

Homeopatas de óleos essenciais sobre a germinação de esporos e indução de fitoalexinas¹

Homeopathy with essential oils in the germination of spores and induction of phytoalexins

Juliana Santos Batista Oliveira^{2*}, Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada², Carlos Moacir Bonato² e Solange Monteiro de Toledo Pizza Gomes Carneiro²

RESUMO - A homeopatização de óleos essenciais revela-se como uma alternativa para o controle de fitopatógenos e na indução de compostos de defesa em plantas, como as fitoalexinas. Neste sentido, o objetivo do trabalho foi de avaliar o efeito de soluções dinamizadas de *Eucalyptus citriodora* (EC) e *Cymbopogon citratus* (CC) na germinação de conídios de *Alternaria solani* e *Corynespora cassiicola* e na produção de fitoalexinas em soja. Para os testes foram utilizados os tratamentos homeopáticos: 6CH, 12CH, 30CH, 60CH, 100CH e 200CH de ambos os óleos. A porcentagem de germinação foi determinada 4 horas após incubação dos patógenos na presença dos tratamentos, em placas tipo Elisa a 25 °C, e feita contagem de esporos em microscópio óptico. Para fitoalexinas, cotilédones de soja oriundos de sementes cultivadas em areia estéril foram cortados na superfície inferior e submetido aos tratamentos, permanecendo no escuro por 20 horas. A gliceolina formada foi extraída e determinada em espectrofotômetro. Todas as dinamizações aplicadas reduziram a germinação de ambos patógenos, chegando à redução de 59% em *A. solani* e 42% em *C. cassiicola* por CC 30CH. As dinamizações testadas não foram eficientes para indução de gliceolina, indicando maior potencial dos tratamentos sobre os patógenos em comparação a elicitação destes compostos de defesa. Baseando-se nestes resultados, é possível evidenciar o potencial de tratamentos homeopáticos no controle de *A. solani* e *C. cassiicola*. O processo de homeopatização manteve as propriedades antimicrobianas dos óleos testados.

Palavras-chave: *Eucalyptus citriodora*. *Cymbopogon citratus*. *Alternaria solani*. *Corynespora cassiicola*. Controle alternativo de patógenos.

ABSTRACT - The homeopathic use of essential oils is seen as an alternative in the control of plant pathogens and in the induction of such defensive plant compounds as phytoalexins. The aim of this study therefore, was to evaluate the effect of dynamised solutions of *Eucalyptus citriodora* (EC) and *Cymbopogon citratus* (CC) on conidial germination in *Alternaria solani* and *Corynespora cassiicola*, and on the production of phytoalexins in the soybean. The following homeopathic treatments from both oils were used in the tests: 6CH, 12CH, 30CH, 60CH, 100CH and 200CH. Germination percentage was determined four hours after incubation of the pathogens in the presence of the treatments using Elisa plates at 25 °C; spore counts were made by optical microscope. For the phytoalexins, soybean cotyledons from seeds grown in sterile sand were cut on their lower surface and subjected to the treatments, remaining in the dark for 20 hours. The gliceolin formed was extracted and determined by spectrophotometer. All the levels of dynamisation applied reduced germination in both pathogens, reaching 59% for *A. solani* and 42% for *C. cassiicola* with CC 30CH. The dynamisations under test were not efficient in gliceolin induction, demonstrating a greater potential of the treatments for pathogens, when compared to induction of these defensive compounds. Based on the results, it is possible to demonstrate the potential of homeopathic treatments in the control of *A. solani* and *C. cassiicola*. The homeopathic process maintained the antimicrobial properties of the oils under test.

Key words: *Eucalyptus citriodora*. *Cymbopogon citratus*. *Alternaria solani*. *Corynespora cassiicola*. Alternative control of pathogens.

DOI: 10.5935/1806-6690.20170024

*Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 19/09/2013; aprovado em 16/02/2016

Parte da Dissertação da primeira autora e foi parcialmente financiado pelo CNPq através da bolsa produtividade da segunda autora

²Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, Jardim Universitário, Maringá-PR, Brasil, 87.020-900, julianaglomer@hotmail.com, krfsestrada@uem.br, cmbonato@uem.br, smtpgc@iapar.br

INTRODUÇÃO

A conscientização quanto ao uso indiscriminado de defensivos agrícolas tem motivado a busca por alternativas que possam favorecer tanto o controle de pragas e doenças como o aumento na produção das mais variadas culturas. Muito se pesquisa e descreve sobre o uso de produtos alternativos aos químicos convencionais para o controle de fitopatógenos, destacando-se o uso de extratos de origem vegetal, óleos essenciais, entre outros, que podem ser submetidos ao método homeopático.

