



COMUNICADO
TÉCNICO

357

Pelotas, RS
Julho, 2018

Embrapa

Efeito do Extrato Hidroalcoólico da Folha de Erva-de-bugre na Germinação e Desenvolvimento de Plântulas de Feijão

Gabriela Berguenmaier de Olanda
Gilberto A. Peripolli Bevilaqua
Ricardo Batista Job
Irajá Ferreira Antunes

Efeito do Extrato Hidroalcoólico da Folha de Erva-de-bugre na Germinação e Desenvolvimento de Plântulas de Feijão¹

¹ Gabriela Berguenmaier de Olanda, engenheira-agrônoma, M.Sc., doutoranda em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.; Gilberto A. Peripolli Bevilaqua, engenheiro-agrônomo, doutor em Ciência e Tecnologia de Sementes, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS; Ricardo Batista Job, engenheiro-agrônomo, M.Sc., doutorando em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS; Irajá Ferreira Antunes, engenheiro-agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

Introdução

O Brasil abriga 55 mil espécies de plantas, aproximadamente 1/4 de todas as espécies conhecidas. Dessas, 10 mil podem ser medicinais ou bioativas e úteis, de acordo com estudo denominado Contribuição Efetiva ou Potencial do PADCT para Aproveitamento Econômico Sustentável da Biodiversidade (Brasil, 2006). Segundo Roberson (2008), há inúmeras plantas nativas em risco potencial de desaparecimento; devido às suas virtudes terapêuticas, necessitam de uma abordagem técnico-científica. Entre essas, destaca-se a erva-de-bugre (*Casearia sylvestris* Sw.), também conhecida por guassatonga, cafezinho-do-mato, pau-de-lagarto, carvalhinho ou varreforno, pertencente à família Salicaceae (anteriormente, Flacourtiaceae). A planta é de ocorrência no centro-sul do Brasil, e a Embrapa Clima Temperado possui uma área de preservação permanente com a presença espontânea da espécie.

É uma planta arbórea perene, de porte médio, casca de coloração acinzentada a acastanhada, folhas alternas, simples, lanceoladas a elípticas e serrilhadas, com grande quantidade de flores de cor amarelada, que ocorrem nos meses de junho a outubro, com frutificação de setembro a dezembro (Longhi, 1995).

Na espécie *C. sylvestris* são consideradas duas variedades botânicas: língua, com característica arbustiva e ocorrência em savanas arbustivas, e silvestris, de caráter arbóreo em vegetação florestal ou arbustiva (Silva, 2003). Apesar de ser planta perene, faz-se necessário o estabelecimento de métodos que visem obter um produto com padrão e qualidade reconhecidos, mediante secagem e armazenamento, facilitando o manuseio e a comercialização, que possam ser uma alternativa de fonte de renda para produtores rurais, e que não venham a impactar negativamente

a conservação da planta em áreas de ocorrência natural.

Segundo Lorenzi e Matos (2008) as folhas e cascas da erva-de-bugre são consideradas tônicas, antifúngicas, bactericidas e anti-inflamatórias; usadas como abortivas, para retirar a placenta no pós-parto de animais; a casca é utilizada como antidiarreica e também no tratamento da picada de cobras; o decoto da raiz também é usado como bactericida (Hirschmann; Arias, 1990). Conforme Brasil (2011), a planta tem propriedades dispépticas e não deve ser utilizada por gestantes e lactentes. Para Espinosa et al. (2015), o extrato etanólico (EE) mostrou atividade antioxidante, antimicrobiana, fungicida e fungistática; também promoveu diminuição significativa nos níveis de triglicérides, colesterol total e VLDL; possui também potente efeito hipolipidêmico, porém sem efeito significativo nos níveis glicêmicos.

O manuseio e preparo de fitoterápicos pode resultar em produtos com grande variabilidade química, de acordo com a época do ano e a procedência do material coletado. Segundo Lôbo et al (2010), a prospecção fitoquímica obtida a partir dos extratos etanólicos para análise dos constituintes químicos existentes é uma forma de maximizar o uso desses extratos e preservar a agrobiodiversidade. Assim, procura-se desenvolver métodos eficientes de coleta, acondicionamento e obtenção de extratos, visto que tais procedimentos são de suma importância na eficiência do produto final (Silva et al., 2008). Nesse sentido, observa-se

que o uso de fitoterápicos pode tornar-se mais prático e acessível por meio da produção de extratos hidroalcoólicos (EHA). Para Olanda e Bevilaqua (2009), a utilização de EHA pode vir a substituir a utilização da planta na forma de infusão ou decoto, e reduzir a quantidade de plantas necessária para a obtenção de extratos bioativos.

