

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

BRUNA BROTI RISSATO

**ATIVIDADE *IN VITRO* SOBRE *Sclerotinia sclerotiorum*, INDUÇÃO DE
MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE DEFESA E CONTROLE DE MOFO BRANCO
EM FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) POR SOLUÇÕES HOMEOPÁTICAS**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2017

BRUNA BROTI RISSATO

**ATIVIDADE *IN VITRO* SOBRE *Sclerotinia sclerotiorum*, INDUÇÃO DE
MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE DEFESA E CONTROLE DE MOFO BRANCO
EM FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) POR SOLUÇÕES HOMEOPÁTICAS**

**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: José Renato Stangarlin

Coorientador: Odair José Kuhn

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca da UNIOESTE – Campus de Marechal Cândido Rondon – PR., Brasil)

R596a Rissato, Bruna Broti
Atividade *in vitro* sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, indução de mecanismos bioquímicos de defesa e controle de mofo branco em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) por soluções homeopáticas / Bruna Broti Rissato. – Marechal Cândido Rondon, 2017.
82 f.

Orientador: Dr. José Renato Stangarlin
Coorientador: Dr. Odair José Kuhn

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2017.

1. Feijão. 2. Feijão – Doenças e pragas. 3. Homeopatia. 4. Plantas – Efeito do fósforo. I. Stangarlin, José Renato. II. Kuhn, Odair José. III. Título.

CDD 22.ed. 635.652
CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Marcia Elisa Sbaraini-Leitzke CRB-9/539



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

BRUNA BROTI RISSATO

Atividade *in vitro* sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, indução de mecanismos bioquímicos de defesa e controle de mofo branco em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) por soluções homeopáticas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitossanidade e Controle Alternativo, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:


Orientador(a) - José Renato Stangarlin

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon
(UNIOESTE)


Odair José Kuhn

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon
(UNIOESTE)


Cristiane Claudia Meinertz

Universidade Paranaense - UNIPAR (UNIPAR)

Marechal Cândido Rondon, 10 de fevereiro de 2017.

Aos meus pais, Silvio e Jocelei, que sempre depositaram confiança em mim, apoiando-me em minhas decisões e incentivando-me para que hoje eu pudesse realizar mais um dos meus sonhos. À eles todo o meu amor e reconhecimento.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à DEUS, pelo dom da vida, pela inteligência, discernimento e por tantas bênçãos concedidas, principalmente, pela oportunidade e capacidade que me deste de seguir nessa profissão que tanto amo, pois dEle provém toda sabedoria e inteligência. “Porque dEle e por Ele, e para Ele, são todas as coisas” (Romanos 11, 36).

Aos meus pais, Silvio Luiz Rissato e Jocelei Broti Rissato, por me amarem e cuidarem tanto de mim. Pelo incentivo e apoio incondicional desde a primeira hora e pelos ensinamentos a mim concedidos, os quais ecoam em minha vida até os dias de hoje. Sem vocês eu seria incapaz de chegar até aqui. Aos meus amados irmãos, Renan e Sabrina, meus verdadeiros e eternos amigos.

Aos meus avós paternos, Alcides Rissato e Maria Balestre Rissato, pelo amor, pela paciência e grande amizade com que sempre me ouviram e sensatez com que sempre me ajudaram. Aos meus avós maternos Luiz Broti (*in memoriam*) e Inês Terezinha Vidaletti, pelo amor e por serem meus exemplos de humildade e sabedoria.

À minha tia, Leonilda Rissato, minha segunda mãe, por todo carinho e amor que teve por mim a vida toda. À minha prima Cássia Rissato, por estar sempre ao meu lado, me apoiando, aconselhando e sendo meu porto seguro quando mais precisei.

Ao Prof. Dr. José Renato Stangarlin pelo exemplo de profissionalismo, incentivo e por guiar meus passos na condução dos experimentos, sempre me orientando e compartilhando seus conhecimentos e, sobretudo, pela amizade autêntica e inestimável a mim concedida.

Aos meus amigos Edilaine, Sidiane, Omari e Tulya pela amizade ao longo do curso, por sempre estarem ao meu lado nos momentos difíceis, pela colaboração na condução e avaliação dos experimentos.

Aos meus colegas do grupo de estudos COBALFI e a todos aqueles que de uma forma ou outra fizeram parte desta conquista.

Aos funcionários do Centro de Apoio e Promoção da Agroecologia (CAPA) pelo auxílio na confecção das soluções homeopáticas.

A todos os professores, funcionários e vigias da UNIOESTE que colaboraram de forma direta ou indireta no desenvolvimento do trabalho.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, através do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

Aos membros da banca examinadora, pelas sugestões e considerações.

RESUMO

RISSATO, Bruna Broti. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, fevereiro de 2017. **Atividade *in vitro* sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, indução de mecanismos bioquímicos de defesa e controle de mofo branco em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) por soluções homeopáticas.** Orientador: José Renato Stangarlin. Coorientador: Odair José Kuhn

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) está entre os principais produtos da agricultura nacional e pode ser afetado por inúmeras doenças, como o mofo branco, incitado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. O presente trabalho teve por objetivo verificar a atividade antimicrobiana de soluções homeopáticas contra *S. sclerotiorum*, a indução da atividade de enzimas relacionadas à defesa, bem como a fitoalexina faseolina e o controle de mofo branco em feijoeiro. Como tratamentos utilizou-se as soluções homeopáticas *Phosphorus* e *Calcarea carbonica*, sendo a solução hidroalcoólica 30% (etanol) o tratamento controle. Avaliou-se as seguintes variáveis: número de escleródios, crescimento micelial e massa micelial nos ensaios *in vitro*; no ensaio *in vivo*, progresso da doença e porcentagem de plantas mortas; e nas análises bioquímicas, a formação da fitoalexina faseolina e a atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase, catalase, fenilalanina amônia-liase e β -1,3-glucanase. Ambas soluções homeopáticas foram dinamizados em 6CH, 12CH, 24CH, 36CH e 48CH, nos ensaios *in vitro*, *in vivo* e de indução de fitoalexina. No entanto, para avaliação de atividade enzimática, foram utilizadas somente as dinamizações 12CH e 48CH das soluções homeopáticas, por serem aquelas que apresentaram resultados satisfatórios para o controle do mofo branco em feijoeiro. Em todas as avaliações, as soluções homeopáticas *Phosphorus* 12CH e 48CH e *Calcarea carbonica* 12CH e 48CH foram efetivas para o controle do mofo branco em feijoeiro, bem como para a indução das enzimas de defesa.

Palavras-chave: *Calcarea carbonica*, controle alternativo, indução de resistência, *Phosphorus*.

ABSTRACT

RISSATO, Bruna Broti. Western Paraná State University, in February, 2017. ***In vitro* activity against *Sclerotinia sclerotiorum*, induction of biochemical defense mechanisms and white mold control on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by homeopathic drugs.** Advisor: José Renato Stangarlin. Co-Advisor: Odair José Kuhn.

The common bean (*Phaseolus vulgaris*) is one of the main products of national agriculture and can be affected by many diseases such as white mold, incited by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. This study aimed to verify the antimicrobial activity of homeopathic drugs against *S. sclerotiorum*, the induction of defense-related enzymes, as well as the phytoalexin phaseolin and the control of white mold in common bean plants. As treatments were used the homeopathic solutions *Phosphorus* and *Calcarea carbonica*, being the hydroalcoholic solution 30% (ethanol) the control treatment. The following variables were evaluated: number of sclerotia, mycelium growth and mycelial mass, in the *in vitro* assays; in the *in vivo* assay, disease progression and percentage of dead plants; and in the biochemical analyzes the phytoalexin phaseolin formation and the activity of the enzymes peroxidase, polyphenoloxidase, catalase, phenylalanine ammonia-lyase and β -1,3 glucanase. Both homeopathic solutions were dynamized in 6CH, 12CH, 24CH, 36CH and 48CH in *in vitro*, *in vivo* and phytoalexin induction assays. However, for evaluation of enzymatic activity, were only used the dynamizations 12CH and 48CH of homeopathic solutions, to be those which showed satisfactory results for the control of white mold in bean plants. In all evaluations, the homeopathic solutions *Phosphorus* 12CH and 48CH and *Calcarea carbonica* 12CH and 48CH were effective for the control of white mold in bean plants as well as for the induction of defense enzymes.

Keywords: *Calcarea carbonica*, alternative control, resistance induction, *Phosphorus*,

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Placa de Petri com meio de cultivo BDA contendo colônia de *S. sclerotiorum* proveniente de escleródio. Fonte: a autora. 35
- Figura 2 - Frascos âmbar utilizados para a confecção de um das soluções homeopáticas. Fonte: a autora. 37
- Figura 3 - Materiais utilizados para o preparo do ensaio in vitro. Fonte: a autora. 39
- Figura 4 - Plantas em estágio fenológico V1. Fonte: a autora. 41
- Figura 5 - Sintomas da doença mofo branco em feijoeiro. Fonte: a autora. 42
- Figura 6 - Área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (A.A.C.P.A.E.) de peroxidase em feijoeiro inoculado com *Sclerotinia sclerotiorum* e tratado com *Phosphorus* 12CH (PP 12CH) e 48CH (PP 48CH), *Calcarea carbonica* 12CH (CC 12CH) e 48CH (CC 48CH) e solução hidroalcoólica a 30% (SH 30%). Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C.V. (%) = 7,56%. 59
- Figura 7 - Área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (A.A.C.P.A.E.) de catalase em feijoeiro inoculado com *Sclerotinia sclerotiorum* e tratado com *Phosphorus* 12CH (PP 12CH) e 48CH (PP 48CH), *Calcarea carbonica* 12CH (CC 12CH) e 48CH (CC 48CH) e solução hidroalcoólica a 30% (SH 30%). Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C.V. (%) = 38,32%. 61
- Figura 8 - Área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (A.A.C.P.A.E.) de fenilalanina amônia-liase em feijoeiro inoculado com *Sclerotinia sclerotiorum* e tratado com *Phosphorus* 12CH (PP 12CH) e 48CH (PP 48CH), *Calcarea carbonica* 12CH (CC 12CH) e 48CH (CC 48CH) e solução hidroalcoólica a 30% (SH 30%). Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C.V. (%) = 8,66%. 63
- Figura 9 - Área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (A.A.C.P.A.E.) de β -1,3-glucanase em feijoeiro inoculado com *Sclerotinia sclerotiorum* e tratado com *Phosphorus* 12CH (PP 12CH) e 48CH (PP 48CH) e *Calcarea carbonica* 12CH (CC 12CH) 48CH (CC 48CH) e solução hidroalcoólica a 30% (SH 30%). Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C.V. (%) = 11,24%. 65

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e número de escleródios (NE) de *Sclerotinia sclerotiorum* submetido a tratamento com dinamizações da solução homeopática *Phosphorus*..... 49
- Tabela 2 - Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e número de escleródios (NE) de *Sclerotinia sclerotiorum* submetido a tratamento com dinamizações da solução homeopática *Calcarea carbonica*..... 50
- Tabela 3 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) mofo branco e porcentagem de plantas mortas (PPM) de feijoeiro cultivar IAC Alvorada submetido a tratamento com dinamizações da solução homeopática *Phosphorus*..... 52
- Tabela 4 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) mofo branco e porcentagem de plantas mortas (PPM) de feijoeiro cultivar IAC Alvorada submetido a tratamento com dinamizações da solução homeopática *Calcarea carbonica*..... 53
- Tabela 5 - Indução da fitoalexina faseolina em hipocótilos de feijoeiro submetidos a tratamento com dinamizações das soluções homeopáticas *Phosphorus* e *Calcarea carbonica*..... 56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 A CULTURA DO FEIJOEIRO (<i>PHASEOLUS VULGARIS</i> L.)	13
2.1.1 Doenças do feijoeiro	13
2.1.2 A doença mofo branco (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary)	15
2.2 INTERAÇÕES PLANTA – FUNGO	16
2.3 CONTROLE DE DOENÇAS.....	17
2.3.1 Controle alternativo de doenças	18
2.4 A HOMEOPATIA.....	19
2.4.1 A homeopatia no controle de doenças em plantas	22
2.5 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA	25
2.5.1 Espécies reativas de oxigênio	27
2.5.2 Enzimas relacionadas à defesa	29
2.5.3 Fitoalexinas	33
3 MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1 OBTENÇÃO DO ISOLADO DE <i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i>	35
3.2 ESCOLHA DAS SOLUÇÕES HOMEOPÁTICAS	35
3.2.1 Preparo das soluções homeopáticas	36
3.3 ENSAIOS <i>IN VITRO</i> PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.....	38
3.3.1 Crescimento micelial	39
3.3.2 Produção de escleródios	39
3.4 BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA	40
3.4.1 Severidade da doença	40
3.4.2 Porcentagem de plantas mortas	43
3.4.3 Produção de Fitoalexina	43
3.4.4 Atividade Enzimática	44
3.4.4.1 Coleta das Amostras Vegetais.....	46
3.4.4.2 Obtenção dos Extratos Proteicos.....	46
3.4.4.3 Atividade de Peroxidase (POX, E.C. 1.11.1.7).....	47
3.4.4.4 Atividade de Catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6).....	48
3.4.4.5 Atividade de Fenilalanina Amônia-Liase (FAL, E.C. 4.3.1.5).....	48
3.4.4.6 Atividade de β -1,3-glucanase (β -GASE, E.C. 3.2.1.39).....	49
3.5 ANÁLISE DOS RESULTADOS	48
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 CRESCIMENTO MICELIAL E PRODUÇÃO DE ESCLERÓDIOS.....	49
4.2 SEVERIDADE DA DOENÇA E PORCENTAGEM DE PLANTAS MORTAS ..	50

4.3	PRODUÇÃO DE FITOALEXINA	55
4.4	ATIVIDADE DE PEROXIDASE	57
4.5	ATIVIDADE DE CATALASE.....	61
4.6	ATIVIDADE DE FENILALANINA AMÔNIA-LIASE	62
4.7	ATIVIDADE DE B-1,3-GLUCANASE	64
5	CONCLUSÕES.....	65
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

1 INTRODUÇÃO

Considerado como uma das mais importantes leguminosas comestíveis, o feijão (*Phaseolus vulgaris*) é um dos mais importantes constituintes da dieta da população brasileira e principal fonte de renda para considerável número de agricultores (FERREIRA et al., 2002). Por ser cultivado durante todo o ano, em uma grande diversidade de ecossistemas, inúmeros fatores podem interferir na produção do feijoeiro. Entre estes fatores estão as doenças, as quais constituem uma das principais causas de sua baixa produtividade, além de depreciarem a qualidade do produto ou mesmo inviabilizarem determinadas áreas para o cultivo (MAPA, 2017).

Dentre tais doenças, o mofo branco, que é de difícil controle, vem atingindo a cultura do feijoeiro em todo Brasil, com danos que podem chegar a 90% (MIKLAS et al., 2001). Portanto, devido ao seu grau de agressividade, bem como à sua ampla gama de hospedeiros, as estratégias de controle do mofo branco no feijoeiro devem ser integradas, a fim de adequar manejos ao menor grau possível de condições ideais para o desenvolvimento da doença (PEREIRA et al., 2013).

Nesse contexto, os métodos alternativos de controle podem ser úteis na manutenção da população do patógeno abaixo do limiar de dano econômico, bem como na redução às agressões ao ambiente ocasionadas pelo uso indiscriminado de defensivos químicos. Dentre as práticas previstas e permitidas aos produtores, está incluída a utilização da homeopatia, por meio do uso de soluções ultradiluídas, nos diversos setores da agropecuária, a qual também é permitida pela FAO (*Food and Agriculture Organization of United Nations*) como técnica a ser utilizada em produtos orgânicos certificados (BONATO, 2007). Dessa forma, o conhecimento da ação de soluções homeopáticas no metabolismo e na indução de resistência das plantas

cultivadas, pode viabilizar mais uma alternativa potencial de controle de doenças de plantas, inclusive do mofo branco.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo investigar o potencial das soluções homeopáticas *Phosphorus* e *Calcarea carbonica* no controle do mofo branco em feijoeiro, por meio de avaliações da atividade antimicrobiana *in vitro* contra *S. sclerotiorum*, da indução de resistência e ativação de enzimas de resistência como peroxidase, polifenoloxidase, β -1,3 glucanase, catalase e fenilalanina amônia-liase.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)

O feijoeiro comum pertence à família *Leguminosae*, subfamília *Papilionoideae*, gênero *Phaseolus*, espécie *P. vulgaris* L. (SANTOS; GAVILANES, 2006). É uma planta anual, herbácea e termófila, que pode apresentar hábitos de crescimento determinado ou indeterminado, com ciclo biológico que varia de 60 até 120 dias, a depender das condições, época de plantio e cultivar (SANTOS; GOVILANES, 2006).

Considerado como uma das mais importantes leguminosas comestíveis, o feijão é um dos mais importantes constituintes da dieta da população brasileira (FERREIRA et al., 2002). Entre os componentes e características que tornam seu consumo vantajoso pode-se citar o conteúdo protéico relativamente alto, o teor elevado de lisina (que exerce efeito complementar às proteínas dos cereais), a fibra alimentar com seus reconhecidos efeitos hipocolesterolêmico e hipoglicêmico, o alto conteúdo de carboidratos e a presença de vitaminas do complexo B (PORCH et al., 2016).

De grande importância social e econômica, o cultivo de feijão representa a principal fonte de renda para considerável número de agricultores (FERREIRA et al., 2002). Considerado o "celeiro do mundo", o Brasil, com sua imensa produção de grãos bateu recorde de produção de feijão na safra 2015/16, com produtividade média de 1.649 kg ha⁻¹ e produção total de 2.696 mil toneladas (CONAB, 2016).

2.1.1 Doenças do Feijoeiro

As fitomoléstias ou doenças de planta surgem devido à alterações de ordem bioquímica, fisiológica, citológica, histológica ou morfológica na planta, de modo que a ocorrência de uma doença é função da interação de três fatores

básicos: hospedeiro suscetível, patógeno virulento e ambiente favorável (REZENDE, et al., 2011).

As doenças que ocorrem na cultura do feijoeiro constituem uma das principais causas de sua baixa produtividade no Brasil. Muitas delas podem causar redução significativa da produtividade ou mesmo inviabilizar determinadas áreas para o cultivo (VIEIRA et al., 2007).

