

CINTIA ARMOND

CRESCIMENTO E MARCADORES QUÍMICOS EM PLANTAS DE *Bidens pilosa* L.  
(Asteraceae) TRATADAS COM HOMEOPATIA

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL

2003

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A733c  
2003

Armond, Cintia, 1975-

Crescimento e marcadores químicos em plantas de  
*Bidens pilosa* L. (Asteraceae) tratadas com homeopatia /  
Cintia Armond. – Viçosa : UFV, 2003.  
127p. : il.

Orientador: Vicente Wagner Dias Casali  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa

1. *Bidens pilosa*. 2. Picão-preto - Crescimento - Efeito da homeopatia. 3. Essências e óleos essenciais - Produção - Efeito da homeopatia. 4. Homeopatia. 5. Plantas medicinais. 6. Flavonóides - Produção - Efeito da homeopatia. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 20.ed. 633.88355

CINTIA ARMOND

CRESCIMENTO E MARCADORES QUÍMICOS EM PLANTAS DE *Bidens pilosa* L.  
(Asteraceae) TRATADAS COM HOMEOPATIA

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA EM: 27 de fevereiro de 2003.

---

Prof. Paulo Roberto Cecon  
(Conselheiro)

---

Prof. Efraim Lázaro Reis  
(Conselheiro)

---

Prof. José Emílio Zanzirolani de Oliveira

---

Prof. Geraldo Antônio de A. Araújo

---

Prof. Vicente Wagner Dias Casali  
(Orientador)

*Dedico à*

*Flor do muro, que aí nasce numa  
carcomida fenda, flor que arranco  
e na mão pego com raiz e tudo,  
ó flor pequena, se eu apenas, ora,  
te compreendesse, com raiz e tudo,  
e tudo em tudo compreendesse agora,  
eu saberia o que é Deus - e o homem.*

*Temyson*

*Não sei se é sonho, se realidade.  
se uma mistura de sonho e vida,  
aquela terra de suavidade  
que na ilha extrema do sul se olvida  
é a que ansiamos. A li, ali  
a vida é jovem e o amor sorri.  
Talvez palmares inexistentes  
A liás longínquas sem poder ser ...  
Sombra ou sossego dêem aos crentes  
De que essa terra se pode ter...  
Felizes, nós? A h, talvez, talvez,  
Naquela terra, daquela vez...  
Mas já sonhado se desvirtua  
Só de pensá-la cansou pensar...  
Sob os palmares, á luz da lua,  
Sente-se o frio de haver luar...  
A h, nessa terra também, também  
O mal não cessa, não dura o bem  
Não é com ilhas do fim do mundo,  
Nem com palmares de sonho ou não...  
Que cura a alma seu mal profundo,  
Que o bem nos entra no coração...  
E em nós que é tudo. É ali, ali,  
Que a vida é jovem e o amor sorri.*

*Fernando Pessoa*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que é o princípio de tudo, por permitir a minha existência neste planeta e, sobretudo, por ter apontado este caminho e estado sempre fiel ao meu lado.

Às plantas medicinais, em especial o picão (*Bidens pilosa* L.), cuja matéria-prima foi peça fundamental na realização desta pesquisa, pelas diversas contribuições à nossa nação.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Professor Vicente Wagner Dias Casali, pela amizade, compreensão e orientação em todos os momentos, mostrando-me, através de exemplos, vencendo desafios, desbravando novas áreas de conhecimento, como viver com sabedoria e dignidade, obedecendo sempre à hierarquia com a mesma garra e força e seguindo em frente.

Ao Professor Paulo Roberto Cecon, pela amizade, pelo aconselhamento estatístico e pela paciência e dedicação.

Aos Professores Efraim Lázaro Reis e Geraldo Antônio A. Araújo, pelo aconselhamento e pelas valiosas sugestões e contribuições no polimento deste trabalho.

Ao Professor Fernando Luiz Finger, pelas valiosas sugestões, pela paciência e pelos conhecimentos transmitidos.

Aos meus estimados amigos e co-orientadores Professores José Emílio e Daniel Melo de Castro, pela sempre disposição em ensinar e sugerir com tamanha paciência e dedicação.

A Ribeiro, Geraldo, Seu Quiquinho, Seu Vicente e Zé Geraldo, pela amizade e por terem estado sempre presentes ao meu lado nesta caminhada, ajudando-me e amparando-me nas horas mais difíceis.

Ao pessoal da Secretaria do Departamento de Fitotecnia Mara, Cássia, Marise, Graça, Dona Eva Caetano e Luizinho, pelo apoio e auxílio.

Aos meus amigos do Laboratório de farmacognosia da UFMG Gustavo, Flávia e à estagiária de Alfenas, pela receptividade, pela força e pelo incentivo da não-desistência mesmo nos momentos mais temerosos – “Em meio ao deserto, no dia-a-dia desabrochando e murchando como flores, mas sobrevivendo a cada dia”.

À Professora Maria das Graças, por ter permitido a execução das análises e proporcionar-me uma visão mais crítica da vida.

Ao pessoal do Laboratório de Pós-Colheita e à gauchinha Luthiani, pela amizade, pela paciência e por compartilhar tantos momentos agradáveis juntos

Ao Grupo Entre Folhas e todos os seus membros, por serem o pivô de toda esta conquista e, sobretudo, pela oportunidade de conhecer o mundo encantador das Plantas Medicinais.

À equipe Folhas de Chá (Alê, Fran e Rê), pela força, pelo ombro amigo e, sobretudo, pela sincera amizade e carinho em todos esses anos.

A Maira e Reinald, pelas valiosas colaborações e ensinamentos de amizade e solidariedade e pelo tamanho carinho que têm para com os amigos.

A Marinalva e Sonito, pelo auxílio nas demonstrações gráficas, em que me via de frente “a enormes icebergs e curvas tortuosas”, que eles as transformaram em “retas e lombadinhas”.

A Fernandinha, Débora e Bruna, pela amizade e pelas preciosas contribuições inesgotáveis

À minha estimada chefe Vivis, pelo companheirismo, carinho e, sobretudo, pela pureza de tamanha amizade em todos esses anos.

À chefinha Élen, pela amizade e sempre disposição em compartilhar seus conhecimentos, ensinamentos e o convívio nestes anos.

Aos meus grandes amigos Danielzinho e Paulo, pela amizade, pela colaboração, pelo apoio e por estar sempre presente em todos esses anos.

À minha amiga e companheira de república Jaque, por ter acompanhado e compartilhado comigo grande parte desta trajetória, nos momentos difíceis e de alegrias; no dia-a-dia, sempre me ajudando e tirando forças e confiança nas nossas orações matinais.

À minha amiga Ludinha... em meio “a atividade enzimática” resultou uma grande amizade, pelos ensinamentos e, sobretudo, pela disposição e paciência.

À minha tia Terezinha, pelas orações, pelos momentos de tanta alegria que compartilhamos e pelos valiosos ensinamentos de amizades.

À minha equipe predileta Suzana, Crislene e Andréia e ao meu predileto estagiário Lourenço, pela presença, pelo apoio, pelo auxílio e, sobretudo, pela paciência nesta etapa cumprida.

Aos meus irmãos Marquinho, Dica, Natim e Flavinha, pelo constante incentivo, apoio em tudo e pelo amor incondicional que fundamenta nossa união.

Aos meus sobrinhos Kliu e Bella, por ser um presente de Deus e tornar a nossa vida mais feliz.

Aos meus pais Revalino Armond Júnior e Tereza José Armond, por ter permitido a minha chegada ao mundo e por todos os ensinamentos, sobretudo a ter esperança, fé e amor.

Aos meus tios e parentes, pelo incentivo e colaboração mesmo a distância e, em especial, ao meu tio Pio, por sempre transmitir no sorriso confiança, fé, garra e determinação.

Aos meus avós e aos meus grandes patriarcas, por, em meio a tantos troncos e barrancos, terem-me proporcionado estar na ponta de uma folha nesta árvore genealógica tão frondosa e harmoniosa, que nos reuniu no amor de Cristo.

A todos os meus colegas, amigos e você, leitor, que, de alguma forma, contribuíram, ou contribuirão, para a publicação deste trabalho.

## CONTEÚDO

	Página
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiv
CAPÍTULO 1 .....	1
RESPOSTA DE <i>Bidens pilosa</i> L. ÀS PREPARAÇÕES HOMEOPÁTICAS: CRESCIMENTO, TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL, PRESENÇA DE COMPOSTOS ANTIMALÁRICOS E ATIVIDADE ENZIMÁTICA .....	1
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1. Histórico da Homeopatia.....	4
2.2. Os princípios da Homeopatia e usos .....	7
2.3. A Homeopatia e as ciências .....	10
2.4. Relação planta-ambiente .....	11
2.5. Plantas medicinais e homeopatia .....	14
2.6. <i>Bidens pilosa</i> L.....	15
2.7. Atividade enzimática da catalase e da peroxidase em vegetais.....	18
2.8. História da bioeletrografia.....	22
2.8.1. As primeiras pesquisas científicas internacionais .....	22
2.8.2. Trabalhos realizados por Roberto Landell de Moura.....	24
2.8.2.1. Conclusões de Roberto Landell de Moura .....	25

	Página
2.8.3. Expressão do campo eletromagnético ou bioeletrografia.....	26
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	28
3.1. Obtenção das plantas.....	28
3.2. Condução do experimento em vasos.....	28
3.2.1. Delineamento experimental .....	29
3.2.2. Aplicação dos preparados homeopáticos .....	30
3.2.3. Manejo das plantas irrigadas com homeopatia.....	30
3.3. Análise de crescimento e patogênese.....	31
3.3.1. Altura das plantas (ALT).....	31
3.3.2. Número de folhas (NF) .....	31
3.3.3. Número de ramos (NR).....	32
3.3.4. Número de capítulos (NC) .....	32
3.3.5. Número de folhas arroxeadas (NFR) .....	32
3.3.6. Área foliar por planta (AF).....	32
3.3.7. Área foliar média (AFM) .....	33
3.3.8. SPAD foliar (SPAD).....	33
3.3.9. Massa da parte aérea fresca (MPAF) .....	33
3.3.10. Massa caulinar fresca (MCLF), massa foliar fresca (MFF) e massa dos capítulos florais frescos (MCF) .....	33
3.3.11. Massa da raiz fresca (MRF) .....	33
3.3.12. Massa da parte aérea seca (MPAS), massa caulinar seca (MCLS), massa foliar seca (MFS) e massa dos capítulos florais seca (MCS) ..	34
3.3.13. Massa da raiz seca (MRS).....	34
3.3.14. Incidência de pulgões (PULG).....	34
3.4. Extração de óleo essencial .....	35
3.5. Determinação da atividade enzimática.....	36
3.5.1. Preparo de reagentes.....	36
3.5.1.1. Tampão fosfato de extração .....	36
3.5.1.2. Tampão fosfato de potássio de reação.....	37
3.5.1.3. Preparo da solução de permanganato de potássio .....	37
3.5.1.4. Preparo do ácido sulfúrico 0,9% .....	37
3.5.1.5 Preparo do reagente Bradford.....	37

	Página
3.5.1.6. Extração das enzimas .....	38
3.6. Determinação da atividade enzimática.....	38
3.6.1. Atividade da catalase.....	38
3.6.2. Extração do extrato enzimático .....	38
3.6.3. Titulação com permanganato de potássio .....	39
3.6.4. Leitura no espectrofotômetro .....	39
3.7. Determinação da atividade enzimática da peroxidase.....	39
3.7.1 Sistema de reação .....	40
3.8. Análises cromatográficas .....	40
3.8.1. Cromatografia em camada delgada (CCD) .....	40
3.8.2. Determinação da presença de flavonóides em CCD .....	41
3.8.3. Determinação da presença de acetilenos em CCD.....	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	42
4.1. Análise de crescimento e patogênese.....	42
4.2. Análise do conteúdo de óleo essencial (ÓLEO) e atividade enzimática da peroxidase (PO) e catalase (CAT).....	57
4.3. Análise de compostos antimaláricos .....	62
4.3.1. Determinação da presença de flavonóides .....	62
4.3.2. Determinação da presença de acetilenos .....	62
5. RESUMO E CONCLUSÕES .....	64
CAPÍTULO 2 .....	66
EFEITOS DA HOMEOPATIA <i>China</i> EM PLANTAS SADIAS DE <i>Bidens pilosa</i> L.: CRESCIMENTO, PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL, ATIVIDADE ENZIMÁTICA, COMPOSTOS ANTIMALÁRICOS E ANÁLISE BIOELETROGRÁFICA .....	66
1. INTRODUÇÃO .....	66
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	70
2.1. Obtenção das plantas.....	70
2.2. Condução do experimento.....	70
2.3. Obtenção dos preparados homeopáticos .....	72
2.4. Análise de crescimento e patogênese.....	73
2.4.1. Altura das plantas (ALT).....	73

	Página
2.4.2. Número de folhas (NF) .....	73
2.4.3. Número de ramos (NR).....	73
2.4.4. Massa da parte aérea fresca (MPAF) .....	74
2.4.5. Massa da parte aérea seca (MPAS).....	74
2.4.6. Massa da raiz fresca (MRF) .....	74
2.4.7. Massa da raiz seca (MRS).....	74
2.4.8. Massa foliar seca (MFS), massa caulinar seca (MCLS) e massa dos capítulos florais seca (MCS).....	75
2.4.9. Área foliar de folhas trifoliadas (AF3), área foliar de folhas pentafoliadas (AF5), área foliar de folhas simples (AFS) e área foliar por planta (AF).....	75
2.4.10. Número total de folhas (NFT).....	76
2.4.11. Área foliar média (AFM) .....	76
2.4.12. Número de capítulos (NC) .....	76
2.4.13. Número de cachos (NCACHO).....	76
2.4.14. O valor do SPAD foliar.....	76
2.4.15. Incidência de oídio (OÍDIO) .....	76
2.4.16. Comprimento do segundo entrenó (EN2), terceiro entrenó (EN3) e quarto entrenó (EN4) .....	77
2.4.17. Comprimento do primeiro (L1) e segundo ramo lateral (L2).....	77
2.5. Extração do óleo essencial .....	77
2.6. Determinação da atividade enzimática.....	78
2.6.1. Preparo de reagentes.....	78
2.6.1.1. Tampão fosfato de extração .....	78
2.6.1.2. Tampão fosfato de potássio de reação.....	79
2.6.1.3. Preparo da solução de permanganato de potássio .....	79
2.6.1.4. Preparo do ácido sulfúrico 0,9% .....	79
2.6.1.5. Preparo do reagente de Bradford.....	79
2.6.2. Extração das enzimas .....	80
2.6.3. Atividade da catalase.....	80
2.6.3.1. Extração do extrato enzimático.....	80
2.6.3.2. Titulação com permanganato de potássio .....	81

	Página
2.6.3.3. Leitura no espectrofotômetro .....	81
2.6.4. Determinação da atividade enzimática da peroxidase.....	81
2.6.4.1. Sistema de reação .....	82
2.7. Análise do sistema radicular .....	82
2.7.1. Moagem e acondicionamento.....	82
2.7.1.1. Separação dos extratos de raízes .....	82
2.7.2. Análises cromatográficas .....	83
2.7.2.1. Cromatografia de camada delgada (CCD) .....	83
2.7.2.2. Determinação da presença de flavonóides por CCD.....	83
2.7.2.3. Determinação da presença de acetilenos por CCD .....	83
2.8. Análise da bioeletrografia .....	84
2.8.1. Análise visual .....	84
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	85
3.1. Análise do crescimento e da patogenesia.....	85
3.2. Análise do óleo essencial e atividade enzimática da peroxidase (PO) e catalase (CAT).....	92
3.3. Análise de compostos antimaláricos .....	104
3.3.1. Determinação da presença de flavonóides .....	104
3.3.2. Determinação da presença de acetilenos .....	105
3.4. Análise das bioeletrografias .....	106
4. RESUMO E CONCLUSÕES .....	109
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	111
APÊNDICES .....	120
APÊNDICE 1 .....	121
APÊNDICE 2 .....	122
APÊNDICE 3 .....	124
APÊNDICE 4 .....	126

## RESUMO

ARMOND, Cintia, M. S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2003.  
**Crescimento e marcadores químicos em plantas de *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) tratadas com homeopatia.** Orientador: Vicente Wagner Dias Casali.  
Conselheiros: Efraim Lázaro Reis e Paulo Roberto Cecon.

Foram avaliados os mecanismos de resposta morfológica, teor de óleo, atividade enzimática de catalase e peroxidase, produção de compostos antimetabólicos das raízes e análise da bioeletrografia em plantas de *Bidens pilosa* L., visando estudar as respostas da experimentação no indivíduo sadio e na patogênese. As características de crescimento avaliadas foram: altura, número de folhas, número de ramos, número de capítulos, número de folhas arroxeadas, área foliar, área foliar média, SPAD foliar, massa da parte aérea e das raízes fresca e seca e incidência de pulgões e de oídio. No primeiro ensaio, a potência utilizada foi a CH3 e o procedimento, “Duplo cego”, na aplicação dos tratamentos: *Alumina*, *Nitricum acidum*, *Natrum muriaticum*, *Calcarea carbonica*, *Calcarea phosphorica*, *Sulphur*, *China*, *Magnesia carbonica* e os controles etanol 70% e água destilada. Os preparados homeopáticos exerceram influência na altura das plantas em função das fases de desenvolvimento; *Sulphur* e controle etanol 70% promoveram maior altura em relação aos demais tratamentos. As plantas tratadas com *China* tiveram maior massa fresca foliar em relação ao controle etanol 70% CH3. A menor produção de capítulos foi verificada nas plantas tratadas com *Calcarea carbonica* e *Magnesia carbônica*. As plantas tratadas com *Calcarea phosphorica*

provocaram maior incidência de pulgão, enquanto *China* e *Nitricum acidum* causaram menor incidência. A atividade enzimática da peroxidase e catalase não foi influenciada pelos preparados homeopáticos. A maior produção de óleo essencial ocorreu nas plantas que receberam *Nitricum acidum* e o controle água destilada. No segundo ensaio foi avaliada a resposta de *Bidens pilosa* L., expressa em crescimento, patogênese, produção de óleo essencial, atividade enzimática catalase/peroxidase, bem como a presença de compostos antimaláricos e bioeletrografias em crescentes dinamizações de *China* em escala centesimal. Os tratamentos constituíram-se das dinamizações de *China* C2, C4, C6, C8, C10, C12, C14, C16, C18, C20, C22 e C24 e dos controles etanol 70% e água destilada. As preparações homeopáticas de *China* influenciaram a massa de parte aérea e a produção de ramos e capítulos florais em função da fase de crescimento. Não houve patogênese de *China*, e as plantas mantiveram seu crescimento normal. Quanto à produção de óleo essencial e à atividade enzimática de catalase/peroxidase, não houve diferença entre os tratamentos, porém foi constatado comportamento não-linear entre as crescentes dinamizações de *China*. Houve alteração no campo eletromagnético registrado nas bioeletrografias retratadas em *Bidens pilosa* L.

## ABSTRACT

ARMOND, Cintia, M. S., Universidade Federal de Viçosa, February of 2003. **Growth and chemical markers in plants of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) treated with homeopathy.** Advisor: Vicente Wagner Dias Casali. Committee members: Efraim Lázaro Reis and Paulo Roberto Cecon.

Morphologic traits, oil content, enzymatic activity of catalase and peroxidase, production of antimalarial compounds bio-electrographies in plants of *Bidens pilosa* L., were studied as of homeopathic solutions. The growth analysis was based on: height, number of leaves, number of branches, number of chapters, number of leaves foliar area foliar SPAD, mass of the aerial part and fresh root incidence of greenflies and oídio incidence. In the first trial CH3 solutions and “double blind” procedure were applied on *Alumina*, *Natrum muriaticum*, *Calcarea carbonic*, *Calcarea phosphorica*, *Sulphur*, *China*, *Magnesia carbonic* and the controls etanol 70% and distilled water. The homeopathic solutions influenced the height of the plants. *Sulphur* and etanol 70% promoted higher plants. Plants with *China* had larger foliar fresh mass in relation to etanol 70% C3. The smallest production of chapters was verified in plants with *Calcarea carbonic* and *Magnesia carbonic*. The treated plants with *Calcarea phosphorica* had larger greenfly incidence while *China* and *Nitricum acidum* caused smaller incidence. The treatments did not influence the enzymatic activity of peroxidase and catalase. The largest production of essential oil was in *Nitricum acidum* treated plants and distilled water. Second trial was set up to determine in *Bidens pilosas* L.:

growth, pathogenesis, production of essential oil, enzymatic activity catalase/peroxidase, the presence of antimalarical compounds and bio-eletrographies implants treated with *China* C4, C6, C8, C10, C12, C14, C16, C18, C20, C22, C24, and the controls etanol 70% and distilled water. There was influences on mass of aerial part, production of branches and floral chapters. There was no pathogenesic affect of *China* homeopathic solutions. As far as production of essential oil, enzymatic activity of catalase/peroxidase there was no differences among treatments, however no-linear response was verified. There was alteration in the eletromagnetic field as registered by bio-eletrographies of *Bidens pilosa* L.

## **CAPÍTULO 1**

### **RESPOSTA DE *Bidens pilosa* L. ÀS PREPARAÇÕES HOMEOPÁTICAS: CRESCIMENTO, TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL, PRESENÇA DE COMPOSTOS ANTIMALÁRICOS E ATIVIDADE ENZIMÁTICA**

#### **1. INTRODUÇÃO**

Ao longo da história da agricultura, na tentativa de reequilíbrio de sua energia vital as plantas, assim como todos os seres vivos, exteriorizam sintomas que têm sido suprimidos pela aplicação maciça de insumos. A homeopatia possibilita as plantas interagirem com a natureza, colaborando com a adaptação e harmonização e facilitando o convívio com o solo e o “habitat” (MORENO, 1999). A Ciência da Homeopatia é aplicável a todos os seres vivos, pois se fundamenta em processos holísticos, por respeitar todas as relações ecológicas, com visão sistêmica do todo (ARENALES,1999).

A aplicação da Homeopatia nos processos de produção de alimentos orgânicos tem possibilitado o equilíbrio dos sistemas de produção animal e dos de cultivo vegetal. A ação de equilibrar, harmonizar, promover homeostase resulta da propriedade das preparações homeopáticas em interferir no princípio vital, ou seja, no sistema de vitalidade, que mantém funcionando sincronizadamente o organismo vivo dos vegetais e dos animais. A Homeopatia atua nas informações construtiva e defensiva dos sistemas de vitalidade dos reinos animal e vegetal (CASALI et al., 2002).

O conhecimento sobre a essência das substâncias aplicadas homeopaticamente é fundamental à vitalidade e à conservação da vida, sobretudo em plantas medicinais, cujo recurso terapêutico tem grande importância desde o início da civilização até os dias atuais. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 80% da população mundial recorre a plantas medicinais em busca do alívio de alguma sintomatologia dolorosa (OMS).

O picão-preto (*Bidens pilosa* L.), planta medicinal de ocorrência espontânea nas regiões tropicais e subtropicais, tem sido empregado na terapêutica do fígado, nos casos de hepatite e icterícia, além de ser útil como diurético, antiescorbútico, odontálgico e contra diabetes. Estudos recentes demonstraram que extratos de raízes de *Bidens pilosa* L. foram muito ativos “in vitro” contra *Plasmodium falciparum*, agente causador da malária, que infesta e faz adoecer cerca de 300 milhões de pessoas/ano no planeta. O princípio ativo fenilacetileno, composto flavonóide presente nas suas raízes, foi identificado como o responsável pela atividade antimalárica do picão-preto (BRANDÃO et al., 1997).

É de consenso entre os agricultores que a aplicação de preparados homeopáticos provoca respostas no metabolismo secundário das plantas, podendo aumentar o teor de princípios ativos de grande importância social e de valor no mercado (ANDRADE, 2000). A Homeopatia é considerada tecnologia de ponta na produção de plantas medicinais, pelo baixo custo, fácil manejo e pela ausência de resíduos. Sua aplicação na agricultura vem proporcionando recursos e melhoria no metabolismo das plantas, ativando reações envolvidas na produção de enzimas relacionadas com o mecanismo de defesa. Tem-se a visão de que o solo, sendo um sistema vivo, interage com outros seres interligados ao ecossistema. É preciso entender os vegetais como sistema vivo e dinâmico e não apenas como se fossem essencialmente máquinas biológicas, que realizam determinadas funções fisiológicas e produzem toneladas de alimentos ou de matéria-prima por hectare.

Hoje se torna ponto pacífico entre as pessoas de bom-senso o fato de que a agricultura atual enveredou por caminhos equivocados e perigosos, que ameaçam a própria sobrevivência do ser humano e sua civilização. A agricultura necessita de sistemas de produção saudáveis e viáveis que não representem mera volta ao sistema convencional, inadequado ao mundo que mudou; que não desprezem a tradição; que considerem decididamente o futuro; e que progridam, sendo necessário escolher conscientemente e ajustar o tipo de progresso desejado (STEINER, 1993).

Portanto, este trabalho objetivou avaliar o efeito de preparações homeopáticas sobre o crescimento das plantas de *Bidens pilosa* L., quantificar o óleo essencial e a atividade enzimática de peroxidase e catalase e determinar a presença de flavonóides e acetileno.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Histórico da Homeopatia

Nos primórdios da medicina, exatamente com Hipócrates (450 a.C), considerado *o Pai da Medicina*, encontra-se a base da Homeopatia. Ele foi o primeiro a enunciar o princípio da semelhança, *Similia similibus curantur* (os semelhantes se curam pelos semelhantes). Acreditava que a cura das enfermidades se processava pela interferência da natureza inerente ao próprio organismo (VITHOULKAS, 1980).

De acordo com VANNER (1994), Hipócrates afirmava que: “a doença é produzida pelos semelhantes e pelos semelhantes que se façam o paciente tomar, retorna da doença à saúde”. Ele também aplicava o princípio dos contrários, *contrarius contrarius curanter*, pois a medicina é suplementação e supressão: supressão do que está em excesso, suplementação do que está em falta. Introduziu, ainda, o conceito de unidade vital. O ser doente é inseparável do seu meio, sendo a doença não apenas o conjunto desarmônico de sinais e sintomas, topograficamente localizados, mas sim dinamismo, não importando, prioritariamente, a região-chave do órgão adoecido (BRUNINI, 1993).

Paracelso, alquimista e médico suíço, pai da Medicina Hermética, também predecessor de Hipócrates, fundamentava-se na correspondência entre o mundo exterior (macrocosmo) e as partes do organismo (microcosmos). O fato de o princípio da similitude basear-se na idéia da semelhança física (cor e forma) entre o remédio e o sintoma a ser tratado o inspirou a “Doutrina das Assinaturas” (*Signaturae Rerum*). Essa

doutrina preconiza que toda criação da natureza recebe a imagem da virtude que ela pretende esconder ali, ou seja, faz-se analogia a cada planta, a algum sinal que possua propriedades curativas (VITHOULKAS, 1980).

Em confronto com essas idéias, Galeno, médico grego contemporâneo, utilizava como base da medicina o princípio dos contrários: *contrarius contrarius curanter* (os contrários curam os contrários). Afirmava “que sendo o estado anormal do corpo o oposto de seu estado normal, resulta que a saúde pode ser restabelecida pelo que é contrário”. Durante a Idade Média, a Lei dos Contrários se fortaleceu em oposição à Lei dos Semelhantes, fundamentando-se os pilares da medicina convencional praticada nos dias de hoje (VANNER, 1994; SCHEMBRI, 1976).

As raízes da filosofia homeopática remontam aos ensinamentos de Paracelso e Hipócrates, mas o sistema terapêutico formal foi fundado e desenvolvido no século XVIII, pelo médico alemão Christian Frederick Samuel Hahnemann, estando, pois, a história da Homeopatia intimamente ligada ao seu fundador (CAPRA, 1982).

Hahnemann nasceu em 1754, numa pequena cidade da Alemanha, Meissen, onde já na tenra idade demonstrava notáveis habilidades. O pai desde cedo ensinou-lhe a ter disciplina. Costumava trancá-lo numa sala, onde tinha de fazer “exercícios de raciocínio”, exigindo que aprendesse a pensar. Possuía grande talento com línguas, e aos 12 anos ensinava grego aos colegas (VITHOULKAS, 1980).

Estudou medicina na Universidade Leipzig, em Viena. Diplomou-se em 1779 e logo tornou-se muito respeitado nos currículos profissionais. Por ser dotado de grande cultura global, tanto na medicina quanto em química, botânica, matemática e física, além de dominar vários idiomas, sendo considerado notável poliglota, mesmo assim ficava muito perturbado com a falta de pensamento lógico fundamental subjacente à terapêutica da época, que consistia em sangrias, catártico, ventosas e o uso de substâncias tóxicas (VITHOULKAS, 1980).

No decorrer dos anos, Hahnemann desiluiu-se com a medicina que se praticava tão agressiva e perigosa, pois muitas vezes os pacientes morriam em decorrência do tratamento; percebeu que não havia nenhum princípio lógico na administração dos remédios. Após 10 anos de profissão, deixou de clinicar, posto que um de seus filhos ficou gravemente doente e surgiu, então, em sua mente que deveria existir alguma terapêutica mais eficaz, lógica e inofensiva.... Desse modo, passou a buscar a verdadeira arte de curar (BAROLLO, 1996).

Voltou, assim, à profissão de tradutor de trabalhos médicos, mas sempre procurava princípios fundamentais sobre os quais devia se basear a terapia. Em meados de 1790, ao traduzir o livro de medicina intitulado *Matéria Médica de Willian Cullen*, professor de medicina da Universidade de Edimburgo (Escócia), deparou com a revolucionária descoberta. Cullen havia dedicado 20 páginas de sua matéria médica às indicações terapêuticas sobre a quina (*Chinchona officinalis*), cujo sucesso no tratamento da malária foi atribuído ao fato de a erva ser amarga. Hahnemann, entretanto, discordou do clínico escocês quanto às conclusões terapêuticas a que havia chegado. Então, decidiu aplicar em si próprio doses progressivamente crescentes desse produto natural. Não tardou a constatar que no fim de certo tempo sentia sintomas semelhantes aos da malária. Observou a atenuação e, depois, o desaparecimento paulatino dos sinais mórbidos que havia criado anteriormente de modo artificial; daí, a confirmação daquele aforismo de Hipócrates do princípio da similitude (VITHOULKAS, 1980).

Diante dos resultados, concluiu que a quina, aplicada no indivíduo sadio, gerava os mesmos sintomas que a malária produzia em pessoas atingidas por ela (ALZUGARY e ALZUGARY, 1989). Assim, Hahnemann passou a experimentá-la em seus familiares e amigos. Nos próximos seis anos, ele e um grupo de médicos que partilhavam dessas idéias ampliaram suas pesquisas a vários produtos naturais – vegetais, animais e minerais –, obedecendo às mesmas regras de experimentação e fazendo relatos de todas as alterações que percebiam no estado físico, mas também em níveis mental e emocional. Diante do quadro farmacológico assim obtido, adotou o conceito de *Patogenesia*, então comparado ao seu homólogo clínico ou doença. O produto ministrado em doses fracas constituía o remédio da afecção em questão. Paralelamente, Hahnemann procedeu à compilação de casos de envenenamento, na literatura médica de vários países, anotando todos os sintomas surgidos nas vítimas. O procedimento sistemático de testar as substâncias em seres humanos saudáveis, visando elucidar os sintomas que refletem a ação da substância, é chamado de *experimentação*. Os resultados dessa pesquisa compõem a chamada *Matéria Médica Homeopática*, fonte de consulta que possibilita o homeopata escolher o medicamento que melhor cubra as características individuais do ser vivo (VITHOULKAS, 1980).

Com o tempo, Hahnemann percebeu que certos medicamentos eram suficientemente fortes, pois, apesar de em doses fracas, provocavam, às vezes, sérias agravações. No entanto, desejava testar substâncias habitualmente utilizadas na época,

como arsênio e mercúrio, mas ele sabia que não podia aplicar essas substâncias tão tóxicas em indivíduos sadios. Dessa forma, reduziu a dose 1/10 da normalmente receitada. Ainda que acentuado, o agravamento subsistia. Hahnemann diluiu ainda mais os seus remédios até chegar á diluição totalmente ineficiente, no interior da qual não restava mais substância alguma. Então, teve a idéia de não apenas diluir as substâncias terapêuticas na água e no álcool, mas também agitar a solução determinado número de vezes. Assim, descobriu que as diluições progressivas obtidas dessa maneira eram menos tóxicas e mais potentes (VITHOULKAS, 1980).

Em 1785, voltou a clinicar como médico, mas já como homeopata, e em 1810 publicou seu livro mais importante, o *Organon da Arte de Curar*. Nessa obra apresentava a nova forma de ver os doentes, expondo a sua teoria e seus métodos terapêuticos, fornecendo regras minuciosas de exame e avaliação de tratamentos das doenças (BRUNINI, 1993).

Em 1835, Hahnemann deixou a Alemanha, estabelecendo-se em Paris, onde morreu aos 88 anos de idade, respeitado e honrado pelos franceses (BAROLLO, 1996).

## 2.2. Os princípios da Homeopatia e usos

De acordo BAROLLO (1996), a Homeopatia, no vocábulo de origem grega homeopatia – *ómoios* significa “semelhante” e *páthus*, “doente” (TIEFETHALER, 1996) – fundamenta-se em quatro princípios enunciados por Hahnemann:

***Lei da semelhança:*** é a aplicação da lei de causa e efeito ou ação e reação, identificada na análise mais detalhada dos fenômenos homeopáticos e na intimidade da energia vital, conforme a interpretação de SCHEMBRI (1976).

***Experimentação no ser sadio:*** averiguar no organismo vivo o conhecimento da ação integral dos medicamentos, superficial e profunda, e nas suas mínimas particularidades, quer na materialidade, quer na imaterialidade do ser vivo. Nessa experimentação é preciso observar os sintomas que são produzidos por meio de investigação experimental, conforme a interpretação de MORENO (1999).

