a atividade biológica do vegetal (REBOUÇAS, 1997).

Segundo Sartori (2005), são os constituintes flavonóides os principais responsáveis pela atividade antimicrobiana da *B.trimera*, por apresentarem a habilidade de complexação com a parede bacteriana, sendo os mais lipofílicos capazes de lisar a membrana microbiana. Além disso os flavonóides, por serem compostos fenólicos, são ricos em hidroxilas, as quais também conferem a atividade antioxidante servindo como proteção a planta mediante as condições de estresse induzida por estímulos ambientais (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999). Além disso, as fitoalexinas, metabólitos secundários de espécies vegetais, que conferem a planta atividade antimicrobiana, também apresentam em sua estrutura química grupamentos hidroxilas e estudos demonstraram que em diferentes condições edafoclimáticas ou

ambientais a produção deste metabólito sofre variação (PURKAYASHTA, et al. 1995; SIMÕES, et al. 2001).

Desta forma, percebe-se que a planta coletada em Candiota, por estar sob condições de impacto ambiental pode estar tendo sua atividade antimicrobiana para Gram-positivos (*Bacillus cereus* e *Enterococcus spp.*) e antifúngica (*Cândida tropicalis* e *Cryptococcus gatti*) comprometida, e este fato se apóia na hipótese de estar havendo uma menor produção de metabólitos secundários hidroxilados na planta exposta à contaminação do carvão e/ou estar com os metabólitos secundários hidroxilados do vegetal comprometidos com os constituintes químicos inorgânicos oriundos da queima do carvão.

Estudo realizado por Menezes, et al. (2013) na região de Candiota mostrou através do método PIXE (Partículas de Emissão de Raios-X) uma maior média de concentração de metais pesados nas folhas da espécie *B.trimera* comparada a planta coletada em Bagé, sendo encontrado os elementos Al, Fe, Si, S, Ca, e Zn. Estes metais levam danos celulares diretos e indiretos ao nível de DNA por produzirem espécies reativas de oxigênio (JAMOVA e VALKO, 2011). Desta forma os constituintes antioxidantes da planta tais como flavonóides e compostos fenólicos, podem estar sofrendo uma modulação na sua concentração tendo suas hidroxilas ocupadas, na tentativa de reparar o dano celular oriundo da formação de radicais livres, ficando menos disponíveis as hidroxilas flavônicas ou fenólicas para desempenhar a atividade antimicrobiana (SIMÕES, et al. 2001).

Borella et al. (2001) observaram que para a planta *B.trimera* os maiores teores de flavonóides são encontrados para a estação de verão, provavelmente pela necessidade de proteção celular frente a exposição aos raios UV, os quais também são precursores de espécies reativas de oxigênio. Taschetto (2010) observando a influencia da sazonalidade sobre o efeito antimicrobiano de *B.trimera* verificou que na estação verão a CIM de extratos etanólicos foi promissora, concluindo haver um incremento no teor destes metabólitos para a amostra. O período de coleta da amostra foi no mês de março, que corresponde ao término do verão de clima temperado, e isso pode ter auxiliado nos melhores valores de CIM para todos os patógenos se comparado aos outros estudos descritos

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista que extratos metanólicos de *B.trimera* apresentaram valores para CIM entre 62,5-250ug/ml e CLM entre 125-250ug/ml para inibição de crescimento de bactérias e fungos, considera-se de uma maneira geral, que esses achados são promissores em comparação a outros estudos, mesmo que os valores não sejam próximo aos dos padrões testados, pois não podemos relacionar a atividade de um composto puro (padrão) com uma mistura de vários compostos e diferentes concentração.

A atividade antimicrobiana e antifúngica dos extratos metanólicos de *B.trimera* foi determinada através de microdiluição em caldo. Diante disto, mesmo *in vitro* se obteve níveis de inibição consideráveis do extrato metanólico da planta independente do local de coleta, mas estudos *in vivo* são necessários para que possam estimar exatamente os níveis eficazes em organismos vivos.

Os extratos metanólicos de *B.trimera* coletadas em região não exposta aos poluentes do carvão (Bagé), apresentaram melhor atividade antimicrobiana e antifúngica sob determinados microorganismos (Gram-positivos: *Bacillus cereus*, *Enterococcus* spp.; Fungos: *Cândida tropicalis*, *Cryptococcus gatti*) se comparados a região impactada pela contaminação do carvão (Candiota), inferindo que algum componente ambiental dessa localidade possa estar influenciando o metabolismo vegetal e conseqüentemente na atividade biológica da *B. trimera*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, M.; BERMEJO, P. *Baccharis*(Compositae): a review update. **Department of Pharmacology Faculty of Pharmacy University Complutense**, Avda. Complutense s/n, 28040, Madrid, Spain 2007.