A cultura do feijoeiro é suscetível a inúmeras espécies de patógenos, incluindo vírus, bactérias, fungos e nematoides. Citam-se mais de 45 enfermidades que ocorrem durante seu ciclo, causando acentuadas perdas na produção (WENDLAND et al., 2016). Tais patógenos causam doenças que limitam a produção de feijão e reduzem a qualidade fisiológica, sanitária, nutricional e comercial do produto (BOERSMA et al., 2015). As principais doenças que ocorrem no feijoeiro, incitadas por fungos que sobrevivem no solo, são o mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), a podridão-cinzenta da haste (*Macrophomina phaseolina*) e as podridões de colo (*Sclerotium rolfsii*) (WENDLAND et al., 2016).

Quanto aos fungos de parte aérea, estes causam no feijoeiro doenças como atracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), mancha angular (*Pseudocercospora griseola*), ferrugem (*Uromyces appendiculatus*), oídio (*Eryiphe polygoni*) e mancha de alternaria (*Alternaria alternata*) (WENDLAND et al., 2016).

Entre as doenças bacterianas, Zambolin e Paula Júnior (2007) cita o crestamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) e a murcha de curtobacterium (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*).

Viroses como bean common mosaic virus (BCMV), bean golden mosaic virus (BGMV), bean rugose mosaic virus (BRMV), cowpea mild mottle virus (CpMMV) e southern bean mosaic virus (SBMV) possuem relevante importância em cultivos de feijoeiro (FIALLOS, 2010).

Quanto às doenças causadas em feijoeiro por nematoides, pode-se destacar a galha-das-raízes (*Meloidogyne* spp.) e nematóides-das-lesões (*Pratylenchus brachyurus*) (ZAMBOLIN; PAULA JÚNIOR, 2007).

Dentre tais doenças que prejudicam a cultura do feijoeiro, pode-se citar o mofo branco como aquela que vem atingindo grandes áreas produtoras de feijão no Brasil (MEYER; CAMPOS, 2009).

2.1.2 A Doença Mofo Branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary)

O mofo branco, incitado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, é uma doença comum nos cinco continentes, sendo provável sua ocorrência em todos os países. Vieira (1988) citou o mofo-branco como sendo uma enfermidade de baixa importância econômica devido à frequência com que aparecia nas lavouras e à magnitude das perdas de produção que ocasionava na década de oitenta. No Brasil, sua importância econômica aumentou nos últimos anos, particularmente em áreas de cultivo de feijoeiro no inverno sob irrigação via pivô central (GOMES et al., 2011).

O fungo causador da doença, *S. sclerotiorum*, é um patógeno polífago, que possui mais de 400 espécies hospedeiras, incluindo culturas economicamente importantes e muitas ervas daninhas, pertencentes a cerca de 278 gêneros botânicos (BOLAND; HALL, 1994). A infecção é favorecida por baixas temperaturas (18 a 22 °C), solo úmido e alta umidade relativa (WENDLAND et al., 2016).

A doença geralmente inicia-se em reboleiras na lavoura, principalmente nos locais de alta densidade e acamamento de plantas (ZAMBOLIN; PAULA JÚNIOR, 2007). Também conhecida por murcha de *Sclerotinia* e podridão aquosa, a enfermidade ocorre nos ramos, folhas e vagens, podendo ocasionar a morte da planta. Poucos dias depois da infecção inicial, densa massa branca do fungo, com aspecto de algodão, cresce dentro e na superfície dos tecidos colonizados. Logo, essa massa torna-se pequenos corpos duros, negros e de

forma irregular, que são os escleródios, os quais retornam ao solo com os resíduos da cultura e são responsáveis pela sobrevivência do fungo. Os escleródios podem permanecer no solo por até 11 anos, conservando intacto seu poder patogênico (LEITE, 2005).

Os escleródios são estruturas de resistência que permanecem no solo durante vários anos, mesmo que o feijoeiro não seja cultivado. Como estão na superfície ou enterrados no solo, dificilmente são alcançados pelos fungicidas. O enterro profundo de escleródios a 20 cm de profundidade é recomendado em áreas onde a densidade de escleródios é superior a 15 escleródios m⁻² (EMBRAPA, 2003), visto que apenas os escleródios que se encontram na superfície ou a 5 cm de profundidade são funcionais, pois as estipes dos apotécios raramente atingem mais do que 5 cm de altura (STEADMAN, 1983).

Os escleródios presentes no solo e nos restos de cultura podem ser disseminados pela água de irrigação, enxurradas e implementos agrícolas (ZAMBOLIN e PAULA JÚNIOR, 2007). Para controlar a doença, medidas que impeçam sua introdução devem ser rigorosamente obedecidas, pois, uma vez estabelecido na área, o fungo é de difícil erradicação (WENDLAND et al., 2016).

2.2 INTERAÇÕES PLANTA – PATÓGENO

Doença em planta é o resultado de uma interação dinâmica e irreversível entre o patógeno, o hospedeiro e o ambiente, produzindo alterações fisiológicas e frequentemente morfológicas na planta, podendo resultar em danos e, conseqüentemente, perdas (ZAMBOLIN e CHAVES, 2012). As interações entre as plantas e os fitopatógenos são de extremo interesse para a humanidade, uma vez que grande parte da economia mundial tem por base a utilização de espécies vegetais, as quais podem sofrer sérios danos em virtude do ataque de patógenos (BARBIERI e CARVALHO, 2001).

A presença de um agente patogênico na planta raramente resulta na ocorrência de doença se não houver condições de ambiente favorável ao mesmo (ZAMBOLIN; CHAVES, 2012). Isso porque, ao longo de sua evolução,

as plantas desenvolveram mecanismos de defesa contra patógenos, sendo que cada interação planta-patógeno resulta no estabelecimento de resistência ou patogênese (PASCHOLATI, 2011).

Dessa forma, classificam-se as interações em compatíveis e incompatíveis. Nas interações compatíveis, tem-se um patógeno virulento e um hospedeiro suscetível, resultando em doença. Já nas interações incompatíveis, tem-se um patógeno avirulento e um hospedeiro resistente, de modo que o sistema de defesa da planta é eficientemente ativado, conduzindo à resistência (CAMARGO, 2011).

2.3 CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS

A globalização revelou à humanidade, entre muitos, mais um problema: a contaminação ambiental (MACEDO; BREDOW, 2004). Ao idealizar uma propriedade baseada no sistema de monocultivo ou criação única, o agricultor, na maioria das vezes apoiado pelo técnico, percebe as doenças, insetos e parasitas como competidores, ameaçadores e inimigos, adotando medidas de eliminação imediata no primeiro aparecimento (BOFF, 2008).

Basicamente, essas medidas são utilizadas para conter o aumento populacional e manter a população de patógenos abaixo dos níveis de danos econômicos (YOKOYAMA, 1996). Nos últimos 100 anos, o controle e erradicação de doenças na agricultura tornou-se, cada vez mais, dependente de produtos químicos (AGRIOS, 2005). Esta atitude de erradicação utiliza produtos de alta persistência no ambiente e nos seres vivos, provoca o surgimento de outras pragas e doenças que podem ser mais graves que as primeiras, além de causar contaminação residual nos alimentos e riscos ao agricultor (BOFF, 2008).

O uso de herbicidas, fungicidas, inseticidas, acaricidas, bactericidas e antibióticos na agricultura convencional é realizado sem que sejam analisadas as causas fundamentais das doenças. Nesse caso o objetivo é se livrar dos

sintomas, mas a causa permanece (ANDRADE; CASALI, 2011). Esse processo, em que o sinal se ausenta mas a doença continua instalada, chama-se supressão. A patologia de plantas ocorre devido aos procedimentos supressivos que agem contrariamente ao princípio vital interiorizando sintomas que revelam a expurgação de tudo que impede o equilíbrio vital (LISBOA, 2006).

A supressão de sintomas com medicamentos alopáticos e com agrotóxicos aumenta continuamente o número de quadros patológicos, além de causar desequilíbrio crescente às plantas, tornando as espécies mais vulneráveis. Por isso, na agricultura convencional, se usa cada vez mais agroquímicos (LISBOA et al., 2005).

Embora perdesse o enfoque imediatista e consumista, a interferência nos ecossistemas deve ser a menor possível e os conjuntos naturais respeitados, de modo a manter os parasitas em níveis subeconômicos (PRIMAVESI, 1988). Nesse contexto, o maior desafio da fitopatologia no cenário mundial atual é reduzir as perdas e melhorar a qualidade dos alimentos, ao mesmo tempo em que se busca proteger o meio ambiente (AGRIOS, 2005). Surge, então, a necessidade de transitar por um caminho diferente, e adotar tecnologias de controle alternativo de doenças (BOFF, 2008).

Estas envolvem todas as estratégias disponíveis para manter a população dos patógenos abaixo do limiar de dano econômico e, ao mesmo tempo, minimizar os efeitos negativos no ambiente (ZAMBOLIN; PAULA JÚNIOR, 2007). O escape da doença, com o uso de controles alternativos, pode ser útil para o controle da mesma (HALFELD-VIEIRA et al., 2016).

2.3.1 Controle Alternativo de Doenças

De acordo com Paula Júnior et al. (2016), as práticas alternativas de agricultura são métodos modernos, desenvolvidos em sofisticado e complexo sistema de técnicas agrônômicas, cujo objetivo principal não é a exploração

econômica imediatista e inconsequente, mas sim, a exploração econômica em longo prazo, mantendo o agroecossistema estável e auto-sustentável.

Defensivos químicos conseguem manter a cultura livre do parasita, mas não conseguem curá-la. A cura e a força vital da planta é o que mantém suas funções em atividade harmônica (PUSTIGLIONE, 2004). São, também, a cura e a força vital, princípios do método de controle de doenças conhecido por homeopatia (ANDRADE; CASALI, 2011).

Não imediatista e sempre em busca do equilíbrio nos fenômenos naturais, a homeopatia surge como o controle alternativo mais pertinente nesses sistemas de produção, tendo em vista o equilíbrio ecológico das plantas cultivadas e do redor, ou seja, o equilíbrio do agroecossistema (CASALI et al., 2006).

A Seção 1 do Diário Oficial da República Federativa do Brasil, v. 99, nº 94, p. 11 a 44 de 19 de maio de 1999, normatiza a utilização das chamadas “práticas alternativas” que são utilizadas na obtenção de produtos agropecuários certificados como orgânicos, que foram produzidos livres de agrotóxicos. Dentre as práticas previstas e permitidas aos produtores, está incluída a utilização da homeopatia nos diversos setores da agropecuária. A homeopatia também é permitida pela FAO como técnica a ser utilizada em produtos orgânicos certificados (BONATO, 2007).

2.4 A HOMEOPATIA

Embora tenha relatado o fenômeno da semelhança e observado a inversão da ação de uma mesma droga de acordo com a dose, Hipócrates não aprofundou seus estudos sobre o princípio da similitude. Sendo assim, coube a Samuel Hahnemann demonstrá-lo clinicamente e firmá-lo como método terapêutico (FONTES, 2013). O princípio da similitude será descrito a seguir.

Segundo Nechar e Carneiro (2011), Samuel Hahnemann iniciou suas pesquisas em homeopatia em 1790, ao traduzir a *Matéria Médica* do médico

escocês Willian Cullen, na qual este atribuiu eficiência terapêutica da droga quina ao seu efeito tônico sobre estômago do paciente acometido de malária. Fazendo uma série de experiências em si mesmo, Hahnemann constatou que a quina produzia a mesma febre que pretendia aniquilar, quando ministrada em indivíduos sãos.

A partir da compilação dos sinais e sintomas que essas substâncias provocavam no homem sadio, decidiu fazer observações no homem doente, para confirmar se o princípio da similitude funcionava na prática (FONTES, 2013). Assim, o criador da medicina homeopática descobriu que as substâncias perdiam seu efeito tóxico quando diluídas, mas continuavam capazes de provocar os sintomas das doenças as quais pretendia curar (TOLEDO, 2009).

O trabalho “Ensaio sobre o novo princípio para se determinar virtudes curativas das substâncias”, escrito por Hahnemann em 1796 marcou o início da homeopatia (LISBOA, 2006). Este princípio denominado “A Lei dos Semelhantes” ou “Similitude”, veio a ser a primeira lei do tratamento que Hahnemann passou a desenvolver (TEIXEIRA, 2011a).

Hahnemann expõe assim lei da semelhança no § 25 do Organon da Arte de Curar:

“O medicamento cuja ação sobre o homem sadio produziu o maior número de sintomas semelhantes àqueles observados na doença que se pretende curar, quando aplicado em dose de atenuação e potência apropriadas tem também o poder de destruir rápida, radical e de modo permanente toda a doença, convertendo-a em saúde”.

No § 27, o autor completa a afirmação:

“Portanto, o potencial curativo das substâncias medicinais depende do fato de sua ação produzir sintomas semelhantes aos da doença e de ser superior em força. Dessa forma, cada caso individual de doença só é destruído e curado da forma mais segura, radical, rápida e permanente com o medicamento capaz de produzir, da forma mais semelhante e completa, a totalidade dos sintomas daquela doença e que ao mesmo tempo seja um

estímulo de categoria mais forte do que o que provoca a doença” (PUSTIGLIONE, 2004).

Na busca dos sintomas semelhantes, encontramos o medicamento mais indicado para cada paciente. Ao medicamento cuja patogenesia melhor coincidir com os sintomas apresentados pelo doente, dá-se o nome de *simillimum* (FONTES, 2013).

A base para a escolha do *simillimum* é a experimentação no homem sadio. Nela, a mesma substância é administrada a vários indivíduos saudáveis e então são descritos com precisão os sintomas surgidos, obtendo-se assim, o “retrato” de cada substância (LISBOA, 2006). Assim, a prescrição homeopática deve basear-se na comparação entre os sintomas apresentados pelo paciente e os sintomas que a droga a ser prescrita, sob a forma de medicamento, produziu em indivíduos sadios (TEIXEIRA, 2011a).

Hahnemann afirmava que o *simillimum* era suficiente em doses mínimas. No § 68 de seu *Organon* expõe sobre o princípio das doses mínimas: “no que diz respeito às curas homeopáticas, a experiência nos ensina que as doses extraordinariamente pequenas de medicamentos, são suficientes para vencer e remover doenças naturais semelhantes” (PUSTIGLIONE, 2004).

A maioria das substâncias medicamentosas potencialmente utilizáveis é altamente tóxica. Ciente disso, Hahnemann decidiu diluir as substâncias diminuindo a toxicidade, mas verificou redução proporcional do efeito terapêutico. Posteriormente, fez a grande descoberta: adicionar energia cinética às diluições pela sucussão, processo que foi denominado dinamização (TEIXEIRA, 2011b).

Assim, o criador da homeopatia passou a utilizar diluições infinitesimais e potencializadas pelas fortes agitações que imprimia na manipulação das soluções homeopáticas (FONTES, 2013). Dose mínima, portanto, é o princípio da diluição e da sucussão (BRASIL, 2011).

O princípio do medicamento único constitui um dos fundamentos mais importantes da homeopatia e o mais difícil de ser realizado na prática, pois

exige conhecimentos profundos da matéria médica homeopática (FONTES, 2013). Como as experimentações dos preparados homeopáticos eram feitas separadamente, visando não mascarar os efeitos no organismo sadio, na fase de tratamento, Hahnemann buscava individualizar ao máximo cada caso, tentando encontrar o medicamento único que corresponde ao maior número de sintomas do organismo (TEIXEIRA, 2011a).

Por fim, Hahnemann, em seus estudos, descreveu quatro princípios básicos para a ciência homeopática: lei da semelhança, experimentação no organismo sadio, medicamento único e dose mínima (BATELLO, 2016).

As soluções homeopáticas, comprovadamente, exercem a função de medicamentos de ação curativa, assim como medicamentos de ação preventiva (CARNEIRO et al., 2011). Estes são preparados na escala centesimal, decimal e cinquenta milesimal, a partir da forma farmacêutica básica ou da própria droga, diluída em insumo inerte, utilizando-se água e álcool (etanol) na solubilização das drogas solúveis e lactose para as insolúveis (BRASIL, 2011).

No Brasil a homeopatia chegou em 1840 com o médico Benoit Mure. Porém, a utilização de preparos homeopáticos não é exclusividade médica. Seu uso na agricultura iniciou-se com a orientação do filósofo austríaco Rudolf Steiner em ciclo de palestras proferidas a agricultores na cidade de Koberwitz na Alemanha em 1942 (LISBOA et al., 2005). Apesar de ainda ser incipiente, o uso da homeopatia em vegetais e animais está crescendo ano após ano (BONATO, 2007), sendo que os preparados homeopáticos já são amplamente ministrados em animais, no solo e nos vegetais (CASALI et al., 2011).

2.4.1 A Homeopatia no Controle de Doenças em Plantas

Por se fundamentar em processos holísticos, a ciência homeopática é aplicável a todos os seres vivos (NECHAR, 2011). Hahnemann afirmava “se as leis da natureza que proclamo são verdadeiras, então elas podem ser aplicadas a todos os seres vivos”. Está aí o maior aval dado pelo próprio idealizador da

homeopatia de modo que se possa utilizar a ciência homeopática em qualquer organismo vivo, inclusive em vegetais (BONATO, 2007).

A homeopatia é reconhecida como o campo do conhecimento de grande potencial dentro da visão moderna da qualidade alimentar e da biossegurança, pelo fato da tecnologia homeopática não deixar resíduos no ambiente, assim como nos alimentos de origem vegetal ou animal. Proporciona recursos e melhoria no metabolismo das plantas, ativando reações envolvidas na produção de enzimas relacionadas com o mecanismo de defesa no organismo (LISBOA et al., 2005).

Pela ciência da homeopatia, a causa do adoecimento dos sistemas vivos são os procedimentos supressivos que agem contrariamente ao princípio vital, interiorizando sintomas que revelam a expurgação de tudo que afeta o equilíbrio vital (WASSENHOVEN, 2007). No organismo com baixa vitalidade, após o sintoma ser suprimido, surge o estado mais debilitado, mais adoecido, mais profundamente desequilibrado e mais grave que o anterior (LISBOA et al., 2005).