***Doses mínimas:*** Hahnemann propõe o uso de doses extremamente diluídas e dinamizadas, por observar que quando a massa era diluída e submetida a sucussão, mais a energia da substância era desprendida e proporcionando o maior efeito terapêutico, ao mesmo tempo em que neutralizava o efeito tóxico, conforme interpretação de VITHOULKAS (1980).

**Medicamento único:** segundo BRUNINI et al. (1993), individualizar o medicamento está na relação direta de importância, quanto a individualizar o ser, e qualquer situação que transgrida essa norma também desrespeita a lei da semelhança e falseia os princípios fundamentais da Homeopatia.

No Brasil, a Homeopatia foi introduzida em 1840, quando o médico francês Dr. Benoit Mure chegou ao Rio de Janeiro e se fortaleceu em 1843 com a fundação do Instituto Homeopático do Brasil. Em 1860 foi disseminada e oficializada com a implantação de cursos e a criação de cadeiras de Homeopatia na Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, conforme interpretação de MORENO (1999). Segundo esse autor, em 1980 a Homeopatia foi admitida como especialidade médica pelo Conselho Federal de Medicina.

A Homeopatia vem sendo aplicada em seres humanos há cerca de 206 anos. Na medicina veterinária há relatos de sua aplicação há 80 anos e na agricultura, desde 1924, quando a Agricultura Biodinâmica foi reconhecida internacionalmente na “Primeira Conferência da Agricultura Biodinâmica,” dando-se o processo de elaboração dos preparados biodinâmicos, que se fundamentam nos princípios da ciência homeopática. Segundo STEINER, *todas as plantas doentes podem ser transformadas em um composto especial no lugar dessas mesmas, o que confirma o princípio da “similitude”* (RICKLI, 1986).

Apesar de a ciência homeopática ter sido aplicada há cerca de 80 anos na agricultura, só foi oficializada como insumo na agropecuária orgânica em 1999, pela Instrução Normativa de nº 7, publicada no Diário Oficial da União em 19 de maio de 1999, assinada pelo ministro da agricultura (BRASIL, 1999), que estabelece as normas da produção orgânica no Brasil (CASALI et al., 2002).

Desde então, a ciência homeopática vem desenvolvendo inúmeras pesquisas com resultados de grande importância econômico-social. Experiências de uso da homeopatia em vegetais vêm sendo realizadas por agricultores de vários locais do Brasil e de outros países, como Inglaterra, Cuba e França, com resultados positivos quanto a aumento da resistência a parasitas e doenças, tolerância a condições físicas impróprias, florescimento, quebra de dormência de sementes e produção de mudas sadias (ARENALES, 1998).

Em 1969, aplicando preparados homeopáticos *Lachesis e Chimaphilla* na potência CH200 em discos retirados da folha de tabaco, antes e depois da inoculação desses discos com vírus do *mosaico do tabaco* (TMV), VERMA et al. (1969)

constatarem que houve redução de 50% no crescimento “in vitro” após 24 horas de inoculação, em comparação com o controle.

Estudos de pós-colheita foram realizados com *Kali iodatum* CH149 e *Thuya* CH 87 em frutos de tomate recém-colhidos e inoculados com o fungo *Fusarium roseum*, causador da “podridão do fruto”, sendo verificado que a doença não progrediu nos frutos que receberam os preparados em relação à testemunha (KHANNA e CHANDRA, 1976).

De acordo com KUMAR e KUMAR (1980), aplicando *Spigelia* 30, *Sulphur* 30 e 200 e *Teucrium* 200 em esporos de *Alternaria alternata*, *Curvularia pallescens* e *Drechslera australiensis*, observou-se inibição do crescimento e germinação dos esporos desses fungos.

SINHA e SINGH (1983) constataram eficiência do preparado homeopático no controle de microrganismos patogênicos em produtos armazenados. Ao aplicarem *Sulphur* 200, verificaram 100% de inibição no crescimento do fungo *Aspergillus parasiticus*, responsável por liberar a aflatoxina causadora de danos ao fígado, e, conseqüentemente, no teor da aflatoxina. Os tratamentos que receberam *Mercurius sulfuricus*, *Silicea*, *Dulcamara* e *Baptisia*, todos CH 200, inibiram em cerca de 65% o crescimento do fungo e em mais de 82% o teor de aflatoxina.

Para o controle de insetos-praga, FAZOLIN et al. (1999) verificaram, na “vaquinha do feijoeiro” (*Cerotoma tingomarianus*), que o preparado homeopático feito a partir do nosódio do próprio inseto provocou efeito deterrente, ou seja, o inseto consumiu apenas pequena parte das folhas sem sofrer dano significativo. Assim, a produção foi mantida, e o inseto manteve-se vivo e com sua reprodução equilibrada, sendo, desse modo, mantida também a diversidade biológica – equilíbrio de toda a cadeia alimentar.

Em plantas submetidas a geadas e também em sementes com dificuldades de germinação, o medicamento *Carbo vegetabilis* tem produzido bons resultados na recuperação de plantas, uma vez que a origem desse medicamento é de vegetal carbonizado contendo informações de todos os oligoelementos contidos nos vegetais nessas condições (ARENALES, 1999).

Os medicamentos homeopáticos *Calcarea carbonica* e *Silicea* promoveram excelentes resultados no restabelecimento de plantas estioladas com desenvolvimento retardado, diminuindo nelas a predisposição ao ataque de fungos (CASTRO, 1999b).

Em rabanetes foi constatado que a aplicação de *Phosphorus* influenciou o crescimento e a produção (CASTRO et al., 1999a).

Preparados homeopáticos a partir da própria lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) aplicados em milho causaram redução no número de plantas atacadas na fase de postura e rejeição das borboletas pelas plantas tratadas (ALMEIDA, 2002a).

ARENALES (1998), após a experimentação, com sucesso, da homeopatia em plantas ornamentais, crescidas em vasos, comprovou sua eficácia no controle de pulgões, saúvas e diversos fungos, também em jardins, pomares, hortas e em cultivos extensivos, bem como no cultivo de pepino e coco. De acordo com a referida autora, a grandiosidade desta ciência aguarda o momento em que os seres vivos (animais e plantas) e a própria Terra serão homeopatizados, restaurada a homeostasia (equilíbrio).

### **2.3. A Homeopatia e as ciências**

De acordo com CASALI et al. (2002), pode-se definir Homeopatia como a “Ciência das preparações não-moleculares (visão química), das diluições infinitesimais (visão física) e das soluções altamente diluídas e dinamizadas (visão biofísica), sendo considerada área de conhecimento das ciências da informação (visão biocibernética)”.

Os preparados homeopáticos atuam na energia vital do ser, também imaterial, intensificando-a, estimulando-a, e no mecanismo de defesa, uma das funções da energia vital, responsável pela retomada do equilíbrio (ANDRADE et al., 2001).

A energia vital dos vegetais pode ser perturbada por causas físicas (calor, vibrações, radiações etc.), químicas (agrotóxicos, efeitos colaterais, adubação química) e biológicas (contágio por fungos, bactérias, nematóides, parasitas e vírus), além da energia emanada das pessoas que os manejam. Essas perturbações desencadeiam processos que se manifestam como doenças, baixa produtividade e até a extinção de espécies (ARENALES, 1998).

A recuperação dos organismos vivos com o auxílio da Homeopatia, além de rápida, é duradoura, pois o ser vivo adquire, ou readquire, padrões de comportamento que poderão ser transmitidos às futuras gerações (de acordo com a proposta de ressonância mórfica), sendo, portanto, a Homeopatia libertária e coerente com o princípio de sustentabilidade dos sistemas agrícolas (ANDRADE et al., 2001).

Na escolha do medicamento homeopático, por analogia de sintomas, deve-se buscar o *Simillimum* da espécie, levando em consideração:

- a) Características físicas (porte, formato de folhas e flores, coloração, pilosidade, espessura, sistema radicular, tipo de semente e fruto etc.).
- b) Características comportamentais (respostas em ambiente à luminosidade ou ao sombreamento e preferência por temperatura, necessidade de água, adubação, relação com plantas vizinhas e animais, forma de dispersão de sementes e época de florescimento, entre outras).
- c) Características sutis (as finalidades que vêm sendo usadas, como: medicinal, alimentícia, ornamental, de proteção etc.) e como elas se preservaram ou alteraram ao longo do tempo, ou como se apresentavam no seu ambiente natural e como o fazem nos ambientes de cultivo. Assim, considerar aspectos que retratam a individualidade e suas relações, a posição na coletividade, tudo isso exige muito estudo, dedicação e experimentação. É preciso entender os vegetais como seres vivos, dinâmicos e não apenas como se fossem essencialmente material, máquinas biológicas que realizam determinadas funções fisiológicas (ANDRADE, 2000).

Os medicamentos homeopáticos são preparados a partir de substâncias vegetais, minerais ou animais, industriais e laboratoriais. A liberação do potencial interno da substância depende não só desta, que é um aglomerado de diversas energias harmônicas entre si, mas também da escala de diluição, que pode ser decimal (1:10), centesimal (1:100) ou milesimal (1:1000), sendo a centesimal (C) e a decimal (D) as mais usadas (ANDRADE, 2000).

Segundo GUTMANN (1990), o efeito dos preparados homeopáticos é devido a informações das moléculas do soluto que, de alguma forma, passam as moléculas do solvente. Sistemas biológicos teriam a capacidade de perceber tais informações e alterar seu comportamento. A retenção dessas informações seria realizada com a presença dos elementos oxigênio, nitrogênio e dióxido de carbono, quando se considera o sistema hidroalcolólico. Em outros sistemas, como a lactose, as moléculas de água que hidratam esse material seriam responsáveis pela estabilização das informações moleculares.

#### **2.4. Relação planta-ambiente**

A transmissão das informações do soluto ao solvente seria possível devido ao “padrão de movimento” das moléculas de todo o sistema como um todo, considerado como “rede estrutural oscilatória”, em constante ressonância. É necessário que se utilize o novo conceito de sistemas de material, no qual a característica mais importante é a

organização dos sistemas moleculares. A compreensão dessa idéia é mais bem alcançada, aceitando-se que todo tipo de informação disponível seja relevante, inclusive aquelas descartadas por serem consideradas insignificantes, curiosidades ou anomalias. A organização dos sistemas moleculares não pode ser diretamente mensurável ou observável. Características intrínsecas das moléculas, como espaços vazios na conformação tridimensional e alta adaptabilidade das ligações de hidrogênio na água, seriam responsáveis pela capacidade de organização molecular dos sistemas solvente-soluto (GUTMANN, 1990).

Durante a evolução, as plantas, como organismos vivos sésseis, têm desenvolvido sofisticado sistema de defesa, baseado em fatores físicos e químicos. Os mecanismos de defesa física mais evidentes incluem revestimento com tricomas, tectores e, ou, glandulares e a produção associada de secreções de vários tipos. As defesas químicas constituem-se de toxinas e substâncias repelentes, de um ou mais tipos, produzidas pelas próprias plantas (HARBONE, 1993; CARVALHO e CASALI, 1999).

Os metabólitos secundários fazem parte da defesa química, são a expressão da individualidade química dos indivíduos e diferem de espécie para espécie qualitativa e quantitativamente, sendo produzidos geralmente em pequenas quantidades (MARTINS et al., 1994). Segundo MANN (1987), o metabolismo secundário é regulado pela capacidade genética dos organismos, mas talvez sejam ativados durante determinado estágio de crescimento e desenvolvimento ou em períodos de estresse causado por limitação nutricional ou ataque de microrganismos e insetos. Conceitua-se metabolismo secundário o conjunto de reações químicas que continuamente estão ocorrendo em cada célula. A presença de enzimas específicas garante direção a essas reações, estabelecendo o que se denomina rotas metabólicas. Os compostos químicos formados, degradados ou simplesmente transformados são chamados de metabólitos, e as reações enzimáticas envolvidas são, respectivamente, designadas como anabólicas, catabólicas ou de biotransformação (SIMÕES et al., 1999).

Muitos desses compostos secundários podem também interagir na polinização, dispersão de frutos ou sementes e simbiose radicular com bactérias. Podem, portanto, ser produzidos visando à atração (antocianinas, carotenóides, óleos essenciais) desses polinizadores ou dispersores de estruturas propagativas, promovendo alterações dessas estruturas, em termos de coloração e odores, na busca constante da sobrevivência da espécie. Alguns desses compostos secundários também podem ter função de suporte

estrutural das plantas, como as ligninas e lignanas, além de interações entre plantas, como as cumarinas, os flavonóides, o óleo essencial e outros (MANN, 1987). Em geral, as plantas com ocorrência espontânea em diversos locais necessitam de mecanismos de adaptação a variadas condições edafoclimáticas e, principalmente, de adaptação à herbivoria e ao parasitismo. Assim, tais espécies precisam desenvolver mecanismos de defesa. As plantas superiores protegem-se contra grande número de insetos e animais devido aos seus componentes químicos de defesa, como os óleos essenciais, com seu odor (TAIZ e ZEIGER, 1991). Esse mecanismo de defesa está relacionado, em grande parte, com a ampla ocorrência geográfica dessas plantas.

As plantas herbáceas, por terem menor porte que as árvores, necessitam de maior defesa, por isso possuem maior número de compostos tóxicos, como as lactonas sesquiterpênicas, largamente encontradas nas famílias Asteraceae e Rubiaceae (EDWARDS e WRATTEN, 1981). A família Asteraceae é reconhecida por acumular metabólitos secundários com potencial atividade biológica. Desses compostos, destacam-se os flavonóides, os poliacetilenos, os sesquiterpenos e as cumarinas (BIZÃO, 2002).

Os compostos químicos da maioria dos organismos são sintetizados e degradados por inúmeras reações, e esse complexo de reações químicas constitui o metabolismo dos organismos. Todos os organismos possuem caminhos metabólicos semelhantes de produção dos compostos essenciais com função de sobrevivência, como açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos e seus polímeros derivados, sendo tais elementos denominados compostos do metabolismo primário. No entanto, as plantas produzem ampla diversidade de compostos orgânicos que não têm função direta no seu crescimento e desenvolvimento, sendo essas substâncias conhecidas como produtos do metabolismo secundário ou secundário bioativo, que estão relacionados com a ecologia da planta e da relação planta-ambiente. A divisão dos metabolismos primário e secundário é baseada na visão fragmentada e materialista hegemônica na comunidade científica (ANDRADE e CASALI, 2001).

A riqueza de metabólitos secundários em plantas é pelo menos parcialmente explicável pelo simples fato de que os vegetais estão enraizados no solo e não podem responder ao ambiente pelas vias possíveis dos animais (SIMÕES et al., 1999). Esse mecanismo de defesa é responsável pela manutenção do estado de homeostase, isto é, estado de equilíbrio entre os processos que tendem a perturbar o organismo e os processos que tendem a mantê-lo em ordem (VITHOULKAS, 1980). Cada organismo

possui seu mecanismo de resposta ao ambiente, vindo os estímulos tanto de fontes internas quanto externas.

## 2.5. Plantas medicinais e homeopatia

As plantas medicinais têm sido importante recurso terapêutico desde o início da civilização até os dias atuais. Essa prática milenar ultrapassou todas as barreiras durante o processo evolutivo, tornando-se amplamente utilizada por grande parte da população mundial (MARTINS et al., 1994). Segundo a OMS, 80% da população mundial recorre às plantas medicinais em busca do alívio de alguma sintomatologia dolorosa. Ela define planta medicinal como qualquer planta que possui, em um dos seus órgãos ou em toda ela, substâncias com propriedades terapêuticas ou que sejam ponto de partida da síntese de produtos químicos ou farmacêuticos.

Muitas espécies medicinais, comestíveis ou não, apresentam em sua constituição compostos ou complexos ativos, denominados princípios ou complexos biologicamente ativos, tendo estes atividade terapêutica, ou seja, podem promover reações benéficas nos organismos vivos. Assim, por definição, planta medicinal é aquela que contém princípios ativos, conferindo-lhe atividade terapêutica (ANDRADE e CASALI, 2001).

Devido ao fato de o mecanismo de defesa das plantas medicinais estar associado à produção de metabólitos secundários e de estes serem passíveis de quantificação por análises apropriadas, tais espécies são consideradas adequadas ao estudo da resposta aos preparados homeopáticos (ANDRADE et al., 2001).

A aplicação de preparados homeopáticos na planta medicinal conhecida como chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.) causou respostas ao metabolismo secundário, aumentando significativamente o teor de cumarina em 77%, em relação à testemunha, comprovando a aplicabilidade das leis da ciência homeopática nesses vegetais (ANDRADE, 2000).

Na aplicação de preparados homeopáticos em capim-limão (*Cymbopogon citratus*), hortelã (*Mentha* sp.) e chambá (*Justicia pectoralis*) feita por CASTRO (2002a), houve efeito significativo sobre o crescimento de planta e na produção de seus princípios ativos.

CARVALHO (2001) constatou que *Arnica montana* (preparado homeopático) aplicada sobre artemísia (*Tanacetum parthenium*) causou aumento de massas fresca e seca. O teor de partenólídeo por planta foi menor naquelas tratadas com as potências

D1, D2, D4 e D5. A potência D3 não provocou redução significativa no teor de partenólídeo, em comparação com a testemunha.

Nas plantas de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) intoxicadas por sulfato de cobre e tratadas com o preparado homeopático *Cuprum* CH 30 houve desintoxicação. Com *Phosphorus* CH30 ocorreu redução de 140% no rendimento de óleo essencial e aumento de 40% na produção de matéria fresca das inflorescências, em comparação com a testemunha (ALMEIDA, 2002b).

A recuperação das plantas com o auxílio da homeopatia parece ser bastante rápida e fácil, pois seus desequilíbrios não estão arraigados e porque a força vital promove respostas rápidas e duradouras.

## **2.6. *Bidens pilosa* L.**

No caso dos vegetais, deve-se conhecê-los em suas particularidades, sua história ao longo da linha evolutiva e sua origem, bem como as condições ambientais do seu “habitat” de origem e a sua forma de dispersão e disseminação, atendo-se a características físicas (altura, tipo de folhas), comportamentais (época de floração, preferência de luz e sombra), rotas metabólicas (metabolismos primário e secundário) e sutis (usado como medicamento, alimento, proteção, pioneirismo) (ANDRADE et al., 2001).

Segundo ANDRADE (2000), a escolha do preparado homeopático se faz por analogia de sintomas, tendo como alguns critérios aspectos históricos em relação à espécie em estudo, no caso específico o picão-preto, teoria miasmática, características físicas, comportamentais e sutis, sempre buscando o *Simillimum* da planta. De acordo com essa autora, a pesquisa exploratória deve envolver várias diretrizes, possibilitando captar informações que possam direcionar e sustentar estudos futuros. Assim, o solo é um sistema vivo dinâmico e interativo; na natureza todos os fatores estão interligados, seguindo a teoria do holograma. Há, portanto, intercâmbio permanente e intenso entre o todo e suas partes constitutivas, visando assegurar o funcionamento harmônico integrado, com o objetivo de perpetuar a espécie e processos (EGITO, 1999). De acordo com PRIMAVESI (2001), só serão “sadios” solos e plantas quando a proporção de nutrientes presentes em ambos estiver em proporções corretas; conseguindo-se formar todas as substâncias que geneticamente estiverem habituadas, os parasitas não irão

atacá-las. Com base nessas afirmativas e nas características da planta já descritas anteriormente, podem-se selecionar as homeopatias.

A espécie medicinal *Bidens pilosa* L. da família Asteraceae, originária da América tropical, tem ocorrência em todos os países de climas tropical e subtropical. A planta é dicotiledônea herbácea, anual, ereta, com odor característico, 40–120 cm de altura. É conhecida popularmente nas regiões brasileiras como: picão-preto, picão-amarelo, fura-capá, piolho-de-padre, carrapicho-de-duas-pontas, erva-picão, carrapicho-de-agulha, amor-seco, carrapicho e coambi, entre outros (LORENZI e MATOS 2002).

Seu principal meio de propagação é pelos aquênios. São dispersas com a ajuda do “pappus” (cálise modificado e persistente dos frutos, mantidos no ápice do fruto e servindo a sua dispersão), que em *B. pilosa* L. tem duas a cinco partes filiadas e serrilhadas, em formato de coroa, possibilitando a adesão ao corpo dos animais e às vestes dos humanos (OLIVEIRA, 1997a).

As flores, dispostas em capítulos, são consideradas boas fontes de pólen e néctar às abelhas, seus principais polinizadores (CORRÊA JÚNIOR et al., 1994). Produzem, em média, 1.500 aquênios por planta, e a planta floresce após cerca de 45 dias, dependendo da estação, o que permite, assim, a permanência de três a quatro gerações no ano. É considerada espécie infestante de terras agrícolas e pastagens em aproximadamente 40 países (LORENZI, 1982).

A espécie *Bidens pilosa* L., dependendo da fase de desenvolvimento, pode conter óleos essenciais nas folhas, nos pecíolos e no caule, armazenados nos canais secretores das nervuras ou localizados entre a cutícula e a parede celular (VASQUES et al., 1986a). Estudos de *B. pilosa* L. têm mostrado, nessa planta, a presença de flavonóides, poliacetilenos, derivados do ácido caféico, fenilpropanóides e óleos fixos. Há taninos, esteróides e heteroóides antociânicos distribuídos em toda a planta (VASQUES et al., 1986b). Há também compostos de valor econômico na indústria alimentícia, como fonte de ferro,  $\beta$ -caroteno e proteínas, além de participar como corretivos de sabor, de aroma e flavorizante. Há substâncias úteis na indústria cosmética para fabricação de perfumes e fitocosméticos. Os óleos essenciais são empregados na indústria farmacêutica como propriedades sedativas, diaforéticas, abortivas e vermífugas, entre outros. Na fitoterapia popular é muito utilizada contra os problemas do fígado, devido à ação hepatoprotetora dessa planta (MARTINS et al., 1994).

Embora todas as partes da planta sejam empregadas medicinalmente, é sobre as folhas que se encontra o maior número de referências sobre uso, seja interno, seja

externo. O uso interno é na forma de chás e suco, principalmente em casos de hepatite, icterícia, inflamações da garganta, diabetes e angina, sendo empregadas também como antiescorbútica, antileucorréica, diurética, bactericida, antiinflamatória, odontálgica e estimulante (principalmente a raiz). O uso externo ocorre na forma de cataplasma e emplastos; em casos de ferimento, como cicatrizante e antiinflamatório; em furúnculos e icterícia (principalmente banhos); como antimicótico; e, ainda, como hortaliça não-convencional, por ser rica em ferro e  $\beta$ -caroteno (OLIVEIRA, 1997a). Em estudos farmacológicos, verificou-se que o extrato da planta inibe a síntese da substância prostaglandina, fazendo parte do processo metabólico ligado à dor de cabeça e a doenças inflamatórias (LORENZI e MATOS, 2002).

Em testes fitoquímicos realizados comparando o extrato bruto aquoso das folhas com o das raízes de *B. pilosa* L., foi demonstrado que ambos se equivalem em virtude da total identidade com relação aos compostos pesquisados (OLIVEIRA, 1997a).

LUCCHETTI e SILVA (1996), usando o extrato bruto aquoso das folhas do picão, verificaram a presença de poliacetilenos em análise “in vitro” contra o antígeno de superfície B (HB<sub>s</sub>AG). Os povos indígenas do sul do país utilizam a planta no tratamento de diabetes e outras doenças. Kirszenzaft (1975) e Bastidas P. (1989) e Perez et al. (1986), citados por OLIVEIRA (1997a), isolando a fitosterina B de *Bidens pilosa* L. em ratos, constataram atividade hipoglicêmica comparada à insulina, sendo seu efeito proporcional ao da dose utilizada neste trabalho. PEREZ et al. (1986), testando 21 espécies herbáceas como antidiabéticas, verificaram que *Bidens pilosa* L. foi a mais ativa.

Pesquisas sobre o potencial antimalárico de plantas cultivadas e silvestres de *Bidens pilosa* L. constataram 10 a 79% de inibição da parasitemia em concentração inibitória (IC de 12 a 41,80  $\mu$ g/mL). Nas plantas silvestres, a atividade foi maior que nas cultivadas, provavelmente por estar relacionada com o teor dos flavonóides, que deram manchas e picos em cromatografia (CCD), característicos de vários tipos de flavonóides (OLIVEIRA, 2002b).

Nas áreas endêmicas de malária da Amazônia foi feito levantamento de algumas espécies mais usadas no tratamento de malária e febres. Entre as espécies utilizadas foi identificada *Bidens pilosa* L. (BRANDÃO et al., 1992). A partir do extrato de raiz de *Bidens pilosa* L., constatou-se atividade in vitro contra *Plasmodium falciparum*, agente da malária. O princípio ativo fenilacetileno, composto flavonóide presente nas raízes, foi testado, verificando-se ser ele o responsável pela atividade antimalárica em *Bidens*

*pilosa* L. (BRANDÃO et al., 1997). Segundo Wat et al. (1979), citados por OLIVEIRA (1997a), entre o poliacetileno de *Bidens pilosa* L. o 1-fenilepta-1,3 5- trieno, obtido no extrato caulinar e presente também em todas as células da folha, é ativo contra o vírus da hepatite; encontra-se também no exsudato dos canais secretores de óleo da folha e do caule, estando ausente apenas na raiz.

Estudos recentes de *Bidens pilosa* L. revelaram atividade inseticida e repelente de insetos (GILBERT et al., 1999), atividade anti-secretora e antiúlcera gástrica (TAN et al., 2000), antineoplástica (CARVALHO et al., 2001), hipoglicemiantes (ALARCON – AGUIAR et al., 2002) e efeito alelopáticos (CRUZ et al., 2000).

## **2.7. Atividade enzimática da catalase e da peroxidase em vegetais**

A folha é o órgão que mais responde ao meio, e suas adaptações estruturais quase sempre refletem o ambiente. Por ser muito almejada pelos fitopatógenos ou herbívoros, *Bidens pilosa* L. pode desenvolver defesas eficientes, por meio do metabolismo secundário. As variações quantitativas e qualitativas dos óleos essenciais são atribuíveis a três grandes fatores: genéticos, fisiológicos (tipo e idade da folha) e ambientais (OLIVEIRA, 1997a). Segundo MARTINS et al. (1994), as condições ambientais influenciam o metabolismo primário (respiração e fotossíntese) e, em consequência, o metabolismo secundário.

OLIVEIRA (1997a), ao coletar acessos de *Bidens pilosa* L., detectou que as pessoas usuárias preferiam plantas com coloração arroxeadada. Tal fato indica a ocorrência, na mesma população, de plantas com diversas tonalidades, variando de branco-esverdeada a roxa. Além disso, foi verificado que plantas de coloração arroxeadada são mais senis, tendo maior número de canais secretores de óleos essenciais. Segundo SIEGEL (1993), geralmente nas plantas velhas as atividades de peroxidase e concentração de fenóis são maiores.

O conteúdo de óleo essencial dos tecidos também varia diariamente com o estágio de desenvolvimento da planta (CHARLES e SIMON, 1990). Em *Salvia officinalis*, as folhas verdes coletadas no período da primavera continham maior teor de óleo essencial do que as folhas de coloração prateada quando comparadas com colhidas nas demais estações do ano. As folhas jovens de *Eucalyptus nitens* possuem menos da metade do teor de óleo essencial em relação às adultas, conforme relatos de OLIVEIRA (1997a), o que lhe deu base a afirmar que a variação do ambiente causa resposta

adaptativa e diferenças nos componentes de compostos químicos das espécies. Além disso, a defesa fisiológica responsável pela adaptação da planta possui base genética. Certos fatores que influenciam o metabolismo da planta, como adubação, temperaturas baixas e infecção por patógenos, interferem na intensidade da ação enzimática, especialmente nos sistemas peroxidase e fenolase. Segundo GASPAR et al. (1982), mudanças nas condições ambientais, ataque de agentes infecciosos (vírus, bactérias e fungos) e injúrias mecânicas induzem e, ou, modificam a atividade das peroxidases, as quais têm esse comportamento como forma de aumentar a capacidade de defesa da planta. De acordo com SIEGEL (1993), em condições de estresse as plantas têm alta atividade das peroxidases como primeiro sinal. Em condição de estresse, pode desencadear o mecanismo de defesa da célula que envolve a formação e reações de oxigênio ativado, podendo formar oxigênio ( $O_2$ ), radicais superóxidos ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radicais de hidroxilas (-OH). Esses oxigênios ativados podem desempenhar funções benéficas, como participar de reações envolvidas com pigmentos (membranas e ácidos nucleicos, entre outras) ou ocasionar danos, a exemplo da formação de radicais hidroxilas, que são altamente reativos e podem oxidar e destruir a célula.

Há maior atividade das peroxidases nas paredes celulares, sendo a parede primária a matriz onde ocorre a lignificação, catalisada pela enzima que também atua na polimerização de compostos fenólicos envolvidos na formação de raízes (SIEGEL, 1993).

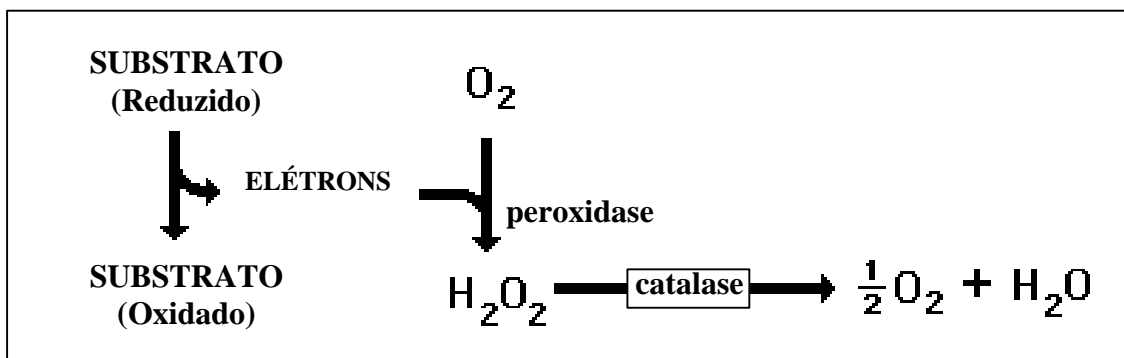
KURODA e SAGISAKA (1998) demonstraram que as catalases e as peroxidases aumentam abruptamente durante os primeiros estágios de aclimatização ao frio. Esses autores relataram que, provavelmente, a catalase está envolvida na remoção de  $H_2O_2$ , gerando as reações de estresse de proteínas, organelas e ATP. No entanto, as peroxidases contribuem na formação de  $H_2O_2$  necessária à lignificação da parede celular. Segundo NEVE (2002a), a ação está relacionada também com a destruição da auxina natural, condição essencial que reduz a atividade celular e o crescimento da planta. A alternância entre fenóis e peroxidases, nos períodos de crescimento vegetativo e dormência, é perfeitamente explicada pela reação enzimática desses dois compostos. De acordo com FRY (1986), as peroxidases utilizam como substrato os fenóis, principalmente aqueles de baixo peso molecular, pois se observa que ocorrem sempre com balanço inversamente proporcional. Tais compostos estão inter-relacionados, podendo ser importantes no metabolismo da planta.

Localizada especialmente na parede celular e no vacúolo (MÄDER, 1990), a peroxidase catalisa a redução do peróxido de hidrogênio em  $H_2O_2$  usando como doadoras de elétrons várias moléculas. Essa atividade redox permite a oxidação de muitas substâncias, como monofenóis e polifenóis, e a quantificação de compostos fenólicos (GASPAR et al., 1982), além de promover a oxidação de polímeros da parede celular (FRY, 1986), regular a formação de raízes e atuar na biossíntese da lignina (SIEGEL, 1993).

O primeiro estágio da formação da lignina é a hidrólise da coniferina e da siringina com produção de álcool coniferílico e álcool siringílico parcialmente oxidados a aldeídos, que se polimerizam formando a lignina. Os fenóis desenvolvem a regulação da atividade auxínica. Os compostos fenólicos participam da regulação catabólica, agindo sobre a AIA oxidase, enzima que degrada a auxina. A peroxidase, cuja atividade é controlada pelos fenóis, em particular pelos monofenóis, que são aumentados enquanto diminuem os difenóis, a exemplo do ácido clorogênico, agindo como protetores (POËSSEL, 1983; MUSACCHI, 1994).

A lignificação da parede celular na planta é formada por polímeros de lignina, os quais contêm compostos fenólicos, cujos radicais são oxidados pelas peroxidases. Esse fenômeno geralmente ocorre em resposta ao estresse (SIEGEL, 1993), quando pode ser produzida a lignificação precocemente, o que evita a penetração de patógenos e intensifica a atuação da peroxidase, atuando como mecanismo de defesa. Nesse evento, encontram-se envolvidas, principalmente, as peroxidases e catalases que parecem estar correlacionadas com o decréscimo dos níveis endógenos de auxinas (GASPAR et al., 1982).

A peroxidase e a catalase participam da síntese de lignina, que é de fundamental importância no desenvolvimento das plantas (Flurkey e Jen, 1978, citados por MUSACCHI, 1994). A peroxidase tem como especificidade atuar sobre os peróxidos, principalmente de hidrogênio, decompondo-os e liberando oxigênio (GASPAR et al., 1982). Já a catalase atua removendo peróxidos produzidos durante as reações. A catalase atua sobre o peróxido de hidrogênio, subproduto do metabolismo, liberando água ( $H_2O$ ) e oxigênio ( $O_2$ ), que são produtos não-tóxicos ao vegetal.



Os fenóis participam em grande número de processos metabólicos, e 60% da produção em biomassa da planta são compostos fenólicos (ERREA, 1991), que estão envolvidos em muitas reações de regulação, diferenciação, crescimento e desenvolvimento, sendo transportados rapidamente a longas distâncias pelo floema, que levam, do ponto inicial de síntese ou aplicação, até os tecidos mais distantes (RASKIN, 1995). Os compostos fenólicos são essenciais à síntese de lignina e importantes na composição das paredes celulares, cuja estrutura varia em função do tipo do composto fenólico monomérico (ácido cinâmico) e polimérico (tanino e lignina) (ALPI et al., 1992), entre espécies de plantas e entre tipos de células (RASKIN, 1995).

