

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

MÔNICA ANGHINONI MÜLLER

**INFLUÊNCIA DE DINAMIZAÇÕES DE *Mercurius solubilis* EM ENZIMAS DE
DEFESA E CRESCIMENTO DA SOJA E NO CONTROLE DE *Pratylenchus
brachyurus***

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ
2015**

MÔNICA ANGHINONI MÜLLER

**INFLUÊNCIA DE DINAMIZAÇÕES DE *Mercurius solubilis* EM ENZIMAS DE
DEFESA E CRESCIMENTO DA SOJA E NO CONTROLE DE *Pratylenchus*
*brachyurus***

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

Orientador: Dr. José Renato Stangarlin

Coorientador: Dr. Odair José Kuhn

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ

2015

*Aos meus pais,
à minha irmã Camila e à
minha avó Delvina (in memoriam), que
esteve presente e ausente durante esta realização.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, seria clichê se este agradecimento não fosse envolvido por tanta gratidão e fé. Que em cada pequeno detalhe da minha da minha vida e da minha pesquisa, se fez notável.

À minha família, pai mãe e irmã muito obrigada pelo apoio, vocês são a base de tudo o que faço, por confiar em mim, por me ajudar, por aprender comigo, por manterem sempre seu interesse na minha pesquisa, no meu desenvolvimento.

Ao professor e literalmente orientador além de exemplo de pessoa e de profissional, José Renato Stangarlin, que me cativou e me fez encantada pela fitopatologia, que sempre foi tão prestativo e admirável, levo os ensinamentos pessoais e profissionais com carinho, obrigada. Abençoado seja!

Aos amigos, os que desde os primeiros passos nesta universidade me acompanham Tiago Hachmann e Graciela Dalastra, em especial um agradecimento à amiga Thaísa Mioranza que se fez tão importante e essencial, e ao Felipe Fuchs que não se limitou ao companheirismo e amor dedicados, mas também no incentivo e execução deste feito.

Aos professores, Odair José Kuhn pela co-orientação e dedicação em ensinar e ao Claudio Yuji Tsu-Tsumi pela ajuda sem medir esforços.

Aos que de alguma forma estiveram presentes ou colaboraram positivamente para a realização do meu trabalho, André Battistus, Cris Meinerz e Mitio Inagaki. E aos demais colegas de aula e do laboratório pela ajuda e companheirismo.

RESUMO

MÜLLER, Mônica Anghinoni, M. S. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, fevereiro de 2015. **Influência de dinamizações de *Mercurius solubilis* em enzimas de defesa, crescimento da soja e no controle de *Pratylenchus brachyurus*.** Orientador: Dr. José Renato Stangarlin. Coorientador: Dr. Odair José Kuhn.

O nematoide *Pratylenchus brachyurus* conhecido como nematoide das lesões, afeta a cultura da soja causando danos expressivos, isso faz com que haja a necessidade de desenvolver alternativas que supram o controle dos patógenos, agregando em produtividade. Objetivou-se então, verificar a influência do medicamento homeopático *Mercurius solubilis* em diferentes dinamizações nas plantas de soja e no controle de *P. brachyurus*. Para tanto, foram conduzidos três experimentos em casa de vegetação climatizada, testando-se as dinamizações de 6, 12, 24, 50, 100, 200 e 400CH (centesimal hahnemanniana) de *Mercurius solubilis*, Etanol 30% e plantas sadias (não tratada e não inoculada) foram utilizadas como tratamento testemunha. Os tratamentos foram aplicados semanalmente a partir do estágio fenológico V3 da soja. Três dias após o primeiro tratamento, foi feita a inoculação dos nematoides. Decorridos 50 e 70 dias após a inoculação do primeiro e segundo experimento respectivamente, foram realizadas as avaliações de altura de parte aérea, diâmetro do coleto, número de vagens por planta, massa seca de parte aérea, massa seca de folha+pecíolo+caule, massa seca total de vagens, massa seca por vagem, massa fresca de raiz, e contagem de juvenis, adultos e ovos presentes no solo e na raiz, e determinado o fator de reprodução (FR). No terceiro experimento, foram quantificadas enzimas envolvidas no metabolismo secundário das plantas, peroxidase (POX), fenilalanina amônia-liase (FAL) e a polifenoloxidase (PFO). As coletas das amostras de raízes foram realizadas no intervalo de 0, 3, 7 e 14 dias após o tratamento (DAT) sendo que no 3º DAT foi feita a inoculação. Em laboratório foi realizado experimento *in vitro* para avaliação de motilidade e mortalidade, uma solução de água destilada contendo 100 juvenis e adultos mL⁻¹ foi depositada em recipiente plástico, e adicionados 7 mL dos tratamentos testados *in vivo* na diluição de 0,1%. Os experimentos foram conduzidos em delineamento em blocos casualizados. As dinamizações 24CH, 50CH, 100CH e 200CH reduzem o número de juvenis e adultos presentes no solo, assim como o fator de reprodução, além disso, a dinamização 100CH é capaz de interferir em aspectos produtivos pelo aumento de 107,5% no número de vagens quando comparada à testemunha etanol 30%, assim como a dinamização 6CH e 12CH. Para POX a

atividade enzimática foi superior para as dinamizações 6CH, 100CH e 400CH, em 3, 7 e 14 DAT respectivamente. A atividade de FAL apresentou incrementos de 79,93%, 80,72% e 84,10% nas dinamizações 6CH, 12CH e 24CH respectivamente em relação à testemunha absoluta, 3 DAT. 14 dias após o primeiro tratamento, a dinamização 400CH mostrou um aumento na atividade enzimática de 53,41% e 32,21% quando comparada à testemunha etanol 30% e testemunha absoluta respectivamente. A dinamização 24CH quando comparada a testemunha absoluta mostrou um acréscimo de 41,10% na atividade enzimática. Assim *Mercurius solubilis* pode ser uma alternativa potencial para o controle de *P. brachyurus*.

Palavras chave: metabolismo secundário, análises bioquímicas, nematoide, homeopatia.

ABSTRACT

MÜLLER, Mônica Anghinoni, M. S. State University of Western Paraná, in february 2015. **Influence of *Mercurius solubilis* dynamizations in defense enzymes and growth of soybean and control of *Pratylenchus brachyurus*.** Advisor: Dr. José Renato Stangarlin. Co-Advisor: Dr. Odair José Kuhn.

The nematode *Pratylenchus brachyurus* known as nematode lesions, affects the soybean crop caused significant damage, this means that there is a need to develop alternatives that supply the control of pathogens by aggregating in productivity. Then the objective is to verify the influence of homeopathic *Mercurius solubilis* in different potencies in soybean plants and on control of the nematode. For this, three experiments were carried out in climatized greenhouse, testing the potencies of 6, 12, 24, 50, 100, 200 and 400CH (centesimal Hahnemannian) of *Mercurius solubilis*, ethanol 30% and healthy plants (untreated and not inoculated) were used as control treatment. The treatments were applied weekly from the V3 growth stage of soybeans. Three days after the first treatment, inoculation of nematodes was done. After 50 and 70 days after inoculation of the first and second experiment respectively, were made assessments of the aerial part height, stem diameter, number of pods per plant, dry weight of aerial part, dry weight of leaf + petiole + stem, dry mass of total pods, dry weight per pod, fresh weight of root, and were count juvenile, adults and eggs in the soil and in roots, and determined the reproduction factor (RF). In the third experiment, were quantified enzymes involved in secondary metabolism of plants, peroxidase (POX), phenylalanine ammonia lyase (PAL) and polyphenol oxidase (PPO). The sample of roots were taken at intervals of 0, 3, 7 and 14 days after treatment (DAT) and in the 3rd DAT, inoculation was made. In laboratory was conducted a experiment to evaluate *in vitro* motility and mortality, a distilled water solution containing 100 ml⁻¹ juveniles and adults were placed in plastic container and add 7 mL of *in vivo* treatments tested at a dilution of 0.1%. The experiments were conducted in a randomized block design. The potencies 24CH, 50CH, 200CH and 100CH reduce the number of adults and juveniles in soil, as well as the reproduction factor, furthermore 100CH is able to interfere in the productive aspects, increasing 107.5% in the number of pods when compared to the control ethanol 30%, as well as dynamization 6CH and 12CH. To POX the enzymatic activity was higher for dynamizations 6CH, 100CH and 400CH, 3, 7 and 14 DAT respectively. The PAL activity presented increases of 79.93%, 80.72% and 84.10% in dynamizations 6CH, 12CH and

24CH respectively compared to control treatment, 3 DAT. 14 days after the first treatment, 400CH dynamization showed an increase in the enzymatic activity of 53.41% and 32.21% when compared to the control ethanol 30% and absolute control respectively. The dynamization 24CH when compared to absolute control showed an increase of 41.10% in the enzymatic activity. So *Mercurius solubilis* may be a potential alternative for the control of the nematode.

Keywords: secondary metabolism, biochemical analyzes, nematodes, homeopathy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
Medicamento homeopático <i>Mercurius solubilis</i> atuando no desenvolvimento da soja e no controle de <i>Pratylenchus brachyurus</i>.....	4
Resumo	4
Abstract.....	5
Introdução	5
Material e métodos.....	6
Resultados e discussão.....	8
Conclusão.....	12
Referências bibliográficas.....	12
Atividade de enzimas de defesa em soja infectada com <i>Pratylenchus brachyurus</i> e tratada com <i>Mercurius solubilis</i>	16
Resumo	16
Abstract.....	16
Introdução	17
Material e métodos.....	18
Resultados e discussão.....	20
Conclusões	23
Referências bibliográficas.....	23
2 CONSIDERAÇÕES GERAIS	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1 INTRODUÇÃO GERAL

Praticamente todas as espécies de plantas cultivadas sofrem danos causados por pelo menos uma espécie de nematoide. Algumas culturas, como a soja (*Glycine max* (L.) Merrill), são hospedeiras de várias espécies, dentre elas o *Pratylenchus brachyurus*, também chamado de nematoide das lesões radiculares. A maioria dos nematoides atacam, principalmente, partes subterrâneas, como raízes, bulbos, tubérculos e rizomas (SOARES; SANTOS, 2004; INOMOTO, 2008).

A incidência de nematoides é sem dúvida um fator limitante para a produção da soja, tendo em vista que os sintomas ocasionados em plantas atacadas são o menor desenvolvimento da parte aérea das plantas, observado no campo como reboleiras pelo menor porte e plantas amarelecidas. Isso ocorre pela dificuldade da planta em absorver água e nutrientes com a presença do nematoide nas raízes, que no local de ataque, apresentam grandes áreas escurecidas com regiões necrosadas, devido ao movimento do patógeno e sua alimentação de diferentes células do sistema radicular (INOMOTO et al., 2004; GOULART, 2008).

A utilização de cultivares resistentes e o uso de agrotóxicos são as formas mais usuais de manejo de doenças em plantas, no entanto, esses recursos são limitados a poucos patógenos. Para nematoides, o método de manejo mais adotado é através do uso de nematicidas, que conferem certa eficiência na redução do patógeno, porém, estes possuem custo elevado, são prejudiciais ao meio ambiente e vem causando diferentes tipos de problemas toxicológicos, além de comprometerem o desenvolvimento normal da cultura e o estado geral da planta (ADEGBITE; ADESIYAN, 2005; WRATHER et al., 2009; BORTOLINI et al., 2013).