Para a preparação de produtos homeopáticos, substância orgânica ou inorgânica pode ser submetida ao processo de ultra-diluições seguidas de succussões (agitações vigorosas e ritmadas) (ABFH, 2003; MARQUES, 2007). Estas preparações já mostraram ser eficientes na manutenção das propriedades fisiológicas dos compostos testados, mantendo a propriedade curativa, preventiva e/ou antibiótica (TEIXEIRA, 2006).

O estudo de *Eucalyptus citriodora* (Myrtaceae) e *Cymbopogon citratus* (Poaceae) torna-se importante pela presença dos ingredientes ativos como o citronelal e citral, respectivamente, os quais apresentam potencial para utilização na agricultura, ativando rotas de defesa, com a produção de metabólitos secundários como as fitoalexinas e também pode apresentar ação fungitóxica sobre patógenos (BONALDO *et al.*, 2007).

O processo de homeopatiação de óleos essenciais pode ser uma estratégia eficiente para redução de custos na utilização destes produtos e mesmo a minimização dos efeitos fitotóxicos quando utilizados em doses relativamente elevadas, ainda mantendo as propriedades terapêuticas dos óleos. Oliveira, *et al.* (2011) avaliaram o efeito do óleo essencial de *E. citriodora* em preparações ultradiluídas homeopaticamente a partir do óleo essencial, revelando efeitos sobre o aumento na produção de faseolina, redução na velocidade de germinação e tamanho de plântulas de feijão. Do mesmo modo Oliveira *et al.* (2014) observaram efeitos estimulantes sobre os mecanismo de defesa quando utilizaram dinamizados preparados a partir do óleo de Capim-limão e Eucalipto, resultando em aumentos no acúmulo de faseolina e incremento da atividade das enzimas peroxidase, catalase, quitinase, entre outros compostos de defesa. Outros medicamentos homeopáticos também são efetivos na indução de resistência e controle de fitopatógenos, como a podridão do tomateiro causada por *Fusarium roseum* tratado com *Thuja occidentalis* 87CH, inibindo o crescimento micelial e germinação dos esporos (KHANNA; CHANDRA, 1976), assim como Toledo, Stangarlin e Bonato (2015) observaram o controle da pinta preta por *Propolis* e *Sulphur*, entre outros.

Os estudos envolvendo homeopatia aplicada a vegetais ainda vêm se estruturando nas últimas décadas, com um número crescente mas ainda pequeno em comparação às demais pesquisas com outros produtos, e maior parte dos estudos concentrando-se em variáveis de crescimento, e em número crescente os envolvendo controle direto de doenças e indução de resistência (OLIVEIRA *et al.*, 2014), ainda havendo a necessidade de estudos que complementem o entendimento dos efeitos de homeopatias sobre plantas e seus patógenos.

Deste modo, o trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de tratamentos dinamizados dos óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. citratus* sobre a germinação de conídios de *A. solani* e *C. cassiicola* e no acúmulo de fitoalexina (gliceolina) em cotilédones de soja.

MATERIAIS E MÉTODOS

Extração e caracterização dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de Eucalipto e Capim-limão, foram extraídos por hidrodestilação em aparelho de Clevenger a partir de folhas secas. Ambos foram submetidos à análise qualitativa por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM). O cromatógrafo utilizado foi o modelo Shimadzu CG-17A equipado com detector por ionização de chamas (FID). O equipamento foi operado nas seguintes condições: coluna HP1 (30 m x 0,25 mm) com fase ligada DB5, temperatura do injetor de 220 °C; programação da coluna com temperatura inicial de 40 °C, sendo acrescidos 4 °C⁻¹, até atingir 240 °C; gás carreador hélio (1 mL min⁻¹); taxa de split 1:10 e volume injetado de 1 µL (solução em metanol). Os espectros obtidos foram comparados com o banco de dados da biblioteca NIST/05, a quantificação de cada constituinte obtida por meio de normalização de áreas (%) (GUIMARÃES *et al.*, 2011).