AVANCINI, C.; WIEST, J.; MUNDSTOCK, E. Atividade bacteriostática e bactericida do decocto de *Baccharis trimera* (Less.) D.C., Compositae, carqueja, como desinfetante ou anti-séptico. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.52, p.230-234, 2000.

BERNARDO, R.; SCHWAN-ESTRADA, K.; STANGARLIN, J.R.; SANTOS J.; OLIVEIRA B.; CRUZ, M.E.S.; MESQUINI, R.M. Atividade fungitóxica *in vitro* de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. *Scientia Agraria Paranaensis – SAP*; ISSN: 1983-1471. v. 14, n. 2, abr./jun., p. 89-93, 2015

BORELLA, J.; FONTOURA, A.; MENEZES, J.; FRANÇA, S. Influência da adubação mineral (N-P-K) e sazonalidade no rendimento e teor de flavonóides em indivíduos masculinos de *Baccharis trimera* (Asteraceae) – Carqueja. **Rev. Bras. De Plantas Mediciniais**, v.4, n.1, p.101-104, 2001.

COSTA, S.; ZOCCHÉ, J.; ZOCCHÉ-DE-SOUZA, P. Absorção de metais pesados (Zn e Pb) por *Axonopus obtusifolius* (Raddi) Chase em áreas degradadas pela mineração de carvão, SC, Brasil . In: **CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA**, 57, 2006, Gramado. Anais... Gramado, 2006. 1 CD-ROM.

DIAS, I.; SARMENTO, M.; SOUZA, R.; PEREIRA, M. Levantamento etnobotânico em seis municípios da Região da Campanha, RS. **Revista Científica Rural**. V.12, n.1, p.114-130, 2007.

FDA. Food and Drugs Administration: Code of Federal Regulations, Cap. 21, 200, 1991.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3ed. New York: Oxford University Press, 1999.

JAMOVA, K.; VALKO, M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. **Toxicology** n. 283, 65–87, 2011

MENEZES, A.; SILVA, J.; ROLOFF, J.; REYES, J. SILVA. *Baccharis trimera* (Less.) DC as Genotoxicity Indicator of Exposure to Coal and Emissions from a Thermal Power Plant. **Arch Environ Contam Toxicol**, 2013.

PIRES M, QUEROL X (2004). Characterization of Candiota (South Brazil) coal and combustion by-product. **Int. J. Coal Geol** 60:57–72.

NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standart, 5th Ed, NCCLS document M7- A5, 2000.

PURKAYASTHA , R. Progress in phytoalexin research during the past 50 years. In : DANIEL, M ; PURKAYASTHA, R. P (Ed.). **Handbook of Phytoalexin Metabolism and action**. New York: Marcel Dekker, p.1-39, 1995.

REBOUÇAS, A. Diagnóstico Preliminar dos Impactos da Mineração na Área do Morro Albino – Criciúma- SC. In: **Revista de Tecnologia e Ambiente**. UNESC, Criciúma. v.3, p.7-p.53. jun. 1997.

SARTORI, M. Atividade antimicrobiana de frações de extratos e compostos puros obtidos das flores de *Acmela brasiliensis* SPRENG (*Wedelia paludosa*)(*Asteraceae*). **Dissertação Mestrado em Ciências Farmacêuticas**. Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2005.

SCHMIDT, F.; MARQUES, L.; MAYWORM, M. Efeito da sazonalidade sobre o potencial antibacteriano de extratos etanólicos de *B.trimera* (Less) DC. (Asteraceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.10, n.2, p.1-5, 2008.

SILVA, J. Biomonitoramento de regiões mineradoras de carvão do Rio Grande do Sul: Avaliação da genotoxicidade através de roedores nativos. **Tese de Doutorado em Genética e Biologia Molecular**. Área de concentração: Genética Toxicologia Ambiental – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul. p.188, 1999.

SIMÕES, C.; SCHENKEL, E.; GOSMANN, G.; MELLO, J.; MENTZ, L.; PETROVICK, P. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. Ed.; Florianópolis/Porto Alegre: UFSC/URGS, 2001.

SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN J.R.; **Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul**. 5 ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 173p., 1999.

TASCHETTO, A.; Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos aquosos e etanólicos de *Baccharis trimera* e *Baccharis articulata* frente ao microorganismo *Helicobacter pylori*, **Programa de pós- graduação mestrado em ambiente e desenvolvimento**. UNIVATES. Lajeado- RS, 2010.

TOMAZZONI, M.I.; NEGRELLE, R.R.B.; CENTA, M.L. Fitoterapia Popular, a Busca Instrumental Enquanto Prática Terapêutica. **Texto e contexto de Enfermagem**, 15 (1): 115-121, 2006.

TORTORA, G.; FUNKE, B.; CASE, C. **Microbiologia**. 8.ed, Porto Alegre: Artmed, p.894. 2005.