Segundo FRY (1986), enquanto a atividade de peroxidase aumenta e os teores de fenóis diminuem. Essa inversão se justifica, provavelmente, pela reação que ocorre entre eles, ou seja, os compostos fenólicos de baixo peso molecular são utilizados como substratos na síntese de peroxidases .

Os passos bioquímicos são alguns dos pontos de interesse dos pesquisadores que acompanham o desenvolvimento, por causa da diversificação e especialização. Entre as principais alterações ocorridas nos organismos estão as mudanças qualitativas e quantitativas na atividade de algumas enzimas (SCANDALIOS, 1975). Tecidos vegetais submetidos a estresses hídrico e salino e a temperatura variam quanto à atividade da peroxidase (SUBASHINI e REDDY, 1990; MITTAL e DUBEY, 1991). Tecidos danificados aumentam consideravelmente a hidrólise de proteínas (MELANDER e HORVATH, 1977), a atividade da RNAase e a taxa respiratória, tendo modificações nos níveis de carboidratos, os quais, somados, alteram a normalidade do crescimento e desenvolvimento.

Embora se reconheça sua importância no metabolismo das plantas, pouco se conhece sobre seu papel no crescimento e desenvolvimento, nas respostas ao estresse (LAGRIMINI et al., 1990). A resposta dos preparados homeopáticos, o que se espera

ser detectado em plantas de *Bidens pilosa* L., pode ser algum tipo de alteração no metabolismo primário ou mesmo patogênese que seja detectável na quantificação da atividade enzimática da catalase e da peroxidase.

Para POITEVIN (1994a), o mecanismo de ação físico-químico e biológico da Homeopatia, sistema endócrino, nervoso e imunológico, ou melhor, a Homeopatia nos sistemas reguladores do corpo humano, responsáveis pelas reações às condições do meio e à percepção deste. Assim, fazendo analogia ao vegetal, pode-se levantar a hipótese de que, se a Ciência da Homeopatia é aplicável a todo ser vivo, é possível constatar o princípio da similitude no vegetal.

## **2.8. História da bioeletrografia**

### **2.8.1. As primeiras pesquisas científicas internacionais**

Há relatos de que, em 1777, existiam pesquisas e estudos com imagens eletrográficas. Na Alemanha, George Christopher Lichtenberg, físico alemão, conseguiu obter em partículas de poeira, através da eletricidade estática, aquilo que poderia considerar como sendo primitiva “Imagem Bioeletrográfica”; esses registros, em poeira eletrizada, foram por ele denominados “eletrográficos” (KIRLIAN, 2003).

Em 1880, nos Estados Unidos, Nikola Tesla, croata, mostrou publicamente um halo luminoso em redor do corpo humano, quando era exposto a um campo eletromagnético de alta voltagem e de alta frequência. Porém, considerou o assunto apenas como uma curiosidade científica, que recebeu o nome genérico de “Efeito Corona” (KIRLIAN, 2003).

Em 1892, na Rússia, aparecem os primeiros registros eletrográficos de J. J. Narkievitch-Jodko, que estudou e denominou Fotografia Elétrica ou fenômeno eletroluminiscente, em preto e branco, e começou a investigar, através dessa técnica, as potencialidades humanas, mas não deu continuidade a essas pesquisas. Na verdade, apenas repetiu o mesmo experimento de Lichtenberg com diversos objetos, inclusive com dedos de seres humanos (KIRLIAN, 2003).

No final do século XIX, um médico francês chamado Henry Baraduc relatou, em estudos e pesquisas de fotografias elétricas de mãos e dedos, resultados de fotografias que revelavam imagens de coroas, bolhas e manchas em torno do objeto fotografado, que Baraduc nomeou de “eflúvios” ou “efluviografias”. Apesar de fazer experiências

interessantes, o médico francês não conseguiu despertar interesse dos cientistas da época, que alegavam que os efeitos conseguidos nas fotografias não passavam de apenas "calor das mãos" impressionando o filme, e, devido ao fato de a tecnologia em relação à fotografia da sua época não estar desenvolvida o suficiente para provar o contrário, Henry Baraduc e seus efluvistas caíram no esquecimento (KIRLIAN, 2003). Posteriormente, essas pesquisas foram retomadas por M. Pogorelski, na Rússia, e por B. J. Navratil, na Checoslováquia, já na metade do Século XX, sem maiores conseqüências.

Na mesma época, em 1904, no Sul da América do Sul, em Porto Alegre (RS), o Padre Roberto Landell de Moura, que era Físico e Engenheiro Politécnico, definiu o que os efluvistas estavam procurando e como deveriam procurar, ou seja, a força vital, ainda totalmente indefinida e incompreensível, para o cientista brasileiro era denominada perianto. Esse brasileiro era padre católico, conseguiu ir muito além de seus colegas alemães, franceses, poloneses, russos, pois tinha profundo conhecimento de física, química, biologia, filosofia, psicologia, parapsicologia e medicina. Landell de Moura tinha conhecimento principalmente das energias eletromagnéticas, as quais iam além de sua época, tanto que foi o precursor do telégrafo sem fio, da telefonia sem fio, do emissor das ondas de rádio, de um primeiro projeto de receptor de televisão e da fotografia Kirlian. Trinta e dois anos depois que Roberto Landell de Moura tinha descoberto o corpo bioplasmático, ou o perianto, ele inventou a máquina fotográfica, que nomeou "Máquina de Bioeletrografia"; tirou fotos e denominou o halo em torno dos seres humanos de "Perianto". Landell faleceu em 1928, e pode-se considerar que ele foi o pioneiro das pesquisas científicas e sistemáticas na área da bioeletrografia, em nível mundial. No entanto, a Igreja Católica Romana, da época, não permitiu que ele fosse mais adiante em suas pesquisas, por motivos puramente doutrinários e preconceituosos (VANIA ABATT, 2003).

Em 1939, na Rússia, em Krasnodar, Semyon D. Kirlian reinventou a máquina Kirlian e começou a fazer pesquisas sistemáticas e científicas. O russo Kirlian, por meio dos mesmos princípios de Landell, descobre o efeito Kirlian, e a máquina eletrográfica se chama, atualmente, máquina Kirlian. A eletrografia, ou foto Kirlian, fotografa o reflexo que as ondas de alta frequência causam quando incidem sobre qualquer forma de vida ou objeto a ser fotografado. Esse estímulo elétrico torna visível a energia que circunda o corpo físico e o objeto a ser fotografado, normalmente invisível ao olho humano. Essa energia é conhecida pelos esoteristas como aura e pelos cientistas como

corpo bioplasmático. Suas pesquisas somente foram divulgadas ao mundo a partir de 1960 (KIRLIAN, 2003).

Em 1969, na Alemanha, o Dr. Peter Mandel, Ph. D., engenheiro e físico, construiu sua máquina Kirlian e começou a realizar pesquisas tirando fotos Kirlian em preto e branco, pois achava que as cores poderiam atrapalhar a interpretação dessas fotos. Apenas interpretava as estruturas fractais das estrias para diagnosticar problemas de saúde orgânica, através dos pontos da acupuntura chinesa (KIRLIAN, 2003).

O efeito Kirlian, ou efeito Landell, é reconhecido pela ciência e atualmente na Associação Norte Americana de Medicina, no Exército e na Marinha dos Estados Unidos. Na Rússia, o efeito Kirlian, ou Landell, é utilizado na identificação de pragas nas plantações, em sementes de má qualidade, melhorando a quantidade nas safras de cereais. Atualmente há aplicações ao estudo de eletrografias comprovadas, como medir a força vital de sementes e das plantas; detectar doenças antes que apareçam no corpo físico; conjuntamente com outras terapias, como acompanhamento, a fim de avaliar a eficiência dos tratamentos e investigar os efeitos tóxicos residuais dos medicamentos, ente outros (VANIAABATT, 2003).

### **2.8.2. Trabalhos realizados por Roberto Landell de Moura**

No laboratório antropológico experimental, desde 1916, em Porto Alegre, Landell de Moura deu conhecimento, publicamente, dos seus trabalhos científicos sobre o *biomagnetismo*, a *bioeletricidade* e os *biofotons*, num trabalho pioneiro no país. Revelando conhecimentos profundos e tecnológicos sobre a neurofisiologia incipiente na época, Landell estudou e praticou os efeitos no sistema nervoso central (SNC) dos pulsos elétricos das células e suas repercussões no sistema motor, notadamente a pulsação magnética sobre o sistema nervoso central pela hipnose e o toque biomagnético. Praticou e definiu os *biofotons*, pela irradiação de infravermelho no corpo, e os efeitos eletroluminescentes da aura humana. Ao bobinar e manejar a bobina de Ruhmkorff, Landell de Moura observou e experimentou os efeitos magnéticos do eletroímã como *Magnetoterapia* e, na saída do secundário da bobina de Ruhmkorff, o biocentelhamento pela aproximação dos dedos dos eletrodos de alta frequência, levando-o aos estudos da *coloração* da aura humana, a fim de *diagnosticar* doenças psicofísicas. O biomagnetismo levou-o à prática da hipnose. A sua bioenergia irradiante, presente na descrição pessoal daqueles que o conheceram, permitiu-lhe o

controle de intensidade do seu biomagnetismo no tratamento da histeria e nos efeitos da prática espírita da época sobre SNC. Isso ele destacava na imprensa da época, no seu "Laboratório Antropológico Experimental" (VANIAABATT, 2003).

### **2.8.2.1. Conclusões de Roberto Landell de Moura**

#### **Sobre o elemento R:**

Como o urânio, o hélio, o rádio e tantos outros corpos radioativos, o elemento R, também ele, mostra-se dotado de certas propriedades que leva o homem a admitir que ela reside no átomo dos corpos que o revelam, como propriedades que lhe são inerentes. Landell verificou que os corpos magnéticos naturais ou artificiais permanentes possuíam ou não o elemento, pela analogia com o espectro magnético, e ofereciam radiografias que obtivera mediante o elemento R. Tendo obtido do campo eletromagnético permanente em forma de U e nas mesmas circunstâncias que obtivera o espectro do corpo humano, semelhante ao do eletromagnético, chegou à conclusão de que no corpo humano, como nos diamagnéticos, existia o elemento R, e que as suas propriedades residiam no átomo do elemento R. Assim, chegou-se às seguintes conclusões:

- a) Os fenômenos observados nos corpos diamagnéticos são devidos ao elemento R.
- b) O elemento R, tanto nos corpos inorgânicos como orgânicos, transformam-se em energias magnética, elétrica, calorífica, luminosa, ondulatória e radiante.
- c) Se não houver atração ou repulsão entre os corpos diamagnéticos, isso é devido ao fato de os corpos se encontrarem em estado que impossibilita o fenômeno da coercibilidade (VANIAABATT, 2003).

#### **Perianto:**

- a) Todo o corpo humano está como que envolvido a elemento de forma vaporosa, mais ou menos densa, segundo a natureza ou o estado do indivíduo ou ambiente em que ele se encontra. Esse elemento, quando adquire tensão capaz de vencer obstáculos que se opõem à sua expansão, escoa do corpo humano sob a forma de descargas disruptivas ou silenciosas, tal como sucede com a eletricidade. E os fenômenos que nessas ocasiões acontecem têm muita analogia com os elétricos estáticos e dinâmicos, com relação aos outros corpos semelhantes.

- b) Landell concluiu que se trata de um fenômeno que constitui variedades de fenômenos produzidos pela eletricidade ou pela causa da eletricidade, do calor, da luz etc.
- c) O estudo do elemento R, que existe no corpo humano, atribuiu-o ao perianto; é um efeito do elemento R, posto que a tensão elétrica é um efeito da eletricidade que se acumula em volta dos condutores.
- d) O perianto é por si invisível, mas, por intermédio de certas luzes, pode tornar-se visível, e até mesmo fotografado, se usar ou intercalar entre o corpo, cujo perianto é estudado, e a luz especial uma plancha ou papel apropriado. Pode ser transportado da placa natural da retina à câmara fotográfica (VANIA ABATT, 2003).

### **2.8.3. Expressão do campo eletromagnético ou bioeletrografia**

De acordo com VITHOULKAS (1998), o conceito de campo foi introduzido no século XIX, por Faraday e Maxwell, na descrição que fizeram das forças entre as descargas elétricas. O campo elétrico consiste numa condição em volta de um corpo carregado que produzirá uma força em outra carga qualquer nesse espaço. Os campos criados por corpos carregados e seus efeitos somente podem ser sentidos por corpos com carga elétrica. Os campos magnéticos são produzidos por cargas em movimento, por correntes elétricas, e as forças magnéticas delas resultantes podem ser sentidas por outras cargas em movimento. Portanto, de acordo com a teoria desenvolvida por esses autores, os campos são entidades físicas primárias, que podem ser estudadas sem qualquer referência aos corpos materiais, e os campos de vibrações elétrica e magnética podem viajar através do espaço, em forma de ondas de rádio, de luz ou outras espécies de radiação eletromagnética (VITHOUKAS, 1980).

A teoria da relatividade unificou os conceitos das cargas e correntes e dos campos magnéticos. Como todo movimento é relativo, toda carga também pode parecer um campo magnético ou uma corrente e, conseqüentemente, seu campo elétrico também pode surgir como um campo magnético; logo, os dois campos são unificados num único campo eletromagnético. Nessa teoria, também os conceitos de matéria e espaço vazio não podem mais ser separados (CAPRA, 1982). De acordo com ROBAINA (1998), os seres vivos são envoltos e controlados por campos eletrodinâmicos, também denominados campos eletromagnéticos, que podem ser medidos por meio de modernos

voltímetros e registrados por meio da fotografia Kirlian, também denominada fotografia eletrográfica, eletrografia, eletrofotografia ou bioeletrografia.

ANDRADE (2000), analisando o efeito de preparações homeopáticas sobre o campo eletromagnético em plantas de chambá (*Justicia pectoralis*), verificou que houve alteração em razão das diferentes dinamizações da mesma homeopatia. CASTRO et al. (2001a) constataram em capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e hortelã (*Mentha spicata*) variação das bioeletrografias de acordo com a homeopatia utilizada.

O objetivo deste trabalho foi testar preparados homeopáticos, feitos na escala centesimal, visando obter resposta ao crescimento e desenvolvimento das plantas de *Bidens pilosa* L., descrever a patogênese, quantificar o teor de óleo essencial e verificar a atividade enzimática da peroxidase e catalase e compostos antimaláricos.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Obtenção das plantas**

A propagação de picão-preto (*Bidens pilosa* L.) foi por meio de sementes. Os aquênios foram obtidos em uma planta de ocorrência espontânea com boas características fitossanitárias, coletada na Horta Velha, localizada na área experimental de produção do Departamento de Fitotecnia, no Campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

O semeio foi no dia 08/04/02 em bandeja e após sete dias (15/04), quando as plantas atingiram cerca de 5 cm, medidos a partir do solo. Elas foram transplantadas em vasos de polietileno com capacidade para oito litros, tendo como substrato terra, húmus de minhoca e areia, nas proporções de 3:1 e 5:1, respectivamente.

A identificação botânica da espécie foi confirmada pelo Herbário VIC do Departamento de Biologia Vegetal da UFV, onde as exsicatas ficaram depositadas, sob o número de registro VIC 25.308.

#### **3.2. Condução do experimento em vasos**

O experimento foi conduzido durante o período de 08/04/02 a 16/06/02 no telado, com cobertura de filme transparente de polietileno (100 micras, resistente a UV) e com lateral de sombrite 40% de sombreamento, nas dependências do Departamento de Fitotecnia da UFV, em Viçosa, MG, localizada na Zona da Mata a 20° 45' de latitude sul

e 42° 5' de longitude oeste (Anuário Estatístico de Minas Gerais, 1994), numa altitude de 651 m.

O clima de Viçosa, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cwa, com 80% de umidade relativa do ar, temperatura média anual de 21 °C e precipitação anual de 1.341 mm.

### **3.2.1. Delineamento experimental**

O experimento foi montado no esquema de parcelas subdivididas, tendo na parcela os preparados homeopáticos na dinamização CH3 e, nas subparcelas, as épocas de coleta de dados de crescimento. As variáveis analisadas foram: altura (ALT), número de folhas (NF), número de ramos (NR), número de capítulos (NC) e incidência de pulgões (PULG), no delineamento inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e oito repetições, sendo cada parcela constituída de dois vasos com uma planta/vaso, totalizando 176 desses. Nas variáveis número de folhas arroxeadas (NFR), área foliar (AF), área foliar média (AFM), SPAD foliar (SPAD), massas fresca e seca, respectivamente, de parte aérea (MPAF, MPAS), massa caulinar (MCLF, MCLS), massa foliar (MFF MFS) e dos capítulos florais (MCF MCS) e da raiz (MRF, MRS). Os dados foram interpretados por meio das análises de variância e regressão linear, no programa SAEG. Os modelos foram escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão, utilizando o teste F. As médias foram comparadas, utilizando-se os testes de Tukey e Dunnett a 5% de probabilidade.

Na avaliação do teor de óleo essencial (OLEO) e atividade enzimática da peroxidase (PO) e da catalase (CAT) foram utilizadas somente quatro repetições de cada tratamento, totalizando 44 plantas. Os dados foram interpretados por meio da análise de variância. As médias agrupadas pelo critério de Scott–Knott e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, no programa SAEG.

Os tratamentos constituíram da aplicação de preparados homeopáticos na escala centesimal, na terceira potência (CH3). Foi adotado o procedimento “duplo-cego” na implementação dos tratamentos, ou seja, durante a experimentação o experimentador e o aplicador desconhecem o medicamento que está sendo testado. As épocas de avaliação, durante 60 dias de ciclo, foram em intervalos de sete dias a partir de 25 dias após o plantio das mudas e até a avaliação final na colheita do experimento. O manuseio

de rotação dos vasos foi semanalmente, e a distância de um vaso a outro era suficiente, de modo que não houvesse o contato das folhas e ramos entre plantas.

### **3.2.2. Aplicação dos preparados homeopáticos**

Os tratamentos constituíram-se de oito homeopantias na dinamização CH3, ou seja, escala centesimal hahnemanniana na terceira potência, conforme ANDRADE (2000). No momento da aplicação foi preparada a solução com 20 gotas da homeopatia dissolvidas em um litro de água, em recipiente plástico com capacidade para 2,5 L por tratamento. Antes da aplicação eram feitos movimentos de girar até criar o vórtice, cerca de 10 vezes, a fim de homogeneizar a solução. Verteu-se sobre o ponto de crescimento da planta no solo o volume de 50 mL/vaso diariamente, conforme metodologia proposta por CARVALHO (2001), nas primeiras horas do dia (às 7 h da manhã), a partir do dia 08/04, antes do transplante das mudas.

#### **Tratamentos**

- 1) *Alumina* CH3.
- 2) *Natrum muriaticum* CH3.
- 3) *Magnesia carbonica* CH3.
- 4) *Calcarea carbonica* CH3.
- 5) *Nitricum acidum* CH3.
- 6) *Calcarea phosphorica* CH3.
- 7) *Sulphur* CH3.
- 8) *China* CH3.
- 9) Etanol 70% CH3 (controle).
- 10) Etanol 70% (controle).
- 11) Água destilada (controle).

### **3.2.3. Manejo das plantas irrigadas com homeopantias**

As homeopantias *Alumina*, *Natrum muriaticum*, *Calcarea carbonica*, *Nitricum acidum*, *Calcarea phosphorica*, *Sulphur*, *China* e *Magnesia carbônica* foram adquiridas em Laboratório de Manipulação de Medicamentos Homeopáticos de procedência idônea, na dinamização CH2, a partir da qual foi preparada à dinamização CH3, no

Laboratório de Homeopatia do Departamento de Fitotecnia da UFV, de acordo com as instruções contidas na Farmacopéia Homeopática Brasileira (BRASIL, 1977), empregando-se procedimentos de acordo com PRADO NETO (1997). Conforme preconizado na escala centesimal, 2/3 do volume do frasco foram preenchidos, na relação uma gota da homeopatia 99 gotas do veículo (etanol 70%). O processo de sucussão foi feito no dinamizador tipo “braço mecânico”. No preparo da homeopatia etanol 70%, empregou-se o mesmo procedimento a partir da dinamização CH1 até CH3. No ensaio, foram adotados três controles, sendo etanol (70%) CH3, etanol (70%) sem dinamização e água destilada.

A colheita das plantas foi realizada em 16/06/2002, no período da manhã, conforme HERTWIG (1986), tendo-se em vista a composição e não apenas a concentração do fármaco e evitando a variação de acordo com o momento da colheita, pois nas primeiras horas da manhã foi obtido óleo essencial mais aromático devido à sua menor volatilização.

Com o auxílio de tesoura de poda, as plantas foram cortadas rente ao solo, pesadas em balança semi-analítica, acondicionadas em saco de papel-pardo devidamente identificado e conduzidas ao laboratório.

### **3.3. Análise de crescimento e patogenesia**

De cada planta foram tomados os seguintes dados, durante as fases de desenvolvimento vegetativo, em intervalos de sete dias, até o momento da colheita.

#### **3.3.1. Altura das plantas (ALT)**

Esta altura foi obtida com régua graduada em centímetros, tomando-se a medida a partir do nível do solo até a gema apical do ramo principal da planta.

#### **3.3.2. Número de folhas (NF)**

Quanto ao NF, foram consideradas somente as folhas verdes e maiores que 1 cm.

### **3.3.3. Número de ramos (NR)**

Neste dado foram considerados os ramos com comprimento superior ou igual a 2 cm.

### **3.3.4. Número de capítulos (NC)**

Foram computados os capítulos floridos recém-abertos a partir de 44 dias, quando se deu o florescimento até o dia da colheita (60 dias).

### **3.3.5. Número de folhas arroxeadas (NFR)**

Com relação às folhas com manchas arroxeadas, foram contadas somente as que cobriam no mínimo um terço da folha.

### **3.3.6. Área foliar por planta (AF)**

Foi adotado o procedimento descrito por OLIVEIRA (2001a), sendo aplicado à equação ( $Y=ax$ ), visando obter o fator de correção médio destinado à estimativa da área foliar de cada planta.

Nessa equação,  $Y= a.x$ , em que  $Y=$  área foliar,  $a=$  fator de correção (calculado em cada tipo de folha) e  $x = C$  (comprimento)  $\times$   $L$  (largura).

No cálculo da área foliar por planta, tomou-se a medida de folhas pequenas, médias e grandes, do comprimento e da largura separadamente de cada tipo de folha, assim como o número correspondente a cada dimensão. Com as medidas de comprimento e largura e o índice de correção, calculou-se a área foliar por folha, que foi multiplicada pelo número de folhas, estimado-se a área foliar por planta em  $\text{cm}^2$ . A tomada das medidas foi logo após a colheita. O comprimento das folhas foi considerado a partir da base do pecíolo e a largura, determinada na porção mais larga da folha simples. Nas folhas trifoliadas e pentafoliadas, considerou-se a largura entre as extremidades opostas do segundo folíolo. Os valores de correção por tipo foliar foram: folhas simples: 0,458044 ( $R^2 = 0,9911$ ), trifoliadas: 0,335963 ( $R^2 = 0,9915$ ) e pentafoliadas: 0,486 ( $R^2 = 0,9256$ ), de acordo com OLIVEIRA (2001a).

### **3.3.7. Área foliar média (AFM)**

O cálculo da área foliar média foi feito pela divisão da área foliar por planta (AF) pelo número de folhas da última época de avaliação (60 dias).

### **3.3.8. SPAD foliar (SPAD)**

O valor do SPAD correlacionado com a quantidade de clorofila da folha foi determinado pelo aparelho SPAD-502 (Minolta Co. Ltd.), calculando-se a média de 10 folhas analisadas aleatoriamente em pontos, por planta, conforme OLIVEIRA (2001a).

### **3.3.9. Massa da parte aérea fresca (MPAF)**

Ao atingir o ponto de colheita, no final de 60 dias as plantas foram colhidas, e a parte aérea (ramos e folhas) foi cortada rente ao solo e imediatamente pesada em balança semi-analítica, sendo os valores expressos em grama (g).

### **3.3.10. Massa caulinar fresca (MCLF), massa foliar fresca (MFF) e massa dos capítulos florais frescos (MCF)**

Após a pesagem da parte aérea foi feita a separação de folhas, caules e inflorescências, e em seguida estes foram pesados em balança semi-analítica, sendo os valores expressos em gramas (g).

### **3.3.11. Massa da raiz fresca (MRF)**

Após a avaliação da parte aérea foi feita a lavagem do sistema radicular com água tratada corrente. Sobre peneira foi feita a separação do substrato da raiz, sendo posteriormente colocado para secar à sombra até a retirada do excesso de água. Logo em seguida foi pesada em balança semi-analítica, sendo os valores expressos em grama. As raízes foram acondicionadas em embalagens de papel-pardo devidamente identificadas e mantidas na sala de secagem.

### **3.3.12. Massa da parte aérea seca (MPAS), massa caulinar seca (MCLS), massa foliar seca (MFS) e massa dos capítulos florais seca (MCS)**

Em seguida à pesagem da matéria da parte aérea fresca, as plantas foram embaladas em papel kraft devidamente identificadas, submetidas à secagem, em sala com desumidificador Arsec (com desumidificação de 18 L/dia, capacidade para 280 m<sup>3</sup>, circulação de 600 m<sup>3</sup>/h e 390 watts), com temperatura de aproximadamente entre 17,7 e 22,6 °C, nas dependências do Departamento de Fitotecnia da UFV, até atingir peso constante, sendo, então, pesadas em balança semi-analítica, com valores expressos em grama. As folhas, após a pesagem, foram acondicionadas em embalagem de polipropileno devidamente identificadas, retirando-se todo o ar das embalagens, vedando-as com fita adesiva e levadas à câmara fria a 10 °C, nas dependências do Departamento de Fitotecnia da UFV até a realização da análise química do óleo essencial.

### **3.3.13. Massa da raiz seca (MRS)**

Em seguida à determinação da pesagem da massa da raiz fresca, foram embaladas em sacos de papel kraft devidamente identificadas e encaminhadas à secagem na sala própria, com desumidificador Arsec (com desumidificação de 18 L/dia, capacidade de 280 m<sup>3</sup>, circulação de 600 m<sup>3</sup>/h e 390 watts), com temperatura aproximadamente entre 17,7 e 22,6 °C, nas dependências do Grupo Entre Folhas, até peso constante, sendo, então, pesadas em balança semi-analítica. Em seguida, as raízes foram transportadas até o Laboratório de Farmacognosia da FAFAR/UFMG (Belo Horizonte), onde a professora Maria das Graças Lins Brandão obteve o extrato bruto vegetal e, posteriormente, análises cromatográficas.

### **3.3.14. Incidência de pulgões (PULG)**

A avaliação da incidência de pulgões foi feita pelo número de folhas atacadas. Adotou-se a escala de notas 0 a 3 (nota 0 = ausência de ataque, 1 = 4 folhas atacadas, 2 = 5 a 8 folhas atacadas e 3 = mais de 8 folhas atacadas).

### 3.4. Extração de óleo essencial

O método de extração do óleo essencial utilizado foi o de hidrodestilação por arraste a vapor em equipamento Clevenger de circuito fechado, no Laboratório de Melhoramento de Hortaliças da Fitotecnia, conforme metodologia descrita por MARTINS (1996), OLIVEIRA (1997a), LOPES (2001) e KAMADA (1998), adaptado por CASTRO (2002a).

Antes de realizar as extrações do óleo essencial, procedeu-se aos testes preliminares, com a finalidade de ajustar a metodologia. O melhor tempo de arraste foi de 60 minutos a partir de 5 g de massa foliar seca.

Conforme OLIVEIRA (1997a), vários autores, utilizando amostras de massa foliar seca de 10, 15, 20 e 75 g, mostraram que a quantidade da amostra não influencia o teor de óleo essencial, o que os levaram a atestar que pequenas quantidades de planta podem ser usadas, sendo possível extrapolar as produções. Afirmaram, ainda, que pequenas quantidades de plantas podem ter valor nas pesquisas quando as amostras são limitadas.

Foram pesados 5 g de massa foliar seca colocados em balão de fundo redondo de 1.000 mL, com aproximadamente 300 mL de água destilada. O tempo de extração foi de 60 minutos de ebulição, quando o equipamento era desligado. O hidrolato recolhido era submetido à separação líquido/líquido em funil de separação, utilizando-se 20 mL de pentano, na retirada do óleo essencial da água. Tal procedimento foi repetido três vezes. Adicionou-se a solução saturada de cloreto de sódio uma única vez, com a finalidade de evitar a formação da fase emulsiva entre a fase aquosa e a orgânica. A fase aquosa foi descartada e a orgânica, recolhida e secada, adicionando-lhe sulfato de magnésio anidro em excesso. Após aproximadamente 90 minutos, o sulfato de magnésio foi removido por filtração. O solvente orgânico foi em seguida retirado, utilizando-se evaporador rotativo com temperatura entre 35 e 40 °C. Após a quase total evaporação do solvente, o conteúdo do balão (óleo essencial diluído em solvente) foi transferido para o recipiente de vidro devidamente pesado e identificado até que todo o solvente restante evaporasse. Esse recipiente de vidro foi deixado aberto em temperatura ambiente e recoberto com papel-alumínio. Logo após, realizou-se a pesagem dos vidrinhos contendo óleo essencial, obtendo o peso por diferença entre o peso do frasco (inicial) e o peso do frasco com óleo (final). Os valores foram convertidos em miligrama e transformados em

porcentagem da massa seca inicial de folhas. Após a pesagem, os recipientes de vidro foram tampados e armazenados em geladeira a 4 °C, ao abrigo da luz.

### **3.5. Determinação da atividade enzimática**

Visando à análise enzimática, foram coletadas amostras de cinco folhas trifoliadas, uniformes na parte mediana da planta, cerca de 53 dias após o plantio. As amostras foram embaladas em papel-alumínio devidamente identificado, imediatamente colocadas em caixa de isopor contendo nitrogênio líquido, conduzido ao laboratório e, posteriormente, levado ao “freezer” a 80 °C negativos, onde ficaram armazenadas até a análise enzimática.

As determinações da atividade enzimática da catalase e da peroxidase foram realizadas no Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da UFV.

Foram feitos testes preliminares com o objetivo de ajustar metodologia conforme MATSUMO e URITANI (1972) e ALLAIN et al. (1974), modificado por NEVES (2003b). Em razão do alto teor de compostos fenólicos contidos na planta de *Bidens pilosa* L., foi necessário adicionar PVP (polivinil-pyrrolidone) até a concentração 1 e 0,1% de bissulfito de sódio, a fim de aumentar a estabilidade das enzimas no tampão de extração.

#### **3.5.1. Preparo de reagentes**

##### **3.5.1.1. Tampão fosfato de extração**

Pesaram-se 13,609 g de fosfato de potássio dibásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), adicionado em um béquer contendo água destilada para homogeneizar. Em seguida, a solução foi levada ao agitador, solubilizada, transferida ao balão volumétrico de 1 L, completando-se com água destilada a concentração de 0,1 mol/L. Em seguida, repetiu-se o procedimento anterior, porém foram pesados 17,418 g de fosfato de potássio monobásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) e adicionados em outro balão volumétrico, completando-se com água destilada o volume de 1 L a concentração 0,1 mol/L. Colocou-se o béquer sobre o agitador em um pHmetro, sendo este anteriormente calibrado sobre o béquer, adicionando-se o fosfato de potássio monobásico em seguida ao dibásico até atingir pH= 6,8. Pronta a solução-tampão fosfato de extração a pH = 6,8, adicionaram-se 0,1%

de bissulfito de sódio e 1% PVP, dissolvido e transferido a um frasco âmbar devidamente etiquetado e armazenado em geladeira a 4 °C.

#### **3.5.1.2. Tampão fosfato de potássio de reação**

Adotou-se o mesmo procedimento da preparação do tampão anterior, porém não adicionando 0,1% de bissulfito de sódio nem 1% de PVP.

#### **3.5.1.3. Preparo da solução de permanganato de potássio**

Pesaram-se 3,1608 g de permanganato de potássio (KMnO<sub>4</sub>), que foram colocados em béquer e dissolvidos em água destilada e levados ao agitador até obter solução homogênea na concentração de 0,01 N. Novamente transferido ao balão volumétrico e completado o volume para 2 L com água destilada, a solução foi transferida ao frasco âmbar e este, acondicionado em geladeira.

#### **3.5.1.4. Preparo do ácido sulfúrico 0,9%**

Em um balão volumétrico, adicionaram-se 41,67 mL de ácido sulfúrico P.A. (95-97%) lentamente sobre a água destilada, aferindo o volume de 2 L de solução. Depois de diluído, esse volume foi transferido a um recipiente âmbar com tampa e armazenado à temperatura ambiente.

#### **3.5.1.5 Preparo do reagente Bradford**

De acordo como o método descrito por BRADFORD (1976), pesaram-se 100 mg de Brilliant Blue, que foram transferidos ao béquer e adicionados de 50 mL de etanol 95% e levados ao agitador até a sua total diluição. Em seguida foram adicionados 100 mL de ácido fosfórico (85%) e completado o volume para 1 L com água destilada, que novamente foi levada ao agitador. Depois de diluída, a solução de coloração azul intensa foi, então, filtrada em três camadas de papel Gemitest. A mistura de azul passou ao tom marrom, sendo transferida ao frasco com tampa envolvida em papel-alumínio etiquetado e armazenado em geladeira a 4 °C.

### **3.5.1.6. Extração das enzimas**

As amostras foram retiradas do “freezer” (-80 °C) e transferidas ao recipiente contendo nitrogênio líquido. Cada uma foi colocada em almofariz de porcelana devidamente congelada, triturada e reduzida a pó, sendo em seguida pesada em balança analítica com três dígitos, sendo a quantidade de 0,500 g embalada em papel-alumínio etiquetada e transferida até a caixa de isopor contendo nitrogênio líquido. As amostras foram separadas por repetição e armazenadas no “freezer” (-80 °C) até a realização da análise de atividade das enzimas catalase e peroxidase.