Preparados homeopáticos de óleos essenciais

As dinamizações foram preparadas utilizando-se duas metodologias para ambos os óleos. No primeiro método de preparação os óleos essenciais passaram por trituração em lactose em escala centesimal Hanemaniana (CH) (1/100-p/p) até a terceira dinamização (3CH). A quarta dinamização foi preparada pela diluição 1% (p/v) da 3CH, tendo como insumo álcool de cereais 70%; o processo de succussões (agitações ritmadas e vigorosas) foi feito em braço mecânico tipo Denise 50, obtendo-se assim a dinamização 4CH; as dinamizações seguintes foram preparadas pela diluição 1% (v/v) da dinamização anterior. O processo de diluição e succussões foram repetidos até a obtenção da dinamização 30CH (ABFH, 2003). Foram utilizadas

as dinamizações 6, 12, 24 e 30 CH, para ambos os óleos: *E. citriodora* (EC) e *C. citratus* (CC).

Para a segunda metodologia de preparação foram utilizados os mesmos óleos citados, onde 3 mL dos mesmos foram vertidos sobre 0,3 mL de Tween 80, seguido pela adição de 3 mL de água destilada, resultando em matrizes com concentração 50% (óleo-água) e solúveis em água. Após a preparação da matriz iniciou-se o processo de dinamização feito em escala centesimal Hanemaniana (CH): 1% v/v da matriz 50% em solução hidroalcoólica 30% e sucussionadas em braço mecânico tipo Denise 50, até obtenção das dinamizações 6CH, 12CH, 30CH, 60CH, 100CH e 200CH, para ambos os óleos.

Efeito de preparados na germinação de conídios de *A. solani* e *C. cassiicola*

Os fitopatógenos *A. solani* e *C. cassiicola* foram isolados de plantas de tomate e pepino, respectivamente, e foram mantidos em placas de Petri com meio Batata-dextrose-ágar (BDA), incubados em câmara de crescimento, no escuro, à temperatura de 25 °C, durante 30 dias.

As colônias foram utilizadas para a preparação das suspensões de esporos, sendo retirados 10 discos de micélio com 5 mm de diâmetro de cada placa. Os discos foram macerados em 10 mL de água destilada, posteriormente adicionado 0,1 mL de Tween 80 e agitados para homogeneização. As suspensões, depois de filtradas, foram ajustadas para 1×10^4 esporos/mL, com auxílio de hemacitômetro de Neubauer.

As dinamizações preparadas conforme descrito anteriormente, foram novamente sucussionadas (100 vezes) e então diluídas a 1% em água destilada (ABFH, 2003). Uma alíquota de 20 µL da solução de esporos e outra alíquota de 20 µL da solução tratamento foram depositadas em orifícios de placas do tipo Elisa. Todos os tratamentos foram constituídos de 4 repetições, sendo cada repetição composta por 4 orifícios da placa.

Este processo foi feito em todas as dinamizações para ambos os óleos. Como as dinamizações tinham como veículo solução hidroalcoólica (70% e 30%) ao passarem por esta diluição, o teor alcoólico passou a ser 0,7% e 0,3%, respectivamente. Soluções alcoólicas 0,7% e 0,3% foram utilizadas como controles e água destilada como controle absoluto. As placas foram acondicionadas em BOD a 25 °C por 4h. A paralização da germinação foi feita com a adição de 10 µL de lactofenol com azul de algodão por orifício.

Foram considerados germinados os esporos que apresentavam emissão de tubo germinativo, independentemente do tamanho. A verificação da

germinação foi efetuada com auxílio de microscópio óptico com aumento de 100 vezes, contando aleatoriamente 25 esporos por “pocinho” (germinados ou não), totalizando 100 esporos por repetição. Após a contagem foi verificada a porcentagem de esporos germinados e, com base nos dados obtidos, calculou-se a taxa de inibição da germinação. Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando significativos comparados pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) pelo programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

Efeito de preparados na indução da fitoalexina gliceolina em cotilédones de soja

Sementes de soja (*Glycine max*) cultivar BRS-184 foram semeadas em bandejas de 128 células contendo areia esterilizada e mantidas em casa de vegetação. Dez dias após a germinação os cotilédones foram destacados, pesados e cortados em secção aproximada de 1 mm de espessura e 6 mm de diâmetro na superfície inferior. Grupos de cinco cotilédones foram colocados em placas de Petri com papel de filtro umedecido. Adicionou-se uma alíquota de 75 µL de cada tratamento (6; 12; 24 e 30 CH de Eucalipto e Capim-limão) sobre os cortes e as placas foram mantidas a 25 °C, no escuro por 20 horas. Após este período os cotilédones foram transferidos para tubos de ensaio contendo 15 mL de água destilada esterilizada e mantidos em agitação por 1 hora para extração da gliceolina. A absorbância foi determinada a 285 nm (AYERS *et al.*, 1976; ZIEGLER; PONTZEN, 1982). Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Os ensaios foram feitos em duplicata em períodos distintos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização química dos óleos essenciais