O medicamento homeopático consiste em toda forma farmacêutica de dispensação ministrada para a finalidade curativa e/ou preventiva, segundo o princípio da cura pelo semelhante. O mesmo é obtido pela técnica de dinamização, que consiste no ato de triturar ou diluir e succussionar o medicamento homeopático (ANVISA, 2011; BONATO et al., 2012).

Observa-se que soluções dinamizadas apresentam capacidade de exibir sintomas análogos aos apresentados pelas substâncias nas doses não homeopáticas. Sugere-se então que para a escolha do medicamento homeopático siga-se este conceito de sintomas análogos, e seja feita uma relação com a matéria médica homeopática, descrita com patogenesias observadas em humanos, em que se relacione os sintomas observados em humanos com os observados nas plantas (BONATO, 2007; OLIVEIRA et al., 2013).

O manual de matéria médica homeopática, descreve que o medicamento *Mercurius solubilis* transforma células sadias, em ruínas decrepitas, inflamadas e necrosadas, provocando

anemia profunda. Isto é semelhante aos sintomas exibidos pelas plantas quando há ataque de *P. brachyurus* (BOERICKE, 2003).

Características de crescimento, desenvolvimento e produção estão tendo destaque em trabalhos realizados com homeopatia (CARNEIRO et al., 2011). Parâmetros biométricos como maior massa das raízes, volume de raíz, massa fresca das folhas, massa fresca da parte aérea, diâmetro de caule e tantos outros aspectos foram incrementados com o uso da homeopatia em plantas (DUTRA et al., 2014; SWAROWSKY et al., 2014).

O uso de homeopatia usados como métodos de controle alternativo de doenças tem demonstrado capacidade para induzir a produção de metabólitos secundários como às proteínas relacionadas à patogênese (STANGARLIN et al., 2011).

As plantas produzem grande diversidade de produtos secundários, como os compostos fenólicos, que são responsáveis por várias funções nos vegetais, agindo geralmente como compostos de defesa contra herbívoros e patógenos. Os compostos fenólicos, sintetizados principalmente a partir de produtos da rota do ácido chiquímico, desempenham várias funções importantes nas plantas. A lignina, de natureza fenólica, fortalece mecanicamente as paredes celulares, os flavonoides e outros compostos fenólicos atuam na defesa contra patógenos (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Tais defesas podem ocorrer por indução de resistência, pela ativação de mecanismos bioquímicos de defesa vegetal, envolvendo as enzimas como a peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase entre outras, a partir de homeopatias (STANGARLIN; TOLEDO, 2014). A indução de resistência vegetal, pode ocorrer com a ativação de qualquer mecanismo de defesa pré ou pós formado, sendo eles estruturais ou bioquímicos, e isso ocorre em resposta a tratamentos bióticos e abióticos (BONALDO et al., 2005; CAVALCANTI et al., 2005). A ativação destas defesas pode ocorrer a partir de elicitores como o uso de extratos vegetais, preparados de cogumelos e leveduras, uso de medicamentos homeopáticos, elicitores físicos e também produtos químicos como o acibenzolar-S-metil (ASM), e tantos outros produtos que são estudados a partir deste potencial (DIETRICH et al., 2005; KUHN et al., 2006; VIECELLI et al., 2009; TOLEDO, 2009; STANGARLIN et al., 2010;).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos de crescimento e produtividade da soja tratada com diferentes dinamizações de *Mercurius solubilis* e inoculada com *P. brachyurus*, bem como o controle deste patógeno e as possíveis alterações em enzimas de defesa vegetal.

Este trabalho será apresentado na forma de dois artigos, o primeiro tem como título Medicamento homeopático *Mercurius solubilis* atuando no desenvolvimento da soja e no controle de *Pratylenchus brachyurus*, e o segundo, atividade de enzima de defesa em soja infectada com *Pratylenchus brachyurus* e tratada com *Mercurius solubilis*.

1 **Medicamento homeopático *Mercurius solubilis* atuando no desenvolvimento da soja e no controle**
2 **de *Pratylenchus brachyurus***

3

4 **Homeopathic *Mercurius solubilis* interfering on soybean development and controls *Pratylenchus***
5 ***brachyurus***

6

7 **Resumo**

8 A incidência de nematoides que afetam a cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill), como o
9 *Pratylenchus brachyurus* (nematóide das lesões), tem causado danos expressivos. Este é um patógeno
10 de difícil manejo e os métodos utilizados atualmente baseiam-se em geral no uso de pesticidas. Visando
11 desenvolver métodos alternativos de controle, objetivou-se verificar a influência do medicamento
12 homeopático *Mercurius solubilis* em diferentes dinamizações no desenvolvimento das plantas de soja e
13 no controle de *P. brachyurus*. Para tanto, foram conduzidos dois ensaios em casa de vegetação
14 climatizada, testando-se as dinamizações de 6, 12, 24, 50, 100, 200 e 400CH (centesimal
15 hahnemanniana) deste homeopático sendo etanol 30% foi utilizado como testemunha e para as variáveis
16 biométricas também foi utilizado como testemunha plantas sem tratamento e sem inoculação (plantas
17 sadias). Os tratamentos foram aplicados semanalmente a partir do estágio fenológico V3 da soja. Três
18 dias após o primeiro tratamento foi realizada a inoculação dos nematoides. Decorridos 50 e 70 dias após
19 a inoculação do primeiro e segundo experimento respectivamente, foram realizadas as avaliações
20 biométricas de altura de parte aérea, diâmetro do coleto, número de vagens por planta, massa seca de
21 parte aérea, massa seca de folha+pecíolo+caule, massa seca total de vagens, massa seca por vagem,
22 massa fresca de raiz, e contagem de juvenis, adultos e ovos presentes no solo e na raiz, determinando-
23 se o fator de reprodução (FR). Em laboratório foi realizado experimento *in vitro* para a avaliação de
24 motilidade e mortalidade de juvenis e adultos de *P. brachyurus*, para isso uma solução de água destilada
25 contendo 100 juvenis e adultos mL⁻¹ foi depositada em recipiente plástico descartável, em seguida foram
26 adicionados 7 mL dos tratamentos testados *in vivo* na diluição de 0,1%. As plantas foram dispostas em
27 delineamento em blocos casualizados. Os resultados indicaram que dinamizações 24CH, 50CH, 100CH
28 e 200CH reduzem o número de juvenis e adultos presentes no solo, assim como o fator de reprodução,
29 sendo que as dinamizações que mais se destacaram foram 24CH e 100CH, reduzindo 72,73% e 69%
30 respectivamente o fator de reprodução, além disso, a dinamização 100CH é capaz de interferir em
31 aspectos produtivos pelo aumento de 107,5% no número de vagens quando comparada à testemunha
32 etanol 30%, assim como a dinamização 6CH quando comparada com as plantas sadias. A dinamização
33 12CH também incrementa número de vagens em relação às plantas sadias, porém a dinamização reduz
34 massa seca de vagens. Assim *Mercurius solubilis* pode ser uma alternativa potencial para o controle de
35 *P. brachyurus*.

36 **Palavras chave:** nematóide da lesão, controle alternativo, homeopatia na agricultura.

37

38 Abstract

39 The incidence of nematodes that affect soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) culture, as
40 *Pratylenchus brachyurus* (lesion nematode), has caused significant damage. This is a hard control
41 pathogen and the methods currently used are general based on the use of pesticides. Aiming to develop
42 alternative control methods, it was used homeopathic *Mercurius solubilis* in soybean plants development
43 and the control of this pathogen. In greenhouse, *Mercurius solubilis* at 6, 12, 24, 50, 100, 200 and 400CH
44 (centesimal hahnemanian dilution) was evaluated, using ethanol 30% as control treatment. The treatments
45 were applied weekly from the V3 growth stage of soybeans. Three days after the first treatment, the
46 nematodes were inoculated. After 50 and 70 days of inoculation from the first and second experiment,
47 were evaluated height growth, stem diameter, number of pods per plant, dry weight of aerial part, dry
48 weight of leaf +petiole + stem , dry weight of pods, weight of fresh root and juvenile, adults and eggs
49 in the soil and roots, and calculated the reproduction factor (RF). In the laboratory, was conducted *in*
50 *vitro* experiment to evaluate motility and mortality of juvenile and adult *P. brachyurus*, for that a
51 solution of distilled water containing 100 mL⁻¹ of juveniles and adults were placed in a disposable plastic
52 container, then were added 7 mL of the treatments tested *in vivo* in dilution of 0.1%. The plants were
53 arranged in a randomized block design. The results indicated that 24, 50, 100 and 200CH reduce the
54 number of juveniles and adults in the soil as well as the reproduction rate, being the most outstanding
55 dynamizations 24 and 100CH, reducing 72.73% and 69% respectively the reproduction factor. Also
56 100CH increased the productive by the increase of 107.5% in the number of pods, as well as 6CH. Also
57 12CH increase the number of pods, but on the other hand the 12CH reduce dry mass of pods in soybean.
58 Thus, *Mercurius solubilis* is a potencial way for controlling *P. brachyurus*.

59 **Keywords:** lesion nematode, alternative control, homeopathy in agriculture.

60

61 Introdução

62 Uma das limitações da produção de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a incidência de
63 nematoides, destacando-se o das lesões radiculares, *Pratylenchus brachyurus* (DUNCAN; MOENS,
64 2013).

65 Este é um nematoide de difícil controle, pois existem poucos genótipos de soja que mostram
66 algum grau de resistência (ALVES et al., 2011; FALEIRO et al., 2012; INOMOTO; ASMUS, 2013).
67 Esta dificuldade em incorporar resistência à *P. brachyurus* se dá pelo seu hábito endoparasita migrador,
68 em que se movimenta alimentando-se de diferentes células das raízes da planta hospedeira, podendo
69 inclusive migrar para o solo e infectar outra planta, pois é uma espécie polífaga, pouco especializada
70 (GOULART, 2008).

71 Outro método de manejo adotado é através de nematicidas, porém, estes possuem custo
72 elevado, são prejudiciais ao meio ambiente e vem causando diferentes tipos de problemas toxicológicos,
73 se tornando importante a busca por outros métodos de controle que sejam eficientes e ecologicamente
74 corretos (ADEGBITE; ADESIYAN, 2005). Além disso, o uso de pesticidas no controle de *P.*

75 *brachyurus* em soja geralmente contempla pouca eficiência na redução de nematoides, e o estado geral
76 da planta e o seu desenvolvimento tendem a ficar comprometidos (BORTOLINI et al., 2013).

77 A fim de diminuir o uso de agroquímicos, para que sejam reduzidos os impactos ambientais
78 por eles causados, controlar os fitopatógenos que prejudicam a produção, e de buscar um equilíbrio entre
79 este controle e a manutenção de uma planta saudável sem prejudicar seu desenvolvimento, surgem ideias
80 alternativas que se baseiam no uso de extratos naturais, óleos essenciais e medicamentos homeopáticos.
81 O uso de medicamentos homeopáticos é também uma importante opção principalmente para a
82 agricultura orgânica, que carece de produtos que exerçam proteção para suas culturas (TOLEDO et al.,
83 2011).