## **3.6. Determinação da atividade enzimática**

### **3.6.1. Atividade da catalase**

A determinação da atividade enzimática da catalase foi feita, procedendo-se a quatro etapas: extração do extrato enzimático, centrifugação, titulação e leitura no espectrofotômetro.

### **3.6.2. Extração do extrato enzimático**

As amostras foram devidamente pesadas com 0,500 g e trituradas em almofariz de porcelana contendo 5 mL de tampão fosfato de potássio de extração pH = 6,8, 0,1 M, homogeneizadas e transferidas a um tubo Eppendorf plástico e centrifugadas em centrífuga modelo 3415 C Eppendorf durante 30 minutos a 14.000 rpm.min<sup>-1</sup> e 4 °C. Depois de centrifugado, o sobrenadante foi utilizado como fonte de enzima. Todas as operações foram realizadas entre 0 e 4 °C.

O sistema de reação foi descrito por ALLAIN (1974), adaptado para *Bidens pilosa* L. Foi retirada de um tubo de ensaio uma alíquota de 2,39 mL do sobrenadante contendo enzima, e a um tubo contendo 2,5 mL da solução-tampão com fosfato de potássio de reação adicionaram-se 110 µL de água oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Na prova em branco, usaram-se reagentes e água destilada (contraprova do extrato enzimático). Os tubos foram colocados em um suporte em banho-maria a 25 °C, com agitação durante 10 minutos, até atingir a temperatura ambiente. Em seguida, o tubo contendo tampão fosfato + água oxigenada foi transferido ao tubo contendo o sobrenadante com as enzimas e o branco contendo água. Deixou-se reagir por cinco minutos, e, logo em

seguida, a reação foi interrompida com 10 mL de solução de ácido sulfúrico 0,9%, retirando-se os tubos do banho-maria e, posteriormente, efetuou-se a titulação.

### **3.6.3. Titulação com permanganato de potássio**

Foi feita em bureta de 25 cm preenchida com solução de permanganato de potássio (0,01 N) e aferida no zero.

A mistura contida no tubo de ensaio foi transferida do frasco de erlenmeyer e, em seguida, feita à titulação. O ponto de virada foi registrado quando a mistura incolor passava ao tom róseo. Anotava-se o volume consumido, e repetia-se o procedimento a cada amostra.

### **3.6.4. Leitura no espectrofotômetro**

Foi feito o teste preliminar de ajuste à metodologia visando à calibração da curva-padrão de absorvância. Utilizaram-se quantidades conhecidas de soro albumina bovina (BSA), a fim de ajustar os pontos de absorvância em função das crescentes concentrações da enzima no comprimento de onda de 595 nm.

A determinação de proteínas solúveis totais foi realizada de acordo com BRADFORD (1976), no procedimento descrito subseqüentemente.

No tubo de ensaio foram adicionados 1 ml de solução de Bradford, 90 µL de água destilada e 10 µL de extrato centrifugado. Levou-se essa mistura ao agitador e deixou reagir por 10 minutos. Na prova em branco, utilizaram-se os reagentes e água no lugar da fonte de enzima. Logo em seguida, transferiu-se à cubeta onde seria realizada a leitura em espectrofotômetro, modelo UV 160 1PC Shimadzu, em comprimento de 595 nm.

O cálculo da velocidade da atividade enzimática de reação da catalase foi expresso em 1 µmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> consumido/minuto/mg de proteína.

## **3.7. Determinação da atividade enzimática da peroxidase**

A determinação da atividade enzimática da peroxidase foi feita segundo o método descrito por MATSUNO e URITANI (1972), ALLAIN et al. (1974) e WISSEMANN e LEE (1980), modificado por NEVES (2003). O procedimento de

extração do centrifugado contendo enzimas foi o mesmo adotado na determinação da atividade enzimática da catalase.

### **3.7.1 Sistema de reação**

Na cubeta, adicionou-se 1,5 ml de tampão fosfato de potássio pH 6,8 0,2 M + 30  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 1,3  $\mu$ L de guaiacol 0,56%, como substrato, e por último o sobrenadante contendo enzimas, fazendo-se então, imediatamente, a leitura no espectrofotômetro a 470 nm.

A determinação de proteínas solúveis totais foi realizada de acordo com o método de BRADFORD (1976), já descrito na atividade enzimática da catalase.

No cálculo da atividade enzimática da peroxidase, os dados foram expressos em unidade de absorvância (UA).min.<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup> de proteína.

## **3.8. Análises cromatográficas**

### **3.8.1. Cromatografia em camada delgada (CCD)**

Esta cromatografia foi realizada no Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG – Belo Horizonte). A metodologia adotada foi a de OLIVEIRA (2002b).

A técnica de cromatografia em camada delgada consiste na separação dos compostos da mistura por meio da migração diferencial sobre camada delgada de adsorvente. No caso, utilizou-se sílica-gel 60 FS54 (Merk, Ref. 105721) sobre placas de vidro.

A aplicação direta dos extratos nas placas não conduziu à visualização dos compostos presentes nos extratos etanólicos brutos de raízes de *Bidens pilosa* L. Assim, foram necessários ajustes, de forma a obter as substâncias de baixa polaridade mais concentradas, tanto na determinação de acetilenos quanto de flavonóides. Após a evaporação do solvente, foi obtido o resíduo de coloração amarela intensa, com formação de precipitado.

### **3.8.2. Determinação da presença de flavonóides em CCD**

Na separação e identificação das substâncias fenólicas, inclusive os flavonóides, foi utilizado o sistema de solventes constituídos de mistura de acetato de etila ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26) (Wagner e Bladt, 1996, citados por OLIVEIRA, 2002b). Os compostos foram revelados com cloreto de alumínio 10% em etanol, seguido de visualização no UV 365, considerando-se a presença da classe de substância pelo aparecimento de manchas amarelas a laranja, à semelhança da coloração representada pela rutina, substância de referência utilizada como padrão.

### **3.8.3. Determinação da presença de acetilenos em CCD**

Na fração rica em substâncias de baixa polaridade, inclusive os acetilenos e 1 mL de cada amostra de extratos etanólicos brutos de raízes de *Bidens pilosa* L., foi transferida a um funil de separação e extraída com 1 mL de diclorometano. A fração diclorometânica foi concentrada e aplicada diretamente nas placas recobertas de sílica-gel.

Na separação e identificação dos acetilenos foi utilizado o sistema de solventes de eluição composto por: diclorometano: acetona (9:1). As placas foram reveladas com reagentes constituídos de solução de vanilina 1% (concentração) a ácido sulfúrico 10% em etanol, seguidas de aquecimento com turbina (BRANDÃO, 1997). A presença de acetileno foi confirmada pelo aparecimento de manchas ou bandas marrons, que são perceptíveis no espectro visível.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Análise de crescimento e patogênese

No Quadro 1 consta o resumo da análise de variância da altura. A altura das plantas não mostrou diferenças estatísticas, em função dos tratamentos, porém verificou-se que a interação época x tratamentos foi significativa em função dos intervalos de sete dias das avaliações. Os valores médios da altura encontram-se no Quadro 2, no qual se observa que, a partir de 39 dias, as plantas do controle etanol 70% CH3 foram mais altas em relação às dos demais tratamentos. As plantas tratadas com etanol 70% foram menores até a avaliação aos 39 dias. Aos 46 dias, as plantas se igualaram, não havendo, pois, diferenças significativas pelo teste de Tukey. Aos 53 dias, as plantas do controle etanol 70% estavam mais altas, porém sem diferença entre os tratamentos, exceto *Magnesia carbonica*, que teve menor altura em função das épocas. Aos 60 dias, nas plantas tratadas com *Sulphur* e os controles etanol 70% e água destilada, notaram-se maiores alturas, em comparação com os demais tratamentos, pelo teste de Tukey, porém não sendo influenciado pelas homeopáticas. Os modelos de regressão que melhor representaram o crescimento foram o cúbico (Figura 1) e as respectivas equações ajustadas.

As plantas de *Bidens pilosa* L. possuem potencial de crescimento menor, devido à dominância apical que é perdida quando a gema apical se diferencia em capítulo, estimulando o desenvolvimento das gemas laterais e a produção de ramos. Segundo MILANESE (1991), o movimento oscilatório é universal. Na natureza, tudo se processa

Quadro 1 – Resumo da análise de variância dos valores médios de altura (ALT) até a colheita de *Bidens pilosa* L., em função das épocas de avaliação, durante o crescimento e desenvolvimento das plantas

FV	GL	Quadrados Médios
		ALT
Tratamentos	10	47,3703ns
Resíduo (a)	77	30,1073
Época	5	130.412,2**
Trat. x Época	50	30,11569**
Resíduo (b)	385	16,8835
CV (%)		6,31

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 2 – Valores médios de altura de *Bidens pilosa* L. tratados com diversos preparados homeopáticos na escala centesimal, obtidos semanalmente nas respectivas épocas

Tratamentos/Época	25	32	39	46	53	60 Dias
<i>Alumina</i>	15,10 a	26,20 a	53,02 ab	86,40 a	100,59 ab	102,88 b
<i>Natrum muriaticum</i>	16,46 a	28,39 a	56,65 ab	86,55 a	101,10 ab	100,43 b
<i>Magnésia carbonica</i>	13,98 a	24,25 a	52,12 ab	84,34 a	98,23 b	104,23 b
<i>Calcarea carbonica</i>	16,18 a	27,14 a	55,88 ab	85,84 a	102,41 ab	105,21 b
<i>Nitricum acidum</i>	17,19 a	29,37 a	57,50 ab	87,86 a	101,70 ab	103,50 b
<i>Calcarea phosphorica</i>	15,17 a	26,21 a	52,87 ba	86,79 a	100,89 ab	104,23 b
<i>Sulphur</i>	15,40 a	26,96 a	52,67 ab	86,32 a	103,80 ab	107,44 ab
<i>China</i>	15,26 a	26,93 a	54,41 ab	88,40 a	102,15 ab	104,45 b
Etanol 70% CH3 (controle)	17,15 a	30,25 a	58,46 a	87,43 a	101,21 ab	102,85 b
Etanol 70% (controle)	14,68 a	24,75 a	50,65 b	86,13 a	105,39 a	112,45 a
Água destilada (controle)	15,65 a	27,15 a	53,25 ab	86,90 a	103,75ab	105,87 ab

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

$$\hat{Y} = 268,521 - 24,0869^{**}Ep + 0,701642^{**}Ep^2 - 0,0057734^{**}Ep^3 \quad R^2 = 0,9973$$

$$\hat{Y} = 248,507 - 22,5711^{**}Ep + 0,670748^{**}Ep^2 - 0,00559760^{**}Ep^3 \quad R^2 = 0,9986$$

$$\hat{Y} = 240,893 - 21,8301^{**}Ep + 0,640058^{**}Ep^2 - 0,00524099^{**}Ep^3 \quad R^2 = 0,9963$$

$$\hat{Y} = 247,790 - 22,3239^{**}Ep + 0,656651^{**}Ep^2 - 0,00540595^{**}Ep^3 \quad R^2 = 0,9986$$

$$\hat{Y} = 230,822 - 21,0549^{**}Ep + 0,630999^{**}Ep^2 - 0,00526092^{**}Ep^3 \quad R^2 = 0,9978$$

$$\hat{Y} = 267,120 - 23,9300^{**}Ep + 0,696222^{**}Ep^2 - 0,00571427^{**}Ep^3 \quad R^2 = 0,9969$$

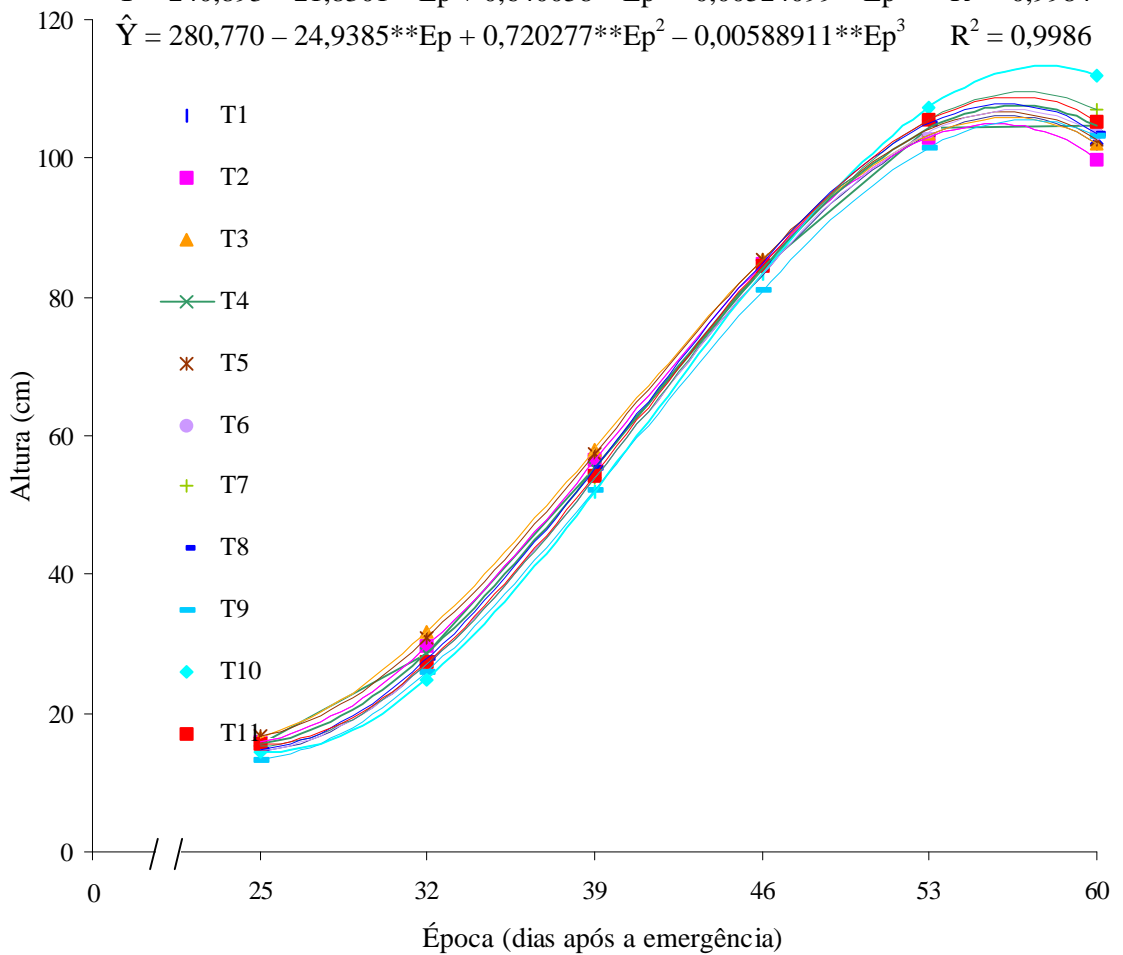
$$\hat{Y} = 272,807 - 24,2225^{**}Ep + 0,699055^{**}Ep^2 - 0,00569009^{**}Ep^3 \quad R^2 = 0,9986$$

$$\hat{Y} = 265,745 - 23,9867^{**}Ep + 0,703054^{**}Ep^2 - 0,005800508^{**}Ep^3 \quad R^2 = 0,997$$

$$\hat{Y} = 207,341 - 19,2349^{**}Ep + 0,587626^{**}Ep^2 - 0,00493759^{**}Ep^3 \quad R^2 = 0,9986$$

$$\hat{Y} = 240,893 - 21,8301^{**}Ep + 0,640058^{**}Ep^2 - 0,00524099^{**}Ep^3 \quad R^2 = 0,9984$$

$$\hat{Y} = 280,770 - 24,9385^{**}Ep + 0,720277^{**}Ep^2 - 0,00588911^{**}Ep^3 \quad R^2 = 0,9986$$



\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F

Figura 1 – Estimativa da altura das plantas de *Bidens pilosa* L. em função das épocas (intervalos de 7 dias).

em ritmos. Tais movimentos podem ser revelados no caos que caracteriza o comportamento não-linear, em que desorganizações antecedem as organizações, o que vem sendo verificado como típico em muitos organismos e sistemas. É um fenômeno comum nas experimentações homeopáticas (SILVEIRA, 1993).

Apesar da sutil diferença entre o crescimento maior das plantas causado por *Sulphur* e os demais preparados homeopáticos, o controle álcool CH3 provocou menor crescimento aos 60 dias, em comparação com os controles água destilada e álcool 70%, o que na experimentação homeopática é considerado patogenesia. De acordo com HAMILY (1979), as dinamizações baixas atuam no nível físico, que é mais denso e contém mais moléculas, podendo-se inferir que pode acelerar e retardar o crescimento das plantas. Considerando-se as plantas sadias, crescidas em ambiente semelhante, esse comportamento é interpretado como reação patogênica; na ciência da Homeopatia, sendo exposta a planta ao medicamento, é tido como fator externo, alterando seu metabolismo primário ao ponto de causar mudanças na altura. A energia vital, de acordo com os princípios da Homeopatia, responde ao medicamento com força similar. CASTRO et al. (2001a), em capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e hortelã (*Mentha spicata*), verificaram que o *Sulphur* exerceu maior efeito sobre o crescimento. O resumo da análise de variância de crescimento no momento da colheita e as variáveis número de folhas (NF), número de ramos (NR), número de capítulos (NC), número de folhas arroxeadas (NFR), área foliar por planta (AF), área foliar média (AFM) e SPAD foliar (SPAD) encontram-se no Quadro 3, e os valores médios dessas variáveis estão no Quadro 4. Não foram constatadas diferenças estatísticas entre os tratamentos.

No Quadro 5, encontra-se o resumo da análise de variância do número de folhas (NF) e do número de ramos (NR), em função das épocas, enquanto no Quadro 6 constam as equações de regressão ajustadas. Observou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos, porém, em razão das épocas, ocorreu aumento linear tanto no número de folhas quanto no número de ramos.

No Quadro 7, encontra-se o resumo da análise de variância do número de capítulos (NC), sendo constatado diferença significativa entre tratamentos, épocas e interação tratamento x época. No Quadro 8 constam os valores médios do número de capítulos em função das épocas. Na Figura 2 estão as equações de regressão ajustadas correspondentes ao crescimento linear ajustado pelo modelo. Nas plantas de *Bidens pilosa* L., houve aumento de produção dos capítulos florais após a aplicação de preparados homeopáticos em relação aos controles etanol 70% e água destilada. Com

Quadro 3 – Resumo da análise de variância das variáveis número de folhas por planta (NF), número de ramos (NR), número de capítulos (NC), número de folhas arroxeadas (NFR), área foliar por planta (AF), área foliar média (AFM) e valor do SPAD foliar (SPAD) em *Bidens pilosa* L., obtidos na colheita do ensaio realizado no período de abril a junho de 2002, em Viçosa, MG

FV	GL	Quadrados Médios						
		NF	NR	NC	NFR	AF	AFM	SPAD
Trat.	10	337,9142 ns	0,8398 ns	25,4489ns	126,1905ns	2.428.875ns	80,0172ns	6,0799ns
Resíduo	77	572,0676	0,9225	33,0264	45,4836	3.888.054	220,2240	4,4913
CV (%)		18,14	6,31	19,70	46,42	49,37	47,85	6,55

ns – F não-significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 4 – Valores médios das variáveis número de folhas por planta (NF), número de ramos (NR), número de capítulos florais (NC), número de folhas arroxeadas (NFR), área foliar (AF), área foliar média (AFM) e valor do SPAD foliar (SPAD) em *Bidens pilosa* L. tratadas com preparados homeopáticos na escala centesimal (CH3), em função dos tratamentos e dos respectivos coeficientes de variação, em Viçosa, MG

Tratamentos	NF	NR	NC	NFR	AF (cm <sup>2</sup> )	AFM (cm <sup>2</sup> )	SPAD
<i>Alumina</i>	135,68 a	15,81 a	28,50 a	14,50 a	4.224,91 a	33,67 a	32,87 a
<i>Natrum muriaticum</i>	133,18 a	15,12 a	28,75 a	13,93 a	4.382,22 a	32,65 a	31,53 a
<i>Magnésia carbônica</i>	131,62 a	14,93 a	28,93 a	12,81 a	4.151,58 a	33,49 a	32,41 <sup>a</sup>
<i>Calcarea carbônica</i>	140,00 a	14,75 a	30,31 a	8,68 a	4.678,86 a	34,31 a	31,87 a
<i>Nitricum acidum</i>	116,56 a	15,18 a	28,43 a	16,75 a	3.083,02 a	26,61 a	32,19 a
<i>Calcarea phosphorica</i>	140,00 a	15,18 a	27,50 a	12,71 a	3.733,85 a	27,90 a	31,23 a
<i>Sulphur</i>	135,31 a	15,43 a	32,50 a	14,62 a	4.894,48 a	34,78 a	32,55 a
<i>China</i>	130,56 a	14,87 a	30,93 a	16,87 a	4.084,49 a	32,77 a	32,60 a
Etanol 70% CH3 (controle)	129,75 a	15,18 a	30,43 a	25,00 a	3.710,02 a	28,70 a	32,95 a
Etanol 70% (controle)	127,75 a	15,25 a	28,68 a	13,68 a	3.641,29 a	29,65 a	31,30 a
Água destilada (controle)	129,75 a	15,68 a	25,93 a	11,31 a	3.348,6 a	26,57 a	34,24 a
CV (%)	18,14	6,31	19,70	46,42	49,37	47,85	6,55

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 5 – Resumo da análise de variância das médias de número de folhas (NF) e número de ramos (NR) de *Bidens pilosa* L., em função das épocas de avaliação

FV	GL	Quadrados Médios	
		NF	NR
Tratamento	10	85,5672ns	0,7197ns
Resíduo (a)	77	183,9647	0,8427
Época	2	241.089,4**	1.877,5010**
Trat. x Época	20	170,4053ns	0,7759ns
Resíduo (b)	154	207,9709	0,5107
CV (%)		19,74	6,89

\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.  
ns – F não-significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 6 – Equações ajustadas às variáveis número de folhas (NF) e número de ramos (NR), em função das épocas de avaliações e dos respectivos coeficientes de determinação

Variáveis	Equações de Regressão	r <sup>2</sup>
NF	$\hat{Y} = - 37,0360 + 2,82323^{**}Ep$	0,9979
NR	$\hat{Y} = 0,932159 + 0,242173^{**}Ep$	0,9428

\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 7 – Resumo da análise de variância do número de capítulos florais (NC), em função das épocas e dos preparados homeopáticos, durante o florescimento das plantas de *Bidens pilosa* L.

FV	GL	Quadrados Médios
		NC
Tratamentos	10	57,9527*
Resíduo (a)	77	22,8485
Época	2	14.956,23**
Tratamento x Época	20	39,3728*
Resíduo (b)	154	21,6326
CV (%)		27,82

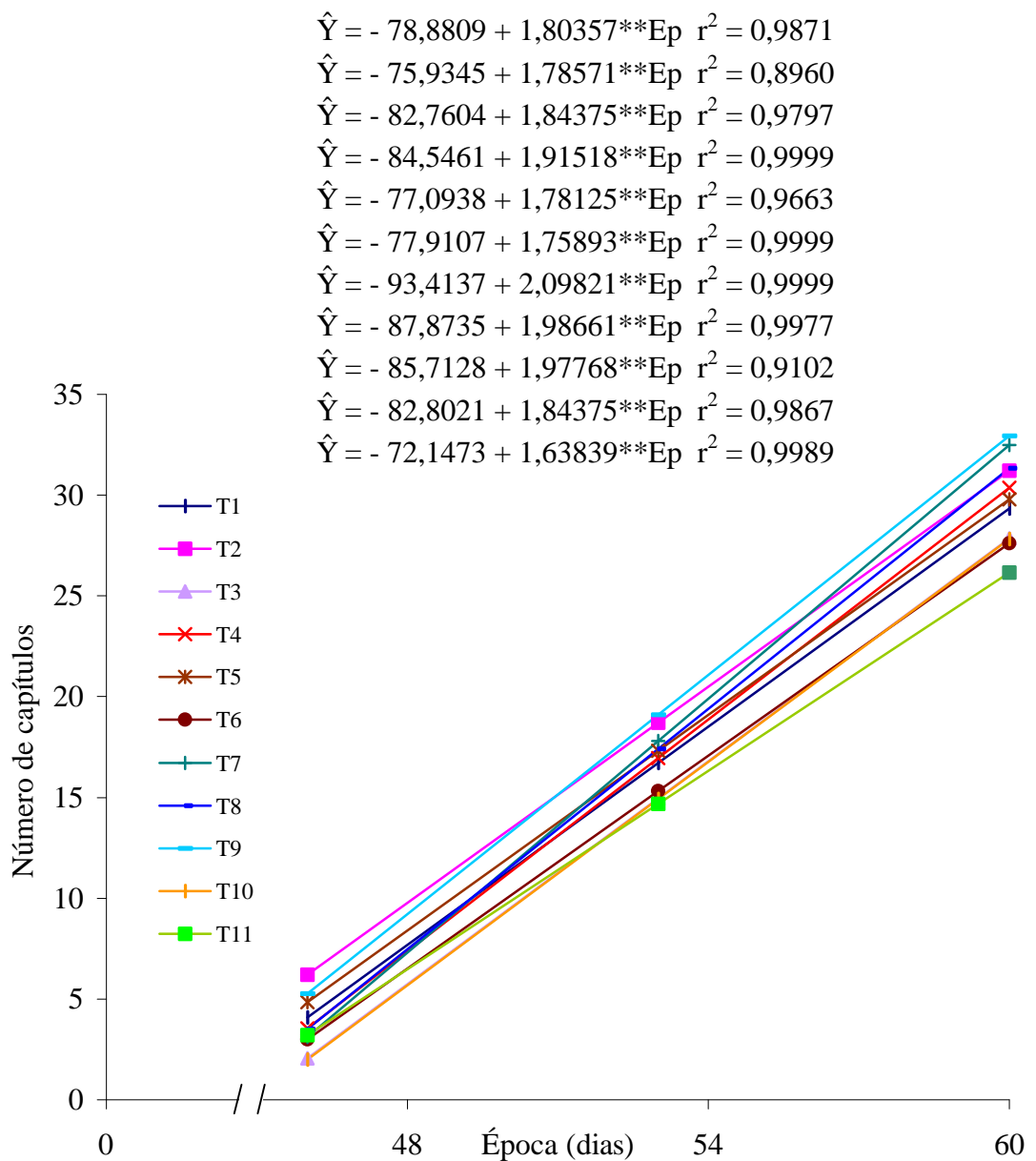
\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 8 – Valores médios do número de capítulos forais de *Bidens pilosa* L., em função das épocas (Ep) e dos preparados homeopáticos, durante o florescimento de abril a junho

Tratamentos	Ep = 46	53	60 Dias
<i>Alumina</i>	3,25 a	18,37 b	28,50 a
<i>Natrum muriaticum</i>	3,75 a	23,62 a	28,75 a
<i>Magnésia carbônica</i>	3,12 a	12,81 b	28,93 a
<i>Calcarea carbônica</i>	3,50 a	17,06 b	30,31 a
<i>Nitricum acidum</i>	3,50 a	20,00 a	28,43 a
<i>Calcarea phosphorica</i>	2,87 a	15,56 b	27,50 a
<i>Sulphur</i>	3,12 a	17,75 b	32,50 a
<i>China</i>	3,13 a	18,18 b	30,93 a
Etanol 70% CH <sub>3</sub> (controle)	2,75 a	24,12 a	30,43 a
Etanol 70% (controle)	2,87 a	13,18 b	28,68 a
Água destilada (controle)	3,00 a	15,12 b	25,93 a

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.



\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F

Figura 2 – Estimativa do número de capítulos florais de *Bidens pilosa* L. em função das épocas.

*Magnesia carbonica* houve menor produção de NC, porém com *Calcarea phosphorica* o NC foi reduzido (provavelmente pelos pulgões, uma vez que foi o tratamento de maior incidência). *Magnesia carbonica* e *Calcarea phosphorica* causaram menor massa seca de capítulos, em comparação com o controle-padrão etanol 70%. No Quadro 8, verifica-se que aos 60 dias, no fim do ensaio, as médias de NC não diferiram entre os tratamentos. Segundo ANDRADE (2000), as plantas podem ter direcionado a energia disponível ao crescimento e, conseqüentemente, reduzido o investimento na defesa materializada no teor de óleo essencial.

O resumo da análise de variância de crescimento, no momento da colheita, das variáveis massa da parte aérea fresca (MPAF), massa caulinar fresca (MCLF), massa foliar fresca (MFF), massa dos capítulos florais fresca (MCF) e massa da raiz fresca (MRF) encontra-se no Quadro 9, não havendo diferenças estatísticas entre os tratamentos a 5% de probabilidade, pelo teste F. No Quadro 10, encontram-se os respectivos valores médios das variáveis, que não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey. Os resultados foram similares ao verificado por ANDRADE (2000), que aplicou preparados homeopáticos na potência CH3 em *Justicia pectoralis*, não havendo influência dos tratamentos. Segundo essa mesma autora, as plantas demonstraram forte equilíbrio e estabilidade, não respondendo às influências ambientais, uma vez que as preparações homeopáticas auxiliam a retomada do equilíbrio. A indiferença aos tratamentos pode ter sido decorrente do estado preexistente, indicando ausência de patogênese das substâncias experimentadas. A planta manteve o crescimento sem haver qualquer limitação dos tratamentos.

No Quadro 11, as médias de massa foliar fresca (MFF) foram maiores nas plantas tratadas com *China*, em comparação com o controle etanol 70% CH3 pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, sendo possível a ocorrência de patogênese. O processo de dinamização do etanol pode ter sido suficiente para estimular a energia vital, o que foi expresso no metabólito de defesa, à semelhança do ocorrido na variável massa foliar fresca (MFF).

O resumo da análise de variância do crescimento pós-colheita das variáveis massa da parte aérea seca (MPAS), massa caulinar seca (MCLS), massa foliar seca (MFS), massa dos capítulos florais seca (MCS) e massa da raiz seca (MRS) encontra-se no Quadro 12; não houve diferença significativa entre os tratamentos. No Quadro 13, apresentam-se os respectivos valores médios das variáveis que não diferiram, significativamente, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quadro 9 – Resumo da análise de variância das variáveis massa da parte aérea fresca (MPAF), massa caulinar fresca (MCLF), massa foliar fresca (MFF), massa dos capítulos fresca (MCF) e massa da raiz fresca (MRF) de picão-preto (*Bidens pilosa* L.), coletado entre 15 de abril e 16 de junho de 2002, em Viçosa, MG

F.V	GL	Quadrados Médios				
		MPAF	MCLF	MFF	MCF	MRF
Trat	10	361,5664ns	78,9604ns	112,0520ns	17,0209ns	30,9046ns
Resíduo	77	529,3504	182,8214	75,9844	15,7404	71,9817
CV(%)		11,82	11,44	15,68	19,23	28,78

ns – F não-significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 10 – Valores médios das variáveis massa da parte aérea fresca (MPAF), massa caulinar fresca (MCLF), massa foliar fresca (MFF), massa dos capítulos fresca (MCF) e massa da raiz fresca (MRF) de *Bidens pilosa* L. tratadas com preparados homeopáticos na escala centesimal (CH3), em função dos tratamentos e dos respectivos coeficientes de variação, realizados em Viçosa, MG, 2002

Tratamentos	MPAF (g/planta)	MCLF (g/planta)	MFF (g/planta)	MCF (g/planta)	MRF (g/planta)
<i>Alumina</i>	198,74 a	118,71 a	57,78 a	21,13 a	29,97 a
<i>Natrum muriaticum</i>	198,86 a	121,64 a	55,88 a	21,32 a	27,71 a
<i>Magnésia carbônica</i>	190,13 a	115,22 a	56,13 a	18,84 a	27,58 a
<i>Calcarea carbonica</i>	191,30 a	116,33 a	55,98 a	18,98 a	28,29 a
<i>Nitricum acidum</i>	192,10 a	117,48 a	51,26 a	22,23 a	32,28 a
<i>Calcarea phosphorica</i>	193,22 a	116,70 a	54,82 a	21,69 a	31,28 a
<i>Sulphur</i>	198,86 a	121,58 a	56,59 a	20,69 a	27,62 a
<i>China</i>	209,45 a	124,16 a	63,27 a	22,01 a	33,08 a
Etanol 70% CH3 (controle)	184,45 a	113,59 a	48,83 a	22,27 a	27,94 a
Etanol 70% (controle)	195,16 a	118,61 a	57,71 a	18,84 a	28,91 a
Água destilada (controle)	188,64 a	116,41 a	53,32 a	18,86 a	29,61 a
CV (%)	11,82	11,44	15,68	19,23	28,78

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 11 – Médias de massa foliar fresca (MFF) tratada com preparados homeopáticos em escala centesimal, em função dos tratamentos, em comparação com o controle-padrão etanol 70% CH3

Tratamentos	MFF (g/planta)
<i>Alumina</i>	57,78
<i>Natrum muriaticum</i>	55,88
<i>Magnésia carbônica</i>	56,13
<i>Calcarea carbônica</i>	55,98
<i>Nitricum acidum</i>	51,26
<i>Calcarea phosphorica</i>	54,82
<i>Sulphur</i>	56,59
<i>China</i>	63,27*
Água destilada	53,32
Etanol 70%	57,71
Etanol 70% CH3 (controle-padrão)	<b>48,83</b>
CV (%)	15,68

\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Dunnett, em comparação com o controle-padrão álcool 70%.

