

ATIVIDADE *IN VITRO* DE MEDICAMENTOS HOMEOPÁTICOS CONTRA *Sclerotinia sclerotiorum*

Bruna Broti Rissato^{1*}; José Renato Stangarlin²; Sidiane Coltro-Roncato³; Omari Dangelo Forlin Dildey³; Edilaine Della Valentina Gonçalves³; Eloisa Lorenzetti¹

SAP 13353 Data envio: 21/12/2015 Data do aceite: 26/01/2016
Sci. Agrar. Parana., Marechal Cândido Rondon, v. 15, n. 3, jul./set., p. 320-323, 2016

RESUMO - O fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causal da doença mofo branco, é um patógeno polífago que possui ampla faixa de hospedeiros e pode sobreviver por vários anos no solo. Métodos alternativos são necessários para o controle, tais como a homeopatia. O presente trabalho teve por objetivo verificar a atividade antimicrobiana de medicamentos homeopáticos contra *S. sclerotiorum*. Foram conduzidos dois ensaios, o primeiro com *Nosodio* de *S. sclerotiorum* e o segundo com *Sulphur*, ambos dinamizados em 0, 6, 12, 24, 36 e 48 CH (centesimal hahnemaniana), sendo a água destilada o tratamento controle. Considerou-se como dinamização 0 CH o tratamento com solução hidroalcoólica (30%), por se tratar do diluente no preparo dos referidos medicamentos. Avaliou-se o número de escleródios e o crescimento micelial. Nenhum medicamento utilizado reduziu o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. Os medicamentos *Nosodio* 24 CH e *Sulphur* 36 CH e 48 CH reduziram em 100% o número de escleródios produzidos pelo patógeno.

Palavras-chave: crescimento micelial, homeopatia, *Nosodio*, número de escleródios, *Sulphur*.

IN VITRO ACTIVITY OF HOMEOPATHIC DRUGS AGAINST *Sclerotinia sclerotiorum*

ABSTRACT - *Sclerotinia sclerotiorum*, the causal agent of white mold, is a polyphagous pathogen with a large number of plant hosts, and that can survival for many years in the soil. Alternative methods are necessary to its control, such as homeopathy. This work aimed to verify the antimicrobial activity of homeopathic drugs against *S. sclerotiorum*. Two assays were conducted: the first one using *Nosode* of *S. sclerotiorum*, and the second with *Sulphur*, both at 0, 6, 12, 24, 36 and 48 CH (hahnemanian centesimal dilution), and distilled water as control treatment. The dilution 0 CH was the hydro alcoholic solution with ethanol 30%. The number of sclerotia and the mycelial growth were evaluated *in vitro*. None of the drugs reduced the mycelial growth of *S. sclerotiorum*, but, *Nosode* 24 CH and *Sulphur* 36 CH and 48 CH completely inhibited the production of sclerotia.

Key words: mycelial growth, homeopathy, *Nosode*, number of sclerotia, *Sulphur*.

INTRODUÇÃO

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary é o agente causal da doença mofo branco, comum em muitos países (MEYER; CAMPOS, 2009). *S. sclerotiorum* é um patógeno polífago, possuindo mais de 300 espécies hospedeiras pertencentes a cerca de 200 gêneros botânicos (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007). A condição de alta umidade associada à baixa temperatura (ideal entre 10 e 21 °C) é mais favorável ao fungo (EMBRAPA, 2014).

A doença também é conhecida por murcha de *Sclerotinia* e podridão aquosa, e pode ocasionar a morte da planta. Após a infecção, densa massa branca do fungo cresce nos órgãos infectados, a qual se torna pardacenta, dando origem aos escleródios (CARNEIRO et al., 2015). Estes 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,

difícilmente são alcançados pelos fungicidas (EMBRAPA, 2014).

O controle da doença deve, sempre que possível, adequar uma combinação de métodos para manter a população do patógeno abaixo do linear de dano econômico e, ao mesmo tempo, minimizar os efeitos negativos no ambiente (ZAMBOLIM, PAULA JR., 2008). Daí a necessidade de desenvolver tecnologias de controle alternativo de doenças (BOFF, 2008).