Os compostos encontrados nos óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. citratus* e suas respectivas quantidades (expressos em % de normalização de área) estão apresentados na Tabela 1. Para o eucalipto foram encontrados mais de 29 compostos diferentes, sendo o β-citronelal o componente maioritário (81,04%), assim como o Isopulegol (2,34%), um dos principais derivados primários do β-citronelal e β-Citronelol (6,05%). Para o capim-limão entre, os 18 constituintes encontrados, os majoritários foram: Citrolenal (65,91%), β-Terpineol (2,06%), Isopregol (1,81%), Mentol (2,53%), entre outros.

Em relação às particularidades do óleo, algumas pesquisas a respeito de sua composição mostram que variações genéticas intraespecíficas da espécie vegetal podem

Tabela 1 - Principais constituintes químicos identificados em cromatografia gasosa do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon citratus*

<i>Eucalyptus citriodora</i>			<i>Cymbopogon citratus</i>		
Substância	Tempo de retenção (min.)	Teor (%)	Substância	Tempo de retenção (min.)	Teor (%)
a-Pinene	8,04	0,17	β-Terpineno	10,28	0,77
β-Terpinene	9,35	0,25	β-Terpineol	12,91	2,06
β-Pinene	9,44	0,77	Isopregol	18,32	1,81
Eucalyptol	11,35	2,67	Citronelal	18,78	65,91
Isopulegol	15,47	2,34	Mentol	22,29	2,53
β-Citronelal	16,26	81,04	Menteno	27,82	0,81
β-Citronelol	18,49	6,05			
Citronelol Acetato	22,58	1,68			
Outros		5,01	Outros		24,22
Total		100	Total		100

alterar o teor do princípio ativo presente no óleo, assim como condições ambientais como forma de plantio, clima, método de extração entre outros (NASCIMENTO *et al.*, 2007).

Para o óleo de eucalipto, a atividade antifúngica está relacionada à presença de citronelol (componente majoritário), cineol, entre outros; todos estes compostos secundários presentes nas folhas (NASCIMENTO *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2006). Neste estudo foram encontrados como constituintes majoritários o β-citronelol e β-citronelal, monoterpenóides com atividade antimicrobiana principalmente devido aos efeitos tóxicos à estrutura e à função da membrana celular (OLIVEIRA, *et al.*, 2011).

Testes de inibição de germinação *in vitro* por preparados dinamizados

Todos os tratamentos utilizados reduziram a germinação dos patógenos estudados. Os conídios na presença das dinamizações de Eucalipto tiveram a percentagem de germinação reduzida de 64% (controle) para até 46%, o que significa inibição variando entre 21 e 28% para 6 e 24CH, respectivamente, no primeiro experimento, e 13 e 49% para EC 30 e 6CH no segundo teste (Tabela 2). Para os tratamentos de capim-limão a germinação foi de 64% para 49%, resultando em inibição da porcentagem de germinação de 23% e 59% no primeiro e segundo experimento, nas dinamizações de 6CH e 30CH, respectivamente. Os valores de germinação dos controles e o tratamento com álcool não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,005$) em ambos os ensaios. Os conídios submetidos a todas as dinamizações de *E. citriodora* e *C. citratus* tendo como insumo álcool 70%, apresentaram valores de germinação estatisticamente menores que os controles.

Estes resultados indicam ausência de efeito do álcool, sendo os resultados observados devido apenas ao tratamento homeopatizado. As homeopatas testadas foram constantes para os dois ensaios realizados, tanto no primeiro como o segundo ensaios foram mantidos os efeitos inibidores dos tratamentos.

Para Capim-limão as diluições tendo como insumo álcool 70% resultaram em inibição da germinação em ao menos um momento, promovendo no primeiro ensaio taxas de inibição na ordem de 40% em média quando comparado com o tratamento controle. No segundo ensaio a dinamização 24CH inibiu a germinação de conídios em 17% quando comparado com o tratamento controle (Tabela 2). O tratamento com álcool não diferiu significativamente do tratamento controle para ambos os patógenos.