Este desequilíbrio na energia vital, ao somatizar-se, resulta em planta doente ou, no mínimo, com distúrbio fisiológico, o qual pode levar a planta à morte ou reduzir-lhe a produtividade. Entretanto, quando se aplica alguma solução homeopática capaz de produzir os mesmos sintomas na planta, a resultante será a minimização dos efeitos maléficos ocasionados na energia vital pelos fatores bióticos e abióticos (BONATO, 2007) e a restauração do equilíbrio ao estimular o sistema de defesa das plantas, de modo que estas resistam às doenças e pragas, combatendo com seus próprios meios os vírus, fungos, bactérias e outros tipos de agentes (CARNEIRO, 2011).

Dentre as medidas a serem adotadas contra doenças fúngicas no sistema de produção vegetal, a homeopatia é citada como conduta aprovada em inúmeras pesquisas (LEONEL; BARROS, 2013; RISSATO et al., 2016; TOLEDO et al., 2009, 2015). No entanto, ao contrário dos médicos, que dispõem das matérias médicas e repertórios para a escolha da solução

homeopática mais adequado para o paciente, os agrônomos não dispõem de uma matéria médica vegetal homeopática com sintomas observados em vegetais (CARNEIRO et al., 2011), o que dificulta imensamente os trabalhos referentes à essa linha de pesquisa. Nesse caso, a alternativa mais eficaz para a escolha do medicamento seria a utilização de analogias entre os sintomas descritos na Matéria Médica Humana e aqueles apresentados pelos vegetais adoecidos (RISSATO et al., 2016).

Para tanto, quanto maior o nível de evidência para o sintoma ligado a um medicamento, maior a influência do medicamento no organismo ao qual será administrado, e mais chance o medicamento usado tem de cura. (WASSENHOVEN, 2007). Muitos pesquisadores, ao utilizar a analogia na escolha de seus medicamentos de estudo, vêm obtendo eficácia em suas experimentações. Entretanto, deve-se considerar que os organismos são muito diferentes, inclusive quando se considera sua origem na escala filogenética (BONATO, 2007). Portanto, em qualquer pesquisa, é fundamental analisar diferentes dinamizações para que se identifiquem, efetivamente, modificações morfológicas e fisiológicas nos metabolismos primário e secundário, e a resposta a estresses ambientais (MATTOS et al., 2011).

Em 1999, a homeopatia foi reconhecida pela Instrução Normativa nº 7, como insumo agrícola (BRASIL, 1999). Desde então, muitas experiências de uso da homeopatia em vegetais vem sendo realizadas em vários locais do Brasil (LISBOA et al., 2005), e, atualmente, verifica-se que a atuação das substâncias homeopatizadas ocorre em qualquer tipo de sistema biológico e para qualquer variável desejada, seja ela de caráter bioquímico (ANDRADE et al., 2012; ANDRADE; CASALI, 2011), morfológico (GRISA et al., 2007; TOLEDO et al., 2015) ou fisiológico (DEBONI et al., 2008).

Andrade et al. (2012), ao utilizarem um preparado homeopático feito da própria planta, perceberam aumento significativo de até 77% na concentração de compostos ativos nos tecidos das plantas de chambá (*Justicia pectoralis*). Além de interferirem na fisiologia da planta, as soluções homeopáticas podem

também ativar os mecanismos de defesa vegetal. Oliveira et al. (2014) constatou que homeopatas de *Corymbia citriodora*, *Calcarea carbonica*, *Silicea* e *Sulphur* apresentaram potencial na elicitação de peroxidase, catalase, quitinase, β -1,3-glucanase e fitoalexinas.

Dessa forma, os preparados homeopáticos podem proporcionar melhoria no metabolismo vegetal ao induzir a ativação de mecanismos de defesa latentes, denominados eliciadores (STANGARLIN et al., 2011).

A inserção da homeopatia na agricultura, como prática geral, é uma alternativa que tem como objetivo levar saúde ao meio rural. Como primeira consequência tem-se em vista o abandono do uso de agrotóxicos. Ao adotar os princípios da Homeopatia e as leis de cura, o agricultor vai contribuir para a produção de alimentos sem resíduos tóxicos (ANDRADE; CASALI, 2011).

Partindo desses conhecimentos e experimentações, comprova-se a eficácia das substâncias homeopatizadas em qualquer tipo de sistema biológico, seja ele animal ou vegetal. Tal conhecimento abriu possibilidades para a utilização da homeopatia na agricultura, como um tratamento mais saudável de plantas adoecidas (BOFF, 2009) possibilitando, ainda, a melhoria da produção de plantas por meio da indução de resistência, como por exemplo, estimulando a produção de metabólitos secundários.

Como o próprio pai da homeopatia afirma no § 24 do Organon da Arte de Curar:

“Portanto, não resta outro modo de empregar com eficácia os medicamentos contra as doenças além do homeopático. Nele, através de uma totalidade sintomática da doença, buscamos uma substância medicinal que tenha poder e tendência de produzir o estado mórbido artificial mais semelhante ao caso patológico em questão” (PUSTIGLIONE, 2004).

2.5 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

Assume-se, em Fitopatologia, que resistência é regra e suscetibilidade é

exceção (ROMEIRO, 1999), sendo que a resistência de um hospedeiro a uma doença pode ser definida, sob o aspecto fisiológico, como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos, o que só é possível devido aos mecanismos de resistência da mesma (AGRIOS, 2005).

Tais mecanismos são ativados perto da área infectada para tentar prevenir a difusão do patógeno (MARGIS-PINHEIRO et al., 1999). Os mesmos são subdivididos em duas categorias: pré-formados, que são constitutivos; e pós-formados, que são induzíveis. Em ambas as categorias, os fatores são subdivididos em estruturais e bioquímicos (PASCHOLATI, 2011):

- Pré-formados:
 - Estruturais: cutícula, tricomas, estômatos e fibras/vasos condutores.
 - Bioquímicos: fenóis, alcalóides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, fototoxinas e inibidores protéicos.
- Pós-formados:
 - Estruturais: papilas, halos, lignificação, camadas de cortiça e tiloses.
 - Bioquímicos: fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese.

Os mecanismos estruturais, sejam eles pré ou pós-formados, constituem-se em barreiras físicas à penetração ou colonização do patógeno. Por sua vez, os mecanismos bioquímicos englobam substâncias capazes de inibir o desenvolvimento do patógeno ou gerar condições adversas para a sobrevivência nos tecidos do hospedeiro, de tal maneira que mudanças na concentração de tais substâncias impliquem em alteração da expressão da doença (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

Atualmente, a possibilidade da ativação dos genes responsáveis por esses mecanismos de resistência vegetal a patógenos, possibilitou avanços nos estudos envolvendo a resistência induzida em plantas (PASCHOLATI, 2011), a

qual já foi conclusivamente demonstrada no século XX e representa um importante passo para as novas estratégias de controle e manejo de doenças (BARROS et al., 2010).

O fenômeno da resistência induzida envolve a ativação dos mecanismos latentes de defesa da planta por meio de tratamentos externos, os quais podem ser bióticos ou abióticos (CAVALCANTI et al., 2005). Tais mecanismos atuam juntos na indução dos genes de defesa, formando uma complexa rede de sinalização que leva a planta a resistir ao agente agressor (MARGIS-PINHEIRO et al., 1999). Essa indução resulta em diferentes alterações fisiológicas, tais como: explosão oxidativa levando a formação de espécies reativas de oxigênio (RESENDE et al., 2003), a ativação/produção de enzimas relacionadas à defesa da planta (FERREIRA et al., 2007) ou produção de substâncias antimicrobianas, tais como as fitoalexinas (PEITER-BENINCA et al., 2008).

2.5.1 Espécies Reativas de Oxigênio

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são moléculas reduzidas, transitórias e altamente reativas, produzidas no caminho metabólico de transformação do oxigênio molecular (O_2) a água (H_2O) (PASCHOLATI, 2011). As EROs podem ocorrer na forma de oxigênio singleto (1O_2), radical hidroxila ($OH^{\circ-}$), ânion superóxido ($O_2^{\circ-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (MITLER, 2002).

Normalmente, os níveis de EROs são baixos nas células vegetais (MARGIS-PINHEIRO et al., 1999), mas podem se acumular rapidamente no início do processo infeccioso, fenômeno conhecido como explosão oxidativa (PASCHOLATI, 2011). A explosão oxidativa é uma resposta de defesa da planta após o reconhecimento do patógeno, conduzindo à reação de hipersensibilidade (MITLER, 2002). Superóxido ($O_2^{\circ-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) são as espécies reativas de oxigênio mais importantes, e se acumulam

rapidamente em resposta a estresses, sejam eles bióticos ou abióticos (GILL et al., 2010).

Espécies reativas de oxigênio agem isoladamente ou em conjunto desencadeando diversas reações dentro das células e seus tipos e níveis são fatores determinantes para o tipo de resposta (SOARES et al., 2007). Tradicionalmente, essas moléculas eram consideradas tóxicas (MITTLER, 2002), porém, apesar de sua natureza destrutiva, as espécies reativas de oxigênio podem ser utilizadas de maneira benéfica pelas plantas (BREUSEGEM et al., 2001), atuando diretamente sobre o patógeno, reforçando a parede celular da planta e fortalecendo a integridade da membrana plasmática (PASCHOLATI, 2011).

Nos últimos anos, tornou-se ainda mais evidente que as EROs podem agir como moléculas sinalizadoras que ativam múltiplas respostas de defesa, de modo que o nível e o tipo das mesmas são fatores determinantes para o tipo de resposta. (SOARES et al., 2007). No entanto, altos níveis de EROs podem danificar as plantas (ZHAO et al., 2016) ao impedirem o desenvolvimento da atividade biológica, matando não somente o patógeno, como a própria célula vegetal (STINTIZI et al., 1993). Em baixas concentrações, EROs induzem genes de defesa e resposta adaptativa. Em altas concentrações, levam a um programa de morte celular controlado geneticamente (BREUSEGEM et al., 2001).

Para evitar a explosão de oxidação, complexos mecanismos de proteção foram desenvolvidos pelas plantas (ZHAO et al., 2016) para detoxificar eficientemente essas espécies reativas de oxigênio (RESENDE et al., 2003). Um dos mecanismos que a célula dispõe para dismutar radicais livres produzidos em condição de estresse é a ativação de enzimas antioxidativas, dentre elas a superóxido dismutase (SOD, E.C. 1.15.1.1), a ascorbato peroxidase (APX, E.C. 1.11.1.11), a catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6) e a peroxidase (POX, E.C. 1.11.1.7) (MITTLER, 2002). Estas enzimas operam em diferentes compartimentos celulares e respondem em conjunto quando as

células são expostas ao estresse oxidativo (SHARMA et al., 2012).

2.5.2 Enzimas Relacionadas à Defesa

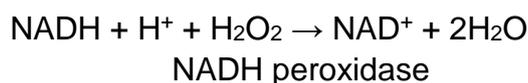
Das alterações decorrentes da interação planta-patógeno, a síntese de proteínas relacionadas à patogênese (*pathogenesis related proteins*, PR-*proteins* ou proteínas-RP) talvez seja a mais evidente (BARROS et al., 2010). O conceito “proteína relacionada à patogênese” foi criado em 1980 para designar qualquer proteína sintetizada pela planta hospedeira, porém, induzida apenas em situações de interação com patógenos (ANTONIOW et al., 1980).

De acordo com as sequências similares de codificação, relações sorológicas e/ou atividades enzimáticas, as proteínas-RP tem sido agrupadas em famílias. Atualmente, são 17 famílias de proteínas-RP, numeradas de acordo com a sequência de descoberta, sendo que a função de muitas ainda é desconhecida (PASCHOLATI, 2011). De modo geral, sabe-se que elas protegem os tecidos vegetais do ataque de insetos e patógenos (BARROS et al., 2010).

Diante do exposto, o estudo de enzimas, sejam elas enzimas antioxidativas ou relacionadas à patogênese, é fundamental na fitopatologia, visto que, praticamente, todas as respostas da planta envolvem processos metabólicos, os quais são regulados por diversos complexos enzimáticos (BROETTO, 2014). À esses processos inclui-se a resistência sistêmica induzida, a qual possibilita o surgimento de novas estratégias de controle e manejo de doenças. A aplicação dessa nova tecnologia reduz o uso dos defensivos tradicionais, o que vem de encontro com a preocupação mundial no que diz respeito à preservação do meio ambiente e redução da poluição (BARROS et al., 2010).

2.5.2.1 Peroxidases (POX, E.C 1.11.1.7)

As peroxidases (POX) produzidas pelas plantas pertencem à família PR-9 (MARTINS, 2008). São enzimas da classe III, de natureza glicoproteica, localizadas nos vacúolos e nas paredes celulares (PASSARDI et al., 2005). As POXs possuem uma variedade de isoformas e utilizam diferentes redutores (BROETTO, 2014). Entre as várias isoenzimas de POX em plantas, inúmeras são induzidas por infecção patogênica e/ou injúrias, sugerindo a importância das POXs em sistemas de autodefesa (HIRAGA et al., 2001). Tais enzimas eliminam algumas espécies reativas de oxigênio que são formadas, principalmente, em resposta ao ataque de insetos ou fitopatógenos (NASCIMENTO; BARRIGOSI, 2014), de modo que a reação clássica das POXs é a oxidação do H₂O₂ (HIRAGA et al., 2001).

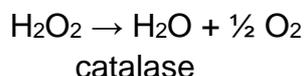


Devido ao grande número de isoformas, as POXs estão envolvidas em uma ampla variedade de processos fisiológicos de todo o ciclo de vida da planta (VAN LOON; VAN STREIN, 1999). Embora seja um desafio determinar as funções específicas, há aproximadamente 100 isoenzimas de POX presentes em uma única espécie de planta (HIRAGA et al., 2001). Sabe-se que as POXs atuam na lignificação de tecidos (WHETTEN et al., 1998), suberização (ESPELIE, 1986), catabolismo de auxinas (LEWIS, 1980), formação e reticulação de componentes da parede celular (FRY, 1986) e autodefesa das plantas contra patógenos (HAMMERSCHMIDT et al., 1992).

2.5.2.2 Catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6)

Entre as enzimas antioxidantes, a catalase (CAT), que foi a primeira enzima a ser descoberta e caracterizada (SHARMA et al., 2012), tem sido associada, principalmente, à remoção de H₂O₂ de peroxissomos, convertendo-o em H₂O e O₂ (RESENDE et al., 2003). Possui o mais alto

número de turnover (Kcat) conhecido em enzimas, de modo que uma molécula pode catalisar a decomposição de até 40.000.000 de moléculas de peróxido de hidrogênio por segundo (BROETTO, 2014):



O H_2O_2 está relacionado à inúmeras condições de estresse da planta (SHARMA et al., 2012). Enquanto as células das plantas estão gerando H_2O_2 através de processos catabólicos, a CAT é capaz de degradá-lo de forma eficiente em termos energéticos, visto que não requer o uso de qualquer poder redutor, resultando em um ganho líquido de energia celular (MALLICK; MOHN, 2000). Portanto, em suma, as CATs funcionam como um canal de limpeza do H_2O_2 celular (BREUSEGEM et al., 2001).

Todas as espécies de angiospermas já estudadas possuem três tipos de CAT (SHARMA et al., 2012). Sendo assim, para melhor compreensão e estudo, Willekens et al. (1997) propuseram uma classificação para as mesmas: CATs da classe 1 são expressas em tecidos fotossintéticos e reguladas pela luz, nos quais removem o H_2O_2 produzido durante a fotorespiração; CATs da classe 2 são produzidas em níveis elevados nos tecidos vasculares e podem exercer uma função de lignificação mas, sua exata função biológica permanece desconhecida; e na classe 3 estão as CATs presentes abundantemente em sementes e plantas jovens, e cuja atividade está relacionada à remoção do H_2O_2 produzido durante a degradação dos ácidos graxos no glioxissoma.

2.5.2.3 Fenilalanina amônia-liase (FAL, EC 4.3.1.5)

A fenilalanina amônia-liase (FAL), enzima chave na rota dos fenilpropanoides (STANGARLIN et al., 2011), é um dos fatores limitantes para a síntese de compostos fenólicos pela planta (NICHOLSON; HAMMERSHMIDT, 1992), de modo que sua atividade é diretamente proporcional à síntese de

compostos fenólicos (CAMM; TOWERS, 1973), além de ser considerada a enzima mais relevante para a biossíntese de fitoalexinas e lignina (KALAIARASAN, 2009).

Essa enzima é responsável pela desaminação da L-fenilalanina, transformando-a em ácido *trans*-cinâmico e amônia (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008), desencadeando uma série de reações metabólicas que gera inúmeros produtos baseados em fenilpropanos, incluindo a lignina, certos pigmentos e protetores contra luz ultravioleta (MARGIS-PINHEIRO et al., 1999). A produção dessa enzima é regulada durante o crescimento vegetal, mas é também induzida em células vizinhas ao local de infecção e por vários estímulos ambientais, tais como: infecção, ferimentos, contaminação por metais pesados, luz e reguladores de crescimento (MARGIS-PINHEIRO et al., 1999).

Tal enzima está situada em um ponto de ramificação entre os metabolismos primário e secundário, onde catalisa reações responsáveis pela formação de muitos compostos fenólicos (TAIZ; ZEIGER, 2009), tornando-se, portanto, enzima chave do metabolismo dos fenilpropanóides na grande maioria das plantas, nas quais se destaca por atuar em resposta às infecções, regulando o acúmulo de fenóis (STRACK, 1997).

Sendo assim, fitopatologistas têm estudado a atividade de FAL em interações planta-patógeno, pois, devido à sua atuação na indução de resistência (KUHN, 2007), importância nas reações do metabolismo dos compostos fenólicos, estabilidade e facilidade de preparo dos ensaios enzimáticos, a FAL é a enzima do metabolismo secundário mais estudada (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

2.5.2.4 β -1,3-glucanases (β -GASE, EC 3.2.1.39)

As β -1,3-glucanases (β -GASE) são enzimas que hidrolisam ligações glicosídicas do tipo β -1,3 presentes em β -D-glucanas, liberando glicose como

produto principal. Podem ser produzidas por diferentes organismos, tais como bactérias (FLEURY; SATO, 2008), fungos filamentosos e leveduriformes (NORONHA; ULHOA, 2000), plantas superiores e alguns invertebrados (MARKOVICH; KONONOVA, 2003), apresentando amplas aplicações biotecnológicas (BAUERMEISTER et al., 2010).

