



## **Preparados homeopáticos alteram o conteúdo de proteína e a atividade da peroxidase em feijoeiro**

*Homeopathic preparations cause response in protein content and peroxidase activity in common bean*

DEBONI, Tarita Cira<sup>1,3</sup>; CARGNELUTTI, Denise<sup>1</sup>; GHIZZONI, Júlia Carolina<sup>1</sup>; DALL AGNOL, Andriele<sup>1</sup>; BOFF, Pedro<sup>2</sup>; PETRY, Cláudia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Erechim, RS, Brasil. tarita.deboni@uffs.edu.br; <sup>2</sup>Lab. Homeopatia e Saúde Vegetal - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Saúde, Universidade do Planalto Catarinense, Lages, SC; <sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS.

### **Eixo temático: Manejo de Agroecossistemas de Base Ecológica**

**Resumo:** A homeopatia ativa nas plantas respostas dinâmicas no reequilíbrio energético e nas defesas naturais. Peroxidases são estudadas na indução de resistência por sua participação no processo de defesa das plantas. Objetivou-se avaliar o conteúdo de proteína e a atividade da enzima peroxidase em plantas de feijoeiro tratadas com os preparados homeopáticos *Arsenicum album*, *Staphisagria*, *Silicea* e *Sulphur*. O efeito dos preparados foi estudado nas dinamizações 6CH, 12CH e 18CH, comparados com água destilada como controle. Determinou-se a atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) e quantificação das proteínas solúveis. A maioria dos preparados homeopáticos causou incremento no conteúdo de proteína no feijoeiro, quando comparadas ao controle. Para a APX, os preparados homeopáticos causaram alteração positiva ou negativa em relação ao controle em pelo menos uma das potências testadas. Os resultados indicam potencial da homeopatia na indução de mecanismos bioquímicos de defesa do feijoeiro.

**Palavras-chave:** Homeopatia; enzimas; altas diluições dinamizadas; feijão.

**Keywords:** Homeopathy; enzymes; high dynamized dilutions; bean.

**Abstract:** Homeopathy activates in plants dynamic responses in energy rebalancing and natural defenses. Peroxidases are widely studied in the induction of resistance by their effective participation in plants defense process. The objective of this study was to evaluate the protein content and peroxidase activity in common bean plants treated with homeopathic preparations of *Arsenicum album*, *Staphisagria*, *Silicea* and *Sulphur*. The effect of the preparations was studied in the dynamics 6CH, 12CH and 18CH, compared with distilled water, as a control. The activity of the enzyme ascorbate peroxidase (APX) and quantification of the soluble proteins were determined. Most homeopathic preparations caused an increase in protein content in bean plants when compared to control. For APX, homeopathic preparations caused a positive or negative change over control in at least one of the potencies tested. The results indicate the potential of the homeopathic medicines applied in the induction of biochemical defense mechanisms of the bean.

### **Introdução**

A homeopatia é a ciência que se baseia no uso de preparados diluídos e succussionados como meio de incitar reatividade ao organismo enfermo para



restabelecer sua própria saúde (BOFF, 2009). A utilização de preparados homeopáticos na produção vegetal incide diretamente nos processos fisiológicos das plantas, sem gerar efeitos tóxicos, podendo atuar como indutores de resistência a insetos e pragas, auxiliando na manutenção da produtividade através da produção de metabólitos secundários (MORENO, 2017). Trabalhos científicos demonstrando a indução de resistência com o uso de homeopatia geralmente são realizados nos casos de estresses causados por fitopatógenos (STANGARLIN et al, 2011). Oliveira et al. (2014) demonstraram que *Corymbia citriodora*, *Calcarea carbonica*, *Silicea* e *Sulphur*, nas dinamizações 12, 24, 30 e 60CH, aumentaram a atividade de peroxidase, catalase, quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase, em pelo menos um dos esquemas avaliados em relação ao controle, demonstrando que há potencial indutor dos tratamentos em feijoeiro. Os preparados *Thuya occidentalis* em 6, 12, 24, 50, 100, 200 e 400CH, foram comparados com a água, como controle. Algumas dinamizações aumentaram a atividade de enzimas de defesa vegetal, como peroxidase (24, 50, 200 e 400CH), polifenoloxidase (200CH) e fenilalanina amônia-liase (24 e 50CH) (MIORANZA et al., 2017).

O objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas bioquímicas das plantas a homeopatia e, a partir da definição de um medicamento/preparado, verificar qual a potência adequada para induzir no feijoeiro a expressão do seu sistema de defesa, medidos através do conteúdo de proteína e da atividade da enzima peroxidase.

## Metodologia

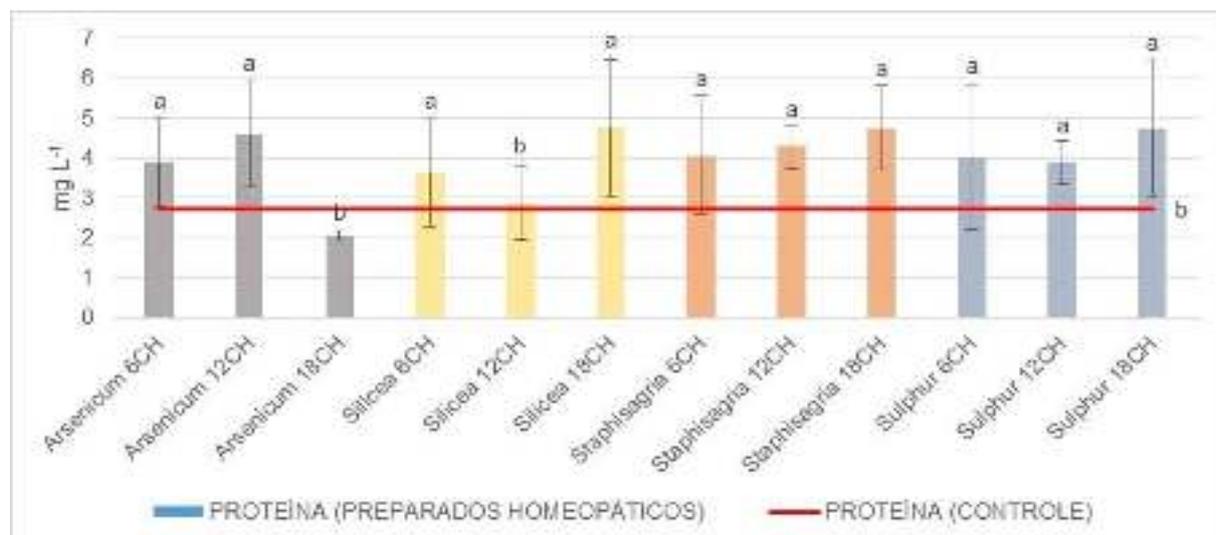
Os experimentos foram conduzidos em estufa climatizada na safra 2017/2018 e no Laboratório de Entomologia e Bioquímica da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus Erechim*. As plantas de feijão preto, acesso local, foram cultivadas em vasos com volume de 3,5 L, utilizando substrato com solo tipo Latossolo, composto orgânico e areia na proporção 1:1:1, não esterilizados. Foram semeadas três sementes por vaso e realizado o raleio no estágio V2, deixando apenas uma planta por vaso. Os preparados homeopáticos foram escolhidos a partir de analogia com as matérias médicas humanas e de resultados em experimentação vegetal relacionada. Os tratamentos foram *Arsenicum album*, *Staphisagria*, *Silicea terra* e *Sulphur*, todos nas potências 6CH, 12CH e 18CH (CH - ordem de diluição centesimal hahnemanniana), comparados a um controle com aplicação de água destilada. Todas as dinamizações foram adquiridas em farmácia homeopática, em álcool 5%. Por ocasião da aplicação, os preparados foram diluídos na proporção de 1%, sendo aplicados diretamente no substrato dos vasos em volume de 40 mL vaso<sup>-1</sup>. A primeira aplicação foi no momento da semeadura e as demais, a cada 15 dias até o momento da coleta das plantas, totalizando quatro aplicações.