A eficácia do tratamento químico da doença mofo branco é baixa (EMBRAPA, 2015) visto que defensivos químicos conseguem manter a cultura livre do parasita, mas não conseguem curá-la, pois, a cura e a força vital da planta é o que mantém suas funções em atividade harmônica (PUSTIGLIONE, 2004). Assim, a homeopatia, técnica não imediatista e sempre em busca do equilíbrio nos fenômenos naturais, surge como o controle alternativo

¹Mestranda em Agronomia, Programa de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. E-mail: brunarissato@hotmail.com; eloisa-lorenzetti@hotmail.com. *Autor para correspondência

²D.Sc., Professor Adjunto, Centro de Ciências Agrárias, UNIOESTE. E-mail: jose.stangarlin@unioeste.br

³Doutorando (a) em Agronomia, Centro de Ciências Agrárias, UNIOESTE. E-mail: scoltr@hotmail.com; omaridildey@hotmail.com; edilainevalentina@gmail.com

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, 2004).

Em 1999, a homeopatia foi reconhecida pela Instrução Normativa nº 7, como insumo agrícola. Desde então, muitas experiências de uso da homeopatia em vegetais vêm sendo realizadas em vários locais do Brasil (LISBOA et al., 2005; CARNEIRO et al., 2010; TOLEDO et al., 2015), 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, morfológico ou fisiológico (CASTRO, 2013).

Nesse contexto, o conhecimento da ação de medicamentos homeopáticos em fitopatógenos pode desenvolver mais uma alternativa potencial e viável de controle de doenças de plantas. Sendo assim, o presente trabalho objetivou verificar a atividade antimicrobiana dos medicamentos homeopáticos *Sulphur* e *Nosodio* contra *S. sclerotiorum*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado composto por dois ensaios. O primeiro ensaio foi realizado com o medicamento *Sulphur*, e o segundo com o medicamento *Nosodio*, ambos dinamizados em 0, 6, 12, 24, 36 e 48 CH (centesimal hahnemania), com um controle (água destilada) e cinco repetições. Considerou-se como dinamização 0 CH o tratamento com solução hidroalcoólica (30%) sem sucussão, por se tratar do diluente no preparo dos referidos medicamentos.

O medicamento *Sulphur* foi obtido em farmácia homeopática na dinamização 6 CH e manipulado em 12, 24, 36 e 48 CH conforme a Farmacopéia Homeopática Brasileira (2011), diluindo 1:100 e sucussando 100 vezes. Seguiu-se a diluição pluralista proposta por Hahnemann, onde se utilizou um frasco para cada diluição e a sucussão foi feita em movimentos unidirecionais, sequenciais e verticais com o auxílio de um agitador mecânico.

O nosódio de *S. sclerotiorum* foi obtido a partir de escleródios do fungo produzidos em meio batata-dextrose-água (BDA), e utilizado para preparar a tintura-mãe necessária à obtenção do medicamento *Nosodio*. Para tanto, adicionou-se em um vidro âmbar 18 mL de álcool 70% e 2,0 g de escleródios. O vidro foi envolto por papel alumínio e mantido em repouso por 21 dias, em local arejado, ao abrigo da incidência solar direta e do calor, para que o processo de maceração da matéria prima ocorresse de forma padronizada e precisa. Passado esse período, a mistura foi filtrada e a tintura-mãe finalizada e pronta para dar origem ao medicamento.

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

de cultura, cada placa de Petri recebeu um disco de 7,0 mm de diâmetro contendo micélio da colônia pura de *S. sclerotiorum* em seu centro, sendo, posteriormente, vedadas com filme plástico e mantidas a 25 °C na ausência de luz.

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 progresso da doença (AACPD) de Shaner e Finney (1977).

A variável número de escleródios (NE) foi mensurada 30 dias após a montagem do teste pela contagem do número de escleródios formados em cada placa de Petri.

Para análise dos dados foi realizada a análise de variância pelo teste F e teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Utilizou-se o software livre Genes (CRUZ, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O medicamento homeopático *Nosodio* apresentou diferença significativa para crescimento micelial (Tabela 1), de modo que para as dinamizações que diferiram do tratamento controle houve incremento da AACPD de *S. sclerotiorum*. Para o medicamento *Nosodio* 12 CH e 48 CH, tal incremento foi de 9,72% e 10,54%, respectivamente, indicando a ineficiência antifúngica dos mesmos e um estímulo no crescimento fúngico.