Os tratamentos feitos com os mesmos óleos tendo como veículo de preparação álcool 30%, assim como os preparados com álcool 70%, resultaram na redução significativa da germinação do patógeno, com inibição superior a 20% para todos os tratamentos (Tabela 3). As dinamizações de Eucalipto no primeiro ensaio promoveram redução nas taxas de germinação em torno de 20%, não havendo diferenças entre as dinamizações utilizadas; já no segundo ensaio, destacaram-se as dinamizações 6; 12 e 30CH com inibição média acima de 40%. Os conídios tratados com solução alcoólica não diferiram estatisticamente do controle não tratado.

A germinação de conídios de *C. cassicola* tratados com dinamizações tendo como veículo álcool 30% resultou em percentagem de germinação média de 40%, contra 61% para conídios germinados na ausência de tratamento (Tabela 3); não houve diferença entre

Tabela 2 - Germinação (G%) e inibição da germinação (IG%) de conídios de *Alternaria solani* e *Corynespora cassiicola* submetidos a tratamentos dinamizados de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (CC) e *Eucalyptus citriodora* (EC)

Tratamentos	<i>A. solani</i>				<i>C. cassiicola</i>			
	1º Ensaio		2º Ensaio		1º Ensaio		2º Ensaio	
	G%	IG%*	G %	IG%	G%	IG%	G%	IG%
CC 6CH	49,25 c	23,94	43,50 c	40,42	32,00 c	47,76	54,75 a	10,25
CC 12CH	50,75 c	21,63	47,25 c	35,28	36,25 c	40,82	56,50 a	7,38
CC 24CH	50,75 c	21,63	42,00 c	42,47	35,25 c	42,45	50,25 b	17,63
CC 30CH	57,50 b	11,20	29,75 d	59,25	35,25 c	42,45	61,25 a	0
EC 6CH	50,75 c	21,63	36,75 d	49,66	38,25 c	37,56	54,00 a	11,48
EC 12CH	48,25 c	25,49	51,75 c	29,11	40,00 c	34,70	47,75 b	21,73
EC 24CH	46,75 c	28,58	47,75 c	34,59	46,50 b	24,09	50,50 b	17,22
EC 30CH	48,50 c	25,10	63,50 b	13,02	46,00 b	24,90	47,25 b	22,55
Álcool 0,7%	65,75 a	0	73,00 a	0	63,00 a	0	60,00 a	1,64
Controle	64,75 a	-	73,00 a	-	61,25 a	-	61,00 a	-
CV%	7,25		10,79		10,47		12,33	
GL resíduo	30		30		30		30	
F**	12,83		28,69		23,08		2,51	

*Os valores da inibição foram calculados com base na germinação máxima da testemunha. Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem pelo teste Scott-Knott. **Significativo a $p < 0,05$

Tabela 3 - Germinação (%) e inibição da germinação (IG%) de conídios de *Alternaria solani* e *Corynespora cassiicola* submetidos a tratamentos dinamizados de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (CC) e *Eucalyptus citriodora* (EC)

Tratamentos	<i>A. solani</i>				<i>C. cassiicola</i> Ensaio único	
	1º Ensaio		2º Ensaio		G%*	IG%
	G%	IG%*	G%	IG%		
CC 6CH	32,75 c	43,54	40,50 b	32,22	39,25 b	35,66
CC 12 CH	36,00 c	37,94	41,75 b	30,13	44,75 b	26,64
CC 30CH	40,00 b	31,04	36,75 c	38,50	44,50 b	27,05
CC 60CH	33,75 c	41,82	41,25 b	30,97	42,50 b	30,33
CC 100CH	35,75 c	43,54	41,75 b	30,13	41,00 b	32,79
CC 200CH	37,25 c	35,78	46,00 b	23,02	41,00 b	32,79
EC 6CH	42,25 b	27,16	31,75 c	46,87	40,50 b	33,61
EC 12CH	44,50 b	23,28	35,00 c	41,43	42,25 b	30,74
EC 30CH	45,00 b	22,42	32,75 c	45,19	42,75 b	29,92
EC 60CH	46,25 b	20,26	38,75 b	35,15	39,50 b	35,25
EC 100CH	42,00 b	27,59	39,50 b	33,90	41,75 b	31,56
EC 200CH	44,25 b	27,26	44,25 b	25,95	40,50 b	33,61
Álcool 0,3%	61,25 a	0	60,50 a	0	59,75 a	2,10
Controle	58,50 a	-	59,75 a	-	61,00 a	-
CV%	10,81		10,3		10,06	
GL resíduo	42		42		42	
F**	13,81		15,75		9,79	

*Os valores da inibição foram calculados com base na germinação máxima do controle. Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem pelo teste Scott-Knott. **Significativo a $p < 0,05$

as diferentes dinamizações e tratamentos. Todos os valores de germinação diferiram do controle com água que foi considerado apresentando germinação máxima. Os valores de germinação dos conídios submetidos ao controle com álcool 30% foram semelhantes ao controle água, podendo-se assim excluir o efeito do veículo de preparação sobre a inibição da germinação observada neste estudo.