Quadro 12 – Resumo da análise de variância das variáveis massa da parte aérea seca (MPAS), massa caulinar seca (MCLS), massa foliar seca (MFS), massa dos capítulos seca (MCS) e massa da raiz seca (MRS) em *Bidens pilosa* L., tratadas com preparados homeopáticos na escala centesimal e coletadas de abril a junho de 2002, em Viçosa, MG

FV	GL	Quadrados Médios				
		MPAS	MCLS	MFS	MCS	MRS
Trat.	10	22,1560ns	10,5691ns	0,9511ns	1,401*	22,2639ns
Resíduo	77	31,4474	15,9563	1,6915	0,6864	21,0548
CV (%)		12,51	12,59	15,32	17,98	82,05

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

\* F significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 13 – Valores médios das variáveis massa da parte aérea seca (MSPA), massa caulinar seca (MCLS), massa foliar seca (MFS), massa dos capítulos seca (MCS) e massa da raiz seca (MRS) em *Bidens pilosa* L., tratadas com preparados homeopáticos em escala centesimal na dinamização CH3, em função dos tratamentos e dos respectivos coeficientes de variação

Tratamentos	MSPA (g/planta)	MSCL (g/planta)	MSF (g/planta)	MCS (g/planta)	MSR (g/planta)
<i>Alumina</i>	45,57 a	32,07 <sup>a</sup>	8,81 a	4,69 a	5,26 a
<i>Natrum muriaticum</i>	46,01 a	32,69 a	8,56 a	4,75 a	5,04 a
<i>Magnésia carbônica</i>	43,37 a	30,96 a	8,37 a	4,03 a	5,15 a
<i>Calcarea carbônica</i>	41,39 a	29,03 a	8,16 a	4,20 a	4,77 a
<i>Nitricum acidum</i>	45,44 a	32,10 a	8,26 a	5,07 a	5,12 a
<i>Calcarea phosphorica</i>	43,27 a	30,83 a	8,22 a	4,21 a	5,12 a
<i>Sulphur</i>	45,70 a	32,50 a	8,63 a	4,56 a	10,59 a
<i>China</i>	47,29 a	32,99 a	9,34 a	4,95 a	5,38 a
Etanol 70% CH3 (controle)	45,49 a	31,80 a	8,30 a	5,38 a	4,99 a
Etanol 70% (controle)	43,80 a	31,30 a	8,26 a	4,24 a	5,12 a
Água destilada (controle)	45,67 a	32,71 a	8,41 a	4,54 a	4,93 a
CV (%)	12,51	12,59	15,32	17,98	82,05

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

No Quadro 13, observa-se que, quanto à variável massa da raiz seca (MRS), apesar de não ter sido significativo, o *Sulphur* proporcionou maior massa seca em relação aos demais tratamentos. O medicamento *Sulphur* possui rica patogenesia, destacando-se, entre os inúmeros sintomas descritos, perturbação do metabolismo, comportamento variável com alternância de sintomas devido a alterações no meio externo, pouca exigência de água e nutrientes e com supressão de sintomas (VOISIN, 1987), à semelhança do heremita, que busca viver no campo com animais e a contemplar o firmamento, segundo a descrição de BRUNINI (1993), que também o descreveu como crianças que possuem aspecto sujo, têm mau cheiro, são intolerantes a água, irritáveis e mal humoradas. Observou-se, portanto, similaridade entre o *Sulphur* e a espécie estudada, que foi expressa na variação da MRS, fazendo-se analogia.

No Quadro 14, verifica-se que, nos tratamentos *Magnesia carbonica*, *Calcarea carbonica* e *Calcarea phosphorica*, a variável massa de capítulos seca (MCS) foi menor, em comparação com o controle etanol 70%, pelo teste de Dunnett.

Quadro 14 – Médias da massa dos capítulos florais seca (MCS) tratados com preparados homeopáticos em escala centesimal, em função dos tratamentos, em comparação com o etanol 70%

Tratamentos	MSC (g/planta)
<i>Alumina</i>	4,69
<i>Natrum muriaticum</i>	4,75
<i>Magnésia carbônica</i>	4,03*
<i>Calcarea carbônica</i>	4,20*
<i>Nitricum acidum</i>	5,07
<i>Calcarea phosphorica</i>	4,21*
<i>Sulphur</i>	4,56
<i>China</i>	4,95
Água destilada	4,54
Etanol 70% (controle padrão)	<b>4,24</b>
Etanol 70% CH3	5,38
CV (%)	17,98

\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Dunnett, em comparação com o controle-padrão álcool 70%.

No Quadro 15, encontra-se o resumo da análise de variância dos dados de ocorrência de pulgão na parte aérea (PULG). Observa-se, nesse quadro, que houve influência dos preparados homeopáticos na preferência dos pulgões, constatando diferenças estatísticas dos tratamentos e da interação época x tratamento. Os valores médios em função das épocas podem ser verificados no Quadro 16. O modelo que melhor correspondeu à preferência de incidência dos pulgões foi o linear, em função dos preparados homeopáticos e das equações de regressão ajustadas (Figura 3).

No Quadro 16, vê-se que a incidência de pulgão (*Mysus persicae*) deu-se com maior severidade nas plantas tratadas com *Calcarea phosphorica*, que tem a propriedade de mobilizar nutrientes minerais, favorecendo a distribuição, principalmente, do cálcio (VOISIN, 1987). Houve menor incidência nas plantas tratadas com *China* e *Nitricum acidum*, em comparação com os demais tratamentos. Nas plantas tratadas com *China* houve maior massa foliar fresca (Quadro 11) e menor incidência de

Quadro 15 – Resumo da análise de variância da incidência de pulgão (*Myzus persicae*) na parte aérea (PULG), em função das épocas avaliadas durante o crescimento e desenvolvimento das plantas de *Bidens pilosa* L., em intervalos de sete dias

FV	GL	Quadrados Médios
		Incidência de Pulgão
Tratamento	10	4,9528**
Resíduo (a)	77	2,0674
Época	3	21,5265**
Trat.x Época	30	0,37859**
Resíduo (b)	231	0,342262
CV (%)		60,21

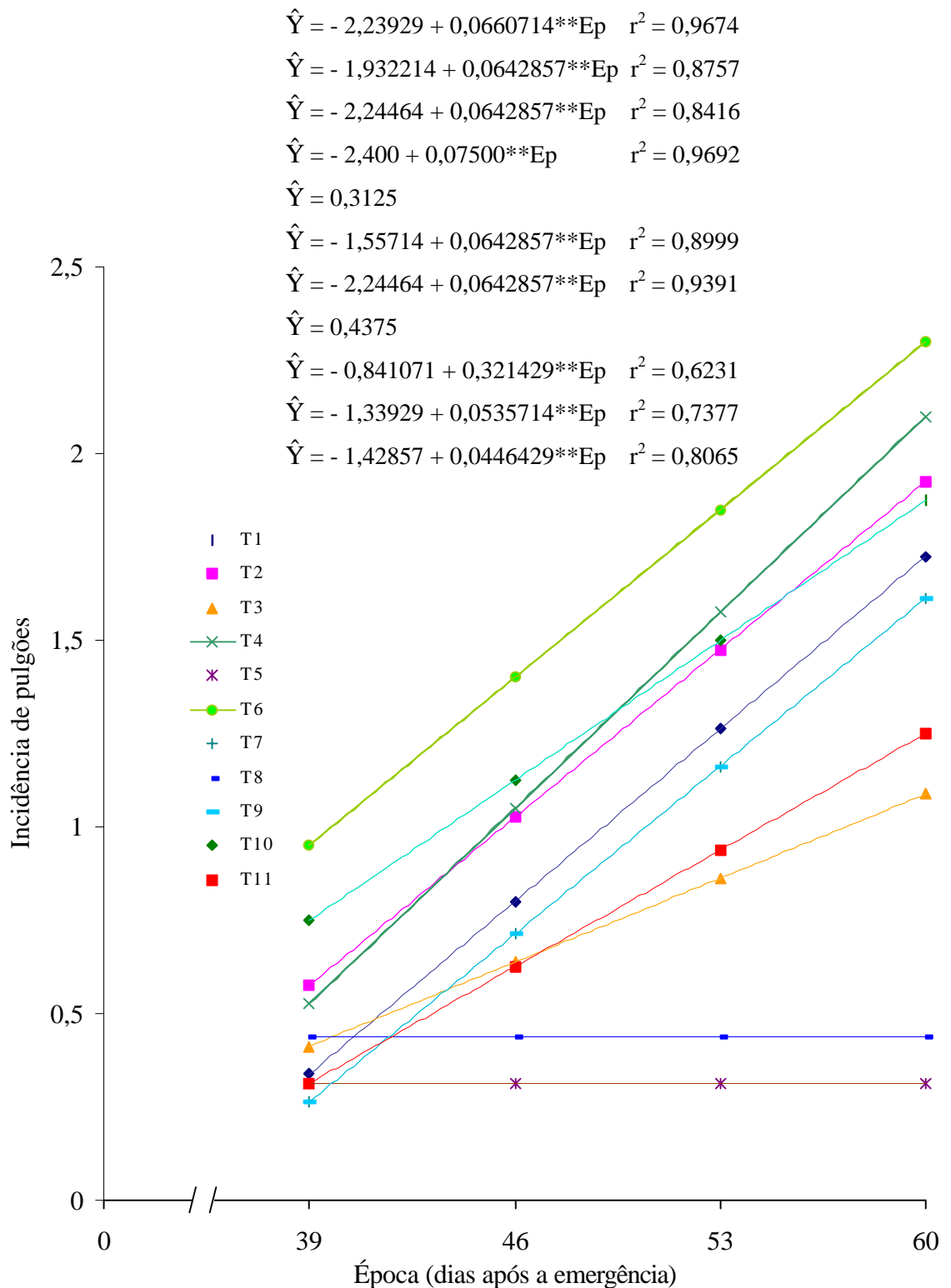
ns – F não-significativo a 5% de probabilidade.

\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 16 – Valores médios da incidência de pulgões (*Myzus persicae*) em plantas de *Bidens pilosa* L. tratadas com preparados homeopáticos e respectivas avaliações semanais

Tratamentos/Época	39	46	53	60 Dias
<i>Alumina</i>	0,25 a	0,87 a	1,37 a b	1,62 ab
<i>Natrum muriaticum</i>	0,37 a	1,25 a	1,62 a b	1,75 ab
<i>Magnésia carbônica</i>	0,12 a	0,75 a	1,50 a b	1,37 ab
<i>Calcarea carbônica</i>	0,50 a	1,00 a	1,75 a b	2,00 ab
<i>Nitricum acidum</i>	0,00 a	0,50 a	0,37 b	0,37 b
<i>Calcarea phosphorica</i>	0,87 a	1,37 a	2,12 a	2,12 a
<i>Sulphur</i>	0,12 a	0,87 a	1,25 a b	1,50 ab
<i>China</i>	0,12 a	0,37 a	0,87 a b	0,37 b
Etanol 70% CH3 (controle)	0,25 a	0,75 a	1,12 a b	0,87 ab
Etanol 70% (controle)	0,50 a	1,37 a	1,75 a b	1,62 ab
Água destilada (controle)	0,12 a	0,87 a	1,00 a b	1,12 ab

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.



\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F

Figura 3 – Estimativa da incidência de pulgões (*Mysus persicae*) na parte aérea de *Bidens pilosa* L. em função das épocas.

pulgão. Efeito semelhante foi observado por FAZOLIN (1999) ao aplicar preparados homeopáticos em “vaquinha do feijoeiro” (*Cerotoma tingomarianus*), provocando efeito deterrente, ou seja, o inseto consumiu apenas pequena quantidade de parte das folhas sem dano significativo e se manteve vivo e com sua reprodução equilibrada. ALMEIDA (2002a) verificou diminuição do ataque por “lagarta do cartucho” (*Spodoptera frugiperda*) em plantas de milho quando aplicou preparados homeopáticos da própria lagarta. Na fase de postura, houve rejeição pelas borboletas às plantas tratadas com homeopatia. Segundo PRIMAVESI (2001), o aparecimento da doença, ou praga, ocorre em virtude do desequilíbrio nutricional, quando a planta não é capaz de formar substâncias geneticamente condicionadas. Plantas sadias elaboram metabólitos que as tornam resistentes ao ataque de pragas. Chaboussou, citado por AMBROSANO et al. (2001), verificou que a principal fonte alimentar dos parasitas e predadores das plantas são as substâncias de alta solubilidade, presentes nos tecidos vegetais, a exemplo de açúcares solúveis, aminoácidos livres e oligoelementos. Verificou também que a planta se torna suscetível ao agente agressor, em função da desordem metabólica que desregula os mecanismos de proteólise (quebra de proteína) e proteossíntese (síntese de proteína), sobrando nutrientes nas seivas das plantas.

De acordo com VITHOULKAS (1980), o reequilíbrio está relacionado com a energia vital e com o mecanismo de defesa. HAMILY (1979) afirmou que, quando há similitude entre o preparado homeopático e o organismo, a energia vital reage. Assim, dependendo do preparado homeopático, tem-se resposta diferente no organismo, podendo-se inferir que nas plantas tratadas *Calcarea phosphorica* ocorreu patogênese, tornando-as suscetíveis à incidência de pulgões.

#### **4.2. Análise do conteúdo de óleo essencial (ÓLEO) e atividade enzimática da peroxidase (PO) e catalase (CAT)**

O resumo da análise de variância do teor de óleo essencial (OLEO), da atividade enzimática peroxidase (PO) e da catalase CAT encontra-se no Quadro 17. Na variável OLEO houve diferenças estatísticas em função dos tratamentos. Entre as variáveis PO e CAT não foram constatadas diferenças. Os valores médios das variáveis ÓLEO, PO e CAT podem ser observados no Quadro 18. Com relação às variáveis CAT e PO, estas não foram influenciadas pelos preparados homeopáticos.

Quadro 17 – Resumo da análise de variância dos dados de teor de óleo (ÓLEO), atividade enzimática peroxidase (PO) e atividade enzimática catalase (CAT), nas folhas de *Bidens pilosa* L. submetidas aos preparados homeopáticos

FV	GL	Quadrados Médios		
		ÓLEO	PO	CAT
Tratamento	10	50,0227***	0,05354ns	1,1386ns
Resíduo	33	24,5606	0,05598	1,0724
CV (%)		73,69	25,44	21,51

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

\*\*\* F significativo a 10% de probabilidade.

Quadro 18 – Coeficientes de variação e valores médios das variáveis teor de óleo essencial (ÓLEO), atividade enzimática da peroxidase (PO) e atividade enzimática da catalase (CAT) nas folhas de *Bidens pilosa* L., em função dos preparados homeopáticos

Tratamentos	ÓLEO (mg/5 g de massa foliar seca)	PO (U.A/mg de PTN)	CAT ( $\mu$ moles de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> cons. min <sup>-1</sup> .mg de PTN.)
<i>Alumina</i>	6,50 b	0,88 a	4,89 a
<i>Natrum muriaticum</i>	4,00 b	0,99 a	5,68 a
<i>Magnésia carbonica</i>	5,75 b	0,86 a	4,58 a
<i>Calcarea carbonica</i>	6,00 b	0,81 a	5,22 a
<i>Nitricum acidum</i>	12,25 a	1,02 a	5,23 a
<i>Calcarea phosphorica</i>	6,25 b	0,76 a	4,17 a
<i>Sulphur</i>	5,75 b	1,06 a	4,73 a
<i>China</i>	3,50 b	0,91 a	4,23 a
Etanol 70% CH <sub>3</sub> (controle)	4,00 b	1,11 a	5,11 a
Etanol 70% (controle)	5,75 b	1,02 a	5,17 a
Água destilada (controle)	14,75 a	0,82 a	3,96 a
CV (%)	73,69	25,44	21,51

Os grupos de médias seguidos de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo critério de Scott–Knott.

U.A.min.<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> de PTN – Unidade de absorvância por minuto/mg de proteína.  $\mu$ moles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>cons.min<sup>-1</sup>.mg de PTN –  $\mu$ moles de peróxido de hidrogênio consumido por minuto de mg de proteína.

Segundo GASPAR et al. (1982), havendo mudanças nas condições ambientais, o ataque de agentes infecciosos (vírus, bactérias e fungos) e as injúrias mecânicas induzem e, ou, modificam a atividade das peroxidases, as quais têm esse comportamento como forma de aumentar a capacidade de defesa da planta. De acordo com SIEGEL (1993), em condições de estresse as plantas têm alta atividade das peroxidases como primeiro sinal. Certos fatores que influenciam o metabolismo da planta, como adubação, temperaturas baixas e infecção por patógenos, interferem na intensidade da ação enzimática, especialmente nos sistemas peroxidase e fenolase. Para Andrade, as condições adversas evidenciam forte equilíbrio e estabilidade nessas características, não recebendo influências ambientais. Uma vez que as preparações homeopáticas auxiliam a retomada do equilíbrio, pode-se inferir que a não-interferência dos preparados homeopáticos na atividade enzimática possa ser devida a esse equilíbrio natural. No entanto, esse resultado é positivo, não havendo patogênese das substâncias experimentadas, e a planta manteve seu desenvolvimento normal, sem haver limitação em função dos tratamentos. De acordo com CASALI et al. (2002), a Ciência Homeopática, nos processos de produção orgânica, tem possibilitado equilíbrio nos sistemas de criação animal e de cultivo. As ações de equilibrar, harmonizar e promover homeostase resultam da propriedade de as preparações homeopáticas interferirem no princípio vital, ou seja, no sistema de vitalidade que mantém funcionando sincronizadamente o organismo vivo dos vegetais e dos animais.

A água destilada e *Nitricum acidum* aumentaram o óleo essencial das plantas em comparação com os demais tratamentos. Considerando a planta sadia, tal comportamento pode ser reação patogênica da planta ao medicamento *Nitricum acidum*, que, ao percebê-lo como fator externo, alterou seu metabolismo primário como resposta em termos de metabolismo secundário. *Nitricum acidum* é indicado em casos de hipersensibilidade, irritabilidade, rancor e agitação e possui comportamento defensivo. Na pele e nas mucosas aparecem fissura, irritação, rachaduras e secreções, hemorragias freqüentes; dada a sua causticidade, ocorrerão os capilares, aparecendo as metrorragias e hemoptises (VOISIN, 1987). Ao analisar a espécie *Bidens pilosa* L., planta de grande ocorrência tropical, verificou-se que ela pode conter óleos essenciais nas folhas, nos pecíolos e no caule, em canais secretores que acompanham as nervuras (VASQUES et al., 1986a) ou entre a cutícula e a parede celular desses órgãos (TAIZ e ZEIGER, 1991). Considerando-se que os processos adaptativos impostos aos vegetais sejam agressivos e desencadeiam muitos sintomas que refletem a tentativa do princípio vital ao

reequilíbrio, os óleos essenciais produzidos pelo picão na defesa contra a incidência de pulgões (visto no Quadro 16), bem como o teor de óleo, podem ser considerados reflexos do impacto de adaptação; é como se as plantas com memória de sobrevivência da espécie fizessem o melhor para garantir sua perpetuação.

No Quadro 19, nos resultados comparados ao controle água destilada verifica-se que os preparados homeopáticos causaram menor produção de óleo, com exceção do *Nitricum acidum*, pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade. O conteúdo de óleo essencial comparado com o controle água destilada foi diminuído por *Sulphur* (180%), *Alumina* (125%), etanol 70% (270%), *Calcarea phophorica* (132%), *Magnesia carbonica* (155%), *China* (315%) e *Natrum muriaticum* (270%).

Quadro 19 – Teores médios de óleo essencial (OLEO), obtido por arraste a vapor (aparelho Clevenger modificado), de 5 g de massa foliar de *Bidens pilosa* L. e as percentagens de óleo essencial em 5 g de massa seca (%) de óleo em amostras de 5 g

Tratamentos	Teor de Óleo	% do Óleo
<i>Alumina</i>	6,50*	0,13
<i>Natrum muriaticum</i>	4,00*	0,08
<i>Magnésia carbonica</i>	5,75*	0,11
<i>Calcarea carbonica</i>	6,00*	0,12
<i>Nitricum acidum</i>	12,25	0,24
<i>Calcarea phosphorica</i>	6,25*	0,12
<i>Sulphur</i>	5,75*	0,11
<i>China</i>	3,50*	0,07
Etanol 70% CH3	4,00*	0,08
Etanol 70%	5,75*	0,11
Água destilada (controle-padrão)	<b>14,75</b>	<b>0,29</b>
CV (%)	73,69	

\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Dunnett, em comparação com o controle-padrão água destilada.

Similarmente ao verificado por ANDRADE (2000) e CARVALHO (2001), a cumarina em plantas de chambá (*Justicia pectoralis*) e o partenólídeo da artemísia (*Tanacetum parthenium*) diminuíram tal como o óleo essencial nas plantas de picão-preto (*Bidens pilosa* L.). Aquelas com menor acúmulo de massa fresca possuíam maior teor de óleo nos tratamentos de água destilada e *China*. A síntese de metabólitos secundários demanda muita energia às plantas, uma vez que desvia do metabolismo primário, razão por que as plantas mais vigorosas podem ser pouco ativas individualmente. Segundo Harborne, citado por ANDRADE (2000), as plantas expressam um dilema: crescimento ou defesa.

Resultado similar foi encontrado por CARVALHO (2001) em *Tanacetum parthenium*, pois o teor de partenólídeo diminuiu com a aplicação de *Arnica montana* C3 e C5. Também, foi verificado por essa autora que plantas de *T. parthenium* submetidas à *Natrum muriaticum* C2 tiveram redução de clorofila e prolina, tal como nas plantas submetidas a estresse hídrico. Já ANDRADE (2000) observou, em plantas de chambá (*Justicia pectoralis*), que o *Sulphur* CH3 aumentou 73,34% o teor de cumarina, em comparação com os controles. CASTRO et al. (2001a) verificaram que, em capim-limão, *Sulphur* C200 diminuiu a produção de óleo essencial, enquanto em hortelã (*Mentha spicata*) o *Sulphur* CH12 aumentou a produção de óleo essencial.

ALMEIDA (2002b) constatou que o teor de óleo essencial foi diminuído 47,37 e 52,73%, respectivamente pelos medicamentos homeopático *Calcarea carbonica* CH30 e *Sulphur* CH30 em plantas de manjeriço (*Ocimum basilicum*), em comparação com o controle água destilada. Portanto, alterações na síntese de óleo provavelmente são comuns nas plantas tratadas com homeopatia.

Sendo o óleo essencial produto do metabolismo secundário e responsável pela defesa da planta, pode-se inferir que tais preparados homeopáticos, ao provocarem a redução no teor de óleo essencial, tenham equilibrado as plantas e sinalizado a economia de energia na sua defesa. A diminuição no teor de óleo essencial pode ser também consequência da patogênese na planta sadia. Portanto, na terapêutica homeopática seria útil aplicar esses preparados quando a planta estivesse com baixo teor de óleo, conforme o princípio da semelhança (ANDRADE, 2000; CASTRO et al., 2001a; ALMEIDA, 2002b).

No Quadro 19, observa-se a porcentagem de óleo de 5g de massa foliar seca. De acordo com ADZET et al. (1991), o teor de óleo pode variar de 0,28 a 2,0% da massa fresca, já na revisão de OLIVEIRA (1997a) a produção de óleo essencial pode variar de

0,005 a 10% da massa. Segundo XAVIER (1993), a qualidade e a quantidade dos óleos essenciais é atribuída a três grandes fatores: genéticos, fisiológicos e ambientais. Estudos comparativos de teor de óleo entre folhas jovens e adultas de *Eucalyptus nitens* evidenciaram que as folhas jovens possuem menos da metade do teor de óleo essencial em relação às adultas, conforme discutido por OLIVEIRA (1997a).

### **4.3. Análise de compostos antimaláricos**

#### **4.3.1. Determinação da presença de flavonóides**

Nos perfis cromatográficos (Apêndice 1) das raízes de *Bidens pilosa* L. em função dos preparados homeopáticos foram observadas bandas azuis, características de ácidos orgânicos e bandas amarelas, caracterizando a presença de substâncias de elevada polaridade em todas as amostras. As bandas amarelas caracterizam a presença de flavonóides, assim como a coloração laranja, que também é indicativo de flavonóides, substâncias de baixa polaridade. Os perfis encontrados foram muito diferentes dos observados por BRANDÃO et al. (1992) e OLIVEIRA (2002b), com maior número de bandas, confirmando que *Bidens pilosa* L. contém flavonóides de baixa polaridade (metaxilado).

A banda laranja revelou a presença de substâncias com Rfs superiores, indicando a presença de flavonóides de baixa polaridade em *Magnesia carbonica* e etanol 70% e bandas laranjas (Rf = 0,10) similares ao encontrado com rutina, considerada substância-padrão.

A banda azul encontrada no RF = 0,60 era semelhante à verificada por OLIVEIRA (2002b), que caracterizou ácido clorogênico detectado nas plantas tratadas com *Alumina*, *Calcarea carbonica*, *Nitricum acidum*, *Calcarea phosphorica*, *Sulphur*, *China* e os controles etanol 70% CH<sub>3</sub> e água destilada.

*Alumina*, *Natrum muriaticum* e o controle água destilada apresentaram perfis semelhantes, com poucas manchas azuis características de ácidos orgânicos, em Rf superior, em comparação com os demais perfis. As plantas tratadas com *Sulphur*, *China*, *Magnesia carbonica*, *Nitricum acidum* e os controles etanol 70% e etanol 70% CH<sub>3</sub> tiveram maior número de bandas, variando de três a sete.

As plantas do controle água destilada e *Nitricum acidum* tiveram maior produção de óleo essencial em *Bidens pilosa* L., e os demais tratamentos diminuíram. No entanto,

na determinação de flavonóides as plantas do controle água destilada foram as de menor número de bandas, o que não foi evidenciado com *Nitricum acidum*. Pode-se inferir que houve influência dos preparados homeopáticos sobre a produção de compostos presentes na raiz. O preparado homeopático foi percebido pela planta como fator externo e atuou sobre os mecanismos de resposta, tanto no metabolismo primário quanto no secundário. A síntese de princípios ativos necessita de muita energia das plantas, e essa energia é desviada do metabolismo primário. De acordo com HARBORNE (1993), as plantas são regidas pelo dilema crescimento ou defesa. Segundo CARVALHO (2001), o aumento do crescimento e a diminuição dos níveis de defesa podem expressar a retomada à homeostase, levando ao equilíbrio na distribuição de energia entre processos de crescimento e de defesa.

#### **4.3.2. Determinação da presença de acetilenos**

Os perfis cromatográficos encontram-se no Apêndice 2 e foram obtidos de raízes de *Bidens pilosa* L. Tais perfis foram semelhantes entre si, e as bandas variaram em tons azul, róseo, violeta e marrom. As bandas marrons, segundo Wagner e Bladt, citados por OLIVEIRA (2002b), são características de acetilenos e foram detectadas em todas as amostras, sendo nas plantas tratadas com *Alumina* também constatada uma banda marrom RF = 0,31, característica da presença de acetilenos. Os perfis do controle água destilada comportaram-se de modo diferente dos demais, com a presença inclusive de bandas azuis RF = 0,27, RF = 0,31 e RF = 0,38 e marrom em RF = 0,44, características de acetileno. Uma revisão feita por OLIVEIRA (2002b) deu-lhe base para afirmar que bandas variando do azul ao violeta são características de terpenóides.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

Foram avaliados os mecanismos de resposta morfológica de óleo essencial de atividade enzimática de catalase/peroxidase e de produção de compostos antimetabólicos das raízes, em plantas de *Bidens pilosa* L., após os tratamentos homeopáticos, buscando o entendimento da experimentação no indivíduo sadio. O ensaio foi conduzido no telado do DFT/UFV, no período de 8/04/02 a 16/06/02, sendo o experimento instalado no esquema de parcela subdividida em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com 11 tratamentos e oito repetições, tendo cada parcela dois vasos (1 planta/vaso), num total de 176. O teor de óleo essencial e a atividade enzimática catalase e peroxidase foram analisados em quatro repetições por tratamento em DIC, totalizando 44 plantas. Foram adotados a potência CH3 e o procedimento “duplo-cego” na aplicação dos tratamentos: *Alumina*, *Natrum muriaticum*, *Calcarea carbonica*, *Calcarea phosphorica*, *Sulphur*, *China*, *Magnesia Carbonica* e os controles etanol 70% CH3, etanol 70% e água destilada. As irrigações com os preparados homeopáticos foram feitas diariamente na proporção de 20 gotas/L de água, sendo 50 mL/vaso durante 60 dias. As avaliações foram realizadas durante os 60 dias em intervalos consecutivos até a colheita, quando foram determinadas as variáveis de produção. Realizou-se a extração do óleo essencial em equipamento de Clevenger modificado. A atividade enzimática de catalase foi determinada por titulação e leitura no espectrofotômetro, enquanto a atividade de peroxidase o foi com base no total de proteínas solúveis pelo método de Bradford e leitura em espectrofotômetro. As determinações de compostos antimetabólicos das raízes

foram por análise cromatográfica de camada delgada, no Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia/UFMG.

Os resultados permitiram as seguintes conclusões:

- a) Os preparados homeopáticos exerceram influência na altura das plantas em função das fases de desenvolvimento; *Sulphur* e o controle etanol 70% promoveram maior altura em relação aos demais tratamentos.
- b) As plantas tratadas com *China* tiveram a maior massa fresca foliar em relação ao controle etanol 70% CH3.
- c) *Calcarea phosphorica* causou maior incidência de pulgão, enquanto *China* e *Nitricum acidum* provocaram menor incidência.
- d) Ocorreu maior produção de óleo essencial nas plantas que receberam *Nitricum acidum* e o controle água destilada.
- e) A atividade enzimática da catalase e da peroxidase nas folhas não foi influenciada significativamente pelos preparados homeopáticos.
- f) O conteúdo de óleo essencial foi diminuído por *Alumina* (125%), *Natrum muriaticum* (270%), *Calcarea carbonica* (132%), *Calcarea phosphorica* (132%), *Sulphur* (180%), *China* (315%), *Magnesia Carbonica* (155%) e etanol 70% (270%), em comparação com o controle água destilada.
- g) Nas plantas com menor acúmulo de massa fresca houve menor teor de óleo essencial.
- h) Nas análises de CCD foram observadas bandas características de ácidos orgânicos, como os ácidos clorogênico e acetileno, os quais foram detectados em todas as amostras e bandas amarelas características de flavonóides, indicando substâncias de alta polaridade. Observou-se que no controle com água destilada houve o aparecimento de manchas azuis características de terpenóides. Foram detectadas bandas marrons, características de acetileno, em  $R_f = 0,44$  e  $R_f = 0,31$ , respectivamente no controle água destilada e em *Alumina*.

## CAPÍTULO 2

### **EFEITOS DA HOMEOPATIA *China* EM PLANTAS SADIAS DE *Bidens pilosa* L.: CRESCIMENTO, PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL, ATIVIDADE ENZIMÁTICA, COMPOSTOS ANTIMALÁRICOS E ANÁLISE BIOELETROGRÁFICA**

#### **1. INTRODUÇÃO**

Por volta de 1790, quando Hahnemann traduziu o livro de medicina intitulado *Matéria Médica* de Willian Cullen, ele encontrou que a indicação clínica da casca da quina (*Chinchona officinalis*) era para o tratamento da malária, devido ao fato de ser amarga, capaz de produzir, no estômago do doente, substância contrária à febre. Assim, Hahnemann decidiu experimentar a quina em si mesmo. Ele tinha já o conhecimento do adágio *similia similibus curantur*, dando início ao método de experimentação científica do modelo homeopático, denominado *experimentação no ser sadio*. Hahnemann surpreendeu-se quando a quina causou-lhe sintomas semelhantes aos da malária – febre intermitente, calafrios, tremores etc. (SCHEMBRI, 1976; BRUNINI, 1993).

Durante séculos, a malária foi tratada com as cascas da “quina”, espécie do gênero *Cinchona*, árvore que recebeu tal nome devido ao fato de a condessa de Cinchón, esposa do vice-rei da Espanha, ter sido curada de malária com a infusão dessas cascas. Tais plantas são nativas do Peru e foram introduzidas na Europa pelos jesuítas (TRIUNFOL, 2002).

Em 1834, foi isolado o alcalóide quinolínico, denominado quinino. Foi o primeiro exemplo de substância química natural utilizada como antimalárica, conforme discutido por OLIVEIRA (2002b).

Outra descoberta, porém recente, no campo dos antimaláricos foi a artemisinina, isolada em 1972 da *Artemisia annua* (Asteraceae), cuja espécie consta na Farmacopéia Chinesa (MUELLER et al., 2000).

A malária é tida como a doença parasitária que maior dano causa à população mundial, atingindo milhões de pessoas, principalmente nas regiões tropicais ou subtropicais. Os impactos sociais, econômicos e políticos sobre a população são severos. Estima-se que 2,4 bilhões de pessoas (40% da população mundial), em mais de 101 países (na maioria deles em desenvolvimento), encontram-se expostas à malária. Calcula-se que existam de 300 a 500 milhões de casos novos a cada ano, e 90% deles são na África. São um a dois milhões de casos na América Latina, com maior frequência na Amazônia, conforme o levantamento das informações discutidas por OLIVEIRA (2002b). Nos dados divulgados pela FUNASA (2002), verificou-se aumento significativo no número de casos, passando-se a registrar patamares de 450 a 500 mil casos anuais no Brasil.

A Conferência Internacional da Malária em 1997, na cidade Dacar, Senegal, recomendou pesquisas sobre novos antimaláricos a partir de plantas. Em 1999, foi criado o RITAM, “Research Initiative for Traditional Antimalarial Systems Methods”, que, em parceria com a “Global Initiative for Traditional Systems (GIFTS) of Health” e WHO’S Tropical Disease Research” (TDR), pretende contribuir, de modo significativo, para o controle dessa enfermidade com medicamentos obtidos a partir de antimalários vegetais com repelentes de insetos e como controle do seu vetor (Willcox e Bodeker, 2000, citados por OLIVEIRA, 2002b).

A flora brasileira destaca-se pela riqueza de recursos vegetais, principalmente de uso terapêutico. O Brasil é rico em conhecimento popular, por causa da miscigenação, sobretudo, na Amazônia, com sua extensa biodiversidade e extensa cultura local (DI STASI, 1994).

Na revisão de OLIVEIRA (2002b) sobre a bibliografia etnomédica brasileira, ele constatou a existência de 196 espécies, distribuídas em 63 famílias botânicas, indicadas no tratamento de febres e malária. Foram indicadas 103 espécies (52,5%) no tratamento contra febres, 56 no tratamento de febre e malária e 37 (18,9%) especificamente como antimaláricas.