Em fitopatologia, as β -GASEs são fatores de defesa bioquímicos pós-formados (PASCHOLATI, 2011) e classificam-se como proteínas relacionadas à patogênese pertencentes à Família PR-2 (VAN LOON et al., 2006). Ocorrem normalmente nas plantas, onde atuam na defesa das mesmas contra patógenos, uma vez que hidrolisam β -1,3-glucana, principal constituinte da parede celular fúngica (PASCHOLATI, 2011), liberando fragmentos glicosídicos, tanto do patógeno, quanto da parede celular da própria planta, que atuam como eliciadores de defesa do hospedeiro (CUTT; KLESSIG, 1992).

De modo geral, β -GASES exibem formas básicas, que ocorrem intracelularmente, e ácidas, que ocorrem extracelularmente (MARTINS, 2008). Sendo assim, baseando-se nas reações de hidrólise catalizadas por β -1,3-glucanases, tais enzimas são classificadas em exoglucanases e endoglucanases (PANG et al., 2004), de modo que a maioria apresenta atividade de endoglucanase (MARTINS, 2008).

2.5.3 Fitoalexinas

As fitoalexinas são classificadas como fatores de resistência bioquímicos pós-formados (PASCHOLATI, 2011), visto que são sintetizadas em resposta ao ataque de patógenos e, geralmente, em áreas próximas do local de infecção (BRAGA, 2008). Dessa forma, representam um mecanismo de defesa significativo para muitas espécies vegetais (LO et al., 1996), as quais pertencem a mais de 31 famílias, envolvendo desde arbustos até árvores (PASCHOLATI, 2011).

De modo geral, as fitoalexinas são compostos antimicrobianos de baixa massa molecular, sintetizadas e acumuladas nas plantas após estresses físicos, químicos ou biológicos, capazes de reduzir ou impedir a atividade de agentes patogênicos (PASCHOLATI, 2011), atuando de forma direta sobre os mesmos e gerando a lesão típica da reação de hipersensibilidade (*hypersensitive reaction* ou HR) (MARGIS-PINHEIRO et al., 1999).

Em suma, as fitoalexinas causam a morte do tecido vegetal infectado (BRAGA, 2008), bem como granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas (LO et al., 1996). Tais efeitos resultam na inibição da germinação e da alongação do tubo germinativo de fungos, bem como reduzem ou, até mesmo, inibem o crescimento micelial e o acúmulo de matéria seca dos mesmos (PASCHOLATI, 2011).

2.5.3.1 Faseolina

A fitoalexina faseolina é o principal mecanismo de defesa do feijoeiro (DURANGO et al, 2002) e foi primeiramente detectada pelo pesquisador australiano Müller (1958). Desde então, inúmeros trabalhos já comprovaram a sua indução em plantas, bem como seu caráter supressor à fitopatógenos.

Brand et al. (2010) descreveram a indução de faseolina em feijoeiro por extrato de alho. Blume et al. (2011) verificaram que quando expostos ao extrato aquoso de guaco, hipocótilos de feijoeiro apresentaram potencial de produzir fitoalexina faseolina. Oliveira (2011) constatou que homeopantias de *Eucalyptus citriodora* apresentaram potencial na elicitação de faseolina em hipocótilos de feijoeiro.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DO ISOLADO DE *Sclerotinia sclerotiorum*

Para condução dos ensaios, o isolado de *S. sclerotiorum* foi obtido a partir de escleródios coletados em lavoura de soja, no município de Guarapuava/PR (25°23'36" S, 51°27'19" W). Os mesmos foram repicados em placas de Petri (Figura 1) contendo o meio de cultivo batata-dextrose-ágar (BDA).

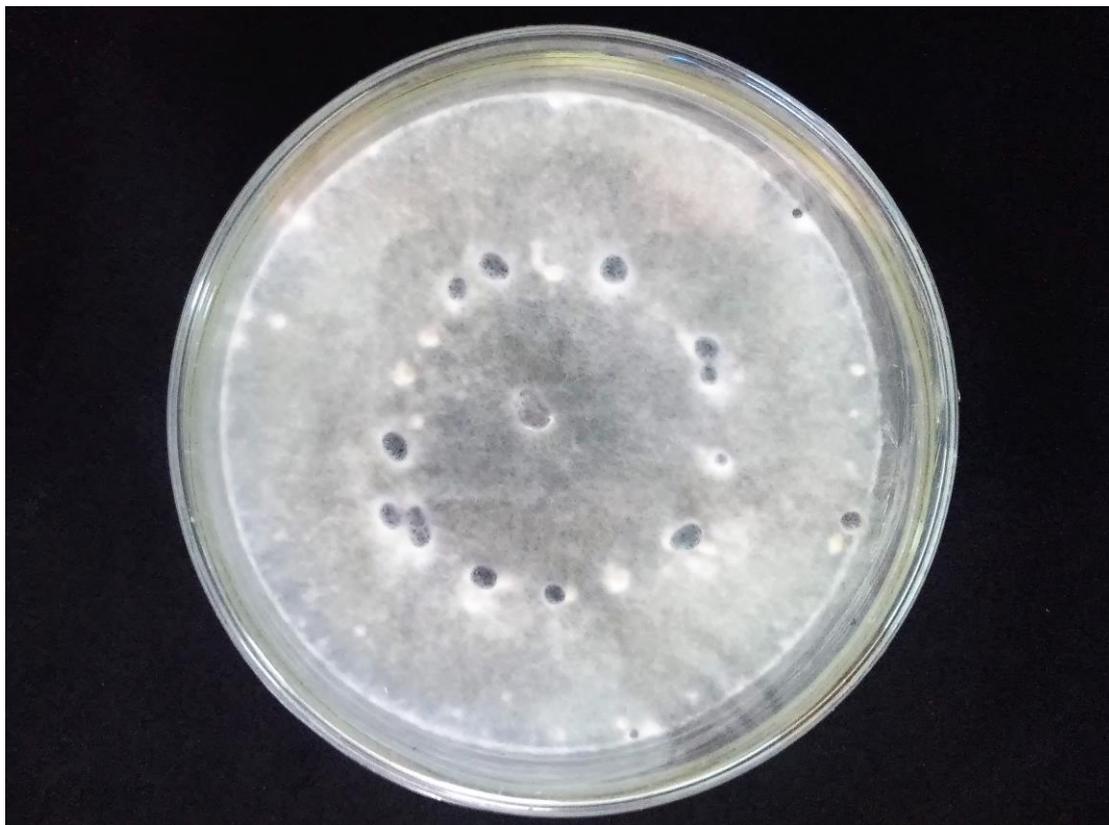


Figura 1- Placa de Petri com meio de cultivo BDA contendo colônia de *S. sclerotiorum* proveniente de escleródio. Fonte: a autora.

3.2 ESCOLHA DAS SOLUÇÕES HOMEOPÁTICAS

Os medicamentos homeopáticos utilizados neste trabalho foram selecionados por repertorização, utilizando o programa computacional HomeoPro e escolhidos com o auxílio da Matéria Médica Homeopática (BOERICK, 2003). Para isso, consideraram-se os sintomas da planta infectada

por *S. sclerotiorum* bem como as condições ambientais que favorecem a sua ocorrência, que foram: lesões profundas na epiderme; principalmente nos membros inferiores; e debilidade e clorose da planta favorecidos por alta umidade (RISSATO et al., 2016).

No Manual de Matéria Médica Homeopática (BOERICKE, 2003), descreve-se o indivíduo de *Calcarea carbonica* como aquele que é sensível à luz, assim como o patógeno *S. sclerotiorum*; que possui pele com verrugas e erupções difíceis de cicatrizarem, análogas aos sintomas apresentadas pela planta incitada pelo fungo; e que apresenta dificuldade para engolir, bem como a planta para observar água e nutrientes. Já *Phosphorus* é indicado para indivíduos que apresentam degeneração dos vasos sanguíneos, lesões na pele e quadro metabólico destrutivo. Dessa forma, foram escolhidos os medicamentos *Phosphorus* e *Calcarea carbonica*.

Com base em pesquisas já realizadas, que apresentaram respostas positivas na resistência induzida em plantas contra patógenos por soluções ultradiluídas (MODOLON et al., 2012; RISSATO et al., 2016; TOLEDO et al., 2009; VIECELLI et al., 2013; ZIBETTI et al., 2009;), foram escolhidas para este trabalho as dinamizações 6CH, 12CH, 24CH, 36CH e 48CH (centesimal hahnemaniana). Considerou-se como tratamento controle a solução hidroalcoólica (etanol 30%) sem sucussão, por se tratar do diluente no preparo dos referidos medicamentos.

Por ocasião das aplicações, todos os medicamentos, incluindo o tratamento controle, foram diluídos em água destilada na proporção de 0,1%, conforme Bonato et al. (2009).

3.2.1 Preparo das Soluções Homeopáticas

Os medicamentos *Calcarea carbonica* e *Phosphorus* foram obtidos em farmácia homeopática na dinamização 6CH e manipulados em 12, 24, 36 e 48CH no Laboratório de Homeopatia do Centro de Apoio e Promoção da

Agroecologia (CAPA), de acordo com a Farmacopéia Homeopática Brasileira (Brasil, 2011), diluindo 1:100 e sucussionando 100 vezes. Seguiu-se a diluição pluralista proposta por Hahnemann, em que se utiliza um frasco para cada diluição (Figura 2) e a sucção é feita em movimentos unidirecionais, sequenciais e verticais contra um anteparo firme, porém, flexível.



Figura 2 - Frascos âmbar utilizados para a confecção de um das soluções homeopáticas. Fonte: a autora.

Por ocasião da sucussão, o frasco apresentou 1/3 de seu volume vazio para permitir um movimento único e a conseqüente mistura adequada entre a matéria prima e o insumo inerte. Cabe mencionar que é importante que o líquido tenha um movimento uniforme no interior do frasco, pois, tal processo energiza o medicamento por permitir que as moléculas se aproximem. Tal fato ocorre devido a uma interação entre as moléculas que as atraem e mantêm unidas. Quanto maior a força de tal atração, maior a coesão entre as moléculas do medicamento.

Nas soluções homeopáticas essa ligação é do tipo dipolo, ou seja, é permanente e se acumula, e pode ser explicada pela teoria de Van der Waals, segundo a qual a distância entre as moléculas é inversamente proporcional à força de atração entre as mesmas e ao número de dinamizações pelo qual

passou o medicamento. Portanto, a diluição e a sucção reduzem a distância entre as moléculas, pois a força que atrai a matéria é alta, e o medicamento, portanto, se torna mais energético.

3.3 ENSAIOS *in vitro* PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

O experimento para a determinação da atividade antifúngica das soluções homeopáticas foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Unioeste, *campus* de Marechal Cândido Rondon, em delineamento inteiramente casualizado, sendo composto por dois ensaios. O primeiro ensaio foi realizado com o medicamento *Phosphorus* e o segundo com o medicamento *Calcarea carbonica*, ambos dinamizados em 6, 12, 24, 36 e 48 CH, com um controle e cinco repetições. Considerou-se como controle o tratamento com solução hidroalcoólica (30%).

Os medicamentos, nas devidas dinamizações, foram incorporados em erlenmeyers contendo meio de cultura BDA, na concentração de 0,1% (BONATO, 2007) e a mistura vertida em placas de Petri previamente autoclavadas. Todo processo ocorreu no interior da câmara de fluxo laminar (Figura 3).



Figura 3 - Materiais utilizados para o preparo do ensaio in vitro. Fonte: a autora.

Após a completa solidificação do meio de cultura, cada placa de Petri recebeu um disco de 7 mm de diâmetro contendo micélio da colônia pura de *Sclerotinia sclerotiorum* em seu centro sendo, posteriormente, vedadas com filme plástico e mantidas a 25 °C na ausência de luz.

3.3.1 Crescimento Micelial

Para a avaliação do crescimento micelial, medições diárias foram realizadas pelo método das medidas diametralmente opostas, iniciando 24 h após a instalação do experimento e perdurando até o momento em que as colônias fúngicas atingiram os bordos da placa de Petri. Após o final do experimento calculou-se a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM), de acordo com equação adaptada de Shaner e Finney (1977).

3.3.2 Produção de Escleródios

Trinta dias após a montagem do teste de crescimento micelial, o número de escleródios por placa de Petri foi contado. Para avaliar-se a inibição de produção de escleródios pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, submeteu-se os dados coletados à seguinte fórmula:

$$IPE = \frac{\mu \text{ Testemunha} - \mu \text{ Tratamento}}{\mu \text{ Testemunha}} * 100$$

Onde:

IPE= Inibição de produção de escleródios (%);

μ Testemunha= Número médio de escleródios do tratamento controle;

μ Tratamento= Número médio de escleródios do tratamento de interesse.

3.4 BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

3.4.1 Severidade da Doença

O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada em delineamento experimental inteiramente casualizado, com um total de quatro ensaios com seis tratamentos e cinco repetições cada. Os dois primeiros ensaios foram conduzidos paralelamente nos meses de junho e julho de 2016. O tratamento *Phosphorus*, em suas respectivas dinamizações, foi utilizado em um dos ensaios e, do mesmo modo, *Calcareea carbonica* no outro. Os dois ensaios subsequentes foram conduzidos de forma semelhante aos anteriores, nos meses de novembro e dezembro de 2016, a fim de confirmar os resultados obtidos no primeiro ciclo de cultivo.

Sementes de feijão variedade IAC Alvorada foram sanitizadas em álcool 70% por 1 minuto e em solução de hipoclorito de sódio (3:1) por 2 minutos, sendo, após, lavadas em água destilada. As sementes foram

dispostas equidistantemente no interior de caixas de acrílico tipo gerbox® e sobre três folhas de papel tipo germitest® umedecidas com água destilada autoclavada.

As sementes de feijão foram mantidas em germinador tipo B.O.D. (*Biochemical oxygen demand*) a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas, e retiradas para a semeadura definitiva após três dias. Foram selecionadas para o plantio aquelas sementes que se apresentavam livres de patógenos e com a radícula completa e proporcional, conforme o manual de Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Por ocasião do plantio foram utilizados vasos com capacidade para 1 L contendo a mistura solo, areia e matéria orgânica na proporção de 2:1:1 esterilizados em autoclave a 120 °C por 60 minutos. Foram implantadas cinco plântulas de feijão por vaso, distanciadas 2 cm entre si. Assim que estavam com as primeiras folhas verdadeiras completamente expandidas (Figura 4), fez-se o raleamento a fim de se deixar duas plantas por vaso.



Figura 4 - Plantas em estágio fenológico V1. Fonte: a autora.

Assim que as plantas apresentaram o primeiro trifólio completamente expandido (estádio V2) inoculou-se dois segmentos de vagens de feijão com, aproximadamente, 2 cm de diâmetro repletos de micélio de *S. sclerotiorum* no colo de cada planta, os quais não foram cobertos por solo. Os tratamentos foram administrados três dias antes da inoculação, no dia da inoculação, três, dez e 17 dias após a inoculação, sendo aplicados na planta e sobre o solo, na concentração de 0,1% em água destilada, por aspersão.

As medições diárias das lesões causadas por *S. sclerotiorum* iniciaram-se concomitantemente ao surgimento dos primeiros sintomas no colo das plantas (Figura 5) com o auxílio de um paquímetro, cessando apenas por ocasião da morte das plantas controle. Os valores para área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de cada tratamento estudado foram obtidos através da equação de Shaner e Finney (1977).



Figura 5 - Sintomas da doença mofo branco em feijoeiro. Fonte: a autora.

3.4.2 Porcentagem de Plantas Mortas

A avaliação da mortalidade das plantas pela doença mofo branco ocorreu ao término dos ensaios e foi realizada através da contagem de plantas mortas por tratamento. Os valores para Porcentagem de Plantas Mortas (P.P.M.) foi obtido através da equação:

$$PPM = \frac{NPM}{NTP} * 100$$

Onde:

P.P.M.= Porcentagem de plantas mortas do tratamento em questão;

NPM= Número de plantas mortas no tratamento;

NPT= Número total de plantas no tratamento.

3.4.3 Produção de Fitoalexina

O experimento para determinação da indução da fitoalexina faseolina pelas soluções homeopáticas foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Unioeste, *Campus* de Marechal Cândido Rondon, em delineamento inteiramente casualizado composto por dois ensaios. O primeiro foi realizado com o medicamento *Phosphorus* e o segundo com o medicamento *Calcarea carbonica*, ambos dinamizados em 6, 12, 24, 36 e 48 CH, com um controle (solução hidroalcoólica 30%) e cinco repetições.

Sementes de feijão variedade IAC Alvorada foram sanitizadas em álcool 70% por 1 min e em solução de hipoclorito de sódio (3:1) por 2 min, respectivamente, e lavadas em água destilada corrente. Após, foram semeadas em areia autoclavada (120 °C por 60 min) em espaçamento de 1 cm entre plantas e 1 cm entre linhas e mantidas em temperatura ambiente (± 25 °C)

por sete dias.

Passado esse período, os hipocótilos estiolados foram cortados em segmentos de 5 cm, lavados em água destilada para retirada de sujeiras e impurezas e mantidos sobre papel absorvente por 10 min, para retirada do excesso de água. Em placas de Petri contendo papel filtro foram transferidos três segmentos de hipocótilo, de modo que os tratamentos foram aplicados sobre os mesmos na proporção de 0,1%, na dose de 1 mL por repetição.

Depois de mantidos por 48 h na ausência de luz, os hipocótilos de cada repetição foram transferidos para tubos de ensaio contendo álcool 98% (quantia suficiente para cobrir os hipocótilos) e mantidos a 4 °C por 48 horas para extração da fitoalexina. Posteriormente, o sobrenadante foi lido e a fitoalexina (faseolina) foi mensurada em espectrofotômetro a 280 nm. Após, os hipocótilos foram lavados em água destilada, secos e pesados em balança analítica. Os valores de faseolina foram expressos pela absorbância dividida pela massa fresca.