Para a variável NE, somente o medicamento *Nosodio* 24 CH foi eficiente, reduzindo em 100% o número de escleródios produzidos em relação ao tratamento controle. Em relação à dinamização 0 CH, a redução foi de 48,24%, o que indica haver um provável efeito do álcool sobre o patógeno.

O medicamento *Sulphur* (Tabela 2), nas dinamizações 24 CH e 36 CH, incrementou em 10,70% e 12,38%, respectivamente, o crescimento micelial expresso como AACPD. Essa falta de efeito antifúngico do *Sulphur* foi relatada por Damin et al. (2014) em trabalho com o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. No entanto, tais resultados divergem daqueles obtidos por Toledo (2009), que verificou redução no crescimento micelial do fungo *Alternaria solani* quando submetido a tratamento com *Sulphur* 100 CH, comprovando a ação antifúngica do medicamento.

Os medicamentos *Sulphur* 36 CH e 48 CH reduziram em 100% o número de escleródios produzidos por *S. sclerotiorum*. No entanto, eles foram estatisticamente semelhantes à dinamização 0 CH, confirmando que o álcool apresentou efeito sobre a formação de escleródios. Considerando-se que um único escleródio, sob condições adequadas, produz inúmeros apósporos, os quais, em um período de 10 dias, são aptos à produzir cerca de 2 a 30 milhões de ascósporos cada (CLARKSON et al., 2003), os medicamentos *Nosodio* 24 CH e *Sulphur* 36 CH e 48 CH apresentam-se como uma alternativa ao controle integrado de *S. sclerotiorum*,

Atividade *in vitro* de medicamentos homeopáticos...

RISSATO, B. B. et al. (2016)

retardando o crescimento exponencial do patógeno ao longo dos anos, sendo capazes de reduzir em até 100% o número de escleródios formados pelo patógeno.

Resultados semelhantes são descritos por Lorenzetti et al. (2013), que ao avaliar a atividade

antifúngica de medicamentos homeopáticos sobre o fungo *Macrophomina phaseolina*, constatou redução média de 69% no número de escleródios pelo medicamento *Sulphur* 6 CH.

TABELA 1. Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e número de escleródios (NE) de *Sclerotinia sclerotiorum* tratado com o medicamento homeopático *Nosodio* em diferentes dinamizações.

Dinamização (CH)	AACCM*	NE*
0	145,07 cd	22,00 b
6	135,55 d	29,25 ab
12	153,68 ab	539,00 ab
24	149,10 abc	00,00 c
36	140,47 cd	26,75 ab
48	154,84 a	35,00 ab
Controle	140,07 cd	42,50 a
CV (%)	3,34	32,06

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

TABELA 2. Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) e número de escleródios (NE) de *Sclerotinia sclerotiorum* tratado com o medicamento homeopático *Sulphur* em diferentes dinamizações.

Dinamização (CH)	AACCM*	NE*
0	135,51 c	5,50 b
6	135,63 c	29,25 a
12	149,65 ab	34,25 a
24	155,06 a	38,75 a
36	157,42 a	0,00 b
48	135,51 c	0,00 b
Controle	140,07 bc	42,50 a
CV (%)	3,76	35,77

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

Os resultados obtidos no presente trabalho confirmam, portanto, a variabilidade das respostas de acordo com a dinamização utilizada, conforme já vem sendo apresentado por diversos autores (CARNEIRO et al., 2010; ANDRADE et al., 2012; DAMIN et al., 2014).

Nas experimentações homeopáticas, não raro, um mesmo medicamento é capaz de causar diferentes respostas no organismo em tratamento em conformidade com a dinamização (MULLER et al., 2009). O mesmo é afirmado por Castro (2013), segundo o qual, desde os primórdios da homeopatia, é comum verificar a mesma solução causando diferentes efeitos, devido às dinamizações, ora incrementando, ora inibindo determinada variável.

Apesar do incremento de crescimento micelial pelos medicamentos que diferiram do tratamento controle, os resultados demonstram que o patógeno *S. sclerotiorum* responde à aplicação de homeopatia, havendo a necessidade de estudos posteriores para adequação de um

medicamento que efetivamente apresente maior atividade antifúngica.