Os princípios ativos (PA) são substâncias químicas, geralmente metabólitos secundários, que a planta produz durante o seu crescimento e desenvolvimento, e que possuem ações diversas sobre animais e plantas (Pengelly, 2004). A planta possui grande número de princípios ativos, e cada um deles apresenta ação específica sobre determinada função fisiológica; dependendo da dose utilizada, pode ter efeito benéfico ou tóxico na ou tóxico, ocasionando alelopatia ou letalidade às sementes de outras plantas. Nesse sentido, de forma a maximizar o uso de PAs e preservar a agrobiodiversidade, procura-se desenvolver métodos eficientes de coleta e acondicionamento da planta, bem como métodos de obtenção de produtos e subprodutos ativos, visto que tais procedimentos são capitais na eficiência do produto final (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

Silva (2003) relata a variabilidade genética e química entre os genótipos de *C. sylvestris*, que se revela pela oscilação no conteúdo de rutina, um importante princípio ativo da erva-de-bugre. Essa variação, segundo a autora, não deve estar unicamente associada

a diferenças genéticas, mas também às condições ambientais, ao estágio de desenvolvimento das plantas (vegetativo e reprodutivo) e às características de solo. Segundo Castellani et al. (2006), não há efeito significativo da época de colheita das folhas de *C. sylvestris* sobre o teor de óleos essenciais, porém recomenda-se colhê-las no outono.

O uso do conhecimento popular tem ajudado na busca de substâncias que possam ser usadas no tratamento de sementes, com fins de melhorar seu desempenho, baseado em princípios agroecológicos. O tratamento das sementes vem sendo uma preocupação constante da pesquisa por ser a forma de proteger as plantas no momento em que se encontram mais frágeis. Logo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a efetividade do extrato hidroalcoólico (EHA) de folha de erva-de-bugre sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de feijão.

Metodologia

Avaliação e coleta

O local de coleta deu-se na Estação Terras Baixas, da Embrapa Clima Temperado, em Capão do Leão, RS, sob as seguintes coordenadas geográficas: -31.79764043E e -52.41233826S. O aspecto externo do ramo da planta, na fase de floração, pode ser observado na Figura 1. A identificação da planta foi confirmada por docentes do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas. Foram coletadas folhas de três espécimes, para se obter um material

representativo, e a partir delas foi preparado o EHA. A coleta orientou-se pela escolha de folhas verdes, maduras, colhidas entre 10 e 15 de outubro, cerca de 20 dias após a data de início da primavera.



Foto: Gilberto Bevilacqua

Figura 1. Aspecto de ramo florido de *Casearia sylvestris* (erva-de-bugre). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2014.

Secagem e acondicionamento

O material coletado foi colocado em bandeja plástica devidamente identificada, acondicionado em seguida em casa de vegetação com aquecimento suplementar, onde permaneceu por cerca de uma semana protegido do sol e da umidade. Ao atingir o ponto final de secagem, com as folhas esfarelando-se pela pressão dos dedos, foi colocado em sacos de papel pardo identificados. O material ficou armazenado por três meses em armário ventilado, protegido da luz e da umidade, estando, assim, disponível para preparação do EHA.

Elaboração e manipulação do extrato hidroalcoólico (EHA)

Do material seco e embalado, retirou-se uma quantidade de 50 g. Em seguida, as folhas foram picadas com o auxílio de uma tesoura e colocadas em vidro âmbar, onde foi acrescentado 500 mL de álcool farmacêutico na concentração de 70%, perfazendo uma proporção de 1:10 (p:v) conforme a Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2011). Após a devida identificação, os frascos foram colocados em armário escuro em local seco e arejado; então procedeu-se à agitação diária, manual, durante duas semanas, até o momento da filtragem. A filtragem foi feita com o auxílio de um filtro a vácuo. O EHA obtido foi transferido para um novo frasco âmbar, devidamente identificado, armazenado em armário, em local escuro, arejado e fresco.

Tratamento de sementes de feijão

As sementes da cultivar BRS Expedito foram embebidas em 20 mL de água destilada com as seguintes concentrações do EHA: 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,24%; 12,56%; 25% e 50%, mais uma testemunha apenas com água, por um período de 12 horas, em câmara de crescimento tipo BOD, a 25 °C. Após esse período, foram colocadas em substrato de papel germitest para germinar em BOD sob temperatura de 25 °C. O teste de emergência foi realizado em abril, sob temperatura média de 19 °C, em galpão telado, utilizando-se como substrato vermiculita.