Nas áreas endêmicas de malária na Amazônia foram conduzidos estudos das espécies mais adotadas no tratamento da malária e febres (BRANDÃO et al., 1992). Entre as espécies medicinais utilizadas pela população amazônica está a *Bidens pilosa* L., conhecida popularmente como picão-preto, pertencente à família Asteraceae. Esta família é conhecida pela sua capacidade em acumular metabólitos secundários com potencial de atividade biológica, destacando-se os flavonóides, os poliacetilenos, os sesquiterpenos e as cumarinas (BIZÃO, 2002).

As folhas e as raízes de *Bidens pilosa* L. são utilizadas com vários fins medicinais, como digestiva, diurética, antiescorbútica, hipotensiva, antineoplásica, antibiótica, antiinflamatória, hipoglicemiante, imunossupressora e hepatoprotetora no tratamento de hepatite, icterícia. Na Amazônia são usadas no tratamento de complicações hepáticas ocasionadas pela malária (OLIVEIRA, 2001a).

A espécie *Bidens pilosa* L. é uma planta medicinal encontrada com facilidade, pois tem ocorrência espontânea nas regiões tropicais e subtropicais, possui ciclo curto, facilidade na propagação e disseminação, rusticidade, típica de solos ácidos distróficos e ampla atividade medicinal, sendo o objetivo de pesquisa de grande interesse, por trazer benefícios à humanidade.

As plantas medicinais têm seu mecanismo de defesa associado à produção de metabólitos secundários, que são passíveis de quantificação por análises apropriadas. Essas espécies são consideradas pioneiras e adequadas ao estudo da resposta dos vegetais aos preparados homeopáticos. A Homeopatia pode auxiliá-las a encontrar o equilíbrio entre crescimento e defesa, de modo a se desenvolverem harmoniosamente (ANDRADE, 2000).

Segundo HAMLBY (1979), quando o agente medicinal é selecionado, pelo poder de produzir sintomas análogos, a doença artificial semelhante e mais forte é posta em contato e ocupa o lugar da natural e mais fraca, sendo a energia vital direcionada contra essa doença artificial, que, por ter duração mais lenta, logo é sobrepujada pela força vital. A alteração causada pelo agente medicinal é chamada de ação primária e a reação da força vital, ação secundária. A física moderna tem demonstrado que o ser vivo é um campo denso de energia. Qualquer perturbação nesse campo pode suscitar a doença, assim como alguma forma potente de energia pode equilibrá-la (Marks, 1997, citado por ANDRADE, 2000).

Admitindo-se a planta sadia, as manifestações são características de *Bidens pilosa* L. As baixas dinamizações desencadeiam sintomas perceptíveis no físico. À

medida que aumentam as dinamizações, progressivamente a ação da *China* deixa de ser percebida no físico, passando a manifestar-se em outros níveis da planta; daí a resposta no metabolismo primário. Assim, o medicamento *China* foi escolhido com base na “Lei dos Iguais” ou Lei dos Semelhantes. De acordo com VITHOULKAS (1980), esse é um dos fundamentos que sustentam a ciência homeopática: o princípio da similitude. Qualquer substância produzindo sintomas no ser saudável pode curá-los no ser doente. A *China* expressou similaridade com a espécie *Bidens pilosa* L., por ambas serem antimaláricas. Por apresentarem manifestação na produção de princípios ativos, que são quantificáveis por meio de análises, acredita-se que essa e outras plantas medicinais sejam úteis à ciência homeopática vegetal, uma vez que tais substâncias conhecidas atuam, entre outros fatores, na defesa, função relacionada à energia vital. Sabe-se que todo sistema vivo possui um campo elétrico de grande complexidade, sendo possível medi-lo com considerável precisão, podendo-se demonstrar as suas funções básicas correlacionadas com o controle da morfogênese, do crescimento e desenvolvimento, da degeneração e regeneração e da orientação de partes vivas, servindo como matriz elétrica a que mantém a forma corpórea em sua configuração (VITHOULKAS, 1980).

A tecnologia das bioeletrografias auxilia o estudo da energia vital, sendo, assim, possível avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho, determinar níveis de vigor de sementes de milho, dos valores de RGB, obtidas em regiões predeterminadas das bioeletrografias dessas sementes (ROBAINA, 1998). PORTO (1998) verificou que sementes tratadas com água submetida ao campo eletromagnético tiveram maior absorção de quantidade de água (maior intumescimento dos grãos), com aumento na quantidade de sementes germinadas (superior a 80%), tendo o maior crescimento em relação ao lote-padrão. Em plantas medicinais, ANDRADE (2000), CASTRO et al. (2001) e ALMEIDA (2002b) verificaram diferenças entre as bioeletrografias dessas plantas tratadas com preparados homeopáticos. Poucos estudos foram conduzidos com vegetais, porém mostrando que há alterações nos campos eletromagnéticos. Portanto, esta técnica pode se tornar tecnologia com potencial na avaliação dos efeitos dos preparados homeopáticos.

O trabalho objetivou avaliar a resposta a crescentes dinamizações da preparação homeopática de *China*, em *Bidens pilosa* L., expressa no crescimento, na atividade enzimática, na patogênese, na produção de óleos essenciais e de compostos antimaláricos, assim como na análise da bioeletrografia.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Obtenção das plantas**

A propagação de picão-preto (*Bidens pilosa* L.) foi realizada por meio de sementes. Os aquênios foram obtidos em uma planta com boas características fitossanitárias, de ocorrência espontânea na Horta Velha, localizada na área experimental de produção do Departamento de Fitotecnia, Campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

O semeio foi feito no dia 11/06/02, em vasos de polietileno com capacidade para oito litros, recebendo como substrato terra e húmus de minhoca e areia, nas proporções 3:1 e 5:1, respectivamente. Após 13 dias (24/06), foi feito o primeiro desbaste parcial, deixando-se três plantas por vaso, as quais, quando atingiram cerca de 5 cm, sofreram o desbaste definitivo, deixando apenas uma planta por vaso. A identificação botânica da espécie foi confirmada no Herbário VIC do Departamento de Biologia Vegetal da UFV, onde as exsiccatas se encontram sob o número de registro (VIC) 25.308.

### **2.2. Condução do experimento**

O experimento foi conduzido, durante o período de 11/06/02 a 16/08/02, no telado coberto de filme transparente de polietileno de 100 micras resistente a UV e com lateral de sombrite 40% de sombreamento nas dependências do Departamento de Fitotecnia da UFV, em Viçosa, MG, localizada na Zona da Mata, 20° 45' de latitude sul

e 42° 5' de longitude oeste (Anuário Estatístico de Minas Gerais, 1994), na altitude de 651 m.

O clima de Viçosa, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cwa, com umidade relativa do ar de 80%, temperatura média anual de 21 °C e precipitação anual de 1.341 mm.

O experimento foi montado no esquema de parcelas subdivididas, tendo na parcela os tratamentos e, nas subparcelas, as épocas de avaliação. As variáveis avaliadas foram: altura (ALT), número de folhas (NF), número de ramos (NR), número de capítulos (NC), número de cachos (NCACHO), SPAD foliar (SPAD), comprimento do segundo entrenó (EN2), comprimento do terceiro entrenó (EN3), comprimento do quarto entrenó (EN4) e comprimento dos dois primeiros ramos laterais (L1), (L2). O delineamento foi o inteiramente casualizado, com 15 tratamentos e oito repetições, sendo cada parcela constituída de uma planta/vaso, num total de 120 parcelas. Os dados foram interpretados por meio de análises de variância e regressão linear e os modelos, escolhidos com base na significância e nos coeficientes de regressão e determinação, de acordo com a variável avaliada. Foram quantificadas as seguintes variáveis: massas fresca e seca da parte aérea (MPAF, MPAS), massas da raiz fresca e seca (MRF, MRS), massa foliar seca (MFS), massa caulinar seca (MCLS), massa dos capítulos florais secos (MCS), área foliar de folhas trifoliadas (AF3), área foliar de folhas pentafoliadas (AF5), área foliar de folhas simples (AFS), número total de folhas (NFT), área foliar (AF), área foliar média (AFM) e incidência de oídio (OÍDIO). Os dados foram interpretados por meio da análise de variância em DIC, sendo as médias comparadas pelo teste de Dunnett e agrupadas pelo critério de Scott-Knott a 5% de probabilidade, pelo programa SAEG.

Na avaliação do teor de óleo essencial (OLEO) e atividades enzimáticas da peroxidase (PO) e da catalase (CAT), foram utilizadas somente quatro repetições de cada tratamento, totalizando 60 parcelas. Os dados foram interpretados por meio da análise de variância e de regressão linear e as médias, comparadas pelo teste de Dunnett e agrupadas pelo critério de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Avaliou-se o efeito do preparado homeopático *China* em função das dinamizações. Os modelos foram ajustados com base na significância dos coeficientes de regressão e determinação, utilizando-se o teste F no programa SAEG.

Foi adotado o procedimento “duplo-cego” na implementação dos tratamentos, ou seja, durante a experimentação o experimentador e o aplicador desconhecem o

medicamento que está sendo testado. As épocas de avaliação durante os 60 dias de ciclo foram em intervalos de sete dias, a partir de 25 dias após o plantio das mudas e até a avaliação final, com a colheita do experimento. O manuseio de rotação dos vasos foi feito semanalmente, e a distância de um vaso a outro era suficiente, de modo que não houvesse o contato das folhas e ramos entre plantas.

As épocas de avaliação do crescimento foram avaliadas durante 52 dias de ciclo, em intervalos de seis dias, a partir de 32 dias até a colheita, determinando-se: altura das plantas, número de ramos e número de folhas. O número de cachos e capítulos foi avaliado em intervalos de sete dias a partir de 44 dias, quando se iniciou o florescimento. O comprimento do 2<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> entrenós e do 1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> ramos laterais foi avaliado em intervalos de quatro dias a partir do 44<sup>o</sup> dia e o valor de SPAD, em intervalos de quatro dias a partir do 44<sup>o</sup> dia.

A rotação dos vasos foi feita semanalmente sobre as bancadas, mantendo-se suficiente distância de um vaso a outro, de modo que não houvesse o contato de folhas e ramos entre as plantas.

Os tratamentos foram constituídos pela combinação das dinamizações CH2, CH4, CH6, CH8, CH10, CH12, CH14, CH16, CH18, CH20, CH22 e CH24, na escala centesimal hahnemanniana, do medicamento *China*, sendo os controles constituídos de etanol 70%, etanol 70% na dinamização CH3 e água destilada.

Foi preparada a solução contendo 20 gotas de homeopatia diluídas a cada um litro de água aplicado a partir da semeadura, aproximadamente 50 mL em cada vaso (metodologia adaptada de CARVALHO, 2001), vertido sobre o ponto de crescimento da planta, atingindo a ela e o solo. Utilizou-se um recipiente plástico individual com capacidade para 2,5 L, por tratamento, com a ressalva de que antes da aplicação eram feitos movimentos de girar numa direção até criar o vórtice cerca de 10 vezes, a fim de homogeneizar a solução. As aplicações foram realizadas às 7 h da manhã, diariamente, até a colheita.

### **2.3. Obtenção dos preparados homeopáticos**

A partir do medicamento *China* CH2, adquirido em laboratório farmacêutico de homeopatia idôneo, foram preparadas as demais dinamizações no Laboratório de Homeopatia do Departamento de Fitotecnia da UFV.

As preparações foram realizadas de acordo com as instruções contidas na Farmacopéia Homeopática Brasileira (BRASIL, 1977), empregando-se procedimento de acordo com PRADO NETO (1997). Foi respeitada a relação de uma gota da homeopatia por 99 gotas de etanol (escala centesimal) 70% v/v, 2/3 do volume, na escala hanhemanniana (CH). O processo de succussão utilizado foi o dinamizador tipo “braço mecânico”. No preparo da solução CH3 do álcool 70% foi empregado o procedimento citado anteriormente, porém a partir da dinamização CH1 até CH3.

## **2.4. Análise de crescimento e patogenesia**

A colheita das plantas foi realizada em 16/08/2002, no período da manhã. O início da época de colheita ocorreu quando as plantas estavam em pleno florescimento, o que determina o final do desenvolvimento apical, devido ao fato de a gema terminal se transformar em inflorescência.

Com o auxílio de tesoura de poda, as plantas foram cortadas rente ao solo. Na balança semi-analítica, obteve-se a massa, que foi acondicionada em sacos de papel-pardo devidamente identificados e levados ao laboratório.

De cada planta foram tomados os seguintes dados:

### **2.4.1. Altura das plantas (ALT)**

A altura foi obtida com régua graduada em centímetro, tomando-se a medida a partir do nível do solo até a gema apical do ramo principal da planta. A avaliação foi feita de sete em sete dias a partir do 25<sup>o</sup> dia após a emergência.

### **2.4.2. Número de folhas (NF)**

Foram consideradas somente as folhas verdes e as maiores que 1 cm, a partir de 32 dias de idade, em intervalos de seis dias, até a colheita do ensaio.

### **2.4.3. Número de ramos (NR)**

Foram considerados os ramos com comprimento superior ou igual a 2 cm. A época de avaliação deu-se aos 32 dias após a emergência, em intervalos de seis dias, até o momento da colheita.

#### **2.4.4. Massa da parte aérea fresca (MPAF)**

Após 52 dias, quando a planta atingiu o ponto de colheita, determinado a partir dos primeiros aquênios expandidos, a parte aérea (folhas e caule) foi cortada rente ao solo e imediatamente pesada em balança semi-analítica, sendo os valores expressos em gramas (g).

#### **2.4.5. Massa da parte aérea seca (MPAS)**

Em seguida à pesagem da massa da parte aérea fresca, as plantas foram embaladas em saco de papel Kraft, devidamente identificadas e submetidas à secagem, em sala com desumidificador Arsec (com desumidificação de 18 L/dia, capacidade para 280 m<sup>3</sup>, circulação de 600 m<sup>3</sup>/h e 390 Watts), com temperatura aproximadamente entre 17,7 e 22,6 °C, nas dependências do Departamento de Fitotecnia/UFV, até atingir peso constante, sendo, então, pesadas em balança semi-analítica, com valores expressos em gramas (g).

#### **2.4.6. Massa da raiz fresca (MRF)**

Após a avaliação da parte aérea foi feita a lavagem, sobre uma peneira, do sistema radicular com água corrente tratada, para separar o substrato da raiz, sendo as raízes posteriormente colocadas para secar à sombra até sair o excesso de água. Logo em seguida foram pesadas em balança semi-analítica, sendo seus valores expressos em grama. As raízes foram acondicionadas em embalagens de papel Kraft devidamente identificadas e levadas à sala de secagem.

#### **2.4.7. Massa da raiz seca (MRS)**

Em seguida à determinação da pesagem da massa da raiz fresca, esta foi embalada em sacos de papel Kraft devidamente identificados e encaminhada à sala de secagem com desumidificador Arsec (com desumidificação de 18 L/dia, capacidade de 280 m<sup>3</sup>, circulação de 600 m<sup>3</sup>/h, 390 Watts), a uma temperatura de aproximadamente entre 17,7 e 22,6 °C, nas dependências do Grupo Entre Folhas, até peso constante, sendo, então, pesada em balança semi-analítica e seus valores expressos em gramas (g).

#### **2.4.8. Massa foliar seca (MFS), massa caulinar seca (MCLS) e massa dos capítulos florais seca (MCS)**

Em seguida à pesagem da massa da parte aérea seca foi feita a separação das folhas, dos caules e capítulos florais e determinada a massa seca, sendo, então, pesadas em balança semi-analítica, com valores expressos em gramas (g). As folhas, após a pesagem, foram acondicionadas em embalagem de polipropileno de 100 micras resistente a UV, retirando-se todo o ar das embalagens e vedando-as com fita adesiva, devidamente identificadas e levadas à câmara fria a 10 °C, nas dependências do Departamento de Fitotecnia da UFV, até a realização da análise química do óleo essencial. Após a pesagem, o caule e os capítulos florais foram embalados em saco de papel Kraft, devidamente identificados e armazenados em ambiente seco e arejado.

#### **2.4.9. Área foliar de folhas trifoliadas (AF3), área foliar de folhas pentafoliadas (AF5), área foliar de folhas simples (AFS) e área foliar por planta (AF)**

Foi adotado o procedimento descrito por OLIVEIRA (2001a), sendo os dados aplicados à equação ( $Y = a.x$ ), visando obter o fator de correção médio destinado à estimativa da área foliar de cada planta; portanto, em  $Y = a.x$ , em que  $Y =$  área foliar,  $a =$  fator de correção (calculado em cada tipo de folha) e  $x = C$  (comprimento)  $\times$   $L$  (largura).

No cálculo da área foliar de cada tipo de folha e por planta, tomou-se a medida do comprimento e de largura separadamente de folhas pequenas, médias e grandes, assim como o número correspondente a cada dimensão. Com as medidas de comprimento e largura e com o índice de correção, calculou-se a área foliar por tipo e tamanho de folha, que foi multiplicada pelo número de folhas estimando a área foliar por planta, em  $\text{cm}^2$ . A tomada das medidas foi logo após a colheita, sendo o comprimento das folhas considerado a partir da base do pecíolo. A largura foi determinada na porção mais larga da folha simples. Nas folhas tri e pentafoliadas, considerou-se a largura entre as extremidades opostas do segundo folíolo. Os valores de correção foliar foram: a) folhas simples, 0,458044 ( $R^2 = 0,9911$ ); b) trifoliadas, 0,335963 ( $R^2 = 0,9915$ ); e c) pentafoliadas, 0,4860 ( $R^2 = 0,9256$ ), de acordo com OLIVEIRA (2001a).

#### **2.4.10. Número total de folhas (NFT)**

Somou-se o número total de folhas por planta no momento da colheita.

#### **2.4.11. Área foliar média (AFM)**

O cálculo da área foliar média foi pela divisão da área foliar por planta (AF) pelo número total de folhas (NFT) da última época de avaliação.

#### **2.4.12. Número de capítulos (NC)**

Foram computados os capítulos floridos recém-abertos, ao término do ensaio.

#### **2.4.13. Número de cachos (NCACHO)**

Computou-se o número de cachos florais, considerando aqueles com pelo menos um capítulo floral em fase de abertura, no final do ensaio.

#### **2.4.14. O valor do SPAD foliar**

O valor do SPAD (SPAD) correlacionado com a quantidade de clorofila da folha foi determinado pelo aparelho SPAD-502 (Minolta Co. Ltd.), calculando-se a média da leitura de 10 folhas analisadas aleatoriamente por planta, conforme OLIVEIRA (2001a). Esse valor foi determinado em intervalos de cinco dias, a partir de 44 dias de idade, até a colheita.

#### **2.4.15. Incidência de oídio (OÍDIO)**

A avaliação da incidência de oídio foi feita quando apareceram folhas atacadas por esse fungo. Adotou-se a escala de notas de 0 a 3 (0 = ausência de ataque, 1= 4 folhas atacadas, 2 = 5 a 8 folhas atacadas e 3 = mais de 8 folhas atacadas).

#### **2.4.16. Comprimento do segundo entrenó (EN2), terceiro entrenó (EN3) e quarto entrenó (EN4)**

Os comprimentos foram obtidos com régua graduada em centímetro, tomando-se a base do segundo, terceiro e quarto entrenós a partir da gema apical do ramo principal. Foram avaliados em intervalos de quatro dias a partir do 44<sup>o</sup> até a colheita (52 dias).

#### **2.4.17. Comprimento do primeiro (L1) e segundo ramo lateral (L2)**

As medidas de comprimento do 1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> ramos laterais foram obtidas com régua graduada em centímetro, tomadas a partir da base do segundo entrenó da gema apical do ramo principal. Esses ramos foram avaliados em intervalos de quatro dias a partir do 44<sup>o</sup> dia até a colheita (52 dias).

### **2.5. Extração do óleo essencial**

O método de extração do óleo essencial foi o de hidrodestilação por arraste a vapor, em equipamento Clevenger de circuito fechado, no Laboratório de Melhoramento de Hortaliças da Fitotecnia da UFV, seguindo-se recomendações de vários autores (MARTINS, 1996; OLIVEIRA, 1997a; LOPES, 2001; KAMADA, 1998, com adaptações de CASTRO, 2002a).

Antes de realizar as extrações do óleo essencial, procedeu-se aos testes preliminares, com a finalidade de ajustar a metodologia, sendo adotado o melhor tempo de arraste (60 minutos) a partir de 5 g de biomassa seca foliar.

Foram pesados 5 g de biomassa seca foliar, colocados em bolão de fundo redondo de 1.000 mL, com aproximadamente 300 mL de água destilada. O tempo de extração foi de 60 minutos de ebulição, quando, então, o equipamento era desligado. O hidrolato foi recolhido e submetido à separação líquido/líquido, em funil de separação, utilizando-se de 20 mL de pentano, com vistas à retirada do óleo essencial da água. Esse procedimento foi repetido três vezes. Adicionou-se solução saturada de cloreto de sódio uma única vez, com a finalidade de evitar a formação da fase emulsionável entre a fase aquosa e a orgânica. A primeira fase foi descartada e a segunda, recolhida e secada, adicionando-lhe sulfato de magnésio anidro em excesso. Após aproximadamente 90 minutos, o sulfato de magnésio foi removido por filtração e o solvente orgânico, em seguida retirado, utilizando-se evaporador rotativo com ajuste de temperatura entre 35 e

40 °C. Antes da evaporação total do solvente, o conteúdo do balão (óleo essencial diluído em solvente) foi transferido a um recipiente de vidro devidamente pesado e identificado, deixado aberto em temperatura ambiente e recoberto com papel-alumínio até que todo o solvente restante evaporasse. Logo após, realizou-se a pesagem dos vidrinhos contendo óleo essencial, obtendo o peso por diferença. Os valores foram convertidos em miligrama e transformados em porcentagem da massa seca inicial de folhas. Após a pesagem, os recipientes de vidro foram tampados e armazenados em geladeira a 4 °C, ao abrigo da luz.

## **2.6. Determinação da atividade enzimática**

Visando à análise enzimática, foram coletadas amostras de cinco folhas trifoliadas de tamanhos uniformes, cerca de 53 dias após o plantio, na parte mediana da planta. As amostras foram embaladas em papel-alumínio devidamente identificado, imediatamente colocadas em caixa de isopor contendo nitrogênio líquido e conduzidas até o laboratório, sendo posteriormente levado ao “freezer” a 80 °C negativos, ficando armazenado até as análises enzimáticas.

As determinações das atividades enzimáticas da catalase e da peroxidase foram realizadas no Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da UFV.

Foram realizados testes preliminares com o objetivo de ajustar a metodologia conforme MATSUMO e URITANI (1972) e ALLAIN et al. (1974), modificada por NEVES (2003). Em razão do alto teor de compostos fenólicos contidos na planta de *Bidens pilosa* L. foi necessário adicionar 1% PVP (polivinil-pyrrolidone) e 0,1% de bissulfito de sódio, a fim de aumentar a estabilidade das enzimas no tampão de extração.

### **2.6.1. Preparo de reagentes**

#### **2.6.1.1. Tampão fosfato de extração**

Pesaram-se 13,609 g de fosfato de potássio dibásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0,1 M, que foram adicionados a um béquer contendo água destilada, para homogeneização. Em seguida, a solução foi levada ao agitador, solubilizada e transferida ao balão volumétrico de 1 L, completando-o com água destilada. Em seguida, repetiu-se o procedimento anterior, porém foram pesados 17,418 g de fosfato de potássio monobásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) 0,1 M, adicionados em outro balão volumétrico, completando-o com água destilada até o

volume de 1 L. Colocou-se o béquer sobre um agitador em pHmetro, sendo este anteriormente calibrado. Sobre o béquer, adicionou-se o fosfato de potássio monobásico, em seguida ao dibásico, até atingir pH = 6,8. Pronta a solução-tampão fosfato de extração a pH=6,8, adicionaram-se 0,1% de bissulfito de sódio e 1% PVP (polivinil-pyrrolidone), dissolvido e transferido para frasco âmbar devidamente etiquetado e armazenado em geladeira a 4 °C.

#### **2.6.1.2. Tampão fosfato de potássio de reação**

Adotou-se o mesmo procedimento da preparação do tampão anterior, porém não adicionando 0,1% de bissulfito de sódio nem 1% de PVP.

#### **2.6.1.3. Preparo da solução de permanganato de potássio**

Pesaram-se 3,1608 g de permanganato de potássio (KMnO<sub>4</sub>), na concentração de 0,01 N, adicionados em um béquer, dissolvidos em água destilada e levados ao agitador até obter solução homogênea. Novamente transferida ao balão volumétrico e completado o volume de 2 L com água destilada, a solução foi transferida a um frasco âmbar e acondicionado em geladeira.

#### **2.6.1.4. Preparo do ácido sulfúrico 0,9%**

Em balão volumétrico de 2 L, com água destilada, foram adicionados 41,67 mL de ácido sulfúrico P.A. (95-97%), lentamente. Depois de diluído e aferido o volume de 2 L, a solução foi transferida ao recipiente âmbar com tampa e armazenada em temperatura ambiente.

#### **2.6.1.5. Preparo do reagente de Bradford**

De acordo com o método descrito por BRADFORD (1976), pesaram-se 100 mg de Brilliant Blue, que foram transferidos a um béquer, aos quais se adicionaram 50 ml de etanol (95%), após o que a solução foi levada ao agitador até ser totalmente diluída. Em seguida foram adicionados à solução 100 mL de ácido fosfórico (85%), completou-se o volume de 1 L com água destilada e novamente levou-a ao agitador. Após diluída a solução de coloração azul intensa, ela foi, então, filtrada em três camadas de papel

Germitest. A mistura de azul passou ao tom marrom e foi transferida ao frasco com tampa envolvida com papel-alumínio etiquetado e armazenado em geladeira a 4 °C.

### **2.6.2. Extração das enzimas**

As amostras foram retiradas do “freezer” (-80 °C) e transferidas ao recipiente contendo nitrogênio líquido. As amostras, uma a uma, foram colocadas em almofariz de porcelana devidamente congeladas, trituradas e reduzidas a pó. Em seguida, o pó era pesado em balança analítica com três dígitos, sendo a quantidade de 0,5 g embalada em papel-alumínio etiquetada e transferida para uma caixa de isopor contendo nitrogênio líquido. As amostras foram separadas por repetição e armazenadas no “freezer” (-80 °C) até a realização da análise de atividade das enzimas catalase e peroxidase.

### **2.6.3. Atividade da catalase**

A determinação da atividade enzimática da catalase foi feita em quatro etapas: extração do extrato enzimático, centrifugação, titulação e leitura no espectrofotômetro e comprimento de onda  $\lambda = 595 \text{ nm}$ .

#### **2.6.3.1. Extração do extrato enzimático**

As amostras foram devidamente pesadas com 0,5 g e trituradas em almofariz de porcelana contendo 5 mL de tampão fosfato de potássio de extração pH = 6,8, 0,1 M, homogeneizadas e transferidas a tubos Eppendorf de plástico e centrifugadas em centrífuga modelo 3415 C Eppendorf, durante 30 minutos, a  $14.000 \text{ rpm} \cdot \text{min}^{-1}$  e 4 °C. Depois de centrifugado, o sobrenadante foi utilizado como fonte de enzima. Todas as operações foram realizadas entre 0 e 4 °C.

O sistema de reação foi o método descrito por ALLAIN et al. (1974), adaptado a *Bidens pilosa* L. Foi retirada a alíquota de 2,39 mL do sobrenadante contendo enzima, transferida ao tubo de ensaio e em outro tubo contendo 2,5 mL da solução-tampão com fosfato de potássio de reação, adicionando-se 110 µL de água oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Na prova em branco, usaram-se o reagente e a água destilada (contraprova do extrato enzimático). Os tubos foram colocados no suporte e em banho-maria a 25 °C com agitação, durante 10 minutos, até atingirem a temperatura ambiente. Em seguida, o tubo contendo tampão fosfato + água oxigenada foi transferido a outro com as enzimas; o

controle-padrão (branco) continha apenas água destilada. Foi deixado reagir por cinco minutos, e logo em seguida a reação foi interrompida com 10 mL de solução de ácido sulfúrico 0,9%, retirado do banho-maria e, posteriormente, efetuada a titulação.

### **2.6.3.2. Titulação com permanganato de potássio**

Uma bureta de 25 mL foi preenchida com solução de permanganato de potássio (0,01 N) e aferida até o zero.

A mistura contida no tubo de ensaio foi transferida do frasco de erlenmeyer para a titulação. O ponto de virada foi registrado quando a mistura passava de incolor ao tom róseo; anotava-se o volume consumido e repetia-se o procedimento de cada amostra.

### **2.6.3.3. Leitura no espectrofotômetro**

Foi feito o teste preliminar de ajuste à metodologia visando à calibração da curva-padrão de absorvância. Utilizaram-se quantidades conhecidas de soro albumina bovina (BSA), a fim de ajustar os pontos de absorvância em função das crescentes concentrações da enzima no comprimento de onda de 595 nm.

A determinação de proteínas solúveis totais foi realizada de acordo com BRADFORD (1976), no procedimento descrito a seguir:

No tubo de ensaio foram adicionados 1 ml de solução de Bradford, 90 µL de água destilada e 10 µL de extrato centrifugado; levou-se essa solução ao agitador e a deixou reagir por 10 minutos. Na prova em branco, utilizaram-se o reagente e água no lugar da fonte de enzima, transferindo-os, logo em seguida, à cubeta onde seria realizada a leitura em espectrofotômetro, modelo UV 160 1PC Shimadzu, no comprimento de onda de 595 nm.

A velocidade da atividade enzimática de reação da catalase foi expressa em 1 µmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> consumido/minuto/mg de proteína.

### **2.6.4. Determinação da atividade enzimática da peroxidase**

A determinação da atividade enzimática da peroxidase foi feita segundo o método descrito por MATSUNO e URITANI (1972), ALLAIN et al. (1974) e WISSEMANN e LEE (1980), modificado por NEVES (2003). O procedimento de

extração do centrifugado contendo enzimas foi o mesmo adotado na determinação da atividade enzimática da catalase.

#### **2.6.4.1. Sistema de reação**

Na cubeta, adicionaram-se 1,5 ml de tampão fosfato de potássio pH 6,8 0,2 M + 30  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; 1,3  $\mu\text{L}$  de guaiacol 0,56%, como substrato; e, por último, o sobrenadante contendo enzimas. Então, imediatamente foi feita a leitura no espectrofotômetro a 470 nm.

A determinação de proteínas solúveis totais foi realizada de acordo com o método de BRADFORD (1976), já descrito na atividade enzimática da catalase. No cálculo da determinação da atividade enzimática da peroxidase, os dados foram expressos em unidade de absorvância (UA).min.<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> de proteína.

### **2.7. Análise do sistema radicular**

#### **2.7.1. Moagem e acondicionamento**

Determinada a pesagem da biomassa seca, as raízes foram reduzidas a pó, em moinho Marconi, modelo TE 048. As amostras foram acondicionadas em sacos de polipropileno de 100 micras resistentes a UV, retirando-se todo o ar vedado com fita adesiva devidamente identificada e mantendo-as protegidas da luz direta.

##### **2.7.1.1. Separação dos extratos de raízes**

As amostras moídas foram submetidas à extração por percolação a frio até a exaustão com etanol P.A. 80% (OLIVEIRA, 2002b). As amostras foram colocadas em funil de separação, que estava vedado com um chumaço de algodão com espessura de cerca de 4 cm, sobre o qual foram adicionados a amostra moída e 100 mL de etanol P.A. 80%. Esse procedimento de adição do etanol foi repetido cinco vezes seguidas, e os líquidos foram coletados após 24 horas de maceração, no período da manhã, e acondicionados em vidro âmbar até quando se deu a exaustão da percolação encerrada no quinto dia. O líquido obtido da percolação foi coletado e, posteriormente, evaporado à temperatura de 48 °C, em evaporador rotativo, até ser reduzido a cerca de 20 mL. Os extratos brutos etanólicos das raízes de *Bidens pilosa* L. foram levados ao Laboratório

de Farmacologia (UFMG – Belo Horizonte), onde foram realizadas análises de cromatografia em camada delgada, visando à determinação de flavonóides e acetilenos.

## **2.7.2. Análises cromatográficas**

### **2.7.2.1. Cromatografia de camada delgada (CCD)**

Esta cromatografia foi realizada no Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG – Belo Horizonte). A metodologia adotada foi a de OLIVEIRA (2002b).

A técnica de cromatografia em camada delgada consiste na separação dos compostos da mistura por meio da migração diferencial sobre a camada delgada de adsorvente; no caso, utilizou-se sílica-gel 60 FS54 (Merk, Ref. 105721) sobre placas de vidro.

A aplicação direta dos extratos nas placas não conduziu à visualização dos compostos presentes nos extratos etanólicos brutos de raízes de *Bidens pilosa* L. Assim, foram necessários ajustes, de forma a obter as substâncias de baixa polaridade mais concentradas, tanto na determinação de acetilenos quanto de flavonóides. Após a evaporação do solvente, detectou-se o resíduo de coloração amarelo-intensa e com formação de precipitado.

### **2.7.2.2. Determinação da presença de flavonóides por CCD**

Na separação e identificação das substâncias fenólicas, inclusive os flavonóides, foi utilizado o sistema de solventes constituído de mistura de acetato de etila ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26) (Wagner e Bladt, 1996, citados por OLIVEIRA, 2002b). Os compostos foram revelados com cloreto de alumínio 10% em etanol, seguidos de visualização no UV 365, considerando-se a presença da classe de substância pelo aparecimento de manchas amarelas a laranjas, semelhantes à coloração representada pela rutina, substância utilizada como padrão de referência.

### **2.7.2.3. Determinação da presença de acetilenos por CCD**

Na obtenção de fração rica em substâncias de baixa polaridade, incluindo os acetilenos, 1 mL de cada amostra de extratos etanólicos brutos de raízes de *Bidens*

*pilosa* L. foi transferido ao funil de separação e extraído com 1 mL de diclorometano. A fração diclorometânica foi concentrada e aplicada diretamente nas placas recobertas de sílica-gel.