CONCLUÇÕES

Os medicamentos homeopáticos *Nosodio* e *Sulphur* não reduziram o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. Porém, *Nosodio* 24 CH e *Sulphur* 36 CH e 48 CH reduziram em 100% o número de escleródios quando comparados ao tratamento controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, F.M.C.; CASALI, V.W.D.; CECON, P.R.C. Crescimento e produção de cumarina em plantas de chamba (*Justicia pectoralis* Jacq.) tratadas com isoterápico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, p.154-158, 2012.
- BOFF, P. **Agropecuária saudável**: da prevenção de doenças, pragas e parasitas à terapêutica não residual. Lages: UDESC, 2008. 1.ed., 80p.
- BONATO, C.M.; SOUZA, A.F.; OLIVEIRA, L.C.; TOLEDO, M.V.; PERES, P.G.P.; GRISA, S.; SAAR, V.V. **Homeopatia simples**: alternativa para agricultura familiar. Marechal Cândido Rondon: Líder, 2007. 1.ed., 26p.

- CARNEIRO, S.M.T.P.G.; ROMANO, E.D.B.; PIGNONI, E.; TEIXEIRA, M.Z.; VASCONCELOS, M.E.C.; GOMES, J.C. Effect of biotherapeutic of *Alternaria solani* on the early blight of tomato-plant and the *in vitro* development of the fungus. **International Journal of High Dilution Research**, v.9, n.33, p.147-155, 2010.
- CARNEIRO, J.E.S.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão**: do plantio à colheita. Viçosa: Ed. UFV, 2015. 384p.
- CASALI, V.W.D. Utilização da homeopatia em vegetais. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, 5., Toledo, PR. **Anais...** Toledo, PR, 2004. p.89-11.
- CASTRO, D.M. Homeopathy: principles and applications. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON HOMEOPATHY IN AGRICULTURE, 2., Maringá, PR. **Anais...** Maringá, PR, 2013. CD-Rom.
- CLARKSON, J.P.; STAVELEY, J.; PHELPS, K.; YOUNG, C.S.; WHIPPS, J.M. Ascospore release and survival in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycological Research**, Cambridge, v.107, n.2, p.213-222, 2003.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes**: Biometria. Viçosa: UFV, 2006. 382p.
- DAMIN, S.; ALVES, L.F.A.; ALEXANDRE, T.M.; BONINI, A.K.; BONATO, C.M. Preparados homeopáticos sobre a atividade do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Cordycipitaceae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.9, n.3, p.41-53, 2014.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2013/2014**. Londrina: Embrapa Informação Tecnológica, 2015. 1.ed., 4p.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. **Manual de identificação de doenças de soja**. Londrina: Embrapa Informação Tecnológica, 2014. 5.ed., 78 p.
- FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Produção de feijão**. Piracicaba: Os Autores, 2007. 2.ed., 386p.
- FARMACOPÉIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA. São Paulo: Editora Atheneu, 2.ed., 2011.
- LISBOA, S.P.; CUPERTINO, M.C.; ARRUDA V.M.; CASALI, V.W.D. **Nova visão dos organismos vivos e o equilíbrio pela homeopatia**. Viçosa, MG, 2005. 103p.
- LORENZETTI, E.; RISSATO, B.B.; TOLEDO, M.V.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J. Controle de *Macrophomina phaseolina* em soja por medicamentos homeopáticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 46., Ouro Preto, MG. **Anais...** Ouro Preto, MG., 2013. CD-Rom.
- MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D. Guerra ao mofo. **Cultivar Grandes Culturas**, n.120, ano 11, p.16-18, 2009.
- MÜLLER, S.F.; MEINERZ, C.C.; CASAGRANDE, J. Efeito de soluções homeopáticas na produção de rabanete. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p.2492-2495, nov. 2009.
- PUSTIGLIONE, M. **O modern organon da arte de curar**. São Paulo: Ed. Typus, 2004. 2.ed., 320p.
- 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.
- TOLEDO, M.V. **Fungitoxicidade contra *Alternaria solani*, controle da pinta preta e efeito sobre o crescimento de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) por medicamentos homeopáticos**. 2009. 93p. Dissertação Mestrado - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 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.
- ZAMBOLIM, L.; PAULA JÚNIOR, T.J. Doenças. In: VIERIA, C.; JÚNIOR, T.J.P.; BORÉM, A. **Feijão**. Viçosa: Ed. UFV, 2008. 2.ed., 600p.