Avaliações efetuadas

A germinação foi realizada conforme as Regras de Análise de Sementes (Brasil, 2009), avaliando-se o número de plântulas normais, anormais, e sementes não germinadas; emergência a campo, avaliada em bandejas contendo mistura de areia e vermiculita, considerando-se o número de plântulas normais, anormais, e sementes mortas, aos 12 dias após a emergência (DAE). Para se avaliar a massa seca, foram selecionadas e coletadas 10 plântulas normais no teste de emergência, secas em estufa a 60 °C até atingir o peso constante e pesadas em balança analítica de precisão 0,001 g. Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para os testes de germinação em laboratório e 25 sementes para os testes de emergência a campo. Para o crescimento de plântulas utilizou-se 15 sementes. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado.

Resultados

Como primeira evidência, ficou identificada na área da Embrapa Clima Temperado apenas a variedade de erva-de-bugre *C. sylvestris*, de característica arbórea, que segundo Silva (2003), ocorre com frequência nos estratos florestais no Sul do Brasil. As plantas são de porte médio, com aproximadamente 4 m de altura, podendo ser facilmente identificadas pelo aspecto externo da planta e dos ramos e folhas, com as seguintes características: folhas alternas com bordos serrilhados, casca de cor cinza

e ramos com inflorescências, de flores pequenas, localizadas na base do pecíolo das folhas (Longhi, 1995; Carvalho, 2007). Outras plantas frequentemente e popularmente são identificadas como guassatonga ou erva-de-bugre, como *Casearia decandra* e *Cestrum* sp., sendo utilizadas na fitoterapia com propriedades análogas às da *C. sylvestris*.

Conforme a Figura 2, observa-se que houve efeito significativo da dose do EHA da folha de erva-de-bugre sobre a porcentagem de germinação de sementes e a ocorrência de plântulas anormais e mortas, em feijão. Enquanto que a testemunha apresentou 75% de germinação e 13 % de plântulas anormais e mortas, a diluição mais alta do EHA (0,78%) mostrou um aumento na germinação em 13 pontos percentuais, alcançando 88%. Isso ocorreu devido à redução da ocorrência de plântulas anormais, que foi reduzida à metade com a utilização de maiores diluições do extrato. Segundo Lorenzi e Matos (2008) e Espinosa et al. (2015), a planta

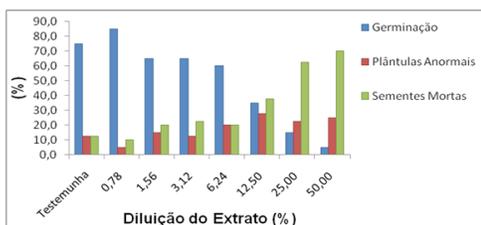


Figura 2. Porcentagem de germinação, plântulas anormais e mortas em sementes de feijão tratadas com diferentes diluições do extrato hidroalcoólico de folha de erva-de-bugre (*Casearia sylvestris*). Embrapa Clima Temperado, 2016.

apresenta efeito fungicida e antibiótico, o que também pode ter ocasionado melhoras no desempenho germinativo das sementes. Porém, à medida que utilizou-se diluições menores do EHA, ou seja, maior concentração na água de embebição da semente, houve redução linear na porcentagem de germinação e aumento na mesma proporção na ocorrência de sementes mortas.

Fica evidente no teste de germinação que, ao se utilizar a diluição de 25% do EHA, houve redução considerável, atingindo apenas 15% de germinação, ocasionando grande número de sementes mortas e plântulas anormais, respectivamente, 65% e 25%. Na dose de 50% de diluição, a germinação das sementes atingiu apenas 5%, demonstrando o efeito herbicida do EHA em maiores concentrações (Figura 3). Também pode ser observado que o EHA interferiu principalmente na presença de sementes mortas, não afetando na mesma proporção a presença de anormalidades das plântulas, o que pode indicar um efeito de letalidade sobre as plântulas e sementes. Nesse caso, a utilização de baixa diluição do EHA teve efeito benéfico sobre a germinação de sementes de feijão, mas possivelmente também auxiliará no controle da germinação de sementes de outras espécies. A partir da diluição de 6,25% houve aumento da ocorrência de plântulas anormais, e tais anormalidades em condições de campo, provavelmente, levariam à morte das plântulas.