84 Apesar de muito utilizada para a saúde humana, e também animal, a homeopatia para uso
85 vegetal está em fase inicial de desenvolvimento, mas com aumento crescente de pesquisas voltadas para
86 esta área, visando a viabilidade do emprego desta ciência na agricultura (CARNEIRO; TEIXEIRA,
87 2003).

88 Bonato (2007) sugere que para a escolha do medicamento, para controle do patógeno, seja
89 feita uma analogia com a matéria médica homeopática, descrita com sintomas em humanos. Partindo
90 deste princípio, Boericke (2003), no manual de matéria médica homeopática descreve que o
91 medicamento homeopático *Mercurius solubilis* transforma células sadias em ruínas decrepitas,
92 inflamadas e necrosadas, provocando anemia profunda, que são sintomas análogos aos causados pelo
93 ataque de *P. brachyurus* nas plantas.

94 O efeito do medicamento homeopático *Mercurius solubilis* no desenvolvimento vegetal foi
95 observado por Rossi (2005), que verificou maior produtividade comercial e maior produtividade total
96 em morangueiro, quando comparado com outros medicamentos homeopáticos testados.

97 Tem se observado trabalhos com homeopatia, mostrando a superação de plantas infectadas
98 com patógenos, em que estas têm incremento na produtividade, ou então em aspectos importantes para
99 o crescimento e desenvolvimento das mesmas (GRISA et al., 2007; TOLEDO et al., 2009;
100 SWAROWSKY et al., 2014).

101 Portanto, com o objetivo de avaliar aspectos de crescimento e produtividade em plantas
102 inoculadas com *P. brachyurus*, bem como o controle deste patógeno, foi realizado este trabalho
103 testando-se o medicamento homeopático de *Mercurius solubilis* em diferentes dinamizações em soja.

104

105 **Material e métodos**

106 Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação climatizada. O delineamento
107 experimental foi em blocos casualizados, com nove tratamentos e cinco repetições. Foi utilizada a
108 cultivar de soja NA 5909 RG, não considerada resistente à *P. brachyurus*. A soja foi semeada em vasos
109 de 2 L contendo mistura de solo, areia e composto orgânico (2:2:1, v/v/v) como substrato, sendo
110 previamente esterilizado por autoclavagem durante 1 h à 120 °C e 1 atm. Foi utilizada uma planta por
111 vaso.

112 A escolha do tratamento foi feita por repertorização pelo repertório de Ribeiro Filho (2010),
113 que consistiu em selecionar e enumerar os sintomas aparentes e físicos constatados em plantas infectadas
114 com *P. brachyurus*, como a redução no porte, falta de nutrientes e amarelecimento. A partir daí foi feito
115 uma analogia com sintomas descritos na matéria médica homeopática de Boericke (2003), resultando
116 em clorose, anemia, raquitismo, fraqueza, verminose, agravamento por umidade e úlceras da pele como
117 os sintomas escolhidos.

118 Os tratamentos consistiram nas dinamizações 6, 12, 24, 50, 100, 200 e 400CH (centesimal
119 hahnemanniana) do medicamento homeopático *Mercurius solubilis*. Este medicamento foi manipulado
120 pelo método Hahnemanniano, conforme Farmacopéia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011). Etanol
121 30% foi utilizado como testemunha, pois estas dinamizações foram obtidas com solução hidroalcoólica
122 30% em farmácia homeopática. Para as variáveis biométricas também foi utilizado como testemunha
123 plantas sem tratamento e sem inoculação (Plantas sadias).

124 O primeiro experimento foi semeado no dia 02 de abril e o segundo experimento no dia 25 de
125 setembro de 2013. Para ambos foram realizadas pulverizações semanais, a partir do estágio V3, dos
126 tratamentos na parte aérea das plantas de soja, até molhamento completo das folhas, mas sem atingir o
127 ponto de escorrimento. Os medicamentos homeopáticos foram diluídos em água, agitados e aplicados
128 com borrifador a 0,1%. As pulverizações foram repetidas semanalmente, totalizando sete aplicações até
129 o final do ensaio. Três dias após a primeira pulverização as plantas foram inoculadas: com
130 aproximadamente 4000 juvenis e adultos de *P. brachyurus* por vaso no primeiro experimento, e com
131 400 juvenis e adultos de *P. brachyurus* no segundo experimento, de acordo com metodologia testada
132 por Santos (2012).

133 Aos 50 dias após a inoculação do primeiro experimento foram feitas as avaliações, e para o
134 segundo experimento as avaliações foram feitas 70 dias após a inoculação, que consistiram em analisar
135 variáveis biométricas como diâmetro do coleto com paquímetro digital, altura de planta com o auxílio
136 de régua graduada, medindo-se a distância entre o ápice da última folha inserida e o colo da planta. Foi
137 contado o número de vagens por planta (vagens pl^{-1}), e as vagens foram acondicionadas em sacos de
138 papel para secagem em estufa, onde permaneceram por 72 horas a 65 °C, e procedeu-se a pesagem em
139 balança analítica para obtenção de massa seca total de vagens (MS total de vagens). Para a obtenção da
140 variável massa seca por vagem (MS vagem $^{-1}$) foi feita uma relação entre a massa seca total de vagens e
141 o número de vagens. Este mesmo procedimento foi realizado para a parte aérea da planta, para se obter
142 os valores de massa seca da folha+pecíolo+caule e de massa seca de parte aérea
143 (folha+pecíolo+caule+vagens). Para o segundo experimento, as mesmas avaliações foram feitas, mas
144 apenas após decorridos 70 dias da inoculação.

145 As raízes foram lavadas em água corrente, para a retirada das partículas de solo, e deixadas
146 sobre papel toalha para a eliminação do excesso de água e, em seguida foram pesadas em balança
147 analítica para a obtenção da massa fresca da raiz (MS raiz).

148 A metodologia de extração dos nematoides vermiformes do solo e das raízes foi o de flotação
149 centrífuga em solução de sacarose (TIHOHOD, 1993). Foram avaliados o número de ovos, de juvenis e
150 adultos por 100 cm³ de solo e presentes na raiz (JENKINS, 1964). Foi calculado o fator de reprodução
151 (FR) (OOSTENBRINK, 1966) através da fórmula $FR = Pf / Pi$, onde Pi é a população inicialmente
152 inoculada e Pf a população final (somatório do número de ovos, juvenis e adultos extraído das raízes e
153 do volume total de solo de cada vaso).

154 Quanto ao efeito de mortalidade e motilidade de juvenis e adultos de *P. brachyurus* foram
155 testadas as dinamizações de *Mercurius solubulis* in vitro. Para tanto foi utilizada população pura de *P.*
156 *brachyurus* obtida através de multiplicação em cilindros de cenoura (GONZAGA; DOS SANTOS,
157 2010), contendo 100 juvenis e adultos mL⁻¹ de água destilada. Foi depositado 1 mL desta suspensão de
158 inóculo em recipiente plástico descartável e em seguida foram adicionados 7 mL das dinamizações 6,
159 12, 24, 50, 100, 200, 400CH de *Mercurius solubilis* na diluição de 0,1%. Após 24 horas de exposição
160 aos tratamentos, foram contados os nematoides móveis e imóveis, decorrida a avaliação, os nematoides
161 foram filtrados e a solução contendo os tratamentos foi substituída por água destilada e após 24 horas
162 foram novamente contados os nematoides, sendo que os que tinham aspecto retilíneo e sem
163 movimentação eram considerados mortos.

164 O delineamento utilizado nos experimentos foi em blocos ao acaso. Os dados foram
165 submetidos à análise de variância e as médias referentes aos tratamentos foram submetidas ao teste de
166 Dunnett a 5% de probabilidade, através do programa estatístico GENES (CRUZ, 2006).

167

168 **Resultados e discussão**

169 Para a variável número de vagens por planta, o tratamento 100CH mostrou-se superior à
170 testemunha etanol 30% no Experimento 1, aumentando em 107,5% o número de vagens por planta, e
171 não diferiu das plantas sadias (sem tratamento e sem inóculo) (Tabela 1). Isto demonstra a capacidade
172 dessa dinamização de *Mercurius solubilis* em provavelmente estabelecer um equilíbrio
173 fisiológico/metabólico nas plantas tratadas, mesmo que estas estejam infectadas, permitindo o seu
174 desenvolvimento normal. Rossi et al. (2006), aplicando *Carbo vegetabilis* em mudas de alface,
175 observaram equilíbrio das plantas quando colocadas em condições de estresse, quando receberam
176 tratamento com a dinamização 100CH.

177 No Experimento 2, as dinamizações 6CH e 12CH diferiram das plantas sadias, sendo que as
178 plantas com nematoide que receberam esses tratamentos homeopáticos, tiveram ganho positivo, com
179 acréscimo de 29,3% e 37,4% respectivamente no número de vagens. Indicando a provável ação de
180 equilíbrio vegetal descrita anteriormente. Já a dinamização 200CH teve menor número de vagens do
181 que a testemunha etanol 30%, porém não diferiu das plantas sadias, isso é um aspecto importante, pois
182 se comportou como uma planta que não tinha o patógeno. E tem sido observado em trabalhos que
183 utilizam medicamentos homeopáticos em plantas, que estes atuam intensamente na parte fisiológica,

184 melhorando seus aspectos de crescimento e desenvolvimento, por vezes aumentando sua produtividade
185 (GRISA et al., 2007; SWAROWSKY et. al., 2014).

186

187 **Tabela 1.** Efeito de dinamizações do medicamento homeopático *Mercurius solubilis* aplicado em
188 plantas de soja inoculadas com *P. brachyurus* para número de vagens por planta (Núm. vagens⁻¹ planta⁻¹),
189 massa seca total de vagens (MS total de vagens) e massa seca por vagem (MS vagem⁻¹) em dois
190 experimentos.

Tratamento	Núm. vagens planta ⁻¹		MS total de vagens		MS vagem ⁻¹	
	-----		----- g planta ⁻¹ -----		----- g vagem ⁻¹ -----	
	Exp 1	Exp 2	Exp 1	Exp 2	Exp 1	Exp 2
<i>Mercurius solubilis</i>						
6CH	13,4 a b	32,0 a	0,5316 a b	5,5937 a b	0,0461 a b	0,2430 a b
12CH	11,8 a b	33,7 a	0,3554 a b	7,1465 a b	0,0275	0,2401 a b
24CH	12,0 a b	23,0 a b	0,6029 a b	5,8070 a b	0,0434 a b	0,3250 a b
50CH	8,5 a b	28,3 a b	0,2473 b	7,3467 a b	0,0276 b	0,2406 a b
100CH	16,6 b	23,3 a b	0,5430 a b	5,2747 a b	0,0303 a b	0,2882 a b
200CH	14,2 a b	20,7 b	0,4638 a b	7,5687 a b	0,0297 a b	0,2777 a b
400CH	13,6 a b	22,5 a b	0,6129 a b	8,9470 a b	0,0445 a b	0,2304 a b
Testemunhas						
Etanol 30%	8,0 a	28,7 a	0,6333 a	7,7490 a	0,0494 a	0,2672 a
Plantas sadias	14,0 b	24,7 b	0,4503 b	6,2490 b	0,0473 b	0,2508 b
CV %	33,1	12	27,65	25,28	27,77	36

191 Nas colunas, médias seguidas pela letra **a** não diferem da testemunha etanol 30%, pela letra **b** não diferem da
192 testemunha plantas sadias (não inoculadas e não tratadas), pelo teste de Dunnett ($P \leq 0,05$).