Na separação e identificação dos acetilenos foi utilizado o sistema de solventes de eluição composto por: diclorometano: acetona (9:1). As placas foram reveladas com reagentes constituídos de solução de vanilina 1% e ácido sulfúrico 10% em etanol, seguido de aquecimento com turbina (BRANDÃO et al., 1997). A presença de acetileno foi confirmada pelo aparecimento de manchas ou bandas marrons, que são perceptíveis no espectro visível.

## **2.8. Análise da bioeletrografia**

Na análise da bioeletrografia das plantas, utilizou-se a máquina fotográfica Kirlian modelo 6SL-I, padrão Newton Milhomens, com filme fotográfico Fuji Color ISO 100, de 36 poses. As fotos foram analisadas visualmente, comparando-se as imagens daquelas batidas dos controles e das plantas tratadas com as dinamizações crescentes de *China*, procurando-se verificar os padrões de imagens e de cores.

As bioeletrografias foram obtidas de folhas simples de cerca de 1 cm de comprimento, que foram bioeletrografadas em câmara escura, imediatamente após a sua retirada das plantas, sendo bioeletrografadas cinco repetições por tratamento. As imagens foram geradas pelo contato com o objeto, neste caso uma folha, bioeletrografada com a superfície do filme fotográfico. As bioeletrografias foram reveladas em equipamentos comerciais de revelação de fotos coloridas, sendo estes ajustados adequadamente.

### **2.8.1. Análise visual**

Após a revelação, as bioeletrografias foram agrupadas de acordo com os tratamentos recebidos pelas plantas de *Bidens pilosa* L. A análise foi feita observando o aspecto geral das imagens, comparando-as e determinando as características marcantes que cada dinamização de *China* causou sobre o campo eletromagnético das plantas. Consideram-se válidas as observações presentes em pelo menos três ou cinco repetições.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Análise do crescimento e da patogenesia

O resumo da análise de variância das variáveis de crescimento determinadas logo após a colheita encontra-se no Quadro 1. Não foram constatadas diferenças estatísticas em função dos tratamentos, portanto não sendo influenciadas pelas crescentes dinamizações do preparado homeopático *China*, exceto a variável número de ramos, que foi significativa a 1% de probabilidade. No Quadro 2, observam-se os grupos médios distintos dessas variáveis, e observa-se que a aplicação de *China* em crescentes dinamizações influencia a produção de ramos e massa da parte aérea fresca, pelo critério de Scott-Knott. Os tratamentos que receberam *China* nas dinamizações CH2, CH4, CH8, CH16 e CH24 foram agrupados em maior produção de ramos em relação aos demais tratamentos, enquanto na variável massa da parte aérea fresca os tratamentos que proporcionaram maior produção foram CH24 e o controle etanol CH3 e, menor produção, CH12, CH14, CH18 e o controle água destilada

O resumo da análise de variância dos parâmetros de crescimento altura (ALT) e número de folhas (NF) encontra-se no Quadro 3, não sendo constatado diferença significativa entre os tratamentos. Não houve influência das crescentes dinamizações de *China*, porém ocorreu diferença significativa na interação época x tratamento. Observa-se, nesse quadro, aumento linear na altura e no número de folhas em função das épocas de avaliação e da equação de regressão ajustada (Figuras 1 a 3). Resultados semelhantes foram encontrados por ANDRADE (2002) em plantas de chambá (*Justicia pectoralis*)

Quadro 1 – Resumo da análise de variância das variáveis altura (ALT), número de folhas (NF), número de ramos (NR), massa da parte aérea fresca (MPAF), massa da parte aérea seca (MPAS), massa da raiz fresca (MRF), massa da raiz seca (MRS), massa foliar seca (MFS), massa caulinar seca (MCLS) e massa dos capítulos seca (MCS) de picão-preto (*Bidens pilosa* L.) colhido no ensaio do período de junho a agosto de 2002, realizado em Viçosa, MG

F.V	GL	Quadrados Médios									
		ALT	NF	NR	MFPA	MSPA	MFR	MSR	MSF	MSCL	MSC
Trat.	14	14,1305 ns	906,2656 ns	306,062**	261,0857 ns	7,9877 ns	60,3235ns	0,3269 ns	2,0995 ns	2,9439 ns	0,3610 ns
Resíduo	105	43,9374	643,4119	48,2679	1619,155	23,6222	96,5908	0,5193	3,5079	9,0953	0,3074
CV		10,38	16,05	20,08	21,22	20,17	24,85	16,85	19,41	22,95	42,61

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

\*\* F significativo a 1% de probabilidade.

Quadro 2 – Valores médios das variáveis altura (ALT), número de folhas (NF), número de ramos (NR), massa da parte aérea fresca (MPAF), massa da parte aérea seca (MPAS), massa da raiz fresca (MRF), massa da raiz seca (MRS), massa foliar seca (MFS), massa caulinar seca (MCLS) e massa dos capítulos seca (MCS) de *Bidens pilosa* L., em função dos tratamentos, obtidas no final da colheita. As plantas foram tratadas com o preparado homeopático, em escala centesimal, *China*, em dinamizações alternadas de CH2 até CH24 e os respectivos coeficientes de variação

Tratamentos	ALT (cm)	NF	NR	MFPA (g/planta)	MSPA (g/planta)	MFR (g/planta)	MSR (g/planta)	MSF (g/planta)	MSCL (g/planta)	MSC (g/planta)
CH2	62,08 a	162,0 a	42,62 a	188,37 c	23,20 a	42,01 a	4,24 a	9,35 a	12,71 a	1,13 a
CH4	63,27 a	165,12 a	42,37 a	192,56 b	25,36 a	40,75 a	4,16 a	10,19 a	13,65 a	1,52 a
CH6	65,30 a	142,25 a	28,75 b	193,87 b	23,04 a	35,15 a	3,92 a	9,38 a	12,44 a	1,22 a
CH8	66,07 a	170,25 a	40,12 a	188,18 c	24,76 a	40,36 a	4,25 a	9,01 a	13,97 a	1,77 a
CH10	65,06 a	162,37 a	33,00 b	189,81 c	24,94 a	41,11 a	4,46 a	9,74 a	13,59 a	1,61 a
CH12	62,26 a	138,25 a	28,75 b	181,12 d	23,47 a	41,12 a	4,41 a	8,90 a	13,13 a	1,43 a
CH14	64,32 a	151,50 a	29,87 b	180,62 d	23,31 a	36,08 a	4,20 a	9,48 a	12,49 a	1,33 a
CH16	64,50 a	170,00 a	45,87 a	189,18 c	24,66 a	38,99 a	4,42 a	9,95 a	13,34 a	1,36 a
CH18	62,57 a	163,50 a	31,12 b	184,43 d	23,76 a	43,15 a	4,40 a	9,43 a	13,29 a	1,04 a
CH 20	64,80 a	160,62 a	30,25 b	188,37 c	23,65 a	37,58 a	4,38 a	9,42 a	12,92 a	1,31 a
CH22	63,61 a	156,50 a	32,75 b	192,62 b	25,45 a	40,57 a	4,56 a	10,19 a	14,11 a	1,14 a
CH24	63,78 a	158,37 a	42,75 a	198,00 a	24,02 a	39,54 a	4,32 a	10,20 a	12,72 a	1,09 a
Etanol (70%) CH3 (Controle)	65,53 a	165,62 a	30,50 b	200,75 a	24,51 a	42,36 a	4,43 a	10,22 a	12,99 a	1,29 a
Etanol (70%) (Controle)	62,16 a	165,25 a	30,75 b	192,68 b	25,20 a	40,75 a	4,1138 a	10,38 a	13,70 a	1,12 a
Água destilada (Controle)	62,70 a	138,62 a	29,37 b	183,93 d	21,99 a	33,75 a	3,8437 a	8,89 a	11,99 a	1,11 a
CV (%)	10,38	16,05	20,08	21,22	20,17	24,85	16,85	19,41	22,95	42,61

Os grupos médios seguidos de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo critério de Scott-Knott.

Quadro 3 – Resumo da análise de variância das médias altura de plantas (ALT), número de folhas (NF) e número de ramos (NR) de *Bidens pilosa* L., em função das épocas de avaliação, obtidas em intervalos de sete dias até a colheita

FV	GL	Quadrados Médios	
		ALT	NF
Tratamento	14	77,9356 ns	916,8878 ns
Resíduo (a)	105	78,6671	936,2184
Época	3	66.790,27**	354.475,6**
Trat. x Época	42	25,5910 ns	223,3295 ns
Resíduo (b)	315	20,1800	230,9097
CV (%)		13,23	15,15

\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.  
ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

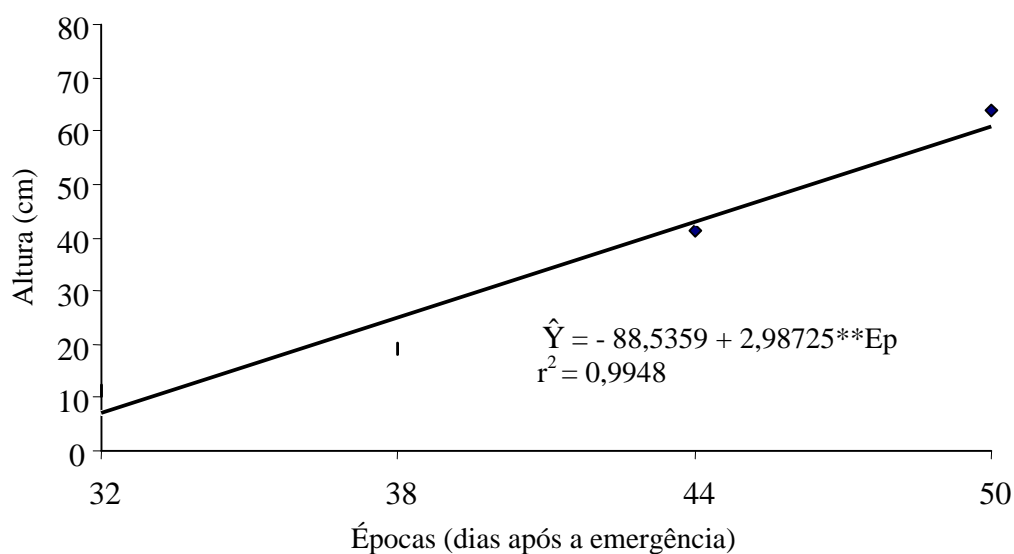


Figura 1 – Estimativa da altura, em função da época, em plantas de *Bidens pilosa* L. tratadas com crescentes dinamizações de *China*.

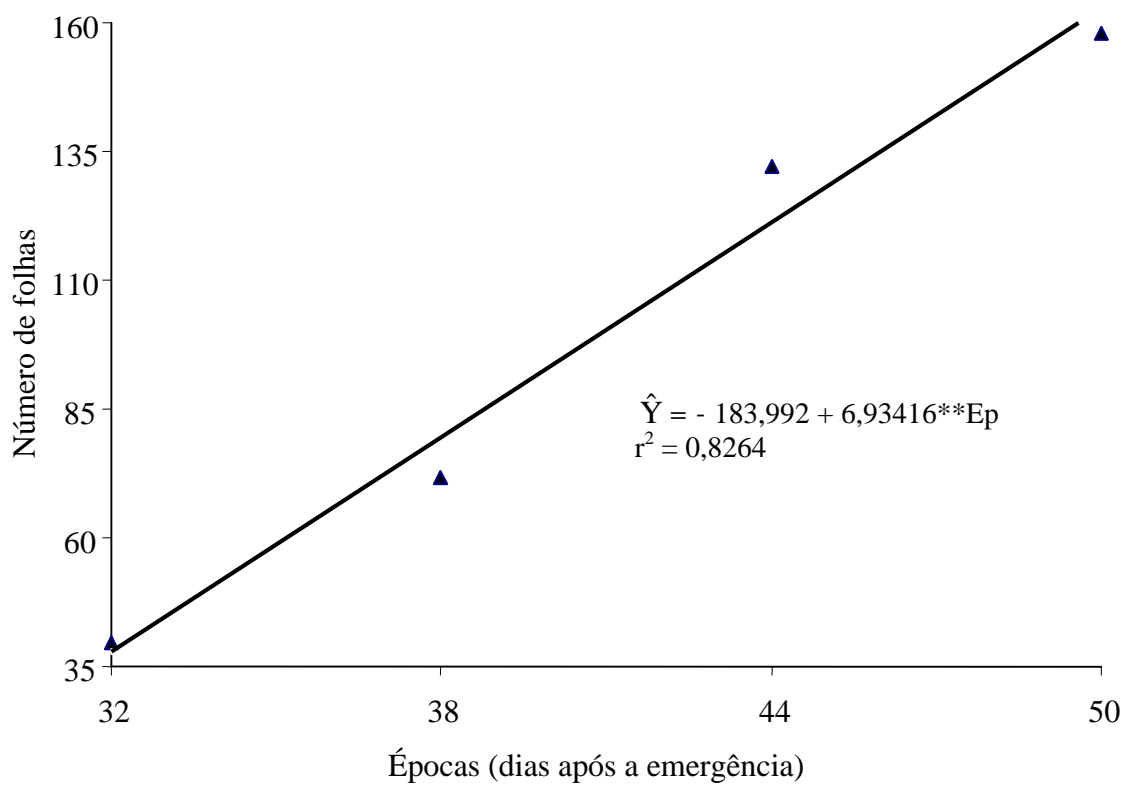
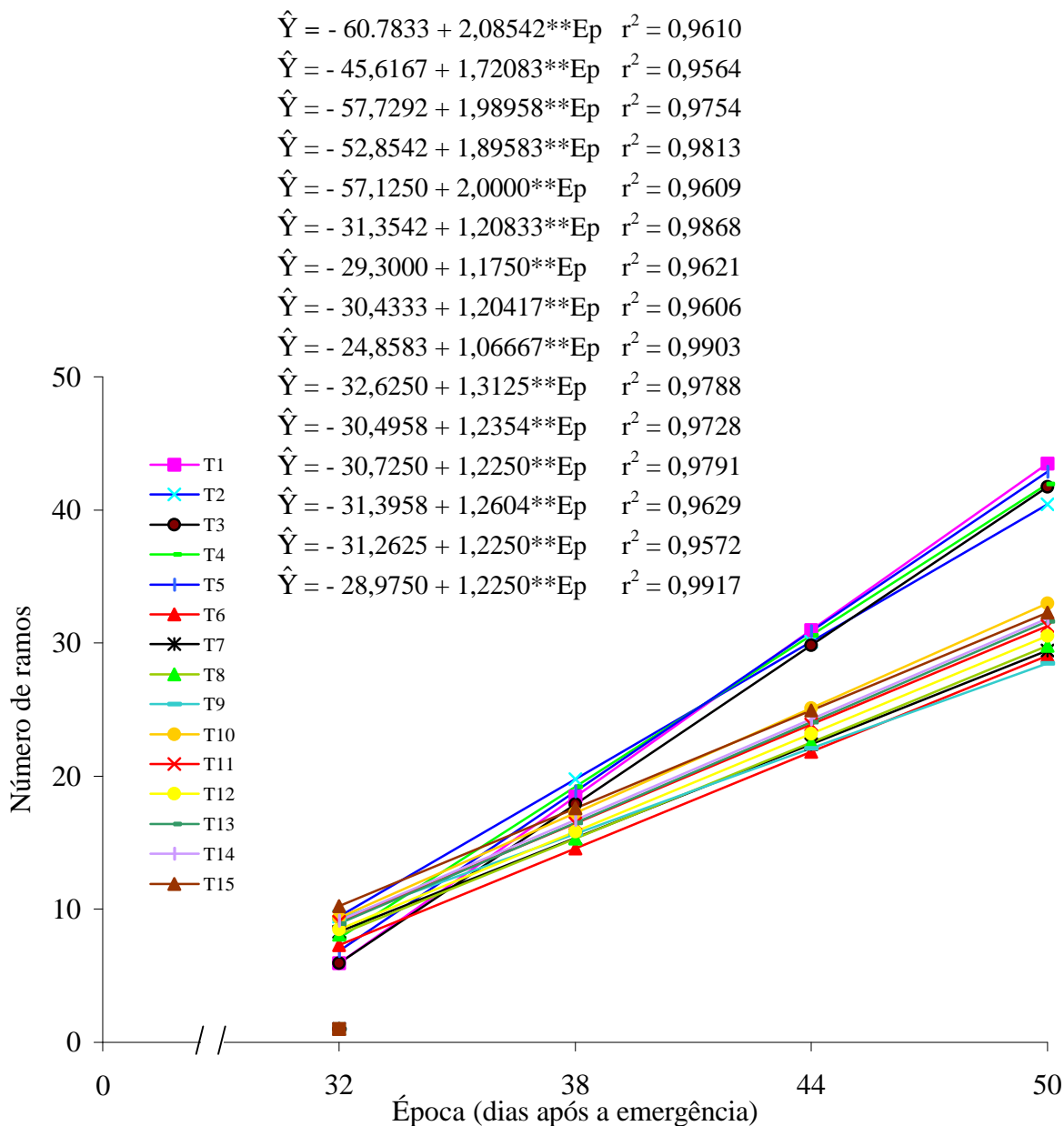


Figura 2 – Estimativa do número de folhas, em função das épocas, tratadas com dinamizações crescentes de *China*, durante o crescimento e desenvolvimento de *Bidens pilosa* L.



\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F

Figura 3 – Estimativa do número de ramos, em função das épocas, tratados com crescentes dinamizações de *China*, em escala centesimal, em *Bidens pilosa* L.

quando submetidas a preparados homeopáticos. Segundo essa mesma autora, os preparados homeopáticos auxiliam a retomada do equilíbrio. Pode-se inferir que a não-interferência dos tratamentos no crescimento das plantas parece estar relacionada ao equilíbrio natural da planta com relação às características avaliadas, uma vez que não se detectou patogênese.

CARVALHO (2001), estudando o efeito de *Arnica montana*, na escala centesimal, sobre plantas de *Tanacetum parthenium*, verificou que a aplicação da homeopatia também não afetou a altura das plantas e o número de folhas.

No Quadro 4, *China* CH2, CH4, CH8 e CH24 causou efeito significativo no número médio de ramos, em comparação com o controle-padrão água destilada, pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Quadro 4 – Valores médios do número de ramos de *Bidens pilosa* L., em função das crescentes dinamizações de *China*, na escala centesimal, comparando-se ao controle-padrão água destilada

Tratamentos	Número de Ramos
CH2	42,62*
CH4	42,37*
CH6	28,75
CH8	40,12*
CH10	33,00
CH12	28,75
CH14	29,87
CH16	45,87*
CH18	31,12
CH20	30,25
CH22	32,75
CH24	42,75*
Etanol 70% CH3	30,50
Etanol 70%	30,75
Água destilada (controle-padrão)	<b>29,37</b>

CV (%)	20,08
--------	-------

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Dunnett.

O resumo da análise de variância das variáveis de crescimento, determinada na colheita das plantas, encontra-se no Quadro 5. Não se constataram diferenças estatísticas entre os tratamentos, exceto na variável área foliar de folhas pentafoliadas (AF5), no entanto não se verificou diferença significativa, em comparação com a área foliar por planta. Os grupos médios distintos correspondentes às variáveis do quadro cinco encontram-se no Quadro 6, no qual se observa que *China* CH6, CH14, CH16, CH20 e CH22 e o controle etanol 70% causaram maior AF5 pelo critério de Scott-Knott. No Quadro 7, verifica-se que *China* CH6, CH16 e CH20 proporcionou maior AF5 pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, quando comparada com o controle-padrão água destilada. Já a variável área foliar de folhas simples (AFS), as dinamizações de *China* CH2, CH8, CH18, CH20 e CH24 e os controle etanol 70% e etanol 70% CH3 tiveram maior AFS, conforme o teste de médias. No entanto, na área foliar por planta (AF) não foi verificado diferença estatística entre as médias.

No Quadro 8, *China* CH8 causou aumento na produção de capítulos florais, em comparação com o controle-padrão etanol 70%, pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

O resumo da análise de variância da variável valor de SPAD foliar em função das épocas encontra-se no Quadro 9, no qual se observa somente aumento linear conforme o tempo, porém não houve diferença significativa entre os tratamentos. No Quadro 10, verifica-se a equação de regressão ajustada à variável valor de SPAD foliar em função das épocas. No Quadro 11, observa-se o resumo da análise de variância do comprimento do 2º (EN2), 3º (EN3) e 4º entrenós (EN4) e do comprimento do 1º ramo lateral (L1) e do 2º ramo lateral (L2). Não foram detectadas diferenças estatísticas entre os tratamentos, as quais não foram influenciadas pela crescente dinamização da *China*, porém houve aumento linear dos ramos em função das épocas de desenvolvimento (Figuras 4, 5, 6 e 7).

### **3.2. Análise do óleo essencial e atividade enzimática da peroxidase (PO) e catalase (CAT)**

O resumo da análise de variância das variáveis teor de óleo (ÓLEO), atividade enzimática de peroxidase (PO) e catalase (CAT) encontra-se nos Quadros 13 e 14,

respectivamente, não se constatando diferenças estatísticas entre os tratamentos. A equação de regressão ajustada à variável peroxidase está representada no Quadro 15.

Quadro 5 –Resumo da análise de variância das variáveis área foliar de folhas trifoliadas (AF3), área foliar de folhas pentafoliadas (AF5), área foliar de folhas simples (AFS), área foliar (AF), número total de folhas (NFT), área média foliar (AMF), número de capítulos em floração (NC), número de cachos (NCACHO), valor de SPAD foliar (SPAD) e incidência de oídio (OÍDIO) em picão-preto (*Bidens pilosa* L.), obtida no ensaio realizado no período de junho a agosto de 2002, em função dos tratamentos em que as plantas foram tratadas com preparado homeopático, na escala centesimal, *China* em crescentes dinamizações

F.V	GL	Quadrados Médios									
		AF3	AF5	AFS	AF	NFT	AMF	NC	NCACHO	SPAD	OÍDIO
Trat.	14	3.205.182 ns	786.782,6**	270.013,0 **	4.154.889 ns	1.821,813 ns	69,9291 ns	9,2583 ns	30,3155 ns	4,6631 ns	0,569 ns
Resíduo	105	1.762.567	223.099,3	113.032,0	2.537.452	1.362,748	91,7402	7,2226	34,3655	4,5583	0,8524
CV (%)		35,25	65,43	38,87	29,82	24,55	26,59	65,68	36,73	4,86	47,75

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

\*\* F significativo a 1% de probabilidade.

Quadro 6 – Valores médios das variáveis área foliar de folhas trifoliadas (AF3), área foliar de folhas pentafoliadas (AF5), área foliar de folhas simples (AFS), área foliar por planta (AF), número total de folhas (NFT), área média foliar (AMF), número de capítulos em floração, número de cachos (NCACHO), valor de SPAD foliar (SPAD) e incidência de oídio (OÍDIO) de picão-preto (*Bidens pilosa* L.), obtida na colheita do ensaio realizado no período de junho a agosto de 2002, em função dos tratamentos em que as plantas foram tratadas com preparado homeopático *China*, em dinamizações alternadas de CH2 a CH24 e respectivos coeficientes de variação

Tratamentos	AF3 (cm <sup>2</sup> /planta)	AF5 (cm <sup>2</sup> /planta)	AFS (cm <sup>2</sup> /planta)	AF (cm <sup>2</sup> /planta)	NFT (cm <sup>2</sup> /planta)	AMF (cm <sup>2</sup> /planta)	NC	NCACHO	SPAD	OÍDIO
CH2	2.990,57 a	582,48 b	964,06 a	4.537,13 a	144,37 a	31,33 a	3,75 a	16,75 a	43,50 a	2,00 a
CH4	5.233,88 a	394,92 b	799,15 b	6.389,43 a	161,37 a	38,95 a	4,87 a	17,62 a	44,40 a	2,37 a
CH6	3.531,15 a	1.158,39 a	672,33 b	5.227,23 a	136,37 a	38,75 a	3,00 a	14,25 a	43,71 a	1,50 a
CH8	3.627,25 a	556,97 b	924,58 a	5.108,81 a	149,62 a	35,27 a	6,87 a	20,62 a	43,53 a	2,00 a
CH10	3.191,32 a	606,80 b	836,93 b	5.365,42 a	185,25 a	31,91 a	5,50 a	17,00 a	44,27 a	1,87 a
CH12	2.976,57 a	380,70 b	683,88 b	3.997,24 a	126,12 a	32,20 a	4,37 a	16,37 a	43,60 a	2,00 a
CH14	3.782,10 a	826,75 a	826,12 b	5.434,99 a	143,25 a	38,55 a	4,25 a	15,37 a	44,02 a	1,87 a
CH16	4.579,11 a	1.303,17 a	789,80 b	6.511,30 a	170,00 a	38,38 a	4,00 a	16,87 a	44,38 a	1,75 a
CH18	3.086,46 a	611,82 b	901,44 a	4.599,73 a	143,37 a	32,61 a	3,25 a	12,50 a	43,95 a	2,25 a
CH20	3.931,63 a	1.171,97 a	1.009,43 a	6.113,03 a	155,37 a	39,64 a	4,50 a	14,00 a	45,17 a	2,37 a
CH22	3.613,56 a	938,78 a	573,50 b	4.982,08 a	141,87 a	35,84 a	3,50 a	14,75 a	42,80 a	1,62 a
CH24	4.406,57 a	345,46 b	1.010,21 a	5.685,04 a	150,37 a	38,21 a	3,37 a	16,62 a	44,15 a	1,62 a
Etanol (70%) CH3 (Controle)	4.213,66 a	583,42 b	903,30 a	5.631,34 a	159,00 a	35,29 a	3,75 a	16,12 a	43,37 a	1,87 a
Etanol (70%) (Controle)	3.776,06 a	887,40 a	1.346,42 a	5.902,52 a	151,00 a	39,07 a	2,50 a	16,62 a	42,57 a	1,75 a
Água destilada (Controle)	3.468,49 a	434,29 b	744,06 b	4.646,85 a	137,50 a	34,27 a	3,87 a	13,87 a	45,37 a	2,12 a
CV (%)	35,25	65,43	38,87	29,82	24,55	26,59	65,68	36,73	4,86	47,75

Os grupos médios seguidos de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo critério de Scott-Knott.

Quadro 7 – Valores médios da área foliar das folhas pentafoliadas (AF5) de *Bidens pilosa* L. em função das crescentes dinamizações de *China*, em comparação com o controle-padrão água destilada

Tratamentos	AF5
CH2	582,48
CH4	394,92
CH6	1.158,39*
CH8	556,97
CH10	606,80
CH12	380,70
CH14	826,75
CH16	1.303,17*
CH18	611,82
CH20	1.171,97 *
CH22	938,78
CH24	345,46
Etanol 70% CH3	583,42
Etanol 70%	887,40
Água destilada (controle-padrão)	<b>434,29</b>
CV (%)	65,43

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Dunnett.

Quadro 8 – Valores médios do número de capítulos florais (NC) de *Bidens pilosa* L. em função das crescentes dinamizações de *China*, na escala centesimal, em comparação com o controle-padrão etanol 70%

Tratamentos	NC
CH2	3,75
CH4	4,87
CH6	3,00
CH8	6,87*
CH10	5,50
CH12	4,37
CH14	4,25
CH16	4,00
CH18	3,25
CH20	4,50
CH22	3,50
CH24	3,37
Água destilada	3,87
Etanol 70% CH3	3,75
Etanol 70% (controle-padrão)	<b>2,50</b>
CV (%)	65,68

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Dunnett.

Quadro 9 – Resumo da análise de variância dos valores de SPAD foliar (SPAD) de *Bidens pilosa* L., em função das épocas de avaliação, durante o desenvolvimento das plantas até a colheita

FV	GL	Quadrados Médios
		SPAD
Tratamentos	14	13,2039 ns
Resíduo (a)	105	11,1990
Época	2	308,3860**
Trat. x Época	28	7,2143 ns
Resíduo (b)	210	7,8397
CV (%)		6,58

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 10 – Equações de regressão ajustadas à variável valor de SPAD foliar em função das épocas avaliadas, durante o desenvolvimento das plantas de *Bidens pilosa* L., tratadas com crescentes dinamizações de *China*, em escala centesimal

Variável	Equações de Regressão	r <sup>2</sup>
SPAD	$\hat{Y} = 27,1023 + 0,314750^{**}Ep$	0,9673

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 11 – Resumo da análise de variância das médias número de folhas (NF) e número de ramos de *Bidens pilosa* L., em função das épocas, em intervalos de sete dias

FV	GL	Quadrados Médios	
		NC	NCACHO
Tratamento	14	7,8524 ns	25,1684 ns
Resíduo (a)	105	5,5815	29,8607
Época	1	4,0916**	15,9583**
Trat. x Época	14	2,9238 ns	10,5434 ns
Resíduo (b)	105	2,8149	12,5845
CV (%)		69,30	33,41

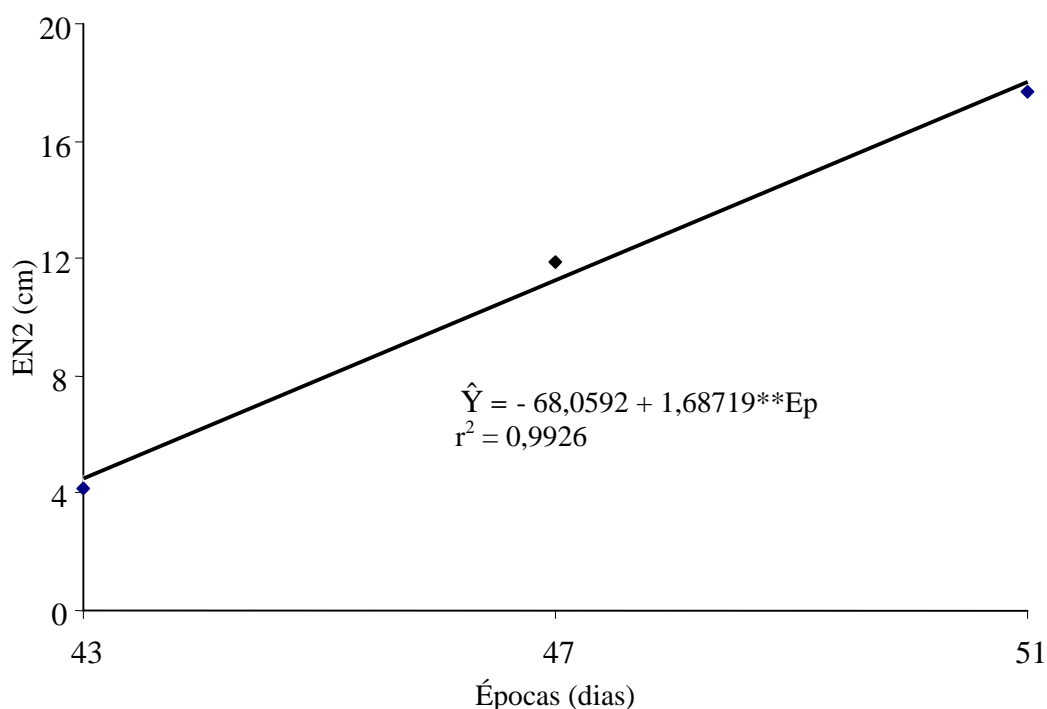
\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.  
ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 12 – Resumo da análise de variância das médias do comprimento dos entrenós, a partir da gema apical do ramo principal, comprimento do segundo entrenó (EN2), do terceiro entrenó (EN3) e do quarto entrenó (EN4) e comprimento dos dois primeiros ramos laterais a partir do segundo entrenó (L1) e (L2), em função das épocas avaliadas e dos tratamentos, durante o ensaio de *Bidens pilosa* L. e respectivos coeficientes de variação

FV	GL	Quadrados Médios				
		EN2	EN3	EN4	L1	L2
Tratamento	14	91,9881 ns	69,4856 ns	58,8518 ns	77,4017 ns	136,2386 ns
Resíduo(a)	105	133,5038	80,2811	54,5319	61,9213	200,9486
Época	2	5.506,043**	2.161,3**	86,0453ns	11.369,98**	11.404,88**
Trat. x Época	28	86,1442 ns	62,6623ns	27,0733ns	14,7469ns	130,3927ns
Resíduo	210	88,5519	51,6363	30,1879	13,0919	139,0021
CV (%)		83,73	52,30	65,52	29,74	91,84

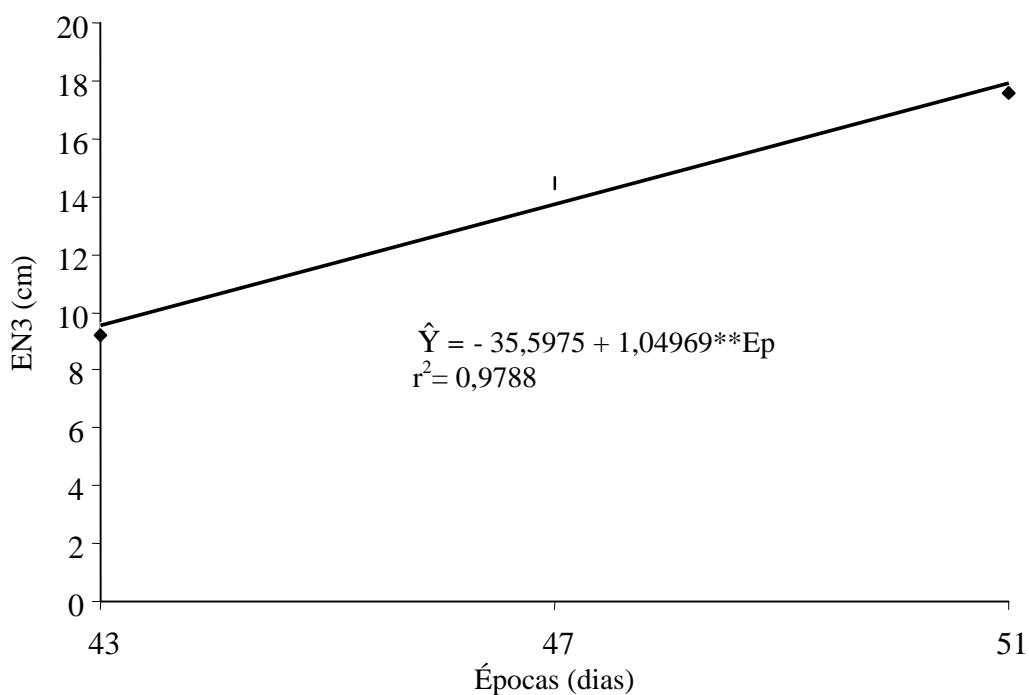
ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

\*\* F significativo a 1% de probabilidade.