As amostras foram retiradas após 45 dias da semeadura, quando as plantas estavam em estágio V7. Foi retirada a planta inteira, sendo separada a raiz da parte aérea, acondicionada em sacos de alumínio e imersas imediatamente em nitrogênio líquido para congelamento. Todas as amostras coletadas foram mantidas em

ultrafreezer (-40°C) até o momento das análises bioquímicas. As amostras foliares foram maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 3 mL de tampão fosfato de sódio 0,05 M (pH 7,8) contendo 0,1 mM EDTA (ácido etilenodiamino tetraacético) e 2% de PVP (poli-vinil-pirrolidona). O homogeneizado foi centrifugado a 9.500 rpm por 20 minutos a 4°C, sendo o sobrenadante coletado e utilizado posteriormente para as avaliações. Para a quantificação de proteínas o método empregado foi o de Bradford (1976). O extrato enzimático foi diluído 1:4 em tampão de extração sendo que a cada 10 µL da amostra foi acrescentado 30 µL de tampão e 2,5 mL do reagente de Bradford, sob agitação. Após cinco minutos foi realizada a leitura a 595 nm em espectrofotômetro. Os valores de absorbância obtidos para as amostras foram comparados com uma curva padrão com concentrações conhecidas de albumina de soro bovina (ASB). Os resultados obtidos para os níveis de proteínas foram expressos em mg proteína L<sup>-1</sup>. Para a avaliação da atividade da enzima peroxidase, aproximadamente 1 g de folhas de feijoeiro foram homogeneizadas com tampão fosfato de sódio, 50 mM (pH 7,0), contendo PVP a 10 g L<sup>-1</sup>, EDTA 0,2 mM e triton X-100 10 mL L<sup>-1</sup>. O homogeneizado foi centrifugado a 12.000 rpm por 20 min a 4°C. O sobrenadante resultante foi utilizado para a quantificação da atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX), realizada de acordo com metodologia descrita em Zhu et al. (2004).

## Resultados e Discussão

A análise do conteúdo de proteína da parte aérea do feijoeiro mostrou que a maioria dos preparados homeopáticos testados apresentou resultado, significativamente maior do que o controle (Figura 1). Houve redução no teor de proteína, sendo equivalente ao controle, apenas com *Silicea* 12CH e *Arsenicum* 18CH.

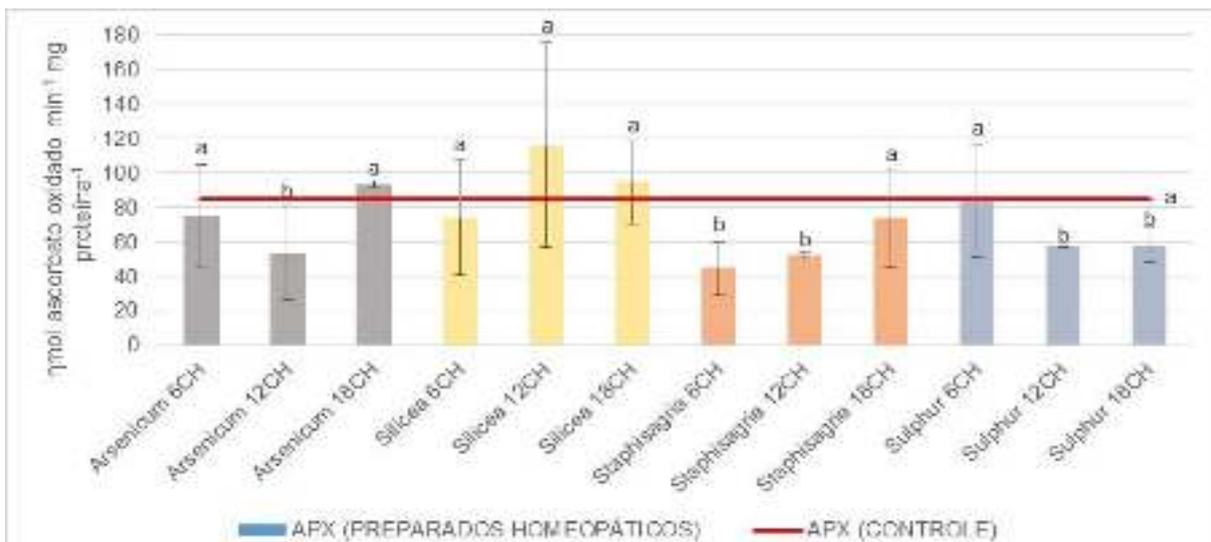


**Figura 1.** Concentração de proteína (mg L<sup>-1</sup>) em folhas de feijoeiro (estádio V7, 45 dias após a semeadura) tratado com os preparados homeopáticos *Arsenicum album*, *Silicea terra*, *Staphisagria*, e *Sulphur*, nas potências 6CH, 12CH e 18CH, comparados ao controle. Erechim, 2019.