Em todos os ensaios realizados foi possível observar que nas dinamizações referentes ao mesmo óleo não houve relação direta entre aumento da dinamização e a resposta ao tratamento. A ausência de linearidade no efeito dose-resposta com o aumento da dinamização é padrão já descrito em ensaios homeopáticos, que pode apresentar efeito sinusoidal em função da dinamização usada (BONATO, 2007; GONÇALVES, 2007). De acordo com os resultados observados, o teor alcoólico ou mesmo o modo de solubilizar os óleos não estariam interferindo no poder de ação dos tratamentos, como sugerido por Nascimento *et al.* (2007). O autor afirma que o uso de Tween para solubilizar os óleos (usado para a preparação a 70%) poderia interagir com o óleo, modificando seu potencial antimicrobiano.

Os valores observados para a inibição de ambos os patógenos podem ser um indicativo de que *A. solani* possua maior sensibilidade aos tratamentos avaliados em comparação a *C. cassicola*. Isto reforça a importância de se lembrar das particularidades de cada organismo, que não respondem necessariamente da mesma forma a estímulos externos, podendo responder melhor a uma dinamização do que a outra (BONATO, 2007).

Os resultados observados neste experimento indicam que os processos de ultradiluição e succussão conservaram as propriedades fisiológicas dos compostos passados por estes processos, caso contrário não se esperaria resultados positivos na inibição da germinação, uma vez que na maioria das soluções utilizadas, nem mesmo moléculas dos compostos existiam, uma vez que após a décima segunda diluição (12CH), o número de Avogadro é ultrapassado (TEIXEIRA, 2006).

A manutenção das propriedades fisiológicas dos dinamizados já foi descrita por outros homeopatas (TEIXEIRA, 2006), justificando os resultados observados dos compostos de origem secundária presentes no óleo, que apresentam potencial antimicrobiano (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009; SALGADO *et al.*, 2003).

Muitos são os medicamentos preparados de acordo com a farmácia homeopática com potencial antimicrobiano. Como o observado por Rolim *et al.*

(2005), que constataram redução da severidade da pinta-preta do tomateiro, quando da aplicação do bioterápico feito com o próprio fungo (*A. solani*) nas dinamizações 30CH e 60CH e os preparados *Phosphorus* 30CH e *Staphysagria* 30CH. Assim como foram observados efeitos de bioterápicos de *Oidium lycopersici* e *Kali iodatum* 100CH na redução da incidência de oídio em plantas de tomate (ROLIM *et al.*, 2001).