3.4.4 Atividade Enzimática

Com o objetivo de verificar quais mecanismos bioquímicos de defesa estariam envolvidos no controle de *S. sclerotiorum* pelas soluções homeopáticas, foram realizados testes de atividade das enzimas POX, CAT, FAL e β -GASE. Parte do experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada e parte no Laboratório de Fitopatologia da Unioeste, em delineamento experimental inteiramente casualizado, com um total de cinco tratamentos e cinco repetições cada. Para tanto, apenas os tratamentos que apresentaram resultados satisfatórios para AACPD foram ministrados nas plantas, sendo: *Phosphorus* 12CH, *Phosphorus* 48CH, *Calcarea carbonica* 12CH e *Calcarea carbonica* 48CH, mais a testemunha com solução hidroalcoólica 30%.

3.4.4.1 Coleta das Amostras Vegetais

Para análise das enzimas relacionadas à defesa foram coletados segmentos de haste de feijoeiro com aproximadamente 2 cm. O material vegetal foi coletado com uso de estilete, acondicionado em envelopes de papel alumínio e mantidos em gelo até o término da coleta. Posteriormente, o material foi congelado em freezer (-20 °C) para preservar a integridade molecular. Ao total, foram realizadas sete coletas com um intervalo de 24 horas, iniciando-se com a primeira aplicação dos tratamentos, que ocorreu três dias antes da inoculação com *S. sclerotiorum*.

3.4.4.2 Obtenção dos Extratos Protéicos

As amostras de hastes de feijoeiro foram homogeneizadas em 4 mL de tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0). Para evitar eventuais alterações bioquímicas no material vegetal, os utensílios utilizados nas extrações enzimáticas foram mantidos em gelo durante todo o processo. Além disso, acrescentou-se 5 g do polímero não reativo PVPP (*Polyvinylpolypyrrolidone*) em cada litro do tampão fosfato de sódio 0,01 M para evitar processos oxidantes.

Após a maceração, o homogeneizado foi centrifugado a 20.000 g durante 20 minutos, de modo que o sobrenadante obtido, considerado como a fração contendo as proteínas solúveis, foi recolhido com pipeta automática, acondicionado em tubo eppendorf e congelado em freezer até o momento das análises bioquímicas (LUSSO; PASCHOLATI, 1999).

3.4.4.3 Atividade de Peroxidase (POX, E.C 1.11.1.7)

A atividade da enzima peroxidase foi determinada pelo método

espectrofotométrico direto a 470 nm (LUSSO; PASCHOLATI, 1999), pela medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol, por um período de 2 min, com medidas de densidade ótica tomadas a cada 15 segundos (HAMMERSCHIMIDT et al., 1982). A mistura da solução consistiu de 25 µL do extrato proteico e 1,25 mL do substrato para a enzima (12,5 mL de guaiacol 2% alcoólico e 310 µL de peróxido de hidrogênio P.A. diluídos em 87,5 mL de tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0)). A atividade foi determinada pela variação ocorrida entre os valores extremos situados na faixa de incremento linear e expressa em variação de unidade de absorvância $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína. As análises foram realizadas em duplicata. Os resultados foram, posteriormente, convertidos em área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (adimensional), conforme equação adaptada de Shaner e Finney (1977).

3.4.4.4 Atividade de Catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6)

A atividade da enzima CAT foi determinada pelo monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio. Para tanto, 50 µL de extrato bruto foram adicionados a 950 µL de tampão fosfato de potássio 0,01M (pH 7), suplementado com peróxido de hidrogênio 30% a uma concentração final de 12,5 mM (foram adicionadas 53,75 µL de peróxido em 100 mL de tampão).

A variação da absorção foi determinada em espectrofotômetro (240 nm) durante 80 segundos. As análises foram realizadas em duplicata. Os resultados foram, posteriormente, convertidos em área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (adimensional), conforme equação adaptada de Shaner e Finney (1977).

3.4.4.5 Atividade de Fenilalanina Amônia-Liase (FAL, E.C. 4.3.1.5)

A atividade de FAL foi determinada pela quantificação colorimétrica do ácido *trans*-cinâmico, de acordo com a metodologia descrita por Umesha (2006). Para tanto, 100 µL do extrato protéico foram acrescidos de 400 µL de tampão Tris HCl 0,025 M (pH 8,8) e 500 µL de L-fenilalanina 0,05 M (825,9 mg de L-fenilalanina diluídos em 100 mL de tampão Tris-HCl 0,025 M, pH 8,8). Após obtida a mistura da reação, incubou-se a mesma a 40 °C por 2 h, adicionando-se, ao final desse período, 60 µL de HCl 5 M para cessar a reação enzimática.

A atividade de FAL foi determinada em espectrofotômetro a 290 nm e obtida pela diferença entre a absorbância da amostra e a absorbância do controle (100 µL de extrato protéico e 900 µL de tampão Tris-HCl 0,025 M, pH 8,8). As leituras de absorbância foram plotadas em curva padrão para ácido *trans*-cinâmico ($y = 0,0095x + 0,0255$, onde y é a absorbância a 290 nm e x a concentração de ácido *trans*-cinâmico (µg)). A atividade enzimática específica foi definida como a quantidade de ácido *trans*-cinâmico, em mg, produzido em meio reacional, por hora, por miligrama de proteína (mg de ácido *trans*-cinâmico h^{-1} mg proteína $^{-1}$). As análises foram realizadas em duplicata. Os resultados foram, posteriormente, convertidos em área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (adimensional), conforme equação adaptada de Shaner e Finney (1977).

3.4.4.6 Atividade de β -1,3-glucanase (β -GASE, E.C. 3.2.1.39)

A medida da atividade de β -GASE foi realizada pela quantificação colorimétrica de açúcares redutores liberados a partir na hidrólise do substrato laminarina (β -1,3-1,6-glucana produzida pela alga *Laminaria digitata*), conforme o método descrito por Vogelsang e Barz (1993). Para tanto, o meio reacional constuiu-se de 100 µL de extrato protéico, acrescidos de 150 µL de laminarina em tampão fosfato de sódio 0,01 M, pH 6,0 (2 mg mL^{-1}) e 50 µL do

tampão de extração.

A reação foi conduzida a 40 °C durante 60 min, em banho-maria. Após o período de incubação, os açúcares redutores formados foram quantificados pelo método de Lever (1972). Para isso, foi retirada uma alíquota de 30 µL dos tubos incubados e adicionado 1,5 mL de solução de hidrazida do ácido *p*-hidroxibenzóico (PAHBAH) 0,5% em NaOH 0,5 M. A mistura foi mantida a 100 °C por 10 min e resfriada em banho de gelo.

Como controle, utilizou-se a mesma reação onde a laminarina foi adicionada imediatamente antes da determinação de açúcares, não havendo incubação. A leitura das absorbâncias foi realizada a 410 nm, em espectrofotômetro, descontando-se os valores de absorbância do branco (150 µL de laminarina + 150 µL do tampão de extração). A quantidade de açúcares foi determinada utilizando-se curva-padrão de 30 concentrações de glicose. A atividade enzimática específica foi definida como a quantidade de glucose, em mg, produzida em meio reacional, por hora, por miligrama de proteína (mg de glicose h⁻¹ mg proteína⁻¹). As análises foram realizadas em duplicata. Os resultados foram, posteriormente, convertidos em área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (adimensional), conforme equação adaptada de Shaner e Finney (1977).

3.5 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Para análise dos dados foi realizada a análise de variância e, quando pertinente, fez-se a comparação das medias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, com auxílio do programa estatístico SISVAR, versão 5.3 (FERREIRA, 2010).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CRESCIMENTO MICELIAL E PRODUÇÃO DE ESCLERÓDIOS

Para as variáveis de desenvolvimento de *S. sclerotiorum*, o tratamento *Phosphorus* apresentou diferença significativa para o crescimento micelial, expresso como área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) (Tabela 1), nas potências 6CH, 12CH, 24CH e 48CH, em comparação ao tratamento controle, retardando a AACCM. A potência 36CH não apresentou potencial antimicrobiano.

Com relação à variável número de escleródios (NE) (Tabela 1), *Phosphorus* 6CH, *Phosphorus* 12CH e *Phosphorus* 36CH estimularam a formação dos mesmos em 71%, 79% e 34%, respectivamente, em relação ao controle. Para as demais dinamizações, o NE não diferiu estatisticamente do tratamento com solução hidroalcoólica (30%).

Tabela 1 - Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e número de escleródios (NE) de *Sclerotinia sclerotiorum* submetido a tratamento com dinamizações da solução homeopática *Phosphorus*.

Dinamização (CH)	<i>Phosphorus</i>	
	AACCM	NE
6	08,99 B	40,25 B
12	06,55 A	42,25 B
24	08,59 B	22,75 A
36	10,74 C	31,50 B
48	07,82 AB	21,75 A
Controle	14,05 C	23,50 A
CV(%)	07,38	24,05

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O tratamento *Calcarea carbonica* (Tabela 2), nas dinamizações 12CH, 24CH, 36CH e 48CH, reduziu em aproximadamente 11% o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. *Calcarea carbonica* 6CH diferiu do tratamento controle, porém, incrementando o crescimento micelial, o que indica que a atividade antifúngica do medicamento possui relação direta com sua

propriedade energética.

Os resultados obtidos para número de escleródios (Tabela 2) demonstram a importância de se trabalhar com a potência medicamentosa adequada. Os medicamentos *Calcarea carbonica* 6CH, 12CH e 36CH apresentaram diferença significativa, com incremento da variável NE em 85%, 98% e 103%, respectivamente, em comparação ao tratamento controle. Porém, em via oposta, *Calcarea carbonica* 48CH inibiu completamente a formação de escleródios. Dessa forma, *Calcarea carbonica* 48CH surge como uma alternativa ao controle integrado de *S. sclerotiorum*, pois poderia retardar a velocidade de crescimento da epidemia ao longo dos anos pela redução do inóculo inicial.

Tabela 2 - Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e número de escleródios (NE) de *Sclerotinia sclerotiorum* submetido a tratamento com dinamizações da solução homeopática *Calcarea carbonica*.

<i>Calcarea carbonica</i>		
Dinamização (CH)	A.A.C.C.M.	N.E.
6	19,83 C	43,50 D
12	12,27 A	46,50 D
24	12,60 A	35,00 C
36	12,14 A	47,75 D
48	12,67 A	00,00 A
Controle	14,05 B	23,50 B
CV(%)	04,04	10,78

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Apesar da não significância de algumas dinamizações dos medicamentos testados, não se deve descartar o potencial destes, sendo necessários novos estudos referentes à dosagem, dinamização, método e frequência de aplicação das soluções ultradiluídas.

4.2 SEVERIDADE DA DOENÇA E PORCENTAGEM DE PLANTAS MORTAS

No primeiro ensaio (Tabela 3), para área abaixo da curva de progresso

da doença (AACPD), o tratamento *Phosphorus* diferiu do tratamento controle em todas as dinamizações testadas, com reduções de 40%, 58%, 41%, 23% e 58%, respectivamente. Apesar de reduzir em 23% o progresso da doença mofo branco, *Phosphorus* 36CH não reduziu a porcentagem de plantas mortas (PPM) pela mesma, quando comparado ao tratamento controle. Porém, quando testado nas dinamizações 6CH, 12CH, 24CH e 48CH, o *Phosphorus* reduziu em 60%, 90%, 70% e 80%, respectivamente, a PPM.

Resultados semelhantes foram obtidos no ensaio 2 para a variável AACPD (Tabela 3), onde todas dinamizações testadas para o tratamento *Phosphorus* diferiram do tratamento controle. Tais reduções foram de 36%, 55%, 40%, 26% e 52%, respectivamente, para as dinamizações 6CH, 12CH, 24CH, 36CH e 48CH. Do mesmo modo, *Phosphorus* 36CH foi o menos eficiente para a variável AACPD e o único que, juntamente ao tratamento controle, resultou em 100% de mortalidade de plantas pela doença mofo branco.

Em relação às dinamizações 6CH, 12CH, 24CH e 48CH, houve redução de 60%, 90%, 60% e 90%, respectivamente, da mortalidade de plantas em relação ao tratamento controle. Tais resultados enfatizam a importância de se testar várias dinamizações para um mesmo medicamento, visto que suas respostas não são lineares e/ou previstas.

Tabela 3 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) mofo branco e porcentagem de plantas mortas (PPM) de feijoeiro cultivar IAC Alvorada submetido a tratamento com dinamizações da solução homeopática *Phosphorus*.

Dinamização (CH)	<i>Phosphorus</i>			
	Ensaio 1		Ensaio 2	
	AACPD	PPM	AACPD	PPM
6	08,79 B	40 AB	10,05 CD	40 B
12	06,15 A	10 A	07,08 A	10 A
24	08,59 B	30 AB	09,41 BC	40 B
36	11,34 C	75 BC	11,70 D	100 C
48	06,22 A	20 A	07,63 AB	10 A
Controle	14,65 D	100 C	15,75 E	100 C
CV (%)	09,59	54,55	10,27	25,86

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

No bioensaio para a avaliação do controle da doença mofo branco pela solução homeopática *Calcarea carbonica*, ambas as variáveis estudadas apresentaram significância dos dados no primeiro ensaio (Tabela 4). Para a AACPD somente a dinamização 6CH se igualou ao tratamento controle, sendo que o progresso da doença foi reduzido em cerca de 25% para as dinamizações 24CH e 36CH, e em 83% para as dinamizações 12CH e 48CH.

As soluções ultradiluídas *Calcarea carbonica* 12CH e 48CH reduziram o progresso da doença mofo branco em 77%, aproximadamente, quando comparados à *Calcarea carbonica* 6CH, 24CH e 36CH, evidenciando, portanto, o potencial de controle satisfatório da doença somente por *Calcarea carbonica* 12CH e 48CH.

Igualmente, no segundo ensaio, *Calcarea carbonica* 12CH e 48CH se destacaram em relação aos demais, com redução de 81% e 74%, respectivamente, do progresso da doença. O mesmo se observa para a variável porcentagem de plantas mortas, sendo a mortalidade 85% inferior para o tratamento *Calcarea carbonica* 12CH e 80% inferior para *Calcarea carbonica* 48CH. Os demais medicamentos também reduziram a mortalidade de plantas, porém, não de maneira expressiva, sendo que *Calcarea carbonica* em 6CH e

36CH não diferiram da testemunha. Para *Calcarea carbonica* 24CH houve diferença, porém a redução foi de 40% apenas.

Tabela 4 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) mofo branco e porcentagem de plantas mortas (PPM) de feijoeiro cultivar IAC Alvorada submetido a tratamento com dinamizações da solução homeopática *Calcarea carbonica*.

Dinamização (CH)	<i>Calcarea carbonica</i>			
	Ensaio 1		Ensaio 2	
	AACPD	PPM	AACPD	PPM
6	11,06 C	70 B	10,42 B	80 BC
12	02,63 A	15 A	02,93 A	15 A
24	10,95 B	70 B	12,17 B	60 B
36	10,39 B	90 B	11,45 B	80 BC
48	02,34 A	20 A	04,06 A	20 A
Controle	14,65 C	100 B	15,75 C	100 C
CV (%)	11,03	38,26	8,89	33,18

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tais resultados indicam que a escolha das soluções ultradiluídas neste trabalho foi correta, mas as potências 6CH, 24CH e 36CH não foram adequadas para o quadro patológico em questão. Assim, enfatiza-se novamente a importância da utilização de várias dinamizações, pois as respostas podem variar em função da potência do medicamento em estudo (BONATO, 2007b). Além disso, por atuar na energia vital, a qual representa um princípio dinâmico, imaterial, distinto do corpo e que integra a totalidade do organismo, organizando todos os fenômenos fisiológicos (BONATO, 2007a), um mesmo medicamento pode ser aplicável a vários organismos e para situações distintas.

Fonseca et al. (2006) avaliaram o efeito da aplicação única de *Calcarea carbonica* em plantas de *Porophyllum ruderale* (arnica-paulista) e verificaram aumento no teor de polifenóis nas folhas da planta, comprovando o caráter indutor de resistência da solução homeopática. O preparado *Calcarea carbonica* é citado também pelo efeito inibidor da produção de etileno em frutos de tomate, por retardar a proporção de frutos para molho e aumentar o

percentual de frutos do tipo salada e colorido (MODOLON et al, 2012). Considerando que o etileno é um hormônio cujo incremento favorece o aparecimento dos sintomas de mofo branco (AL-MASRI e BARAKAT, 2003), a redução na sua síntese no feijoeiro tratado com *Phosphorus* e *Calcarea carbonica* poderia ser uma hipótese para a eficiência observada dos mesmos no controle da referida doença.

Em suma, ao final dos ensaios, pôde-se observar que as repetições do tratamento controle apresentavam 100% de mortalidade de plantas, enquanto que aquelas tratadas com *Phosphorus* e *Calcarea carbonica*, ambos potencializados em 12CH e 48CH, apresentaram contínua resistência ao progresso da doença, enfatizando sua atuação na indução de resistência. Constatação semelhante foi feita por Leonel e Barros (2013), os quais observaram controle da ferrugem do cafeeiro até três meses após a aplicação dos homeopáticos em lavoura acometida pela doença, comprovando o efeito residual dos mesmos. Deve-se, ainda, ressaltar que a resistência induzida raramente é completa, sendo que a maior parte dos agentes indutores promove controle das doenças entre 20% a 85% em relação as plantas não-induzidas (PASCHOLATI, 2011).

A doença mofo branco é de difícil controle em feijoeiro e, além disso, existem apenas cinco fungicidas registrados e liberados sem restrição de uso para a cultura (ADAPAR, 2016), o que dificulta e, por vezes, até impede a rotação de princípios ativos e, por consequência, eleva a seleção de populações resistentes do patógeno aos mesmos. Portanto, os medicamentos *Phosphorus* 12CH e 48CH e *Calcarea carbonica* 12CH e 48CH surgem como alternativas promissoras ao controle e redução da severidade da doença mofo branco em feijoeiro e, também, como ferramentas de manejo integrado e sustentável aos produtores rurais.

Nos ensaios conduzidos, de modo geral, verifica-se que as plantas não respondem de forma linear às dinamizações testadas. Um mesmo medicamento que foi capaz de incrementar os valores das variáveis AACPD e

PPM, também demonstrou efeito supressor frente às diferentes dinamizações, de modo que um mesmo medicamento que se mostrou inócuo para uma variável, foi eficiente para a mesma quando alterada sua dinamização.