Segundo a teoria da trofobiose, um aumento na concentração de proteínas nas plantas, em relação inversa dos aminoácidos, é observado em tecidos resistentes a pragas e doenças (CHABOUSSOU, 2006). Assim, quando a planta está equilibrada, ela irá produzir por meio do seu metabolismo e fotossíntese substâncias complexas, que são mais difíceis de serem digeridas e assimiladas pelos insetos herbívoros. Em outras palavras, o aumento na concentração de proteína gera tecidos resistentes, pela ausência de nutrientes solúveis e da facilidade com que são assimilados. Todos os processos vitais dependem da satisfação das necessidades dos organismos vivos, sejam eles vegetais ou animais (POLITO, 2006).

Para a atividade de peroxidase, foram encontrados resultados de incremento com o preparado homeopático *Silicea terra* em todas as potências testadas. Entretanto, houve redução da atividade da APX com os preparados homeopáticos *Arsenicum album*, *Staphisagria* e *Sulphur*, sendo significativamente menores que a testemunha em algumas potências (Figura 2).



**Figura 2.** Atividade de ascorbato peroxidase (APX) ( $\eta\text{mol ascorbato oxidado min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  proteína) em folhas de feijoeiro (estádio V7, 45 dias após a semeadura) tratado com os preparados homeopáticos *Arsenicum album*, *Silicea terra*, *Staphisagria*, e *Sulphur*, nas potências 6CH, 12CH e 18CH, comparados ao controle. Erechim, 2019.

Mudanças na atividade de peroxidase são correlacionadas com respostas de defesa de plantas, tanto a patógenos quanto a insetos herbívoros. Incrementos nessa atividade são desejados e já foram relatados em feijoeiro utilizando-se preparados *Silicea* e *Sulphur*, nas dinamizações 12, 24, 30 e 60CH (OLIVEIRA et al., 2014). Os resultados dos mesmos autores se aproximam daqueles observados no presente estudo, principalmente, com o preparado *Silicea*. Entretanto, há de se considerar que um estresse biótico ou abiótico pode ser um estímulo desencadeador para a produção de peroxidase, o que no caso estudado não foi provocado no feijoeiro. Em tomateiro, incrementos de peroxidase foram relatados utilizando-se o preparado



*Thuya occidentalis* nas dinamizações 6, 12, 24, 50, 100, 200 e 400CH, após estresse biótico causado por nematoide (MIORANZA et al., 2017).

## Conclusões

Os preparados homeopáticos de *Arsenicum album*, *Silicea terra*, *Staphisagria*, e *Sulphur* causaram incremento no conteúdo de proteína das folhas de feijoeiro, quando comparadas ao controle. Pelo menos uma das potências testadas induziu alteração na atividade da peroxidase. Os resultados indicam o potencial dos medicamentos aplicados na indução de mecanismos bioquímicos de defesa em feijoeiro.

## Referências bibliográficas

BOFF, P. Saúde vegetal e a contribuição da homeopatia na transição ecológica da agricultura. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, 2009.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Amsterdam, v. 72, p. 248-254, 1976.

CHABOUSSOU, F. **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: novas bases de uma prevenção contra doenças e parasitas: a teoria da trofobiose**. 1 ed. São Paulo: Expressão popular, 2006. 320 p.

MIORANZA, T. M.; et al. Control of *Meloidogyne incognita* in tomato plants with highly diluted solutions of *Thuya occidentalis* and their effects on plant growth and defense metabolism. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.38, n.4, p. 2187-2200, 2017.

MORENO, N. M. Agrohomeopatia como alternativa a los agroquímicos. **Revista Médica de Homeopatia**, v.10, n.1, p. 9-13, 2017.

OLIVEIRA, J. S. B.; et al. Activation of biochemical defense mechanisms in bean plants for homeopathic preparations. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 11, p. 971-981, 2014.

POLITO, W. L. The Trofobiose theory and organic agriculture: the active mobilization of nutrients and the use of rock powder as a tool for sustainability. **Anais da Academia Brasileira de Ciencia**, v.78, n. 4, p.765-779, 2006.

STANGARLIN, J. R.; et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.10, n.1, p. 18-46, 2011.