193

194 Para a variável MS total de vagens no primeiro experimento, apenas o tratamento 50CH diferiu
195 da testemunha etanol 30%, sendo que houve menor MS total de vagens por planta nesta dinamização.
196 Por mais que este tratamento tenha obtido resultados inferiores quando comparada à testemunha etanol
197 30%, quando comparada com as plantas sadias a mesma não diferiu (Tabela 1). Banheza et al. (2012)
198 também observaram parâmetros de produtividade, como o número de frutos e massa seca de frutos em
199 tomateiro, onde houve um efeito positivo em determinada dinamização do medicamento homeopático
200 *Sulphur*, bem como em outras o efeito foi inibitório.

201 Ao observar a variável massa seca por vagem (Tabela 1) percebe-se que o tratamento 50CH
202 diferiu da testemunha etanol 30%, mas não diferiu das plantas sadias. Esta dinamização do
203 medicamento teve o mesmo comportamento para a variável massa seca total de vagens e este
204 medicamento mostrou exercer controle do nematoide (como será observado na tabela 2). No segundo
205 experimento não houve diferença estatística significativa para massa seca por vagem. Rossi, (2005)
206 observou também efeito de acréscimo e de decréscimo na produtividade estudando *Mercurius solubilis*,
207 *Carbo vegetabilis* e outros medicamentos homeopáticos, sendo que quando o medicamento estimulava
208 o crescimento vegetativo, inibia parâmetros de produtividade.

209 Ainda para a variável massa seca por vagem, tem-se a dinamização 12CH apresentando valores
210 inferiores quando comparada à testemunha etanol 30% e as plantas sadias no experimento 1. Toigo et
211 al. (2010), ao testarem diferentes dinamizações do medicamento homeopático *Mercurius solubilis* em
212 rúcula (*Eruca sativa*), também não observaram um padrão de comportamento crescente ou decrescente
213 conforme o aumento das dinamizações, mas sim diferentes comportamentos. Este dado mostra a
214 importância de estudar cada vez mais os efeitos das dinamizações provenientes do mesmo medicamento
215 homeopático, pois cada dinamização se comporta de uma maneira, a qual se faz útil para diferentes
216 finalidades.

217 As demais variáveis analisadas, massa fresca de raiz, massa seca de folha+pecíolo+caule,
218 massa seca de parte aérea, diâmetro do coleto e altura da planta não mostraram diferença significativa
219 dos tratamentos quando comparados às testemunhas para ambos os experimentos. Andrade et al. (2001,
220 2012), também relatam essas indiferenças ocorridas em seus experimentos, como um equilíbrio nos
221 processos fisiológicos das plantas, estando estas em equilíbrio, de nada a homeopatia precisa interferir,
222 inclusive sem que ocorra a patogênese.

223 Na Tabela 2, pode-se observar que tanto para a variável número de juvenis e adultos presentes
224 no solo quanto para fator de reprodução, houve diferença estatística em relação à testemunha etanol 30%
225 para as dinamizações 24CH, 50CH, 100CH e 200CH no primeiro experimento. O segundo experimento
226 não apresentou diferença estatística significativa para estas variáveis. A testemunha etanol 30%
227 apresentou maior número de juvenis e adultos presentes no solo e maior fator de reprodução do que os
228 tratamentos citados. As dinamizações que apresentaram maiores reduções foram a 24 e 100CH
229 reduzindo em 72,73% e 69% respectivamente o fator de reprodução, o que ocorreu também para a
230 variável número de juvenis e adultos, com redução de 48,65%, 45,40% respectivamente para as
231 dinamizações. Os resultados da tabela 2, não mostraram influência do etanol para as variáveis juvenis e
232 adultos presentes no solo e fator de reprodução, assim como o etanol também não apresentou influência
233 para Swarowsky et al.,(2014) em tomateiro

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244 **Tabela 2.** Efeito de dinamizações do medicamento homeopático *Mercurius solubilis* aplicado em
 245 plantas de soja no número de juvenis e adultos presentes em 100 cm³ solo⁻¹ e no fator de reprodução
 246 (FR= Pi/Pf) de *P. brachyurus* referentes ao Experimento 1.

Tratamento	Juvenis e adultos	Fator de reprodução
	-- 100 cm ³ solo ⁻¹ --	-----
<i>Mercurius solubilis</i>		
6 CH	42,4 a	0,3787 a
12 CH	43,8 a	0,3601 a
24 CH	19,5	0,1727
50 CH	24,5	0,2208
100 CH	20,75	0,1962
200 CH	33	0,2847
400 CH	38 a	0,3048 a
Testemunha		
Etanol 30%	38 a	0,5268 a
CV (%)	35,37	68,65

247 Na coluna, médias seguidas pela letra **a** não diferem da testemunha etanol 30%, pelo teste de Dunnett ($P \leq 0,05$).

248

249

250 Pode-se observar que dinamizações extremas, tanto as 6CH e 12CH mais baixas, quanto a
 251 mais alta 400CH não resultaram em controle de *P. brachyurus*. O efeito dos tratamentos foi o mesmo
 252 para as duas variáveis apresentadas na Tabela 2. Apesar de a variável fator de reprodução estar
 253 relacionada com o número de juvenis e adultos, esta também está relacionada a fatores como número de
 254 ovos presentes no solo e na raiz, juvenis e adultos presentes na raiz, que não apresentaram diferença
 estatística quando comparadas à testemunha etanol 30%.

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

Para todos os tratamentos, incluindo a testemunha etanol 30%, o fator de reprodução se mostrou abaixo de 1 que significa que a planta é resistente ao ataque do patógeno. Porém, deve-se ressaltar que em níveis extremamente altos de inóculo inicial, como neste trabalho, genótipos suscetíveis podem apresentar FR abaixo de 1, pois a quantidade de raízes disponíveis para infecção ultrapassa a quantidade de raízes necessária para toda a população do nematoide, portanto poucos nematoides inoculados sobreviverão, podendo este ser um fator de regulação de população de *P. brachyurus* (LI; CHEN, 2005; RIBEIRO, 2005).

Em estudos avaliando-se o fator de reprodução, com níveis crescentes de inóculo, houve uma tendência de crescimento das populações até o nível de 600 *P. brachyurus*. Aumentando-se ainda mais as populações de *P. brachyurus*, houve um decréscimo no FR, obtendo-se valores abaixo de 1. Portanto, baixas densidades populacionais deste nematoide expressam com mais precisão o fator de reprodução (MAINARDI, 2013; SANTOS, 2012).

O efeito de *Mercurius solubilis* sobre *P. brachyurus* no ensaio *in vitro* pode ser observado na Tabela 3. A dinamização 6CH apresentou menor porcentagem de juvenis e adultos que se mostravam imóveis do que a testemunha etanol 30%. Quanto a porcentagem de juvenis e adultos mortos não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos. O que se pode observar é que para efeito direto sobre o nematoide, o medicamento homeopático *Mercurius solubilis* não é eficiente.

272 **Tabela 3.** Efeito de dinamizações do medicamento homeopático *Mercurius solubilis* in vitro sobre a
 273 imobilidade e mortalidade *P. brachyurus*.

Tratamento	Imobilidade	Mortalidade
	---- % ----	---- % ----
<i>Mercurius solubilis</i>		
6 CH	51,7	70,0 a
12 CH	61,7 a	75,8 a
24 CH	67,5 a	69,2 a
50 CH	69,2 a	78,3 a
100 CH	72,5 a	66,7 a
200 CH	74,2 a	70,0 a
400 CH	79,2 a	75,0 a
Testemunha		
Etanol 30%	74,2 a	83,3 a
CV (%)	15,92	17,87

274 Na coluna, médias seguidas pela letra **a** não diferem da testemunha etanol 30%, em nível de 5% de probabilidade
 275 pelo teste de Dunnett ($P \leq 0,05$).
 276

277 Ao observar que não houve diferença estatística na mortalidade dos nematoides expostos
 278 diretamente aos medicamentos, podemos entender que a redução observada do número de juvenis e
 279 adultos no solo e no fator de reprodução do experimento *in vivo*, é devido à ação do medicamento
 280 homeopático atuando na planta, provavelmente por indução de resistência, e não diretamente sobre o
 281 patógeno.

282 Outros trabalhos com patossistemas envolvendo nematoides também tem apresentado esse
 283 comportamento, como observado por Swarowsky et al. (2014) utilizando dinamizações de *Cina* para
 284 controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro, onde não ocorreu efeito nematicida ou nematostático.
 285

286 Conclusão

287 As dinamizações 6CH, 12CH e 100CH são capazes de incrementar em aspectos produtivos
 288 pelo aumento no número de vagens. Porém a dinamização 12CH reduz a de massa seca de vagens. As
 289 dinamizações 24, 50, 100 e 200CH controlam o patógeno a partir da redução do número de juvenis e
 290 adultos presentes no solo e do o fator de reprodução.
 291

292 Referências bibliográficas

293 ADEGBITE, A. A.; ADESIYAN, S. O. Root extracts of plants to control Root-Knot Nematode on edible
 294 soybean. *World Journal of Agricultural Sciences*, Nova York, v. 1, n. 1, p. 18-21, 2005.

295 ALVES, T. C. H.; SILVA, R. A.; BORGES, D. C.; MOTTA, L. C. C.; KOBAYASTI, L. Reação de
 296 cultivares de soja ao nematoide das lesões radiculares *Pratylenchus brachyurus*. *Revista Biodiversidade*,
 297 Rondonópolis, v. 10 n. 1 p. 73-79, 2011.