Para plantas, assim como em outros modelos, as experimentações indicam que o aumento nas dinamizações não significa, necessariamente, aumento de potência medicamentosa (BONATO, 2007b). Andrade et al. (2012), ao avaliarem o efeito de *Arnica montana* em 3CH, 30CH, 60CH, 100CH e 200CH sob o conteúdo de cumarina em plantas de chambá, obtiveram padrões sinusoidais.

Do mesmo modo, Toledo et al. (2015), ao estudarem os efeitos das soluções homeopáticas *Propolis*, *Sulphur* e *Ferrum sulphuricum*, nas dinamizações 6, 12, 30 e 60CH, obtiveram sinuosidade de resposta para a severidade da doença pinta preta em tomateiro, bem como para as variáveis de crescimento da cultura. Tal fato, já comprovado por inúmeros pesquisadores e para distintas variáveis (ANDRADE et al., 2012; BONATO et al., 2009; RISSATO et al., 2016), indica que um mesma solução homeopática pode atuar de diferentes formas sob a variável em estudo, ora incrementando-a, ora inibindo-a, à depender da dinamização. Por isso, neste trabalho, não foram realizadas análises de regressão para os tratamentos com diferentes dinamizações.

Diante do exposto, deve-se, ainda, ressaltar que a cura pela homeopatia baseia-se, predominantemente, na Lei dos Semelhantes e no vitalismo. Sendo assim, a cura de uma doença, do ponto de vista homeopático, ocorre quando essa força vital que distingue os seres vivos (tanto animais quanto vegetais) daqueles inanimados é reestabelecida, o que leva a concluir que há similitude entre a planta que apresenta mofo branco e os medicamentos *Phosphorus* e *Calcarea carbonica*.

4.3 PRODUÇÃO DE FITOALEXINA

O medicamento *Phosphorus* não apresentou potencial indutor da fitoalexina faseolina em nenhuma das dinamizações testadas. Apesar de resultar em um acúmulo 17% maior, *Phosphorus* 24CH não diferiu estatisticamente da testemunha solução hidroalcoólica. Já os medicamentos *Phosphorus* em 6CH, 12CH, 36CH e 48CH reduziram em até 20% a formação da fitoalexina faseolina nos hipocótilos (Tabela 5).

Tabela 5 - Indução da fitoalexina faseolina em hipocótilos de feijoeiro submetidos a tratamento com dinamizações das soluções homeopáticas *Phosphorus* e *Calcarea carbonica*.

Dinamização (CH)	Fitoalexina	
	<i>Phosphorus</i>	<i>Calcarea carbonica</i>
06	2,11 A	3,38 D
12	2,47 A	2,98 BC
24	3,17 C	2,88 B
36	2,39 AB	2,50 A
48	2,38 B	3,09 CD
Controle	2,64 C	2,64 A
CV(%)	7,22	5,25

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tais resultados corroboram com aqueles obtidos por Rissato et al. (2016b), os quais verificaram inibição de 15,60% da produção de faseolina em hipocótilos de feijoeiro tratados com *Phosphorus* 6CH. A ineficiência do medicamento e a inibição da formação da fitoalexina faseolina podem ser explicadas por não haver semelhanças entre a energia vital da solução homeopática e do organismo, levando a uma desordem no sistema metabólico da planta, resultando em aspectos negativos de desenvolvimento e crescimento da mesma.

Como já evidenciado por diversos autores (MULLER et al., 2009; TOLEDO et al., 2015), o uso de medicamentos ou, até mesmo, a escolha das dinamizações inadequadas, são fatores que explicam a não eficiência do tratamento. Portanto, a insignificância dos tratamentos na indução da formação da fitoalexina no presente estudo pode ter ocorrido em função da

dessemelhança existente entre a energia vital do medicamento e do vegetal tratado.

Apesar da insignificância, não se deve descartar o potencial da homeopatia na indução de resistência em plantas. A análise dos resultados mostrou o potencial eliciador do medicamento *Calcarea carbonica* em todas as dinamizações testadas, de modo que a indução da formação e acúmulo de faseolina foram significativamente ($P < 0,05$) influenciados pela aplicação dos tratamentos testados. Somente *Calcarea carbonica* 36CH não diferiu do tratamento controle, tendo o mesmo potencial de indução deste.

Tais resultados são compatíveis com os de outros estudos que mostram que a eficiência dos preparados homeopáticos modifica o teor de metabólitos de defesa nas plantas. Oliveira et al. (2011) constataram que plantas de feijoeiro tratadas com *Eucalyptus citriodora* 24CH apresentaram incremento médio de 28% na produção de faseolina. Andrade et al. (2012) comprovaram a eficiência da homeopatia na indução de mecanismos de defesa em vegetais, ao observar incremento no teor de cumarina em plantas de chambá tratadas com soluções homeopáticas.

Pelo seu baixo custo, fácil aquisição, irrevelante impacto ambiental e facilidade de ser ministrada, a homeopatia se revela como uma importante ferramenta, principalmente das agriculturas familiar e orgânica, podendo, ainda ser integrada a outras práticas, resultando em efeitos individuais potencializados (RISSATO et al., 2016b). Por isso, são necessários novos estudos referentes às várias dosagens, às diferentes soluções homeopáticas, às possíveis dinamizações, aos métodos e frequência de aplicação das soluções homeopáticas cabíveis e compatíveis à espécie a ser tratada, bem como ao seu estado energético no momento do tratamento.

4.4 ATIVIDADE DE PEROXIDASE

Para os resultados obtidos a seguir (Figura 6), foi determinada a área

abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (AACPAE), a fim de se correlacionar a ação indutora de POX dos tratamentos aplicados na parte aérea de plantas de feijoeiro.

Esses resultados revelam a ação de eliciadores presentes nas soluções homeopáticas *Phosphorus* 48CH e *Calcarea carbonica* 12CH e 48CH, os quais diferiram significativamente da testemunha solução hidroalcolica 30%, incrementando a atividade da enzima POX em 103%, 90% e 87%, respectivamente. Apesar da insignificancia dos dados, o tratamento com *Phosphorus* 12CH promoveu incremento de 25% na atividade da referida enzima.

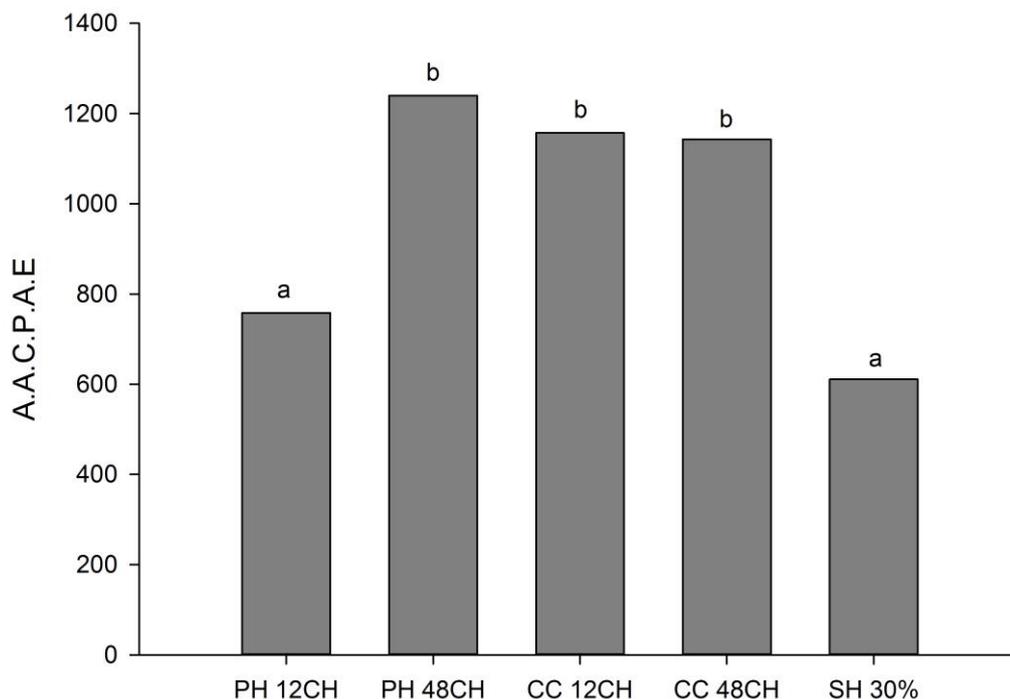


Figura 6 - Área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (A.A.C.P.A.E.) de peroxidase em feijoeiro inoculado com *Sclerotinia sclerotiorum* e tratado com *Phosphorus* 12CH (PP 12CH) e 48CH (PP 48CH), *Calcareo carbonica* 12CH (CC 12CH) e 48CH (CC 48CH) e solução hidroalcoólica a 30% (SH 30%). Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C.V. (%) = 7,56%.

Inúmeros trabalhos afirmam a atuação de soluções homeopáticas na resistência induzida, onde barreiras químicas na forma de moléculas antimicrobianas, tais como as proteínas relacionadas à patogênese, são sintetizadas pela planta. Entre esses, vários são os que comprovam a indução de POXs pela homeopatia nos mais variados sistemas patológicos.

Meinerz et al. (2010) verificaram que em tomateiro infectado por *Alternaria solani*, houve um incremento na atividade da POX quando tratadas com homeopatia. O mesmo foi comprovado por Oliveira et al. (2014) em feijoeiro. Em experimento *in vitro* com os fungos *Trametes versicolor* e *Pleurotus sajor*, Malarczyk et al. (2003) observaram que altas diluições de guaiacol e etanol incrementaram a atividade da enzima POX.

Sabe-se que a ativação de POXs, possivelmente, depende da cultura utilizada (PEITER-BENINCA et al., 2008), porém, independente da espécie, inúmeros estudos comprovaram que a atividade desta enzima é diretamente proporcional à redução da severidade de doenças causadas por bactérias (SILVA et al., 2004; SILVA et al., 2007), fungos (CACHINERO et al., 2002; SILVA et al., 2004) e nematoides (FORMENTINI, 2012).

A indução de POX pelas plantas de feijoeiro em resposta à infecção por *S. sclerotiorum* indica a sua relevância na supressão do desenvolvimento da doença. Por estar envolvida no processo de lignificação, tal enzima atua como barreira contra a invasão do patógeno, constituindo parte do mecanismo de resistência do hospedeiro. Sendo assim, os resultados apresentados na Figura 6 explicam, em parte, aqueles obtidos para severidade da doença mofo branco (item 4.2).

Embora a reação de hipersensibilidade seja eficiente no controle de patógenos biotróficos, sua atuação isolada é incapaz de proteger as plantas da infecção por patógenos necrotróficos, tais como *S. sclerotiorum* (MALENCIC et al., 2010), no entanto, a combinação das enzimas de defesa pode contribuir para uma maior resistência contra patógenos, indicando o potencial benéfico das mesmas para o controle de doenças necrotóxicas em geral.

Tal fato torna-se evidente quando se trata de cultivares resistentes à *S. sclerotiorum*, as quais, quando comparadas às suscetíveis, possuem atividade de POX mais intensa e acentuada. Leite et al. (2013), avaliando as mudanças em compostos de defesa de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) com diferentes níveis de resistência ao fungo *S. sclerotiorum*, concluíram que no genótipo resistente a produção de lignina e a atividade de POX foram superiores às do genótipo suscetível. Do mesmo modo, Davar et al. (2013), ao estudarem duas cultivares de girassol com diferentes níveis de resistência à *S. sclerotiorum*, concluíram que a atividade de POX foi mais pronunciada na cultivar resistente, comprovando a importância dessa enzima para o sistema de defesa da planta.

4.5 ATIVIDADE DE CATALASE

Conforme os resultados expressos na Figura 7, não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre as soluções homeopáticas para a atividade de CAT em plantas de feijoeiro. Porém, todas diferiram do controle, incrementando a síntese da referida enzima. Observa-se que nas plantas tratadas com *Phosphorus* 12CH e 48CH e *Calcarea carbonica* 12CH e 48CH, a atividade da enzima foi 840%, 810%, 932% e 1021% superior ao controle com solução hidroalcoólica 30%, respectivamente. A rápida geração e acúmulo de CAT observada no presente trabalho foi, possivelmente, desencadeada pela explosão oxidativa após a percepção, pela planta, dos sinais de virulência do patógeno (RESENDE et al., 2003)

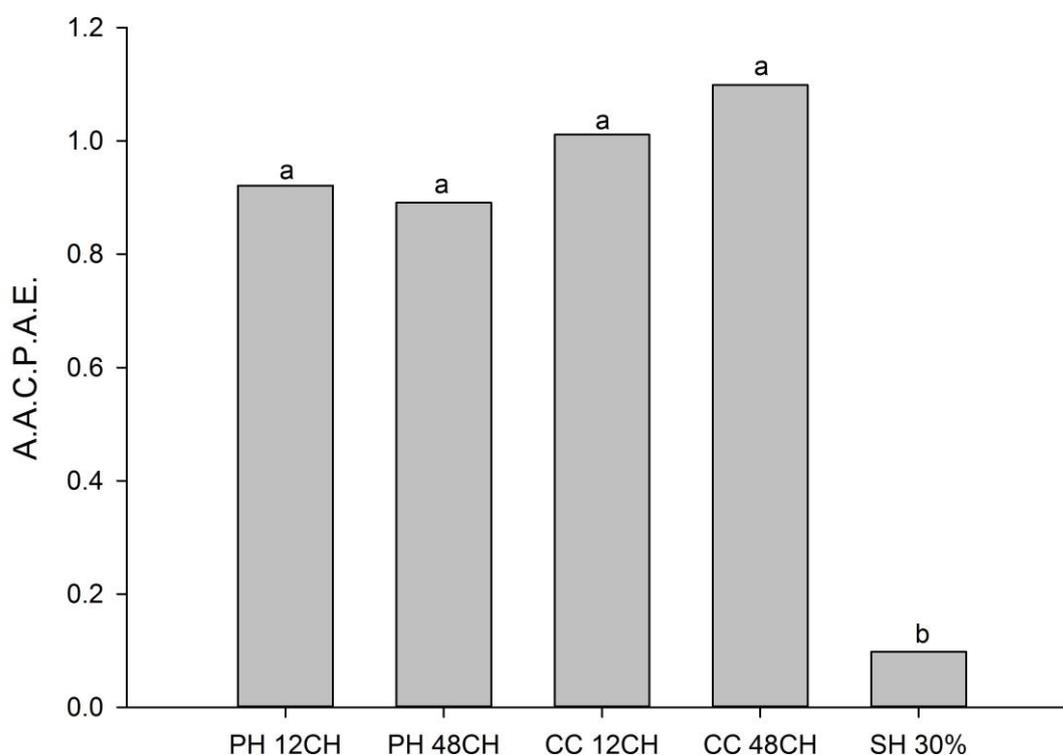


Figura 7 - Área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (A.A.C.P.A.E.) de catalase em feijoeiro inoculado com *Sclerotinia sclerotiorum* e tratado com *Phosphorus* 12CH (PH 12CH) e 48CH (PH 48CH), *Calcarea carbonica* 12CH (CC 12CH) e 48CH (CC 48CH) e

solução hidroalcoólica a 30% (SH 30%). Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C.V. (%) = 38,32%.

Como já abordado anteriormente, as espécies reativas de oxigênio ocorrem normalmente no metabolismo celular, porém, quando acumuladas tornam-se tóxicas à célula, podendo resultar em prejuízos consideráveis (RESENDE et al., 2003). Para evitar essa explosão de oxidação, complexos mecanismos de proteção foram desenvolvidos pelas plantas (ZHAO et al., 2016) ao longo de sua evolução, a fim de se defenderem das espécies reativas de oxigênio (HSU; KAO, 2003). Como consequência do estresse oxidativo, há estímulos para a biossíntese de compostos antioxidantes, de modo que uma maior atividade dessas enzimas, como a CAT, reflète uma condição de maior estresse (SOARES; MACHADO, 2003), típica de patógenos necrotróficos.

Sendo assim, uma redução na atividade da CAT resulta no acúmulo de peróxido de hidrogênio nas células, o que pode provocar morte celular, caracterizada como uma resposta de hipersensibilidade (SOARES; MACHADO, 2007). Portanto, os altos níveis enzimáticos encontrados no presente estudo, após aplicação dos tratamentos, refletem num incremento dos mecanismos de defesa para futuras condições de estresse que a planta possa enfrentar (OLIVEIRA, 2015). Nesse caso, a CAT atuou acentuadamente para manter o equilíbrio das plantas, fato que se refletiu na redução da mortalidade das plantas pela doença mofo branco.

4.6 ATIVIDADE DE FENILALANINA AMÔNIA-LIASE

Para a atividade de FAL, os resultados apontam que houve ativação da mesma por todas soluções homeopáticas estudadas (Figura 8). Observa-se a ação de eliciadores presentes nas soluções homeopáticas *Phosphorus* 12CH e 48CH e *Calcarea carbonica* 12CH e 48CH, os quais diferiram significativamente da testemunha solução hidroalcoólica 30%, incrementando a atividade da enzima FAL em 51%, 80%, 45% e 106%, respectivamente, e,

dessa forma, atuando como indutores de resistência.