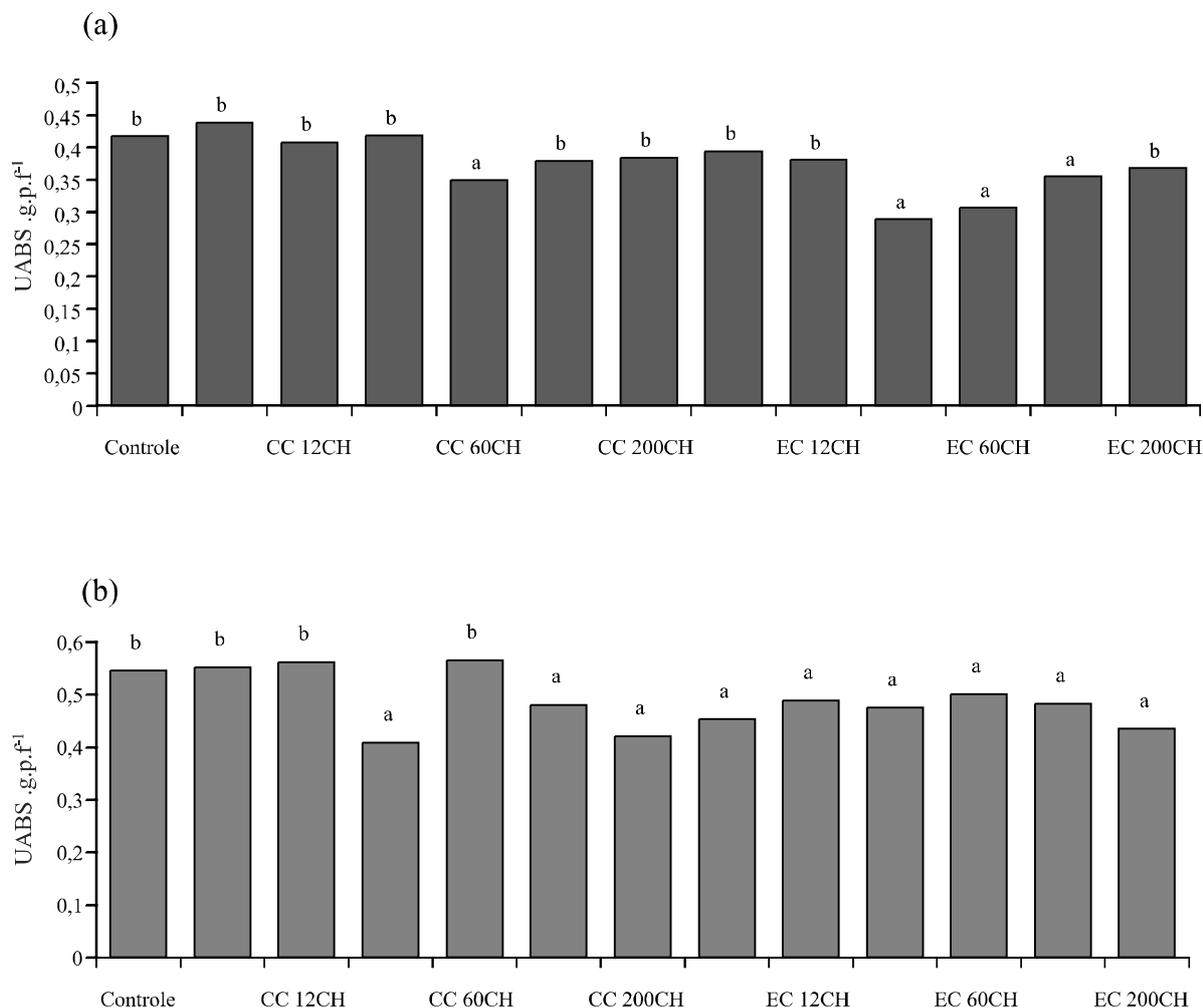
Efeito de preparados na indução de gliceolina em cotilédones de soja

Os resultados demonstram que as homeopatas testadas não apresentaram efeitos sobre o acúmulo de fitoalexina gliceolina (Figura 1). Houve justamente um efeito contrário ao acúmulo destes compostos de defesa. Na primeira etapa do ensaio (Figura 1a) observou-se diminuição significativa na quantidade de gliceolina formada em cotilédones tratados com CC 60CH, EC 30, 60 e 100CH sendo, aproximadamente, 20% menores em comparação ao controle água. Esta mesma tendência em redução dos valores de fitoalexinas também foi observado quando o ensaio foi repetido. Em cotilédones tratados com CC 30, 100 e 200CH e em todas as dinamizações de EC, o acúmulo de gliceolina foi menor (Figura 1b).

Bonaldo *et al.* (2007) também não observaram efeitos indutores na produção de fitoalexinas em sorgo pelo óleo essencial de eucalipto, e em cotilédones de soja pelo extrato de folhas desta espécie. Estes resultados diferem do encontrado por Oliveira, J. *et al.* (2011), quando utilizaram homeopatas do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e verificaram aumento na produção da fitoalexina faseolina em feijão carioca, pela dinamização 24CH. A redução observada nos teores de fitoalexinas neste estudo pode ser devido a minimização do estresse mecânico promovido ao efetuar os cortes nos cotilédones, uma vez que este processo por si só pode induzir o acúmulo de gliceolina. Este efeito ainda pode ser atribuído a ativação de outras rotas que desfavoreceram o acúmulo da gliceolina, como o aumento da catalase ou ácido ascórbico, potentes antioxidantes relacionados à redução desta fitoalexina (RESENDE; SALGADO; CHAVES, 2003), efeitos já relatados para medicamentos homeopáticos aplicado em plantas (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

O processo de homeopatiação de óleos essenciais pode ser uma alternativa viável à sua aplicação, mantendo as propriedades fisiológicas dos óleos ou mesmo modulação dos efeitos, mostrando-se eficiente, aliado ao fato de reduzir os custos, podendo vir a ser utilizada como mais uma ferramenta no controle alternativo de doenças fúngicas.