- 298 ANDRADE, F. M. C.; CASALI, V. W. D.; DEVITA, B.; CECON, P. R.; BARBOSA, L. C. A. Efeito
299 de homeopatas no crescimento e na produção de cumarina em chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.).
300 *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v.4, n.1, p. 19-28, 2001.
- 301 ANDRADE, F. M. C.; CASALI, V. W. D.; CECON, P. R. C Crescimento e produção de cumarina em
302 plantas de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.) tratadas com isoterápico. *Revista Brasileira de Plantas*
303 *Mediciniais*, Botucatu, v. 14, p. 154-158, 2012.
- 304 BANHEZA, A. A. G.; SILVA, C. P. M.; FERNANDEZ, A. C. A. M.; CAMILOTTI, J.; COLAUTO,
305 N. B.; SOUZA, S. G. H.; JACOMASSI, E.; GAZIM, Z. C. *Sulphur* aplicado no cultivo de *Lycopersicon*
306 *esculentum* Mill. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, Umuarama, v. 15, n. 2,
307 supl. 1, p. 201-205, 2012.
- 308 BOERICKE, W. *Manual de matéria médica homeopática* - Tomo II - 9ª Ed. São Paulo: Robe
309 Editorial, 2003. 638p.
- 310 BONATO; C. M. Homeopatia em Modelos Vegetais. *Cultura Homeopática*, São Paulo, nº 21, p. 24-28,
311 2007.
- 312 BORTOLINI, G. L. A.; ZAVISLAK, D. V.; DOMINIKI, F.; ROMANO JUNIOR, J.; KRAUSE, W.
313 Controle de *Pratylenchus brachyurus* via tratamento de semente de soja. *Revista Enciclopédia biosfera*,
314 Goiânia, v. 9, n. 17, p. 818-830, 2013.
- 315 BRASIL - *Farmacopéia Homeopática Brasileira* - 3ª edição, São Paulo: Andrei, 2011.
- 316 CARNEIRO, S. M. T. P. G.; TEIXEIRA, M. Z. Pesquisa homeopática na agricultura: premissas básicas.
317 *Revista de Homeopatia*, São Paulo, v.68, n.1-2, p. 63-73, 2003.
- 318 CRUZ, C. D. Programa Genes - *Estatística Experimental e Matrizes*. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006,
319 v.1, 285p.
- 320 DUNCAN, L. W.; MOENS, M. Migratory endoparasitic nematodes. In: PERRY, R.N.; MOENS, M.
321 (Eds.). *Plant Nematology*. Wallingford: CABI, 2013. p.73-108.
- 322 FALEIRO, V. O.; FARIAS NETO, A. L.; BORGES, D. C.; SILVA, J. F. V.; DIAS, W. P.; RAMOS
323 JUNIOR, E. U.; SILVA NETO, S. P. Reação de cultivares de soja a *Pratylenchus brachyurus*. In: VI
324 Congresso Brasileiro de Soja, 2012. *Anais...* Cuiabá: EMBRAPA, 2012. p. 1-4.
- 325 GOULART, A. M. C. nematoides das lesões radiculares (gênero *Pratylenchus*). *Jornal agrosoft*. n. 315,
326 p. 11-12, 2008.

- 327 GRISA, S.; TOLEDO, M. V.; OLIVEIRA, L. C.; HOLZ, L.; MARINE, D. Crescimento e produtividade
328 de alface sob diferentes potências do medicamento homeopático *Arnica montana*. *Revista Brasileira de*
329 *Agroecologia*, Porto Alegre, v. 2, n. 2, p. 1050-1053, 2007.
- 330 GONZAGA, V.; DOS SANTOS, J. M. Estudo comparativo de multiplicação *in Vitro* de seis espécies
331 de *Pratylenchus* em cilindros de cenoura. *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, v. 34, n. 4, p. 226-230,
332 2010.
- 333 INOMOTO, M. M.; ASMUS, G. L. Manejo de nematoides em sistemas consorciados In: XII Seminário
334 Nacional Milho Safrinha, 2013, Dourados. *Anais...* Dourados: UFGD, 2013, p. 1-8.
- 335 JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant*
336 *Disease Reporter*, Nova Brunswick, v. 48, p. 692, 1964.
- 337 LI, Y. H.; CHEN, S. Y. Effect of the rgh1 gene on population development of *H. glycines*. *Journal of*
338 *Nematology*, Hanôver, v. 37, n. 2, p. 168-177, 2005.
- 339 MAINARDI, J. T. *Reação de espécies vegetais a Pratylenchus brachyurus*. 2013. Dissertação
340 (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana.
- 341 ROSSI, F. *Aplicação de preparados homeopáticos em morango e alface visando o cultivo em base*
342 *agroecológica*. 2005. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de
343 Queiroz, Piracicaba.
- 344 ROSSI, F.; MELO, P. C. T.; AMBROSANO, E. J.; GUIRADO, N.; SCHAMMASS, E. Aplicação do
345 medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* e desenvolvimento das mudas de alface. *Cultura*
346 *Homeopática*, Guaratinguetá, v. 17, p. 14-17, 2006.
- 347 RIBEIRO, N. R. *Variabilidade Intraespecífica de Meloidogyne javanica (Nematoda: Meloidogynedae)*
348 *em soja no Brasil*. 2005. Dissertação (Mestrado em entomologia)- Universidade Estadual Paulista,
349 Jaboticabal.
- 350 RIBEIRO FILHO, A. *Repertório de Homeopatia*. 2. ed. São Paulo: Editora Organon, 2010. 1900 p.
- 351 SANTOS, T. F. S. *Metodologia de avaliação a Pratylenchus brachyurus e reação de genótipos de soja*
352 *aos nematoides das galhas e das lesões*. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) –
353 Universidade Federal de Mato Grosso, Rondonópolis.
- 354 SWAROWSKY, R. A.; STANGARLIN, J. R.; KUHN O. J.; ESTEVEZ, R. L.; MIORANZA, T. M.;
355 MULLER, M. A. Influence of high dilutions of *Cina* for the control of *Meloidogyne incognita* in tomato
356 plants. *American Journal of Plant Sciences*, n. 5, p.3695-3701, 2014.

- 357 OOSTENBRINK, M. *Major characteristics of the relation between nematodes and plants*. Wageningen:
358 H. Veenman & Zonen, 1966. 48 p.
- 359 TIHOHOD, D. *Nematologia Agrícola Aplicada*. Jaboticabal: FCAV, 1993. 372 p.
- 360 TOLEDO, M. V.; STANGARLIN, J. R.; BONATO, C. M. Controle da Pinta Preta em Tomateiro com
361 Preparados Homeopáticos de Própolis. *Revista Brasileira de Agroecologia*, Porto Alegre, v.4, n.2, 2009.
- 362 TOLEDO, M. V.; STANGARLIN, J. R.; BONATO, C. M. Homeopathy for the control of plant
363 pathogens. In: MÉNDEZ-VILAS, A. (Ed.). *Science Against Microbial Pathogens: Communicating*
364 *Current Research and Technological Advances*. Badajoz: Formatex, 2011. p.1063-1067.
- 365 TOIGO, M. A.; SARTORI, V. C.; MAGRINI, F. E.; ILTCHENCO, J. Efeito no desenvolvimento da
366 rúcula (*Eruca sativa*) utilizando homeopatia *Mercurius solubilis* sob diferentes dinamizações. In: I
367 Congresso de Iniciação Científica E Pós-Graduação. *Anais...* Florianópolis: UDESC, 2010. p. 89-92.

1 **Atividade de enzima de defesa em soja infectada com *Pratylenchus brachyurus* e tratada com**
2 ***Mercurius solubilis***

3

4 **Defense enzyme activity in soybean infected with *Pratylenchus brachyurus* and treated with**
5 ***Mercurius solubilis***

6

7 **Resumo**

8 A indução de resistência ativa mecanismos latentes nas plantas, para que ocorra a defesa vegetal
9 no momento e intensidade exatas. Com o objetivo de verificar a indução de resistência em plantas de
10 soja através do tratamento com medicamento homeopático *Mercurius solubilis*, foram quantificadas
11 enzimas envolvidas no metabolismo secundário das plantas: peroxidase (POX), fenilalanina amônia-
12 liase (FAL) e a polifenoloxidase (PFO). Para tanto, plantas de soja foram tratadas com *Mercurius*
13 *solubilis* diluído em água a 0,1% e aplicado na parte aérea nas dinamizações 6, 12, 24, 50, 100, 200 e
14 400CH (centesimal hahnemanniana). As testemunhas foram etanol 30% e plantas não tratadas e não
15 inoculadas (testemunha absoluta). As coletas das amostras foi feita nas raízes para análise enzimática
16 foram realizadas no intervalo de 0, 3, 7 e 14 dias após o tratamento (DAT). No terceiro dia após o
17 tratamento as plantas restantes foram inoculadas com 4000 juvenis e adultos de *P. brachyurus*. As
18 plantas foram mantidas em casa de vegetação climatizada e dispostas em delineamento em
19 blocos casualizados. Para POX a atividade enzimática foi superior para as dinamizações 6CH, 100CH
20 e 400CH, em 3, 7 e 14 DAT, respectivamente. A atividade de FAL apresentou incrementos de 79,93%,
21 80,72% e 84,10% nas dinamizações 6CH, 12CH e 24CH respectivamente em relação à testemunha
22 absoluta, 3 DAT. 14 dias após o primeiro tratamento, a dinamização 400CH mostrou um aumento na
23 atividade enzimática de PFO de 53,41% e 32,21% quando comparada à testemunha etanol 30% e
24 testemunha absoluta respectivamente. A dinamização 24CH quando comparada a testemunha absoluta
25 mostrou um acréscimo de 41,10% na atividade enzimática. Isto indica a ação sistêmica do medicamento
26 homeopático aplicado na parte aérea e induzindo a atividade de enzimas de defesa nas raízes.

27 **Palavras chave:** metabolismo secundário, análises bioquímicas, nematoides.

28

29 **Abstract**

30 The resistance induction activates latent mechanisms in plants, for the occurrence of plant
31 defense at the exact time and intensity. With the objective to verify the resistance induction on soybean
32 plants by treatment with *Mercurius solubilis* homeopathic medicine, key enzymes involved in secondary
33 metabolism of plants were quantified: peroxidase (POX), phenylalanine ammonia lyase (PAL) and
34 polyphenoloxidase (POL). Therefore, the soybean plants were treated with *Mercurius solubilis* diluted
35 with water at 0.1% and applied at the aerial part using 6, 12, 24, 50, 100, 200 and 400CH (Hahnemann's
36 centesimal dynamizations). The control treatments were 30% ethanol and plants untreated and not

37 inoculated (absolute control). The roots sampled in 0, 3, 7 and 14 days after treatment (DAT) to
38 enzymatic assays. On the third day after treatment the plants were inoculated with 4000 juveniles and
39 adults of nematodes *Pratylenchus brachyurus*. The plants were kept in pots in greenhouse in a
40 randomized blocks design. For POX the enzyme activity was higher for the 6CH, 100CH and 400CH
41 dynamizations, 3, 7 and 14 DAT, respectively. The PAL activity showed increases of 79.93%, 80.72%
42 and 84.10% at the 6CH, 12CH and 24CH dynamizations, respectively, compared to the control
43 treatment, at 3 DAT. At 14 days after the first treatment, 400CH dynamization showed an increase of
44 53.41% and 32.21% at the enzymatic activity when compared to the ethanol 30% and absolute control
45 treatment, respectively. Compared to control treatment, the 24CH dynamization showed an increase of
46 41.10% at the enzymatic activity. Thus, this homeopathic medicine has a systemic action when applied
47 in soybean aerial part and activating plant defense enzymes in roots.

48 **Key words:** secondary metabolism, biochemical analyzes, nematodes.

49

50 **Introdução**

51 O notável desenvolvimento da agricultura, proporcional à incidência de pragas e doenças, faz
52 com que haja a necessidade de desenvolver alternativas que supram o controle dos patógenos, sem que
53 polua o meio ambiente, agregando em produtividade. Desta forma surge a homeopatia em modelos
54 vegetais, que objetiva proporcionar vitalismo nas plantas, deixando o organismo equilibrado, e apto a
55 se proteger contra o ataque de patógenos, e até certo ponto conviver com este sem que o cause prejuízos
56 (TOLEDO et al. 2011). As plantas têm mecanismos próprios que lhe conferem proteção contra
57 patógenos que venham a lhe causar danos, porém em alguns casos estes são tardios e não oferece a
58 proteção necessária (STANGARLIN et al., 2011).