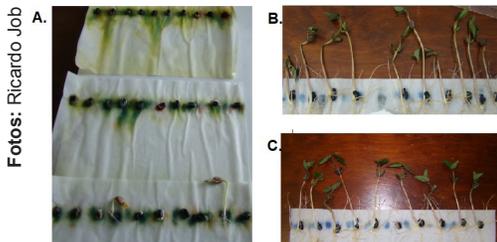


Figura 3. Plântulas normais (B), anormais (C) e mortas (A) em sementes feijão submetidas ao tratamento de extrato hidroalcolóico de folha de erva-de-bugre (*Casearia sylvestris*) nas seguintes diluições: 50% (A); 1,56% (B) e 0,78% (C).

Na Figura 4 se observa que houve diferença na ocorrência de plântulas anormais e sementes mortas no teste de emergência a campo. Até a diluição de 3,12% do EHA, o número de sementes anormais e mortas foi igual ao da testemunha, aproximadamente 12%; entretanto, foi observado praticamente 100% de sementes mortas na diluição de 12,5%. Nesse caso, o efeito herbicida do EHA foi constatado com clareza, provavelmente devido ao teste ter sido realizado no outono, sob baixa temperatura. Isso propiciou um ambiente rigoroso para avaliar desempenho das sementes, aumentando, com isso, a taxa de anormalidades e morte de plântulas. Tais resultados confirmam trabalho de De Conti e Franco (2011), que verificaram que os extratos de flor, folha e ramo de *C. sylvestris* em diferentes concentrações causaram inibição na germinação e no crescimento de plântulas de alface.

Na Figura 5, observa-se que a diluição do EHA aplicado sobre as

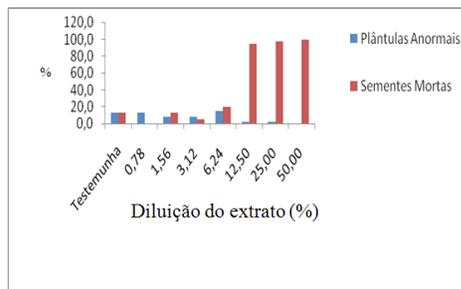


Figura 4. Porcentagem de plântulas anormais e mortas em sementes de feijão tratadas com extrato hidroalcolóico de folha de erva-de-bugre (*Casearia sylvestris*) em diferentes diluições sob vermiculita. Embrapa Clima Temperado, 2016.

sementes não afetou a produção de massa seca das plântulas de feijão. Entretanto, pode-se observar que na diluição 6,25% houve um ligeiro aumento da biomassa seca das plântulas em relação às demais doses. Esperava-se um aumento significativo da produção de biomassa pelo efeito antibiótico e antifúngico do extrato da planta (Mosaddik et al., 2004; Marins et al., 2011), fato que não foi observado no trabalho. Nas menores diluições

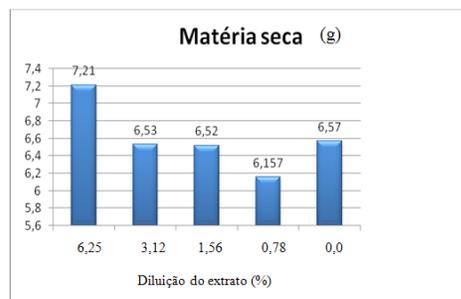


Figura 5. Efeito do extrato hidroalcolóico (EHA) de folha de erva-de-bugre em diversas diluições na produção de matéria-seca de plântulas de feijão, cultivar BRS Expedito.

do EHA, a emergência foi praticamente zero e a avaliação de produção de biomassa não foi realizada.

A utilização do EHA de folha de erva-de-bugre na produção agroecológica apresentou resultados satisfatórios e revelou-se bastante promissora. O método de preparo do EHA é fácil e pode ser adotado por agricultores e interessados em utilizá-lo. O emprego da tintura pode resultar em economia de material, pois com uma pequena quantidade da planta pode ser preparada grande quantidade de material, contribuindo na conservação de recursos naturais, e com segurança no resultado. Outro ponto importante é que a utilização do EHA acarreta a obtenção de produtos com padrão previamente definidos, ao contrário da utilização de outros tipos de formulações, cuja composição poderá ser variável durante o ano.