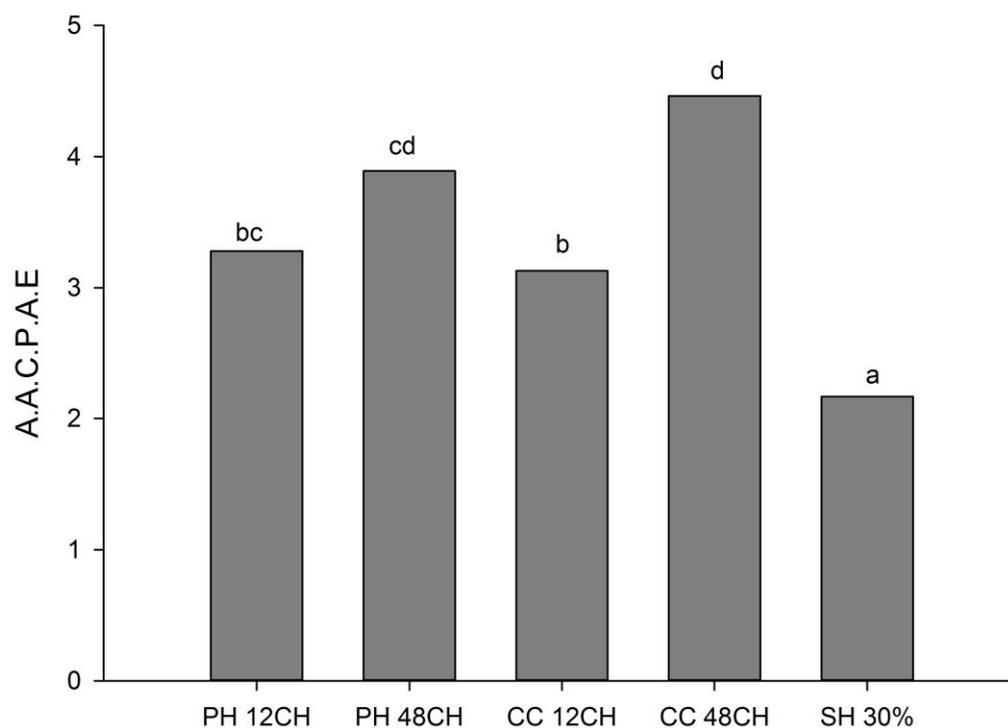


Figura 8 - Área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (A.A.C.P.A.E.) de fenilalanina amônia-liase em feijoeiro inoculado com *Sclerotinia sclerotiorum* e tratado com *Phosphorus* 12CH (PP 12CH) e 48CH (PP 48CH), *Calcareia carbonica* 12CH (CC 12CH) e 48CH (CC 48CH) e solução hidroalcoólica a 30% (SH 30%). Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C.V. (%) = 8,66%.

A indução de resistência em plantas tem sido correlacionada diretamente à síntese de enzimas em rotas metabólicas de defesa (VIEIRA JÚNIOR; ROMEIRO, 2007), como é o caso da FAL, enzima chave na rota dos fenilpropanoides (STANGARLIN et al., 2011) e um dos fatores limitantes para a síntese de compostos fenólicos pela planta (NICHOLSON; HAMMERSHMIDT, 1992), sendo considerada a enzima mais relevante para a biossíntese de fitoalexinas e lignina (KALAIARASAN, 2009).

Todas essas características tornam a FAL um marcador bioquímico e, portanto, enzima indicadora de indução de resistência (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992). Por ser extremamente sensível ao estado fisiológico das plantas, os níveis de FAL podem variar rapidamente e em

resposta a uma grande variedade de estímulos (CAMM; TOWERS, 1973). Guo et al. (2004), ao estudarem o patossistema trigo x *Puccinia striiformis*, verificaram que a atividade de FAL foi maior na interação incompatível, comprovando a associação da enzima com a resistência das plantas.

Portanto, os resultados obtidos no presente estudo indicam que a rota dos fenilpropanóides, a qual envolve os mecanismos de síntese de lignina e compostos fenólicos, por exemplo, foi ativada pelas soluções homeopáticas, refletindo na redução do progresso da doença mofo branco em feijoeiro e indicando a homeopatia como um possível método de manejo do patógeno.

O fungo *S. sclerotiorum* possui um arsenal enzimático com alta capacidade de degradação da celulose, principal componente estrutural das plantas (CHAHED et al., 2013), portanto, medidas que visem a redução do inóculo e/ou redução da taxa de progresso da doença são de extrema importância e devem ser adotadas.

Nesse sentido, o manejo do mofo branco tem sido feito, tradicionalmente, através de rotação de culturas, sementes livres do patógeno, uso de cultivares com arquitetura de plantas que favoreça boa aeração entre plantas e com menor período de florescimento, limpeza de máquinas e aplicação de fungicidas (MEYER et al., 2014). Este último, em curto prazo, tem suas vantagens, mas em longo prazo pode causar problemas devido aos resíduos acumulados nos grãos e no ambiente (GHINI; KIMATI, 2000).

Dessa forma, produtos indutores de resistência, tais como as soluções homeopáticas, apresentam-se como mais um método a ser integrado ao manejo da doença, a fim de que se possa obter o controle desejado de forma ambiental e economicamente satisfatória.

4.7 ATIVIDADE DE β -1,3-GLUCANASE

De acordo com os dados apresentados na Figura 9, os resultados para a atividade de β -GASE em feijoeiros inoculados com *S. sclerotiorum* e tratados

com solução homeopáticas foram significativos, indicando a escolha adequada dos tratamentos e a importância da repertorização para a homeopatia. A maior atividade da enzima foi observada nas plantas tratadas com as soluções homeopáticas *Phosphorus* 12CH e *Calcarea carbonica* 48CH, as quais foram capazes de incrementar em 4.062% e 4.312%, respectivamente, a atividade da enzima quando comparadas à solução hidroalcoólica a 30%. Para os tratamentos *Phosphorus* 48CH e *Calcarea carbonica* 12CH a capacidade indutora de β -GASE foi menor, porém, ainda assim, o incremento foi de 3.222% e 2.355%, respectivamente, em comparação à testemunha.

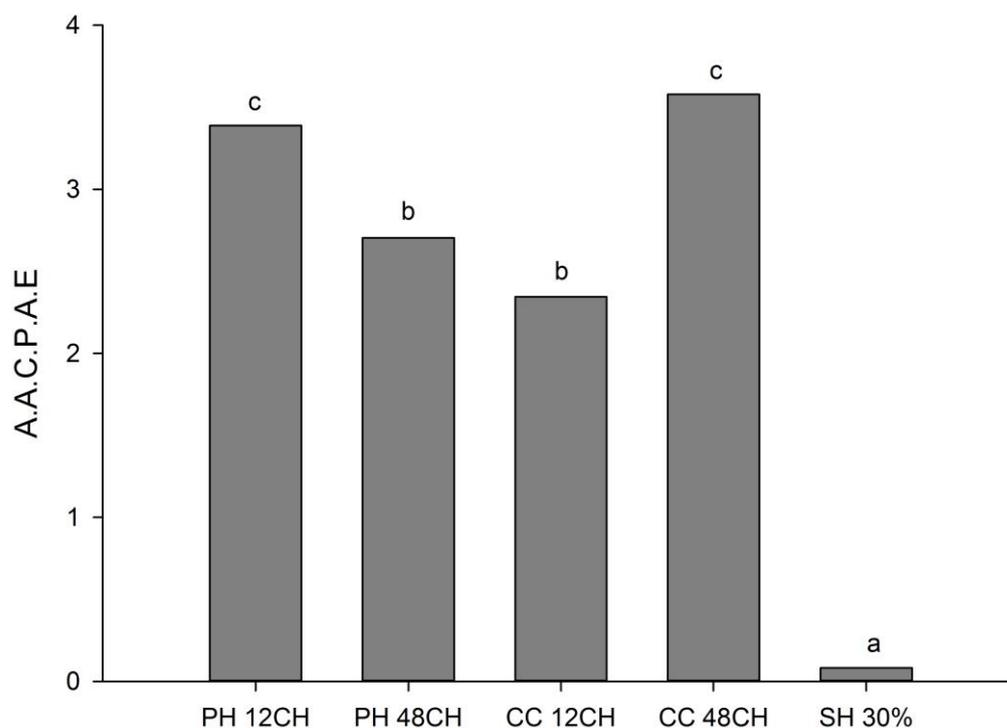


Figura 9 - Área abaixo da curva de progresso da atividade enzimática (A.A.C.P.A.E.) de β -1,3-glucanase em feijoeiro inoculado com *Sclerotinia sclerotiorum* e tratado com *Phosphorus* 12CH (PP 12CH) e 48CH (PP 48CH) e *Calcarea carbonica* 12CH (CC 12CH) 48CH (CC 48CH) e solução hidroalcoólica a 30% (SH 30%). Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C.V. (%) = 11,24%.

Os aumentos tão expressivos de β -GASE nas plantas tratadas com homeopáticos podem ser explicados pelo fato de que o crescimento de *S. sclerotiorum* no espaço intercelular induz a síntese da enzima pela lamela

média. Posteriormente, inicia-se a degradação da parede celular do patógeno, de modo que os fragmentos liberados tem ação exoelicitadora, induzindo mais síntese de β -GASE, a qual é armazenada nos vacúolos (KUHN, 2007). Estes, por sua vez, são rompidos no momento da penetração do fungo, liberando grande quantidade da enzima e retardando a ação do patógeno (MAUCH; STAEHELIN, 1989).

Tal fato explica, em partes, a redução da AACPD verificada nas plantas que receberam os tratamentos homeopáticos, onde o acúmulo de enzimas de defesa pode ter sido desencadeado pelo próprio patógeno, por metabólitos secundários ou por substâncias que agem como indutores de resistência (PASCHOLATI, 2011), como é o caso das soluções homeopáticas.

O caráter indutor de resistência dessas substâncias já foi estudado e comprovado por vários autores. Dentre estes, Oliveira et al. (2014), estudando o efeito indutor de resistência em feijoeiro tratado com preparações homeopáticas de *Corymbia citriodora*, *Calcarea carbonica*, *Silicea* e *Sulphur*, nas dinamizações 12, 24, 30 e 60CH, verificaram incremento na atividade das enzimas POX, CAT, quitinase e β -GASE.

No que se diz respeito ao controle de doenças fúngicas, a β -GASE desempenha papel fundamental. Bokshi et al. (2003) observaram quem em patossistema envolvendo batata e *Fusarium semitectum* a atividade de β -GASE foi maior na interação incompatível. Devido à sua ação direta sobre os componentes (1,3)- β -glucano e quitina da parede celular de fungos (STANGARLIN et al., 2011), as glucanases agem sinergicamente no crescimento dos mesmos, dificultando o alongamento das hifas que invadem o espaço intercelular da célula hospedeira (COLLINGE et al., 1993).

5 CONCLUSÕES

As soluções homeopáticas *Phosphorus* 12CH e 48CH e *Calcareo carbonica* 12CH e 48CH foram efetivas para o controle do mofo branco em feijoeiro, apresentando atividade antimicrobiana *in vitro* contra *S. sclerotiorum* e capacidade indutora de resistência pela ativação da fitoalexina faseolina e das enzimas POX, CAT, FAL e β -GASE.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 2005. 922 p.

ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2016. 516 p.

ALMAGRO, L.; GOMEZ ROS, L. V.; BELCHI-NAVARRO, S.; BRU, R.; ROS BARCELO, A.; PEDRENO, M. A. Class III peroxidases in plant defence reactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 377–390, 2009.

ANDRADE, F. M. C.; CASALI, V. W. D. Homeopatia, agroecologia e sustentabilidade. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 6, n. 1, p.49-56, 2011.

ANDRADE, F. M. C.; CASALI, V. W. D.; CECON, P. R. Efeito de dinamizações de *Arnica montana* L. no metabolismo de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p.159-162, 2012.

ANTONIW, J. F.; RITTER, C. E.; PIERPOINT, W. S.; VAN LOON, L. C. Comparison of three pathogenesis-related proteins from plants of two cultivars of tobacco infected with TMV. **Journal of General Virology**, v. 47, p. 79-87, 1980.

BALARDIN, R. S. Doenças do feijoeiro. In: Epagri (Org.). **A cultura do feijoeiro em Santa Catarina**. 1. ed. Florianópolis: Epagri, 1992. p.195-225.

BARBIERI, R. S.; CARVALHO, F. I. F. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7 n. 2, p.79-83, 2001.

BAROLO, C. R. **Aos que tratam com homeopatia**. 1. ed. São Paulo: Robe, 1996. 208 p.

BARROS, F. C., SAGATA, E.; FERREIRA, L. C.; JULIATTI, F. C. Indução de resistência em plantas à fitopatógenos. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 2, p. 231-239, 2010.

BATELLO, C. **Antioxidant effect orthomolecular in homeopathy**. Rio de Janeiro: Digitaliza, 2016. 62 p.

BAUERMEISTER, A.; REZENDE, M. I.; GIESE, E. C.; DEKKER, R. F. H.; BARBOSA, A. M. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 31, n. 2, p. 75-86, 2010.

BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. Brasília: Otimismo, 2006. 265 p.

BOERSMA, J. G.; HOU, A.; GILLARD, C. L.; MCRAE, K. B.; CONNER, R. L. Impact of common bacterial blight on the yield, seed weight and seed discoloration of different Market classes of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Canadian Journal of Plant Science**, v. 95, p. 703-710, 2015.

BOFF, P. **Agropecuária Saudável: da prevenção de doenças, pragas e parasitas à terapêutica não residual**. Lages: UDESC, 2008. 80p.

BOFF, P. Saúde Vegetal e a Contribuição da Homeopatia na Transição Ecológica da Agricultura. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 3963-3966, 2009.

BOKSHI, A. L.; MORRIS, S. C.; DEVERALL, B. J. Effects of benzotriazole and acetylsalicylic acid on β -1,3 glucanase activity and disease resistance in potato. **Plant Pathology**. v. 52, p. 22-27, 2003.

BOLAND, G.L.; HALL, R. Index of plants hosts of *Sclerotium*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, p. 93-108, 1994.

BONATO, C. M. Homeopatia em Modelos Vegetais. **Cultura Homeopática**, v. 21, p. 24-28, 2007.

BONATO, C. M., PROENÇA, G. T. E REIS, B. Homeopathic drugs *Arsenicum album* and *Sulphur* affect the growth and essential oil content in mint (*Mentha arvensis* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, n. 1, p. 101-105, 2009.

BOONCHITSIRIKUL, C.; WASANO, K.; NOSE, A. Activities of phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase in young rice panicles inoculated with *Pyricularia grisea*. **Japanese Journal Topical Agriculture**, v. 42, p. 39-45, 1998.

BRAGA, M. R. Fitoalexinas. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 305-346.

BRAND, S. C.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; MILANESI, P. M.; SCHEREN, M.

B.; ANTONELLO L. M. Extratos de alho e alecrim na indução de faseolina em feijoeiro e fungitoxicidade sobre *Colletotrichum lindemuthianum*. **Revista Ciência Rural**, v. 40, n.10, p. 1881-1887, 2010.

BRASIL. **Farmacopéia Homeopática Brasileira**. 3. ed. São Paulo: Andrei, 2011. 364 p.

BRASIL. Instrução normativa nº 07, de 17 de maio de 1999. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, v. 99, n. 94, p.11-14, mai. 1999.

BREUSEGEM, F. V., VRANOVÁ, E., DAT, J. F.; INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 16, p. 405-414, 2001.

BROETTO, F. **Métodos de trabalho em bioquímica vegetal e tecnologia de enzimas**. 1. ed. Botucatu: Cultura Acadêmica, 2014. 92 p.

CACHINERO, J. J.; HERVÁS, A.; JIMÉNEZ-DIAS, R. M.; TENA, M. Plant defence reaction against fusarium wilt in chickpea induced by incompatible race 0 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris* and nonhost isolates of *F. oxysporum*. **Plant Pathology**, v. 51, p. 765-776, 2002.

CAMARGO, L. E. A. Genética da interação patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Org.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres. 4. ed. v. 1, 2011. p. 119-132.

CAMM, E. L.; TOWERS, G. H. N. Phenylalanine ammonia lyase. **Phytochemistry**, v.12, p.961-973, 1973.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. Isoterapia na agricultura. In: CARNEIRO, S. M. T. P. G. (Org.). **Homeopatia: princípios e aplicações na agroecologia**. Londrina. IAPAR, 2011. p. 99-114.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; OLIVEIRA, B. G.; FERREIRA, I. F. Efeito de soluções homeopáticas, isoterápicos e substâncias em altas diluições em plantas: revisão bibliográfica. **Revista de Homeopatia**, v. 74, n. 1, p. 9-32, 2011.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; ROMANO, E. E. D.; GARBIM, T. H. S.; OLIVEIRA, B. G.; TEIXEIRA, M. Z. Experimentação patogenética de ácido bórico em feijoeiro e tomateiro. **Revista de Homeopatia**, v. 74, n. 2, p. 1-8, 2011.

CASALI, V. W. D., CASTRO, D. M., ANDRADE, F. M. C., LISBOA, S. P. **Homeopatia: bases e princípios**. Viçosa: Editora UFV, 2006. 140p.

COLLINGE, D. B.; KRAGH, K. M.; MIKKELSEN, J. D.; NIELSEN, K. K.; RASMUSSEN, U.; VAD, K. Fungal β -1,3-Glucanases: production and biotechnological applications. **The Plant Journal**, v. 3, p. 31-40, 1993.

CONAB. **Indicadores da Agropecuária**, Brasília, v.3, n.10, jul. 2016. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_07_11_17_36_02_bol_etim_graos_julho_2016.pdf>. Acesso em: 16 jul. 2016.

COSTA, V. C.; NOGUEIRA, M. A.; STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Indução de fitoalexinas e atividade de peroxidases em sorgo e soja tratados com extratos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 3, p. 285-292, 2008.

CUTT, J. R.; KLESSIG, D. F. Pathogenesis-related proteins. In: BOLLER, T.; MEUNS Jr., F. (Org.). **Plant Gene Research: Genes involved in plant defense**. Wien: Springer-Verlag, 1992. p. 209-243.

DAVAR, R.; DARVISHZADEH, R.; MAJD, A. Changes in antioxidante systems in sunflower partial resistant and susceptible lines as affected by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biologia**, v. 68, n. 5, p. 821-829, 2013.

DEBONI T. C.; MARCONI M. C.; BOFF M. I. C.; BOFF P. Ação da homeopatia na germinação do feijão. **Instituto Agrônômico de Campinas**, v. 85, p. 717-720, 2008.

DURANGO, D.; QUIÑONES, W.; TORRES, F.; ROSERO, Y.; GIL, J.; EC HEVERRI, F. Phytoalexin accumulation in Colombian bean varieties and aminosugars as elicitors. **Molecules**, v. 7, n. 11, p. 817-832, 2002.

EMBRAPA. **Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 1.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 203 p.

ESPELIE, K. E.; FRANCESCHI, V. R.; KOLATTUKUDY, P. E. Immunocytochemical localization and time course of appearance of an anionic peroxidase associated with suberization in woundhealing potato tuber tissue. **Plant Physiology**, v. 81, p. 487-492, 1986.

FARIA, J. C.; ANJOS, J. R. N.; COSTA, A. F.; SPERÂNDIO, C. A.; COSTA, C.L. Doenças causadas por vírus e seu controle. In: ARAUJO, R.S.; RAVA, C.A.;

STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. (Org.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafós, 1996. 786 p.