59 Para a detecção da indução de resistência algumas premissas são necessárias, como a ausência
60 de efeitos tóxicos do agente indutor sobre o patógeno desafiante, para isso é importante a separação
61 espacial entre o local de aplicação do agente indutor e do sítio de inoculação do patógeno. Também a
62 necessidade de um intervalo de tempo entre a exposição da planta ao indutor e a expressão da resistência
63 (ROMEIRO, 2008).

64 Para que haja a indução de resistência, mecanismos de defesa da planta devem ser ativados, e
65 podem ser observadas mudanças na atividade de enzimas envolvidas nos metabolismos primário e
66 secundário, como a peroxidase que participa da oxidação de compostos fenólicos que se acumulam em
67 resposta à infecção, na e na biossíntese de lignina que está relacionada à defesa vegetal contra patógenos
68 (RESENDE et al., 2003). Outra enzima do metabolismo secundário vegetal, considerada enzima chave,
69 é a fenilalanina amônia-liase que catalisa uma etapa reguladora importante na formação de muitos
70 compostos fenólicos, o que quando aumentada a quantidade dessa enzima na planta, a síntese de
71 compostos fenólicos para a sua defesa é estimulada (GERASIMOVA et al., 2005). A polifenoloxidase
72 pode atuar como oxidante do ácido clorogênico, usando o O₂ como aceptor de elétrons e dando origem

73 a quinonas, que são altamente tóxicas a microrganismos, sendo assim apontado como uma enzima
74 envolvida na resistência contra fitopatógenos (PASCHOLATI, 2011).

75 Medicamentos homeopáticos em plantas podem atuar como indutores abióticos de resistência
76 induzida, além de ser uma técnica de fácil aplicação e baixo custo, sendo utilizada em todos os tipos de
77 seres vivos, reduzindo assim a necessidade de agroquímicos e colaborando para a conservação do meio
78 ambiente e da saúde humana (ROSSI et al., 2007). Além disso, tem mostrado efeitos na ativação e/ou
79 inibição de compostos do metabolismo secundário de plantas tratadas com esses medicamentos.

80 Ainda há poucos estudos usando produtos homeopáticos como eliciadores da indução de
81 resistência. Há trabalhos que testaram o medicamento homeopático *Sulphur*, *Phosphorus* e *Carbo*
82 *vegetabilis* na dinamização de 12CH em plantas de fava d'anta (DAS DÔRES, 2007); *Thuya*
83 *occidentalis* como elicitor em feijoeiro (MEINERZ et al., 2010); os medicamentos Propolis, isoterápico
84 de *Alternaria solani*, isoterápico de cinza, *Sulphur*, *Silicea terra*, *Staphysagria*, *Phosphorus*, *Ferrum*
85 *sulphuricum* e *Kali iodatum* como eliciadores em tomateiro (TOLEDO et al., 2009); *Natrium*
86 *muraticum*, *Kalium phosphoricum*, *Calcarea carbonica*, *Silicea terra* na dinamização 4CH,
87 incrementaram o teor de tanino (FONSECA et al., 2006); *Corymbia citriodora*, *Calcarea carbonica*,
88 *Silicea* e *Sulphur* como eliciadores em feijoeiro (OLIVEIRA et al., 2014); *Cina* como indutor em
89 tomateiro (SWAROWSKY et al., 2014); e preparados homeopáticos a partir do óleo essencial de
90 *Eucalyptus globulus* na indução de fitoalexinas em hipocótilos estiolados de feijão (TELAXKA et al.,
91 2014).

92 Os danos causados por *Pratylenchus brachyurus* na cultura da soja há tempos já são relatados,
93 e ainda hoje este é um problema enfrentado pela cultura. A indução de resistência no manejo deste
94 patógeno visando a redução dos prejuízos causados para as plantas, vem sendo estudado (PUERARI et
95 al., 2015).

96 Deste modo, objetivou-se com este trabalho avaliar as possíveis alterações enzimáticas
97 relacionadas com a indução de resistência vegetal, a partir da aplicação de *Mercurius solubilis* em soja
98 infectada pelo nematoide *Pratylenchus brachyurus*.

99

100 **Material e métodos**

101 O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada. O substrato utilizado para
102 cultivo da soja foi uma mistura contendo solo, areia e composto orgânico (2:2:1, v/v/v), previamente
103 esterilizado por autoclavagem durante 1 hora à 120 °C e 1 atm. O substrato foi colocado em recipientes
104 plásticos transparentes com capacidade de 750 mL, recobertos com papel alumínio e perfurados na base.
105 A soja foi semeada no verão de 2014 e conduzida uma planta por recipiente. A cultivar utilizada foi a
106 NA 5909 RG, não considerada resistente à *P. brachyurus*.

107 As coletas das amostras de raízes foram realizadas no intervalo de 0, 3, 7 e 14 dias após o
108 primeiro tratamento. A primeira coleta das amostras de raízes foi feita quando as plantas apresentavam
109 o primeiro trifólio aberto (estádio V2), anterior ao tratamento e à inoculação.

110 Em seguida, procedeu-se o tratamento das plantas restantes, com o medicamento homeopático
111 *Mercurius solubilis* nas dinamizações 6, 12, 24, 50, 100, 200 e 400CH (centesimal hahnemanniana) e
112 as testemunhas etanol 30% e testemunha absoluta (não tratada e não inoculada). Os medicamentos
113 homeopáticos foram diluídos em água para 0,1% e aplicados na parte aérea sem que houvesse
114 escorrimento para o solo.

115 Três dias após o tratamento foi realizada a segunda coleta das amostras de raízes tempo 1 (3º
116 dia após o tratamento), e as plantas restantes foram inoculadas com 4000 juvenis e adultos de *P.*
117 *brachyurus*, realizando-se dois furos no solo próximos às raízes e pipetados 5 mL da suspensão contendo
118 os nematoides. O inoculo foi obtido de população de campo, de plantas de soja.

119 Sete dias após o tratamento foi feita mais uma amostragem de raízes (7º dia após o tratamento
120 e 4º dia após inoculação), e realizado novamente o tratamento das plantas restantes. Passados sete dias
121 do segundo tratamento foi realizada mais uma amostragem.

122 Para a amostragem, as raízes foram cortadas, lavadas em água e imediatamente acondicionadas
123 em papel alumínio e congeladas em nitrogênio líquido (N₂L), e armazenadas em freezer a -20 °C. A
124 amostragem foi feita nas raízes, local afastado da parte aérea para a verificação de possíveis alterações
125 do metabolismo em locais diferentes do tratado, buscando-se verificar um provável efeito sistêmico dos
126 tratamentos.

127 Para obter o extrato proteico para as análises enzimáticas, as amostras de raízes de soja foram
128 adicionadas em 4 mL de tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 5,0) (tampão de extração). O
129 homogeneizado foi centrifugado a 20 000g em centrifuga refrigerada a 4 °C durante 25 min. Os
130 sobrenadantes foram utilizados para avaliar a atividade enzimática e o teor de proteínas (VIECELLI et
131 al., 2010).

132 A atividade de peroxidases (POX) foi determinada a 30 °C, e foram feitas leituras em
133 espectrofotômetro na absorvância de 470 nm, a cada 15 segundos até completar 2 minutos (LUSSO;
134 PASCHOLATI, 1999).

135 A atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) foi determinada de acordo com a metodologia
136 descrita por Umesha (2006), na qual 100 µL da preparação enzimática foram acrescidos de 750 µL de
137 tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8) e 200 µL de uma solução de L-fenilalanina 0,05 M, seguindo-se de
138 leitura em espectrofotômetro na absorvância de 290 nm.

139 A atividade das polifenoloxidasas (PFO) foi determinada usando-se metodologia de
140 Duangmal; Apeten (1999), adaptada por Kuhn (2007). O ensaio constituiu em mensurar a oxidação do
141 catecol convertido em quinona, reação esta mediada pela enzima polifenoloxidase e foram feitas as
142 leituras em espectrofotômetro na absorvância de 420 nm.

143 O teor de proteínas totais foi quantificado pelo método de Bradford (1976), consistindo de 750
144 µL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0), 50 µL de preparação enzimática e 200 µL de reagente de
145 Bradford, foram feitas as leituras em espectrofotômetro na absorvância de 595 nm.

146 A atividade das enzimas foi calculada de acordo com as absorvâncias obtidas e o teor de
147 proteínas totais.

148 O delineamento utilizado foi em blocos casualizados e os dados foram submetidos à análise
149 de variância e as médias referentes aos tratamentos foram submetidas ao teste de Dunnett a 5% de
150 probabilidade, através do programa estatístico GENES (CRUZ, 2006).

151

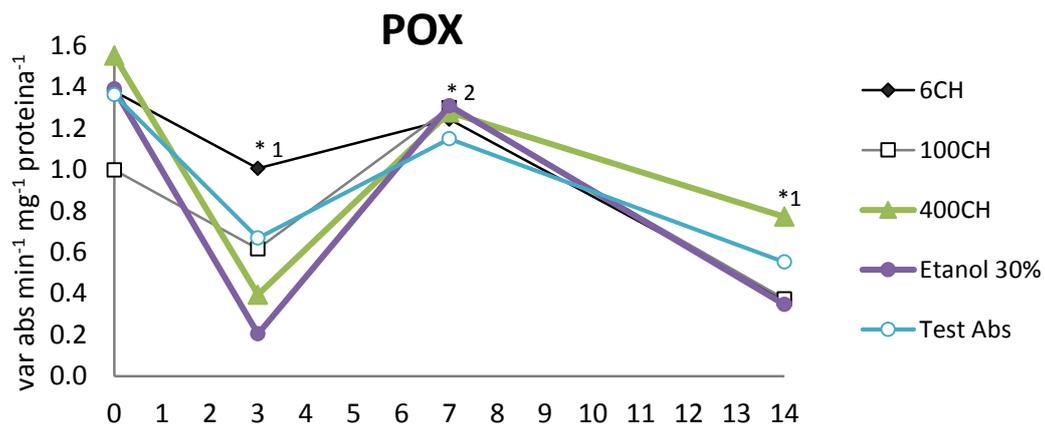
152 **Resultados e discussão**

153 Na Figura 1, pode-se observar alteração na atividade de peroxidase, onde aos 3, 7 e 14 dias
154 após o tratamento houve um acréscimo da atividade em plantas tratadas com o medicamento
155 homeopático. No 3º dia após o tratamento, a dinamização 6CH se destacou por apresentar um acréscimo
156 de 79,65% na atividade de peroxidase quando comparada com a testemunha etanol 30%. Sete dias após
157 a inoculação o tratamento 100CH mostrou-se 11,55% superior à testemunha absoluta. Aos 14 dias após
158 o tratamento a dinamização 400CH foi 55,03% superior à testemunha etanol 30%. As demais
159 dinamizações não apresentadas no gráfico, não tiveram diferença estatística significativa em relação às
160 testemunhas.