Considerações finais

O extrato hidroalcoólico das folhas de erva-de-bugre em alta diluição (0,78% v/v) tem efeito positivo sobre a germinação de sementes de feijão, porém em baixas diluições (acima de 25% v/v) tem efeito herbicida e provoca a morte das plântulas.

Referências

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira**. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2011. 126p.

Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: maio 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de plantas medicinais e fitoterápico**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde)

CARVALHO, P. E. R. **Cafezeiro-do-Mato: Casearia sylvestris**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 16 p. (Embrapa Florestas. Circular Técnica, 138).

CASTELLANI, D. C.; CASALI, V. W. D.; SOUZA, A. L.; CECON, P. R.; CARDOSO, C. A.; MARQUES, V. B. Produção de óleo essencial em canela (*Ocotea odorifera Vell.*) e guaçatonga (*Casearia Sylvestris SW.*) em função da época de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 104-107, 2006.

DE CONTI, D.; FRANCO, E. T. H. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Casearia sylvestris sw.* na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa L.* **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 2-4, p. 193-203, abr./jun. 2011.

ESPINOSA, J.; MEDEIROS, L. F.; SOUZA, A.; GUNTZEL, A. R. C.; RUCKER, B.; CASALI, E. A. Ethanolic extract of *Casearia sylvestris Sw* exhibits in vitro antioxidant and antimicrobial activities and in vivo hypolipidemic effect in rats. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 305-315, 2015.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

HIRSCHMANN, G. S.; ARIAS, A. R. A survey of medicinal plants of Minas Gerais, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 29, p.159-172, 1990.

LÔBO, K. M. S.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, A. M. A.; RODRIGUES, F. F. G.; LÔBO, I. S.; BEZERRA, D. A. C.; COSTA, J. G. M. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum Lam.* e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do

semiárido paraibano. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Campinas, v. 12, n. 2, p. 227-233, 2010.

LONGHI, R. A. **Livro das árvores**: árvores e arvoretas do sul. 2. ed. Porto Alegre: L&PM, 1995. 176 p.

LORENZI, H.; MATOS, A. J. F. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. 2. ed. São Paulo: Plantarum, 2008. 512 p.

OLANDA, G. B.; BEVILAQUA, G. A. P. Coleta, tecnologia pós-colheita e utilização de erva-de-bugre. *Revista Brasileira de Agroecologia*, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 3111-3115, 2009.

MARINS, K.; FERRONATO, R.; ZANATTA, V.; MOURA, N. F. Atividade antimicrobiana das folhas de *Casearia decandra* Jacq. *Revista Brasileira de Farmácia*, Rio de Janeiro, v. 92, n. 4, p. 295-298, 2011.

MOSADDIK, M. A.; BANBURY, L.; FORSTER, P.; BOOTH, R.; Markham, J.; Leach, D. Screening of some Australian flacourtiaceae species for in vitro antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activity. *Phytomedicine*, v. 11, p. 461-466, 2004.

PENGELLY, A. **The constituents of medicinal plants**: a introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine. Crows Nest: Allen & Unwin, 2004. 185 p.

ROBERSON, E. **Medicinal plants at risk**: Nature's Pharmacy, Our Treasure Chest. Tucson: Center for Biological Diversity, 2008. 19 p. Disponível em: <http://www.biologicaldiversity.org/publications/papers/Medicinal_Plants_042008_lores.pdf>. Acesso em: maio 2014.

SILVA, M. A. S. **Phytochemical and genetic variability of *Casearia sylvestris* SW. from São Paulo State Atlantic Forest and Cerrado populations**. Botucatu, 2003. 128 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

SILVA, S. L.; CHAAR, J. D. A. S.; DAMICO, D. C. S.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Antimicrobial Activity of Ethanol Extract from Leaves of *Casearia sylvestris*. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 5, p. 347-351, 2008.

Embrapa Clima Temperado

BR 392 km 78 - Caixa Postal 403
CEP 96010-971, Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco

1ª edição

Obra digitalizada (2018)

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Clima Temperado

Presidente

Ana Cristina Richter Krolow

Vice-Presidente

Ênio Egon Sosinski

Secretária-Executiva

Bárbara Chevallier Cosenza

Membros

Ana Luiza B. Viegas, Fernando Jackson,
Marilaine Schaun Pelufé, Sônia Desimon

Revisão de texto

Bárbara C. Cosenza

Normalização bibliográfica

Marilaine Schaun Pelufé

Editoração eletrônica

Nathália Fick (estagiária)

Foto da capa

Gilberto Bevilaqua