FERREIRA, C. M.; PELOSO, M. J. D.; FARIA, L. C. **Feijão na economia nacional**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. 47 p.

FERREIRA, R. B.; MONTEIRO, S.; FREITAS, R.; SANTOS, C. N.; CHEN, Z.; BATISTA L. M.; DUARTE, J.; BORGES, A.; TEIXEIRA, A. R. The role of plant defence proteins in fungal pathogenesis. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 5, p. 677-700, 2007.

FIALLOS, F. R. G. Doenças causadas por vírus na cultura de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciencia y Tecnología**, v. 3, n. 2, p. 1-6, 2010.

FLEURI, L. F.; SATO, H. H. Estudo da influência de diferentes parâmetros na produção de enzimas líticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 299-310, 2008.

FONTES, O. L. **Farmácia Homeopática: teoria e prática**. 4. ed. Barueri: Manole, 2013. 389 p.

FORMENTINI, M.H. **Avaliação de indutores de resistência biótico, abiótico e extratos vegetais no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro**. 2012. 93 p. (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2012.

FRY, S. C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. **Annual Revision of Plant Physiology**, v. 37, p. 165-186, 1986.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78 p.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GOMES, E. V.; NASCIMENTO, L. B.; FREITAS, M. A.; NASSER, L. C. B. Microsatellite markers reveal genetic variation within *Sclerotinia sclerotiorum* populations in irrigated dry bean crops in Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 159, p. 94-99, 2011.

GRISA, S.; TOLEDO, M.V.; OLIVEIRA, L.C.; HOLZ, L.; MARINE D. Crescimento e produtividade de alface sob diferentes diluições da solução

homeopática *Arnica montana*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 1050-1053, 2007.

GUO, P.; CAO, Y.; LI, Z.; ZHAO, B. Role of an endogenous nitric oxide burst in the resistance of wheat to stripe rust. **Plant Cell and Environment**, v.27, p.473-477, 2004.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; MARINHO-PRADO, J. S.; NECHET, K. L.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. **Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2016. 853 p.

HAMMERSCHMIDT, T. R.; NUCLES, E. M.; KUC, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v. 20, p.73-82, 1982.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidases. **Plant and Cell Physiology**, v. 2, n. 5, p. 462-468, 2001.

HSU, S.Y.; KAO, C. H. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. **Plant Growth Regulation**, v. 39, p. 83-89, 2003.

KALAIARASAN, P. Biochemical markers for identification of root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) resistance in tomato. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 22, n. 3, p. 471-475, 2009.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 663 p.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. 2007. 138 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2007.

LE TOURNEAU, D. Morphology, Cytology, and Physiology of *Sclerotinia* Species in Culture. **Phytopathology**, v. 69, p. 887-890, 1979.

LEITE, M. E.; SANTOS, J. B.; RIBEIRO, P. M.; SOUZA, D. A.; LARA, L. A. C.; REZENDE, M. L. V. Biochemical responses associated with common bean

defence against *Sclerotinia sclerotiorum*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 138, p. 391-404, 2014.

LEITE, R. M. V. B. C. **Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2005, 3 p.

LEONEL, A. H.; BARROS, B. H. R. Utilização de preparados homeopáticos para controle da ferrugem do café (*Hemileia vastatrix*) na região da Alta Mogiana. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, n. 2, p. 1-5, 2013.

LEWIS, D. H. Boron, lignification and the origin of vascular plants a unified hypothesis. **New Phytologist**, v. 84, p. 209-229, 1980.

LISBOA, S. P. Homeopatia na agricultura orgânica. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGRICULTURA ORGÂNICA, 7., 2006, Campos dos Goytacazes. **Anais...** Campos dos Goytacazes: UFV, 2006, p. 1-15.

LISBOA, S. P.; CUPERTINO, M. C.; ARRUDA V. M.; CASALI, V. W. D. **Nova visão dos organismos vivos e o equilíbrio pela homeopatia**. Viçosa: Editora UFV, 2005. 103p.

LO, S. C.; WEIERGANG, I.; BONHAM, C.; HIPSKIND, J.; WOOD, K.; NICHOLSON, R. L. Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 49, n. 1, p. 21-31, 1996.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathological**, v. 25, p. 244-249, 1999.

MACEDO, J. H. P.; BREDOW, E. A. **Princípios e procedimentos do controle biológico de plantas**. Curitiba: Editora UFPR, 2004. 205p.

MALARCZYK, E.; JAROSZ-WILKOLAZKA, A.; KOCHMANSKA-RDEST, J. Effect of low doses of guaiacol and ethanol on enzymatic activity of fungal cultures. **Nonlinearity in Biology, Toxicology and Medicine**, v. 1, n. 2, p. 167-178, 2003.

MALENCIC, D.; KIPROVSKI, B.; POPOVIĆ, M.; PRVULOVIĆ, D.; MILADINOVIĆ, J.; BJORDJEVIĆ, V. Changes in antioxidant systems in soybean as affected by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 903-908, 2010.

MALLICK, N.; MOHN, F. H. Reactive oxygen species: response of algal cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, n. 2, p. 183-193, 2000.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Perfil do feijão no Brasil**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/feijao>>. Acesso em: 30 jan. 2017.

MARGIS-PINHEIRO, M.; SANDRONI, M.; LUMMERZHEIM, M.; OLIVEIRA, D.E. A defesa das plantas conta as doenças. **Ciência Hoje**, v. 25, n. 147, p. 24-31, 1999.

MARKOVICH, N. A.; KONONOVA, G. L.; Lytic enzymes of *Trichoderma* and their role in plant defense from fungal diseases: a review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 39, p. 341-351, 2003.

MARTINS, E. M. F. Proteínas relacionadas à patogênese. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. (ORG). **Interação Planta Patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**, Piracicaba: FEALQ, p. 387-410. 2008.

MATTOS, B. L.; NUNES, J. M.; SILVEIRA, F. MATTOS, B. T. Preparados homeopáticos no crescimento inicial de alface e rúcula. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, p.1-4, 2011.

MAUCH, F.; STAEHELIN, L. A. Functional implications of the subcellular localization of ethylene-induced and β -1.3 glucanase in bean leaves. **Plant Cell**, v. 1, p. 447-457, 1989.

MEINERZ, C. C.; GHELLER, D.; TOLEDO, M. V.; MULLER S. F.; STANGARLIN, J. R. Atividade de peroxidase na indução de resistência de tomateiro contra *Alternaria solani* por soluções homeopáticas. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14., 2010, Guarapuava. **Anais...** Guarapuava: Unicentro, 2010. p.1-4.

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D. Guerra ao mofo. **Cultivar Grandes Culturas**, v. 11, n. 120, p. 16-18, 2009.

MEYER, M. C.; GODOY, C. V.; CAMPOS, H. D. Lucro mofado. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v. 15, n. 181, p. 22-24, 2014.

MITLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science** V.7, N.9, p.406-410, 2002.

MIKLAS, P. N.; KELLY, J. D.; BEEBE, S. E.; BLAIR, M. W. Inheritance and QTL analysis of physiological resistance to white mold in common bean G122. **Crop Science**, v. 41, n. 2, p. 309-315, 2001.

MÜLLER, K. O. The formation and the immunological significance of phytoalexin produced by *Phaseolus vulgaris* in response to infection with 19 *Sclerotinia fructicola* and *Phytophthora infestans*. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 11, n. 1, p. 275-300, 1958.

NASCIMENTO, J. B.; BARRIGOSI, J. A. F. O papel das enzimas antioxidantes na defesa das plantas contra insetos herbívoros e fitopatógenos. **Agrarian Academy**, v. 1, n. 1, p. 1-17, 2014.

NECHAR, R. M. C. Homeopatia e complexidade. In: CARNEIRO, S. M. T. P. G. (Org.). **Homeopatia: princípios e aplicações na agroecologia**. Londrina. IAPAR, 2011. p. 171-182.

NECHAR, R. M. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Os pilares da homeopatia. In: CARNEIRO, S. M. T. P. G. (Org.). **Homeopatia: princípios e aplicações na agroecologia**. Londrina. IAPAR, 2011. p. 23-30.

NICHOLSON, R. L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Plant Pathology**, v. 107, p. 19-28. 1992.

NORONA, E. F.; ULHOA, C. J. Characterization of a 29-kDa β -1,3 glucanase from *Trichoderma harzianum*. **Microbiology Letters**, v. 183, p. 119-123, 2000.

OLIVEIRA, A. C. **Extrato aquoso de shiitake na indução de resistência e controle de doenças de feijoeiro e videira**. 2015. 78 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2015.

OLIVEIRA, J. S. B.; MAIA, A. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CARNEIRO, S. M. T. P. G.; BONATO, C. M. Indução de fitoalexinas em hipocótilos de feijoeiro por preparados homeopáticos de *Eucalyptus citriodora*. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, 2011.

OLIVEIRA, J. S. B.; MAIA, J. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. ; CARLOS, BONATO, M.; CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PICOLI, M. S. P. Activation of biochemical defense mechanisms in bean plants for homeopathic preparations. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, p. 971-981, 2014.

PASCHOLATI, S.F. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Org.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres. 4. ed. v. 1, 2011. p. 593-636.

PASSARDI, F.; COSIO, C.; PENEL, C.; DUNAND, C. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. **Plant Cell Reports**, v.24, p. 255-265, 2005.

PEITER-BENINCA, C.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; IURKIV, L.; ECKSTEIN, B.; COSTA, V.; NOGUEIRA, M.; STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Indução de Fitoalexinas e Atividade de Peroxidases em sorgo e soja tratados com extratos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus*. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 75, p. 285-292, 2008.

PEIXOTO, H. P.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P. R.; MOREIRA, A. M. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 3, p.137-43, 1999.

PEREIRA, F. S.; BORGES, L. P.; GUIMARÃES, G. R.; SILVA, A.; GONÇALVES, R. N.; CARVALHO, L. R.; TEIXEIRA, I. R. Estratégias de controle de mofo branco do feijoeiro. **Enciclopédia Biosfera**, V. 9, N.17, p. 1354-1371, 2013.

PORCH, T. G.; CICHY, K.; WANG, W. Nutritional composition and cooking characteristics of tepary bean (*Phaseolus acutifolius* Gray) in comparison with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Genetic Resources and Crop Evolution**, p. 1-19, 2016.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico de pragas e doenças**. 1. ed. São Paulo: Nobel, 1988. 137 p.

PURDY, L. H. *Sclerotinia sclerotiorum*: History, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution and impact. **Phytopathology**, v. 68, p. 875-880, 1979.

PUROSHOTHAMAN, D. Phenylalanine ammonia-lyase and aromatic amino-acids in rice varieties infected with *Xanthomonas oryzae*. **Phytopathologisch Zeitschrift**, v. 80, p. 171-175, 1974.

PUSTIGLIONE, M. **O moderno ORGANON da arte de curar**. 2. ed. São Paulo: Robe, 2004. 320 p.

RAVA, C. A.; SARTORATO, A. Controle químico de doenças fúngicas. In:

ARAUJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. 1.ed. Piracicaba: Potafós. 1996. 786p.

REGLINSK, T.; POOLE, P.R.; WHITAKER, G.; HOYTE, S.M. Induced resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in kiwifruit leaves. **Plant Pathology**, v. 46, p. 716-721, 1989.

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, p. 123-130. 2003.

REZENDE, J. A. M.; MASSOLA JR, N. S.; BEDENDO, I. P.; KRUGNER, T. L. Conceito de doença, sintomatologia e diagnose. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Org.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. v. 1, 2011. p. 37-58.

RISSATO, B. B.; STANGARLIN J. R.; COLTRO S.; DILDEY, O. D. F.; GONÇALVES, E. D. V.; LORENZETTI E. Atividade *in vitro* de soluções homeopáticas contra *Sclerotinia sclerotiorum*. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 3, p. 320-323, 2016b.

RISSATO, B. B.; STANGARLIN, J. R.; COLTRO-RONCATO, S.; DILDEY, O. D. F.; GONÇALVES, E. D. V.; BROETTO, L.; KUHN, O. J.; LORENZETTI, E.; MIORANZA, T.; FIGUEIRA, E. P. P.; WEBLER, T. F. B.; LAURETH, J. C. U. Control of white mold in bean plants by homeopathic medicines. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 24, p. 2174-2178, 2016.

ROMEIRO, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. (Org.). **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.411-431.

ROSSI, F.; AMBROSANO, E. J.; MELO, P.C.T. de; GUIRADO, N.; MENDES, P.C.D. Experiências básicas de homeopatia em vegetais. **Cultura Homeopática**, v. 3, n. 7, p. 12-13, 2004.

SANTOS, J. B.; GOVILANES, M. L. Botânica. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Org.). **Feijão**. 2. ed. Viçosa: UFV. 2006. p. 41-65.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. **Interação Planta Patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, p. 227-248. 2008.

SCHWARTZ, H. F.; PASTOR- CORRALES, M. A. **Bean production problems in the tropics**. 2. ed. Colombia: Cali, 1989. 726p.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, v. 67, p. 1051-1056, 1977.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 12, p. 1-26, 2012.

SIGNORETTI, R. D.; VERÍSSIMO, C. J.; DE SOUZA, F. H. M.; DE OLIVEIRA, E. M. Aspectos produtivos e sanitários de vacas mestiças leiteiras tratadas com produtos homeopáticos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4, p. 625-633, 2010.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S.; MACAGNAN, D.; HALFELD-VIEIRA, B. A.; PEREIRA, M. C. B.; MOUNTEER, A. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-especific protection and increase in enzyme activities. **Biological Control**, v. 29, p. 288-295, 2004.

SILVA, R. F.; PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 189-196, 2007.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Tropica - Ciencias Agrarias e Biologicas**, v. 1, n. 1, p. 9-15, 2007.

SOARES, M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 19-30, 2007.

SOUZA, J. L.; RESENDE, P. **Manual de Horticultura Orgânica**. 1. ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 564 p.

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**, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011.

STEADMAN, J. R. White mold: a serious yield-limiting disease of bean. **Plant Disease**, v. 67, p. 346-350, 1983.

STRACK, D. Phenolic metabolism. In: DEY, P. M.; HARBORN, J. B. (Org.). **Plant biochemistry**. London: Academic Press, 1997. p. 387-416.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 820 p. 2009.

TEIXEIRA, M. Z. O que é homeopatia? In: CARNEIRO, S. M. T. P. G. (Org.). **Homeopatia: princípios e aplicações na agroecologia**. Londrina. IAPAR, 2011a. p.19-22.

TEIXEIRA, M. Z. Racionalidade científica do modelo homeopático. In: CARNEIRO, S. M. T. P. G. (Org.). **Homeopatia: princípios e aplicações na agroecologia**. Londrina. IAPAR, 2011a. p.31-48.

TOLEDO, M. V.; STANGARLIN, J. R.; BONATO, C. M. Uso dos Medicamentos Homeopáticos Sulphur e Ferrum sulphuricum no Controle da Doença Pinta Preta em Tomateiro. **Revista Brasileira de Agroecologia**, V. 4, N. 2, p. 475-478, 2009.

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.

TOLEDO, M. V.; STANGARLIN, J. R.; BONATO, C. M.; MIORANZA, T. M.; MÜLLER, T. M.; RISSATO, B. B.; LORENZETTI, E.; COLTRO-RONCATO, S.; KOSMANN, C. R.; ASSI, L. Fungitoxicity activity of homeopathic medicines on *Alternaria solani*. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 39, p. 3824-3838. 2016

VAN LOON, L. C.; REP, M.; PIETERSE, C. M. J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annual Review Phytopathology**, v. 44, n. 135-1362, 2006.

VEGETTI, T. H.; CONTI, G. G.; PESCE, P. Chances in phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenoloxidase during the development of local necrotic lesions in pinto bean leaves infected with alfafa mosaic virus. **Phytopathologische Zeitschrift**, v. 84, p. 243-251, 1975.

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**, v. 36, n. 1, p. 73-80, 2010.

VIEIRA JÚNIOR, J.R.; ROMEIRO, R.S. Resistência sistêmica induzida em feijoeiro comum mediada por *Bacillus cereus*, uma bactéria residente de filoplano da cultura. In: RODRIGUES, F.A.; ROMEIRO, R.S. (Org.). **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa, 2007. p. 91-104.

VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. 1. ed. Viçosa: UFV, 1988. 231 p.

WASSENHOVEN, V. M. Evidence of the effectiveness of homeopathy. **Cultura Homeopática**, v. 20, p. 27-31, 2007.

WENDLAND, A.; MOREIRA, A. S.; BIANCHINI, A.; GIAMPAN, J. S.; LOBO JUNIOR, M. Doenças do feijoeiro. In: AMORIN, L.; RESENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Org.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agrônoma Ceres, 2016. p. 383-396.

WHETTEN, R. W.; MACKAY, J. J.; SEDEROFF, R. R. Recent advances in understanding lignin biosynthesis. **Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, p. 585-609, 1998.

WILLEKENS, H.; CHAMNONGPOL, S.; DAVEY, M. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C-3 plants. **EMBO Journal**, v. 16, n. 16, p. 4806-4816, 1997.

WILLEKENS, H.; INZE, D.; VAN MONTAGU, M.; VAN CAMP, W., Catalases in plants. **Molecular Breeding**, v. 1, n. 3, p. 207-228, 1995.

YOKOYAMA, M. Principais pragas e seu controle. In: ARAUJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. (Org.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafós, 1996. 786p.

ZAMBOLIN, L.; CHAVES, G. M. Conceito de doenças em plantas. In: ZAMBOLIN, L.; JESUS JÚNIOR, W. C.; PEREIRA, O. L. (Org.). **O essencial da fitopatologia: agentes causais**. Viçosa: UFV, 2012. p. 1-18.

ZAMBOLIN, L.; PAULA JÚNIOR, T. J. de. Doenças. In: VIERIA, C.; JÚNIOR, T. J. de P.; BORÉM, A. (Org.). **Feijão**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2007. 600 p.

ZHANG J. AND KIRKHAM M.B. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. **Plant Cell Physiology**, v. 35, p. 785–791, 1994.

ZHAO, H.; SUN, X.; XUE, M.; ZHANG, X.; LI, Q. Antioxidant Enzyme

Responses Induced by Whiteflies in tobacco plants in defense against aphids: catalase may play a dominant role. **Plos One**, v. 11, n. 10, p. 1-18, 2016.