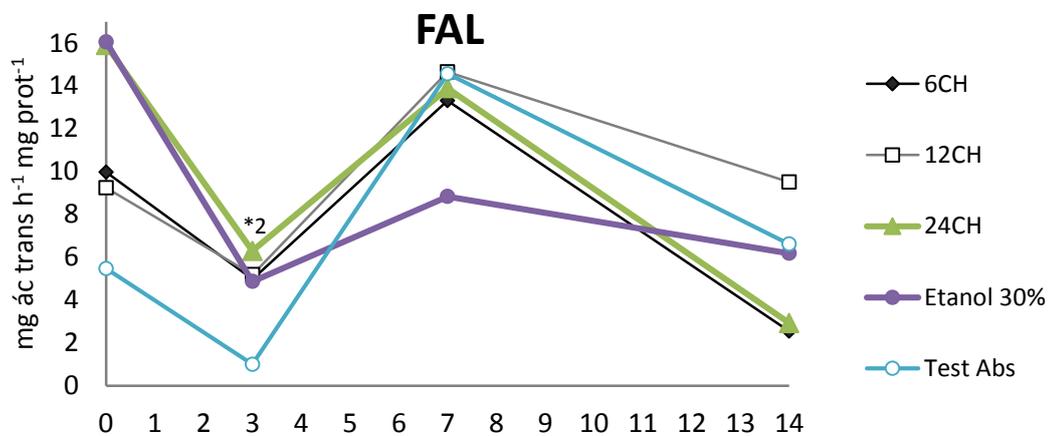
161 A partir de 48 horas, até 9 dias depois do tratamento com os medicamentos homeopáticos
162 *Corymbia citriodora*, *Calcarea carbonica*, *Silicea* e *Sulphur* em feijão Oliveira et al., (2014) não
163 observaram dinamizações que apresentassem redução na atividade da peroxidase em relação a
164 testemunha água, pelo contrário, a maioria das dinamizações testadas apresentaram acréscimo na
165 atividade da enzima, assim como observado neste trabalho.

166 Alterações na atividade da peroxidase estão relacionadas à resistência ou suscetibilidade das
167 plantas em diferentes patossistemas. As peroxidases são responsáveis pela remoção de átomos de
168 hidrogênio dos grupos álcoois hidroxicinâmicos, cujos radicais se polimerizam para formar a lignina.
169 Esse polímero, juntamente com celulose e outros polissacarídeos que ocorrem na parede celular das
170 plantas, funciona como uma barreira física à penetração do patógeno (RESENDE et al., 2003;
171 CAVALCANTI et al., 2005). Assim, paredes mais lignificadas poderiam oferecer maior resistência à
172 penetração de *P. brachyurus* nas raízes de soja.

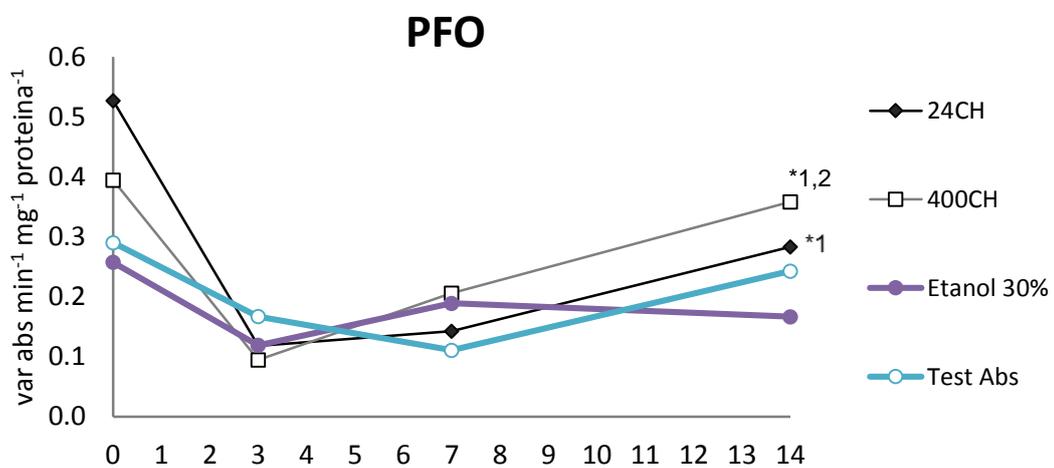
173



174



175



176

Dias após inoculação

177 **Figura 1.** Atividade enzimática de peroxidase (POX), fenilalanina amônia-liase (FAL) e
 178 polifenoloxidase (PFO) em plantas de soja tratadas com *Mercurius solubilis* e inoculadas com *P.*
 179 *brachyurus*. Número precedido por (*) indica diferença estatística a 5% pelo teste de Dunnett quando
 180 comparada aos controles (1) etanol 30% (2) testemunha absoluta (Test Abs).
 181

182 A atividade de fenilalanina amônia-liase apresentou incrementos de 79,93%, 80,72% e
 183 84,10% nas dinâmizações 6CH, 12CH e 24CH respectivamente em relação à testemunha absoluta. Esta

184 diferença foi significativa apenas no 3º dia após a aplicação do tratamento e para as dinamizações
185 apresentadas na Figura 1.

186 A fenilalanina amônia-liase, é uma enzima do metabolismo secundário vegetal que catalisa
187 uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos, com o aumento da
188 quantidade dessa enzima na planta, a síntese de compostos fenólicos gerados para a sua defesa, é
189 estimulada (TAIZ; ZEIGER, 2009).

190 Neste caso, o efeito da FAL apresentando anteriormente à inoculação dos nematoides, foi
191 importante, pois deixou a planta em “estado de alerta” o que pode levar à planta a responder rapidamente
192 ao ataque de patógenos, porém isso pode gerar um custo metabólico em casos em que não ocorra
193 nenhuma adversidade no desenvolvimento da planta (KUHN; PASCHOLATI, 2010). Em estudos com
194 produto homeopático obtido a partir do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, verificou-se a que a
195 aplicação da dinamização 24CH resultou na ativação de mecanismos de defesa em plântulas de feijão
196 (OLIVEIRA et al., 2011), como a fitoalexina faseolina, um composto fenólico da rota dos
197 fenilpropanóides, rota enzimática da FAL.

198 Das Dôres (2007) descreve os efeitos da aplicação de medicamentos homeopáticos de *Sulphur*
199 e *Phosphorus* na dinamização 12CH em plantas de fava d’anta (*Dimorphandra mollis*) observando
200 aumento na atividade de fenilalanina amônia-liase, em conformidade com os maiores teores de
201 compostos fenólicos encontrados.

202 A atividade de polifenoloxidase foi influenciada pela aplicação dos tratamentos. Aos 14 dias
203 após o primeiro tratamento, a dinamização 400CH mostrou um aumento na atividade enzimática de
204 53,41% e 32,21% quando comparada à testemunha etanol 30% e testemunha absoluta, respectivamente.
205 A dinamização 24CH quando comparada a testemunha etanol 30% mostrou um acréscimo de 41,10%
206 na atividade enzimática.

207 Oliveira et al. (2014) também avaliando a atividade de polifenóis, 30 dias após a aplicação de
208 produtos homeopáticos, obtiveram resultados contrários aos observados neste trabalho, pois algumas
209 dinamizações de *Corymbia citriodora*, *Calcarea Carbonica* e *Sulphur* apresentaram redução ou não
210 apresentaram diferença da atividade de polifenóis quando comparadas com as testemunhas. Neste
211 trabalho *Mercurius solubilis* apresentou acréscimos na atividade desta enzima em relação às
212 testemunhas.

213 Tendo em vista este acréscimo da atividade das enzimas POX, FAL e PFO nas raízes, distantes
214 do local de aplicação dos tratamentos, pode-se inferir que houve indução de resistência sistêmica
215 mediada pelos medicamentos homeopáticos. Outros pesquisadores também atribuíram a indução de
216 resistência ao uso de tratamentos com medicamentos homeopáticos. Fonseca et al. (2006) observou isso,
217 com o aumento do teor de metabólitos secundários em plantas de couve, e Toledo (2009), com a
218 redução da severidade de *Alternaria solani* em folha não tratada.

219 Viecelli et al. (2008) destaca a utilização de produtos que induzam a resistência das plantas,
220 como uma alternativa promissora para o futuro, deixando-as mais aptas a se defenderem do ataque de

221 patógenos e que fujam das técnicas hoje empregadas, agressivas à saúde humana e ao meio ambiente
222 que tem como finalidade controlar doenças.

223 Desta forma a ação da peroxidase da polifenoloxidase e da fenilalanina amônia-liase, enzimas
224 relacionadas à defesa vegetal contra patógenos demonstra a eficiência do uso do medicamento
225 homeopático *Mercurius solubilis* para a proteção das plantas através da indução de resistência, sendo
226 uma alternativa considerada viável no controle de doenças.

227

228 **Conclusões**

229 As enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase, apresentaram acréscimo em sua
230 atividade em plantas de soja tratadas com o medicamento homeopático *Mercurius solubilis*, podendo
231 estar envolvidas numa provável à indução de resistência contra *P. brachyurus*.

232

233 **Referências bibliográficas**

234 BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of
235 protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, Nova York, v.72, p. 248-
236 254, 1976.

237 CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e moleculares
238 da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.;
239 RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. *Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos*.
240 Piracicaba: FEALQ, p. 81-124, 2005.

241 CRUZ, C. D. Programa Genes - *Estatística Experimental e Matrizes*. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006,
242 v. 1, 285p.

243 DAS DORES, R. G. R. Análise morfológica e fitoquímica de fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth).
244 2007. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa- UFV, Viçosa.

245 DUNGMAL, K.; APENTEN, R. K. O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia*
246 *esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). *Food Chemistry*, Londres, v. 64, p. 351-359,
247 1999.

248 FONSECA, M. C. M.; CASALI, V. W. D.; CECON, P. R. Efeito de Aplicação Única dos Preparados
249 Homeopáticos *Calcarea carbônica*, *Kalium phosphoricum*, *Magnesium carbonicum*, *Natrium*
250 *muraticum* e *Silicea terra* no teor de tanino em *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cassini. *Cultura*
251 *Homeopática*, São Paulo, n. 14, p. 6-8, 2006.