Figura 1 - Acúmulo de fitoalexina em cotilédones de soja tratados com homeopatas de *Eucalyptus citriodora* (EC) e *Cymbopogon citratus* (CC), em primeiro ensaio (a) e na repetição (b). Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott $p < 0,05$. GL resíduo = 39, cv% = 13,95, F = 2,4 (significativo a 0,05%)



CONCLUSÕES

1. O processo de preparação homeopática mostrou-se eficiente na manutenção das propriedades fisiológicas dos óleos essenciais utilizados dinamizados;
2. Preparados homeopáticos dos óleos de *E. citriodora* e *C. citratus* apresentam atividade inibitória sobre a germinação de conídios de *Alternaria solani* e *Corynespora cassiicola*, sendo as dinamizações de *C. citratus* mais eficientes na inibição de *A. solani* e as de *E. citriodora* sobre *C. cassiicola*;
3. Os dinamizados testados não foram eficientes para indução de gliceolina, indicando maior potencial dos tratamentos sobre os patógenos em comparação a indução de compostos de defesa.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE FARMACÊUTICOS HOMEOPATAS. **Manual de normas técnicas para farmácia homeopática**: ampliação dos aspectos técnicos e práticos das preparações homeopáticas. 3. ed. Curitiba: Tempo Integral, 2003. 190 p.
- AYERS, A. R. *et al.* Host-pathogen interactions: IX. Quantitative assays of elicitor activity and characterization of the elicitor present in the extracellular medium of cultures of *Phytophthora megasperma* var. sojae. **Plant Physiology**, v. 57, p. 751-759, 1976.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

- BONALDO, S. M. *et al.* Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 4, p. 383-387, 2007.
- BONATO, C. M. Homeopatia em modelos vegetais. **Revista Cultura Homeopática**, n. 21, p. 24-28, 2007.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- GONÇALVES, P. A. de S. Preparados homeopáticos no controle de *Thrips tabaci* Lind (Thysanoptera: Thripidae) em sistema orgânico de cultivo de cebola. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 6, n. 1, p. 22-28, 2007.
- GUIMARAES, L. G. L. *et al.* Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.
- KHANNA, K. K.; CHANDRA, S. Control of tomato fruit rot caused by *Fusarium roseus* with homoeopathic drugs. **Indian Phytopathology**, v. 29, n. 3, p. 269-272, 1976.
- MARQUES, R. M. **Vigor de sementes de milho tratadas com preparados homeopáticos *Antimonium crudum* e *Arsenicum album***. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.
- NASCIMENTO, P. F. C. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1 p. 108-113, 2007.
- OLIVEIRA, J. S. B. *et al.* Indução de fitoalexinas em hipocótilos de feijoeiro por preparados homeopáticos de *Eucalyptus citriodora*. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, 5 p., 2011.
- OLIVEIRA, J. S. B. *et al.* Activation of biochemical defense mechanisms in bean plants for homeopathic preparations. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 11, p. 971-981, 2014.
- OLIVEIRA, M. M. M. *et al.* Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 1, p. 8-16, 2011.
- RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 123-130, 2003.
- RODRIGUES, E. *et al.* Avaliação da atividade antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto *in vitro* e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Revista Acta Scientiarum Agronomy**, v. 28, n. 1, p. 123-127, 2006.
- ROLIM, P. R. R. *et al.* Ação de produtos homeopáticos sobre oídio (*Oidium lycopersici* Cooke & Mass.) do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Summa Phytopathologica**, v. 27, n. 1, p. 129, 2001.
- ROLIM, P. R. R. *et al.* Preparados homeopáticos no controle da pinta preta do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 2, 2005. Suplemento. CD-ROM.
- SALGADO, A. P. S. P. *et al.* Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 2, p. 249-254, 2003.
- Teixeira, M. Z. Homeopatia: ciência, filosofia e arte de curar. **Revista de Medicina**, v. 85, n. 2, p. 30-43, 2006.
- TOLEDO, M. V.; STANGARLIN, J. R.; BONATO, C. M. Controle da pinta preta e efeito sobre variáveis de crescimento em tomateiro por preparados homeopáticos. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 2, p. 126-132, 2015.
- ZIEGLER, E.; PONTZEN, R. Specific inhibition of glucanelicited glyceolin accumulation in soybeans by extracellular mannan-glycoprotein of *Phytophthora megasperma* f.sp. *glycinea*. **Physiological Plant Pathology**, v. 20, p. 321-331, 1982.