- 252 GERASIMOVA, N. G.; PRODVOROVA, S. M.; OZERETSKOUSKAYA O. L.; Role of L-phenilalanine
253 ammonia lyase in the induced resistance and susceptibility of potato plants. *Applied biochemistry and*
254 *microbiology*, Moscou, v. 41, n. 1, p. 103-105, 2005.
- 255 KUHN, O. J. *Indução de resistência em feijoeiro (Phaseolus vulgaris) por acibenzolar-S-metil e*
256 *Bacillus cereus: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção*. 2007. Tese
257 (Doutorado em Agronomia). ESALQ – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade
258 de São Paulo, Piracicaba.
- 259 KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada
260 pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e
261 lignina e biomassa. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 36, n. 2, p. 107-114, 2010.
- 262 LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in
263 maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 25.
264 p. 244-249, 1999.
- 265 MEINERZ C. C.; GHELLER D.; TOLEDO, M. V.; MÜLLER, S. F.; STANGARLIN, J. R. Atividade
266 de peroxidase na indução de resistência de tomateiro contra *Alternaria solani* por medicamentos
267 homeopáticos. In: XIX EAIC – Encontro anual de iniciação científica, 2010, *Anais...* Guarapuava:
268 UNICENTRO, 2010.
- 269 OLIVEIRA, J. B. S.; MAIA, A. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CARNEIRO, S. M. T. P. G.;
270 BONATO, C. M. Indução de fitoalexinas em hipocótilos de feijoeiro por preparados homeopáticos de
271 *Eucalyptus citriodora*. *Cadernos de Agroecologia*, Porto Alegre, v. 6, n. 2, 2011.
- 272 OLIVEIRA, J. B. S.; MAIA, A. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONATO, C. M.; CARNEIRO, S.
273 M. T. P. G.; PICOLI, M. H. S. Activation of biochemical defense mechanisms in bean plants for
274 homeopathic preparations. *African Journal of Agricultural Research*, Lagos, v. 1, n. 11, 2014.
- 275 PASCHOLATI, Fisiologia do parasitismo: Como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM,
276 L.; REZENDE, J.A.M. & BERGAMIN FILHO, A. *Manual de Fitopatologia - Princípios e Conceitos*.
277 4 ed. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres. v. 1, p. 593-633, 2011.
- 278 PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R. ; CARDOSO, M. R.; HERNANDES, I. ; COSTA BRITO,
279 O. D. Resistance inducers in the control of root lesion nematodes in resistant and susceptible cultivars
280 of maize. *Phytoparasitica*, Bet Dagan, 2015.
- 281 RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta
282 de defesa de plantas a patógenos. *Fitopatologia brasileira*, Viçosa, v. 28, n. 2, 2003.

- 283 ROSSI, F.; MELO, P. C. T.; PASCHOLATI, S. F.; Casali, V. W. D.; AMBROSANO, E. J.; GUIRADO,
284 N.; MENDES, P. C. D.; AMBROSANO, G. M. B.; CHAMMASS, E. A.; TOFFANO, L.; DI PIERO,
285 R. M. Aplicação de bioterápico visando induzir resistência em tomateiro contra mancha bacteriana.
286 *Revista Brasileira de Agroecologia*, Porto Alegre, v. 2, n. 1, 2007.
- 287 ROMEIRO, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.;
288 STANGARLIN, J. R.; CIA, P. *Interação Planta-Patógeno: Fisiologia, Bioquímica e Biologia*
289 *Molecular*. Piracicaba: FEALQ, 2008. v. 13, p. 411-429.
- 290 SCHWANESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos
291 de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. *Interação Planta-*
292 *Patógeno: Fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular*. Piracicaba: FEALQ, 2008, v. 13, p. 227-248.
- 293 STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R.
294 F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. *Scientia Agraria Paranaensis*, Marechal
295 Cândido Rondon, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011.
- 296 SWAROWSKY, R. A.; STANGARLIN, J. R.; KUHN O. J.; ESTEVEZ, R. L.; MIORANZA, T. M.;
297 MULLER, M. A. Influence of high dilutions of *Cina* for the control of *Meloidogyne incognita* in tomato
298 plants. *American Journal of Plant Sciences*, n. 5, p. 3695-3701, 2014.
- 299 TELAXKA, F. J.; JASKI, J. M.; BALDIN, D.; SCARIOT, E.; GROSSELLI, M. A.; MOURA, G. S.;
300 FRANZENER, G. Atividade antibacteriana e indução de fitoalexinas em feijão por preparados
301 homeopáticos do óleo essencial de *Eucalyptus globulus*. *Anais... I Congresso Paranaense de*
302 *Agroecologia*, Pinhais, 2014.
- 303 TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.
- 304 TOLEDO, M. V. *Fungitoxicidade contra Alternaria solani, controle da pinta preta e efeito sobre o*
305 *crescimento do tomateiro (Lycopersicon esculentum mill) por medicamentos homeopáticos*. 2009.
306 Dissertação (Mestrado em produção vegetal)- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal
307 Cândido Rondon.
- 308 TOLEDO, M. V.; STANGARLIN, J. R.; BONATO, C. M. Homeopathy for the control of plant
309 pathogens. In: MÉNDEZ-VILAS, A. (Ed.). *Science Against Microbial Pathogens: Communicating*
310 *Current Research and Technological Advances*. Badajoz: Formatex, 2011. p.1063-1067.
- 311 UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial
312 canker disease resistance. *Phytoparasitica*, Bet Dagan, v. 34, n. 1, p. 68-71, 2006.

313 VIECELLI, C. A.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Indução de
314 resistência em feijoeiro a mancha angular por extratos de micélio de *Pycnopus sanguineus*. *Summa*
315 *Phytopathologica*, Botucatu, v. 36, n. 1, p. 73-80, 2010.

2 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O medicamento homeopático *Mercurius solubilis* teve atuação nas plantas de soja, porém o que se pode observar é que em cada indivíduo (planta ou patógeno), este teve efeitos diferentes conforme o ano. Na maioria dos casos incrementou aspectos fisiológicos e de defesa das plantas, dependendo da dinamização. Portanto, deve se ter cuidado para recomendar dinamizações do medicamento homeopático que tratem o coletivo.

As enzimas estudadas apresentaram acréscimo em sua atividade em determinadas dinamizações, quando tratadas com o medicamento homeopático *Mercurius solubilis*, destacando esse aspecto à indução de resistência nas plantas de soja. Além da avaliação enzimática, outra situação que reforça a indução de resistência foi a redução em números de juvenis e adultos em plantas tratadas, e a ausência do efeito do medicamento em contato direto com o nematoide. Isso também pode ser compreendido, uma vez que a repertorização do medicamento considerou o organismo planta e os sintomas nela observados, e não o nematoide.

Outro aspecto a ser levado em consideração é a quantidade de aplicações do medicamento, e a diluição utilizada. Talvez se utilizado o medicamento preparado em solução aquosa, não haveria a necessidade de diluir o medicamento, e possivelmente, aumentaria sua atuação, assim sendo os resultados poderiam ser mais expressivos.

Tendo em vista as considerações, muito deve-se fazer pela homeopatia em plantas, para que se consiga obter resultados com maior repetitividade. Este estudo nos mostra o potencial do medicamento homeopático, e deixa muitas sugestões de estudos para que se compreenda ainda mais a atuação destes medicamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEGBITE, A. A.; ADESIYAN, S. O. Root extracts of plants to control Root-Knot Nematode on edible soybean. **World Journal of Agricultural Sciences**, Nova York, v. 1, n. 1, p. 18-21, 2005.
- ANVISA. **Farmacopéia homeopática**. Publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2011 n. 172, 572p.
- BONATO, C. M. Homeopatia em Modelos Vegetais. **Cultura Homeopática**, São Paulo, n. 21, p. 24-28, 2007.
- BOERICKE, W. **Manual de matéria médica homeopática** - Tomo II - 9ª Ed. São Paulo: Robe Editorial, 2003. 638p.
- BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F., ROMEIRO, R. S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 11-28. 2005.
- BONATO, C. M.; SOUZA, A. F.; OLIVEIRA, L. C.; TOLEDO, M. V.; PERES, P. G.; GRISA, S.; SAAR, V. V. **Homeopatia simples: uma alternativa para a agricultura familiar**. 3. Ed. Marechal Cândido Rondon: UEM/ CAPA. 2012, p. 36.
- BORTOLINI, G. L. A.; ZAVISLAK, D. V.; DOMINIKI, F.; ROMANO JUNIOR, J.; KRAUSE, W. Controle de *Pratylenchus brachyurus* via tratamento de semente de soja. **Revista Enciclopédia biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 818-830, 2013.
- CARNEIRO, S. M. T. P. G.; OLIVEIRA, B. G.; FERREIRA, I. F. Efeito de medicamentos homeopáticos, isoterápicos e substâncias em altas diluições em plantas: revisão bibliográfica. **Revista de Homeopatia**, São Paulo, v. 74, n. 1/2, p. 9-32, 2011.
- CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 263p, 2005.
- DUTRA, M.; DEBONI, T. C.; VOLPI, P. S. B.; MATIAS, J. P. G.; NESI, B. Z. Avaliação produtiva de rabanete *Raphanus sativus* L. submetido a preparados homeopáticos de tiririca *Cyperus rotundus* L. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 9, n. 2, p. 151-159, 2014.
- DIETRICH, R.; PLOSS, K.; HEIL, M. Growth responses and fitness cost after induction of pathogen resistance depend on environmental condition. **Plant Cell and Environment**, Logan, v. 28, p. 211-222, 2005.
- GOULART, A. M. C. nematoides das lesões radiculares (gênero *Pratylenchus*). **Jornal agrosoft**. n. 315, p. 11-12, 2008.

INOMOTO, M. M. Importância e manejo de *Pratylenchus brachyurus*. **Revista Plantio direto**, Passo fundo, n. 108, 2008.

INOMOTO, M. M.; SILVA, R. A.; PIMENTEL, J. P. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* e *P. coffeae* em Quiabeiro. **Fitopatologia brasileira**, Viçosa, v. 29, n. 5, p. 551-554, 2004.

SOARES, P. L. M; SANTOS, J. M. Fungos contra nematoides. **Cultivar Hortaliças e Frutas**, Pelotas, n. 27, 2004.

OLIVEIRA, J. B. S.; GOMES, S. M. T. P.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; MESQUINI, R. M.; BONATO, C. M.; ROMANO, E. D. B. Patogenesia do óleo essencial e homeopáticas de *Eucalyptus citriodora* em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 15, n. 4, p. 734-741, 2013.

STANGARLIN, J. R.; SCHULZ, D. G.; FRANZENER, G.; ASSI, L. SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KUHN, O. J. Indução de fitoalexinas em soja e sorgo por preparações de *Saccharomyces boulardii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p. 91-98, 2010.

STANGARLIN, J. R.; TOLEDO, M. V.; Indução de resistência em planta à patógenos por soluções ultradiluídas. In: SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; SILVA, C. M.; MAIA, A. J.; FARIA, C. M. D. R.; COLELLA, J. C. T. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Maringá: UEM/ MPA, 2014.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011.

SWAROWSKY, R. A.; STANGARLIN, J. R.; KUHN O. J.; ESTEVEZ, R. L.; MIORANZA, T. M.; MULLER, M. A. Influence of high dilutions of *Cina* for the control of *Meloidogyne incognita* in tomato plants. **American Journal of Plant Sciences**, n. 5, p. 3695-3701, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TOLEDO, M. V. **Fungitoxicidade contra *Alternaria solani*, controle da pinta preta e efeito sobre o crescimento do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* mill) por medicamentos homeopáticos**. 2009. Dissertação (Mestrado em produção vegetal)- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.

VIECELLI, C. A.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Indução de resistência em feijoeiro a mancha angular por extratos de micélio de *Pycnoporus sanguineus*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 1, p. 73-80, 2010.

WRATHER, A.; KOENNING, S. Effects of Diseases on Soybean Yields in the United States 1996 to 2007. **Plant Health Progress**, Colorado, 2009.