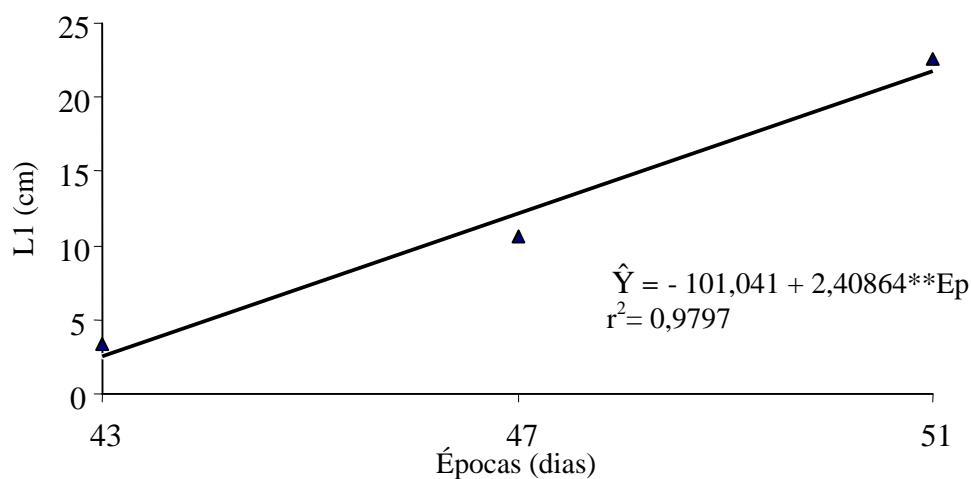
\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F

Figura 4 – Estimativa do comprimento do segundo entrenó (EN2) da haste principal, a partir da gema apical, durante o desenvolvimento das plantas de *Bidens pilosa* L.



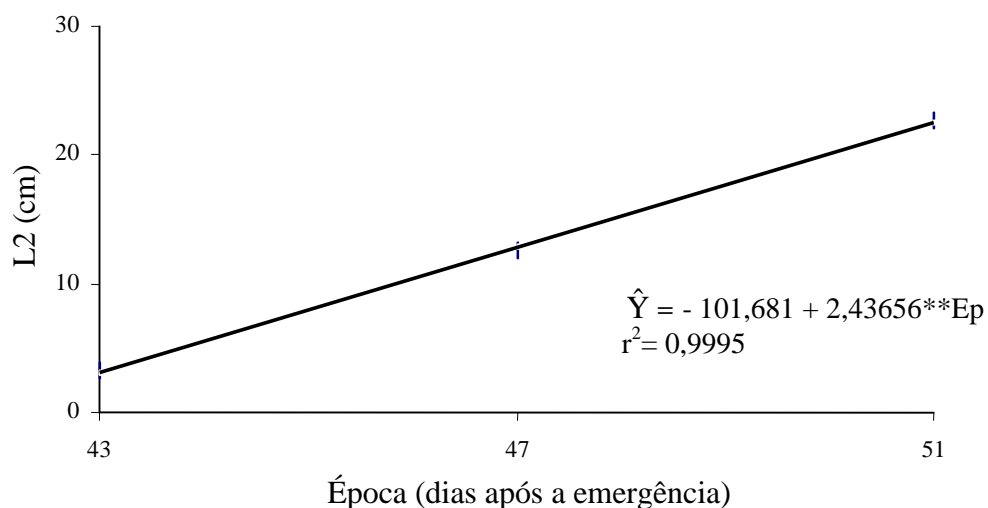
\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F

Figura 5 – Estimativa do comprimento do terceiro (EN3) entrenó da haste principal, a partir da gema apical, durante o desenvolvimento das plantas de *Bidens pilosa* L.



\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F

Figura 6 – Estimativa do comprimento do primeiro ramo lateral a partir do segundo entrenó da haste principal, seguido da gema apical, de *Bidens pilosa* L. em função das fases de desenvolvimento, em intervalos consecutivos, em plantas tratadas com crescentes dinamizações, em escala centesimal, de *China*.



\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F

Figura 7 – Estimativa do comprimento do segundo entrenó da haste principal, seguido da gema apical, de *Bidens pilosa* L. em função das épocas de desenvolvimento, obtidas em intervalos consecutivos em plantas tratadas com crescentes dinamizações, de *China*, na escala centesimal.

Quadro 13 – Resumo da análise de variância do teor de óleo essencial (OLEO) e atividade enzimática peroxidase (PO) e catalase (CAT) nas folhas de *Bidens pilosa* L.

FV	GL	Quadrados Médios		
		OLEO	PO	CAT
Tratamento	14	5,5167ns	0,02643ns	0,2382ns
Resíduo	45	6,9444	0,018079	0,2524
CV (%)		66,99	66,65	17,46

ns F não-significativo a 5% de probabilidade.

\*\*\* F significativo a 10% de probabilidade.

Quadro 14 – Valores médios das variáveis porcentagens de óleo essencial, teor de óleo essencial (ÓLEO) e atividade enzimática da peroxidase (PO) e catalase (CAT) nas folhas de *Bidens pilosa* L., em função das crescentes dinamizações de *China* e respectivos coeficientes de variação

Tratamentos	% (óleo/5 g de massa foliar seca)	ÓLEO (mg/5 g de massa foliar seca)	PO (U.A/mg de PTN)	CAT ( $\mu$ moles de $H_2O_2$ cons. $min^{-1}$ . mg de PTN)
CH2	0,10	5,250 a	0,16 a	2,99 a
CH4	0,10	5,00 a	0,16 a	2,83 a
CH6	0,07	3,75 a	0,42 a	2,73 a
CH8	0,10	5,25 a	0,30 a	3,11 a
CH10	0,13	6,50 a	0,15 a	2,87 a
CH12	0,07	3,75 a	0,11 a	2,82 a
CH14	0,06	3,00 a	0,19 a	2,81 a
CH16	0,07	3,75 a	0,25 a	2,62 a
CH18	0,05	2,50 a	0,15 a	2,38 a
CH 20	0,07	3,50 a	0,16 a	2,75 a
CH22	0,08	4,00 a	0,16 a	3,07 a
CH24	0,04	2,00 a	0,26 a	3,34 a
Etanol 70% CH3 (Controle)	0,07	3,50 a	0,20 a	3,22 a
Etanol 70% (Controle)	0,06	3,00 a	0,14 a	2,69 a
Água destilada (Controle)	0,08	4,25 a	0,14 a	2,87 a
CV (%)		66,99	66,65	17,46

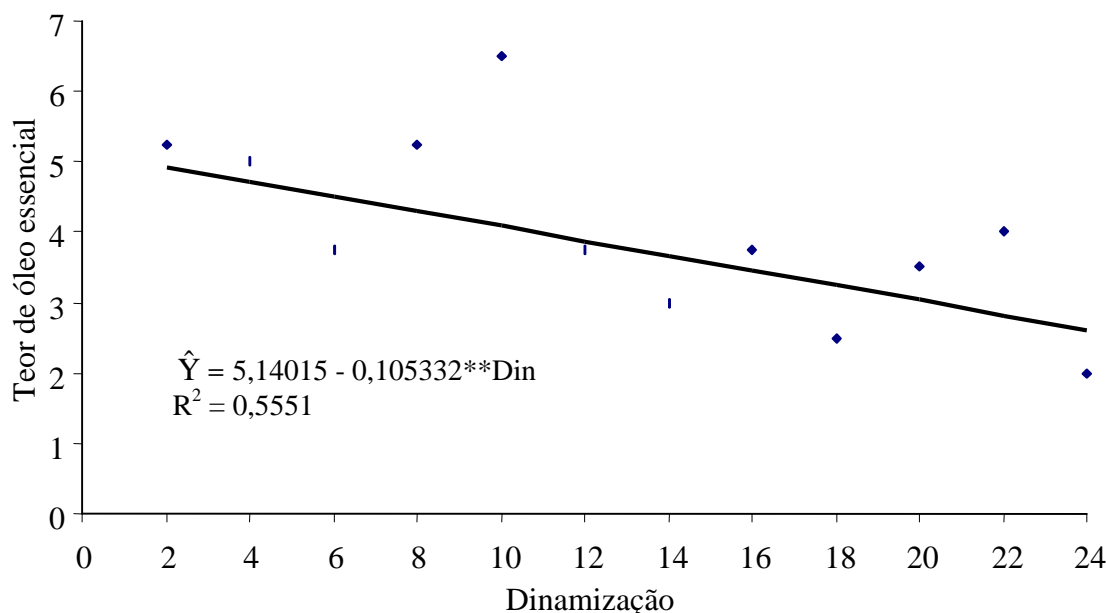
Os grupos médios seguidos de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo critério de agrupamento Scott–Knott.

U.Amin. $^{-1}$ mg $^{-1}$  de PTN = unidade de absorvância por minuto por mg de proteína.  
 $\mu$ moles de  $H_2O_2$ cons. $min^{-1}$ . mg de PTN =  $\mu$ moles de peróxido de hidrogênio consumido de proteína por minuto.

Quadro 15 – Equações de regressão ajustadas das variáveis rendimento de óleo (ÓLEO) e atividade enzimática peroxidase (PO) e catalase, em função das crescentes dinamizações do preparado homeopático *China*

Variáveis	Equações de Regressão
PO	$\hat{Y} = 0,2145$

Na Figura 8, observa-se que houve alternância da resposta do teor de óleo em plantas de picão em razão das crescentes dinamizações de *China*. Verifica-se também que de CH2 a CH4 houve ligeira redução no teor de óleo, diminuindo ainda mais em CH6, voltando a aumentar em CH8, atingindo o máximo da produção em CH10, caindo novamente em CH12, voltando a cair em CH14, aumentando em CH16, diminuindo em CH18, aumentando em CH20 e 22 e atingindo um mínimo em CH24. As crescentes dinamizações de *China* aplicadas ao picão-preto causaram movimento refletido na produção de óleo essencial. Similarmente ao encontrado por ANDRADE (2000) e CARVALHO (2001), as plantas de picão com maior acúmulo de massa fresca possuíam menor teor do metabólito secundário analisado. Segundo essas autoras, o aumento do crescimento e a diminuição dos níveis de defesa podem estar expressando a retomada da homeostase, levando ao equilíbrio na distribuição de energia entre processos de crescimento e de defesa.



\*\*F significativo a 1% de probabilidade

Figura 8 – Estimativa do teor de óleo essencial de *Bidens pilosa* L. em função das crescentes dinamizações de *China*. Viçosa, MG.

O resultado foi semelhante ao verificado por ANDRADE (2000) em plantas de chambá (*Justicia pectoralis*), por CASTRO et al. (2001) em capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e hortelã (*Mentha spicata*) e por ALMEIDA (2002b) em manjeriço (*Ocimum basilicum*). Quando aplicaram dinamizações crescentes de preparados homeopáticos, verificaram movimento de alternância na produção de princípios ativos.

Segundo Kolisko e Hesemann (1991) e Davenas et al. (1988), citados por ANDRADE (2000), os ritmos se expressam em espaço de tempo que se limita diretamente com o espaço físico. Durante a dinamização, desaparece a substância física, mas sua presença fica marcada no meio pelos processos rítmicos da dinamização. Tal movimento é universal, ou seja, tudo se processa em movimentos ritmados (MILANESE, 1991).

Na Figura 9, observa-se que o efeito das crescentes dinamizações de *China* causou movimento de alternância na variável CAT, similar ao observado no teor de óleo. Portanto, as crescentes dinamizações de *China* foram percebidas pelas plantas como fatores externos nos mecanismos de resposta, tanto no metabolismo primário quanto no secundário. De acordo com MILANESE (1991), tais processos podem ser revelados no caos que caracteriza o comportamento não-linear, em que as desorganizações antecedem as organizações, o que já vem sendo verificado como típico em muitos organismos e sistemas.

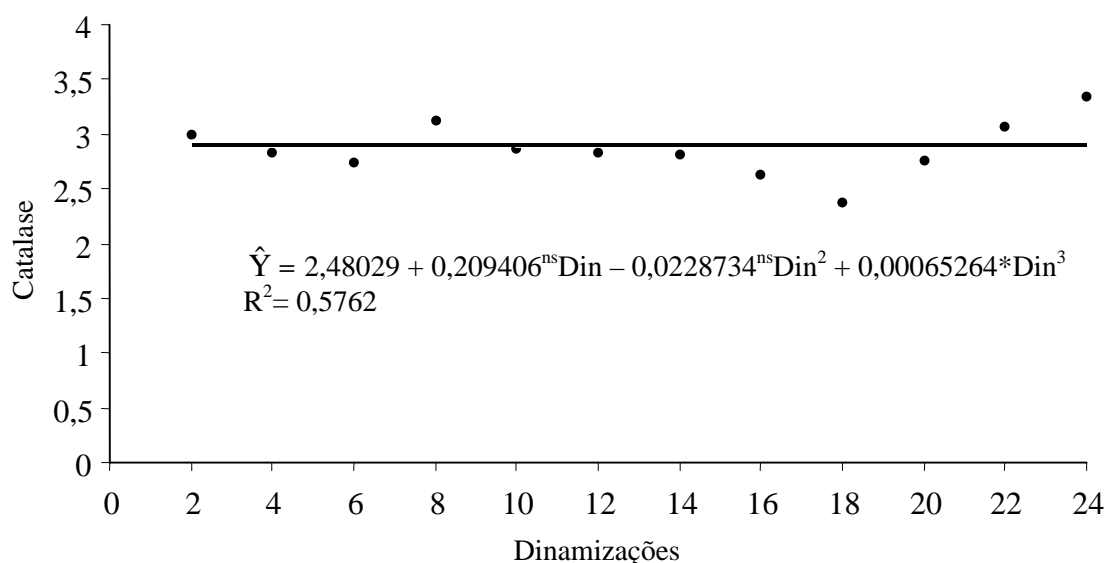


Figura 9 – Estimativa da atividade enzimática catalase nas folhas de *Bidens pilosa* L. em função das crescentes dinamizações de *China*. Viçosa, MG.

### 3.3. Análise de compostos antimaláricos

#### 3.3.1. Determinação da presença de flavonóides

No Apêndice 3, encontram-se os perfis cromatográficos das raízes de *Bidens pilosa* L. tratadas com crescentes dinamizações de *China*, sendo observadas bandas azuis características de ácidos orgânicos em todas as amostras. As bandas amarelas, características de flavonóides, ficaram aderidas ao ponto de aplicação, indicando a presença de substâncias de elevada polaridade. Os perfis encontrados foram diferentes dos observados por BRANDÃO et al. (1992) e OLIVEIRA (2002b), que verificaram maior número de bandas *Bidens* e constataram que esta espécie contém flavonóides de baixa polaridade (metaxilado).

As bandas de coloração laranja apresentam substâncias em Rfs superiores, indicando a presença de flavonóides de baixa polaridade, as quais foram encontradas nas dinamizações CH2 em  $Rf = 0,82$ , CH16 em  $Rf = 0,63$  e no controle com água destilada em  $Rf = 0,82$ . Dos flavonóides metaxilados das raízes encontrados nas dinamizações, CH 16 R2 em  $Rf = 0,63$  foi semelhante ao observado por BRANDÃO et al. (1997), que verificaram mancha no  $Rf = 0,64$ . É possível que isso esteja relacionado à presença do flavonóide quercetina 3,3'- dimetil- éter- 7-O- $\alpha$ -L- mamnopiranosil-(1 6)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo, que, quando isolado, causa pronunciada atividade plasmodicida nos testes "in vitro", descritos por BRANDÃO et al. (1998).

A banda azul no  $Rf = 0,60$  é semelhante à encontrada por OLIVEIRA (2002b), característica do ácido clorogênico presente nas plantas tratadas com *China* nas dinamizações CH2, CH4, CH6, CH12, CH22 e CH24 e nos controles.

Os perfis CH2 e CH4 e os controles possuem perfis semelhantes, com a ressalva de que no CH2 e no controle água destilada se observaram uma banda característica de flavonóides em Rfs superiores e duas a três manchas azuis, típicas de ácidos orgânicos.

Os perfis de CH2, CH4, CH6 e CH24 possuem perfis semelhantes, com duas a três bandas típicas de ácidos orgânicos em Rfs superiores.

No perfil CH16, comparado com os demais, houve redução no número de bandas, podendo-se inferir que na planta tratada com *China* CH16 ocorreu efeito de patogênese. A síntese de compostos demanda muita energia das plantas, pois ela é desviada do metabolismo primário. De acordo com HARBORNE (1997), as plantas reagem, expressando-se no dilema crescimento ou defesa. Segundo CARVALHO

(2001), o aumento do crescimento e a diminuição dos níveis de defesa podem estar expressando a retomada à homeostase, levando ao equilíbrio na distribuição de energia entre processos de crescimento e de defesa.

O resultado dos compostos do sistema radicular foi similar ao do teor de óleo nas folhas. Entre as dinamizações houve variações na produção de compostos, ora aumentando, ora reduzindo, como observado pelo número de bandas visualizadas na cromatografia. Comparado ao da Figura 8, o teor de óleo nas dinamizações CH2, CH4, CH6 e CH8 no início se manteve constante, com leve redução e logo depois aumento, atingindo o máximo e, em seguida, diminuição. Esse movimento aconteceu de forma contrária na análise de CCD ao se comparar o número de bandas visualizadas. Vários autores (ANDRADE, 2000; CASTRO et al., 2001a; CARVALHO, 2001; ALMEIDA, 2002b) constataram esse movimento de alternância na produção de compostos ativos mediante dinamizações crescentes de preparados homeopáticos.

As dinamizações de *China*, portanto, foram percebidas pela planta como fator externo sobre o mecanismo de resposta, da planta tanto no metabolismo primário quanto no secundário. De acordo com MILANESE (1991), tais processos podem ser revelados no caos que caracteriza o comportamento não-linear, em que desorganizações antecedem organizações, o que já vem sendo verificado como típico em muitos organismos e sistemas.

### **3.3.2. Determinação da presença de acetilenos**

Os perfis cromatográficos obtidos a cada amostra de raízes de *Bidens pilosa* L. encontram-se no Apêndice 4; foram semelhantes entre si. As bandas variaram em tons róseo, azul a violeta, além de bandas marrons detectadas no ponto de aplicação e RFs superiores. As bandas marrons que são características de acetilenos foram detectadas em todas as amostras. Os perfis CH14, CH18 e CH24 comportaram-se diferentemente dos demais, com a presença inclusive de bandas azuis e marrons em Rf 0,88, características de acetileno. Conforme a revisão de OLIVEIRA (2002b), bandas que variaram do azul ao violeta são características de terpenóides.

Observou-se que os perfis eram semelhantes entre si, apesar de apresentar grande variação no número de bandas. Porém, verificou-se que os perfis em que as plantas foram tratadas com *China* CH20 e o controle água destilada foram semelhantes, destacando-se, no entanto, dos demais perfis pela diminuição no número de bandas.

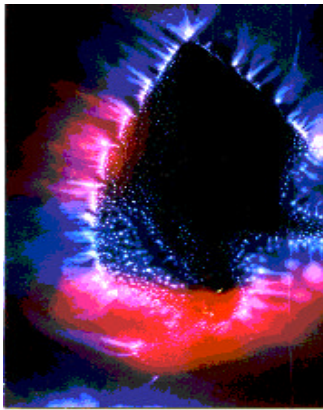
Fazendo a análise comparativa entre o teor de óleo essencial e a presença de acetileno com relação às dinamizações de *China*, verificou-se que o resultado foi similar quanto à variação da produção de princípios ativos em razão das dinamizações causadas pelos movimentos de alternância, ora aumentando, ora diminuindo a produção de princípios ativos. Porém, como se trata de dois princípios ativos na mesma planta e são sintetizados em órgãos distintos, pode-se inferir que a planta demanda muita energia na síntese desses princípios, uma vez que é desviada do metabolismo primário. Assim, a demanda de energia do sistema de dreno é bastante competitiva. Portanto, ao observar o comportamento dos perfis das dinamizações CH14, CH18 e CH24 e correlacioná-lo com o da Figura 8 e Figura 3. Observou-se que nessas dinamizações houve picos de redução no teor de óleo. Quanto aos perfis, verificaram-se maior número e maior uniformidade na distribuição das bandas, inclusive a ocorrência de bandas características de acetileno, o que não foi presenciado nos demais tratamentos. Ainda nessas dinamizações, constatou-se maior produção de ramos. Assim, pode-se inferir que as plantas investiram inicialmente no metabolismo primário e como mecanismo de resposta no sistema fonte-dreno ou defesa, e na retomada do equilíbrio a produção de princípios ativos foi direcionada ao sistema radicular para produção de compostos como acetileno e terpenóides. De acordo com VITHOULKAS (1980), o reequilíbrio está relacionado diretamente com a energia vital e o mecanismo de defesa. Portanto, a produção do metabólito de defesa é a manifestação da retomada do equilíbrio.

### **3.4. Análise das bioeletrografias**

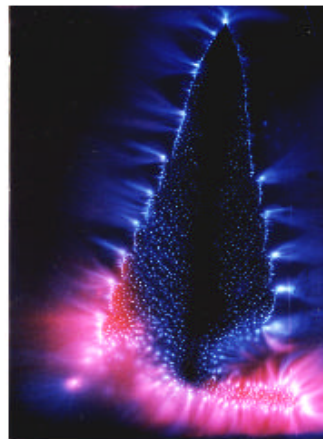
As bioeletrografias de *Bidens pilosa* L. tratadas com crescentes dinamizações de *China* encontram-se na Figura 10.

Observa-se, nessa figura, que a intensidade da luz branca em todas as bioeletrografias é possível de ser diferenciada mesmo na análise visual comparativa. Entre os controles, o etanol 70% CH3 destacou-se. A intensidade da luz branca foi maior, envolvendo todo o contorno da folha de forma mais homogênea. Desse modo, pode-se inferir que a dinamização do etanol alterou a informação contida inicialmente, o que pode ser comparado com etanol 70%, quanto às alterações nas bioeletrografias.

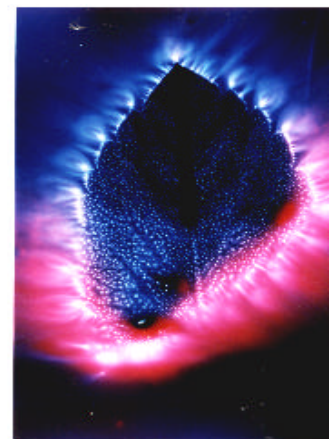
Entre as dinamizações, observou-se que houve influência no campo eletromagnético das folhas, registrada nas bioeletrografias, destacando-se CH12 e CH22. Comparando as bioeletrografias e o comportamento do teor de óleo (Figura 8),



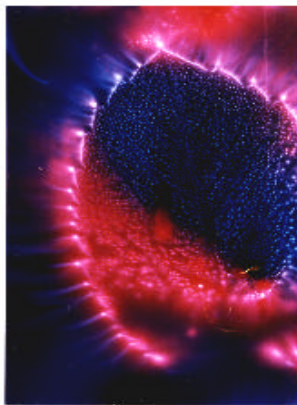
Água destilada  
(controle)



Etanol 70%  
(controle)



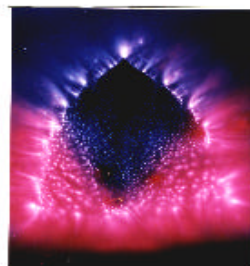
Etanol 70% CH3  
(controle)



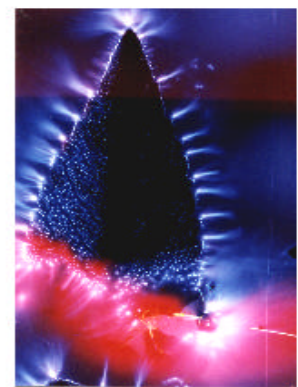
CH10



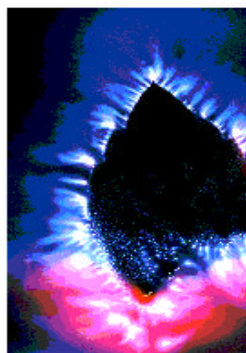
CH12



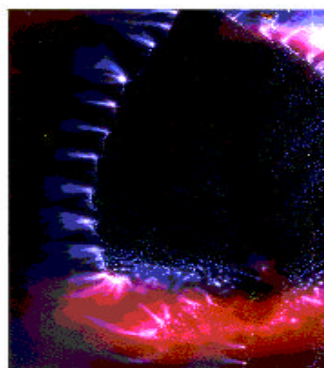
CH18



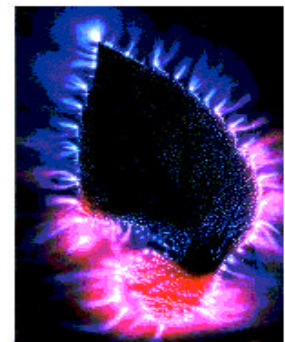
CH14



CH16



CH22



CH24

Figura 10 – Bioeletrografia de folhas de *Bidens pilosa* L. tratadas com crescentes dinamizações do preparado homeopático *China*.

verifica-se que nas dinamizações CH10, CH16 e CH22 houve picos de alta produção de óleo essencial; comparando com as bioeletrografias, houve diferenças no campo eletromagnético, registradas principalmente pela intensidade da luz branca.

Nas dinamizações CH12, CH14, CH18 e CH24, verificaram-se menores picos na produção de óleo, enquanto nos perfis em CCD (Anexo 4) houve maior número de bandas, inclusive as que caracterizam a presença de acetileno. Analisando a intensidade da luz branca, os contornos da folha encontram-se mais definidos, destacando-se em CH12 e CH24, enquanto em CH14 os feixes de luz estão mais estreitos.

As bioeletrografias registram, portanto, o comportamento das crescentes dinamizações, retratando que houve alteração no campo eletromagnético com preparados homeopáticos, conforme observado por ROBAINA (1998) em sementes de milho, por ANDRADE (2000) em plantas medicinais e CASTRO (2002a) e ALMEIDA (2002b) nas diferenças entre as bioeletrografias devidas aos preparados homeopáticos. Segundo PORTO (1998), é possível alterar, de maneira mensurável, as propriedades da água por tratamento em campos magnéticos na presença de uma solução-imagem. De acordo com essa autora, a presença da solução real dentro do campo induz, de alguma forma, um novo comportamento na água. Esse comportamento, conforme constatado no resultado biológico, implica replicar algumas propriedades da solução real utilizada e reorganização das moléculas de água durante o processo de magnetização.

MILHOMENS (1983) relatou que todos os corpos possuem campo eletromagnético, uma vez que são constituídos de átomos, que, por sua vez, apresentam seu campo. Nos seres vivos, o campo eletromagnético é dinâmico e mutável, sendo, portanto, o padrão de organização de qualquer sistema biológico estabelecido por complexo campo eletromagnético, que em parte é determinado por seus componentes atômicos físico-químicos e que em parte determinam o comportamento e a orientação desses componentes estáticos.

Testes ainda não conclusivos nessa direção vêm sendo realizados para otimização e melhoria da técnica. Sabe-se que há alterações no campo eletromagnético, portanto esse método tem potencial de avaliação dos efeitos fisiológicos e energéticos causados por preparados homeopáticos.

#### 4. RESUMO E CONCLUSÕES

Avaliou-se a resposta de *Bidens pilosa* L. expressa em crescimento, patogênese, produção de óleo essencial e atividade enzimática catalase/peroxidase, bem como a presença de compostos antimaláricos e as crescentes dinamizações de *China*, na escala centesimal.

O experimento foi conduzido no telado do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, no período de junho a agosto de 2002. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado (D.I.C.). Adotou-se o esquema de parcela subdividida, tendo nas parcelas crescentes dinamizações de *China* e nas subparcelas as épocas de avaliação com 15 tratamentos e oito repetições, totalizando 120 parcelas experimentais, sendo cada parcela constituída de uma planta/vaso. Nas avaliações do teor de óleo essencial e da atividade enzimática catalase e peroxidase foram utilizadas quatro repetições de cada tratamento, em D.I.C.

Os tratamentos constituíram-se das dinamizações C2, C4, C6, C8, C10, C12, C14, C16, C18, C20, C22 e C24 mais os controles etanol 70% CH<sub>3</sub>, etanol 70% e água destilada. A implantação dos tratamentos iniciou-se após o semeio nos vasos. As irrigações com os preparados homeopáticos feitas diariamente na proporção de 20 gotas/L de água e 50 mL/vaso durante 52 dias. Os dados de altura, número de ramos e número de folhas foram obtidos em intervalos de seis dias e o número de capítulos e cachos, em intervalos de sete dias. O valor de SPAD foliar foi determinado em intervalos de cinco dias até a colheita das plantas, quando se avaliaram as variáveis de produção.

A extração de óleo essencial foi feita em aparelho Clevenger modificado. A atividade enzimática de catalase foi determinada por meio de titulação e leitura no espectrofotômetro, enquanto a atividade da peroxidase, por leitura no espectrofotômetro, ambas com base de cálculo na quantidade de proteínas solúveis totais, pelo método de Bradford. Os compostos antimaláricos foram extraídos a partir do extrato bruto das raízes por percolação alcoólica a frio até a exaustão, sendo em seguida encaminhados ao Laboratório de Farmacognosia da FAFAR/UFMG, onde se fez a análise por cromatografia de camada delgada.

Os resultados permitiram as seguintes conclusões:

- a) As preparações homeopáticas de *China* exerceram influências na massa de parte aérea e na produção de ramos e capítulos florais em função da fase de crescimento da planta. Porém, não houve patogênese de *China*, as plantas mantiveram seu crescimento normal.
- b) Na produção de óleo essencial e na atividade enzimática de catalase/peroxidase, não houve diferenças entre os tratamentos. Foi verificado o comportamento não-linear entre as crescentes dinamizações de *China*, o que vem sendo confirmado como típico comportamento em muitos organismos e sistemas estudados.
- c) Nos perfis cromatográficos foram observadas bandas características de ácidos orgânicos, como o ácido clorogênico, os acetilenos, os terpenóides e os flavonóides, bem como a presença de substâncias de elevada polaridade em todas as amostras.
- d) *China* CH16 causou patogênese em plantas de *Bidens pilosa* L., com base na redução de bandas representativas de flavonóides no perfil CCD.
- e) Na detecção do acetileno por CCD, verificou-se a presença de bandas características do acetileno com maior número de bandas em CH14, CH18 e CH24, em comparação com os demais tratamentos.
- f) Houve alternância na produção de compostos antimaláricos, causada pelas crescentes dinamizações de *China*.
- g) O campo eletromagnético das plantas foi retratado nas bioeletrografias resultantes das crescentes dinamizações de *China*, podendo estas tornar-se tecnologia de avaliação dos efeitos dos preparados homeopáticos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADZET, T.; PONS, R.; WOLF, E.; SCHULTE, E. Genetic variability of the essential oil content of *Melissa officinalis*. **Planta Medica**, v. 58, n. 6, p. 558-560, 1991.

ALARCON-AGUILAR, F.J.; ROMAN-RAMOS, R.; FLORES-SAENZ, J.L.; AGUIRRE-GARCIA, F. **Investigation on hypoglycaemic effects of extracts of four Mexican medicinal plants in normal and Alloxan-diabetic mice phytotherapy research**, v. 6, n. 4, p. 383-386, 2002.

ALLAIN, C.C.; POON, L.S.; CHAN, C.S.G.; RICHMOND, W.; FU, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, v. 120, p. 470-475, 1974.

ALMEIDA, A.A.; GALVÃO, J.C.C.; CASALI, V.W.D.; LIMA, E.R.; MIRANDA, G.V. Tratamentos homeopáticos e densidade populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. e Smith, 1797) (Lepidóptera: Noctuidae) em plantas de milho no campo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 2, n. 2, p. 1-8. 2003.

ALMEIDA, M.A.Z. Resposta do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) à aplicação de preparações homeopáticas. Viçosa, MG: UFV, DGU, 2002b. 286 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ALPI, A.; PUPILLO, P.; RIGANÒ, C. **Fisiologia delle piante**. 2. ed. Napoli: Edises, 1992. p. 1-610.

ALZUGARAY, D.; ALZUGARAY, C. **Trate-se pela homeopatia**. São Paulo: Três, 1989. 34 p.

AMBROSANO, J.E. et al. O papel das leguminosas na recuperação da fertilidade do solo e sua relação com a proteção de plantas em sistemas de produção ecológica. In: ENCONTRO DE PROCESSOS DE PROTEÇÃO DE PLANTAS CONTROLE ECOLÓGICO DE PRAGAS E DOENÇAS, 1., 2001, Botucatu. Botucatu, SP: Agroecológica, 2001. (Palestra).

ANDRADE, F.M.C.; CASALI, V.W.D.; DEVITA, B.; CECON, P.R.; BARBOSA, L.C.A. Efeito de homeopatas no crescimento e na produção de cumarina em chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.). **Revista de Plantas Mediciniais**, v. 4, n. 1, p. 19-28, 2001.

ANDRADE, F.M.C.; CASALI, V.W.D. A homeopatia e as plantas medicinais. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, 2., 2001, Pinhal. Pinhal, SP: [s. n.], 2001. p. 197. (Palestra).

ANDRADE, F.M.C. **Homeopatia no crescimento e produção de cumarina em chambá** (*Justicia pectoralis* Jacq.). Viçosa, MG: UFV, DGU, 2000. 286 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DE MINAS GERAIS. Belo Horizonte: Fundação João Pinheiro, 1994. v. 8.

ARENALES, M.C. Utilização da homeopatia na agropecuária. In: ENCONTRO MINEIRO SOBRE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE HORTALIÇAS, 1., 1998, Viçosa. Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1998. (Palestra).

ARENALES, M.C. Agropecuária orgânica. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, 1., 1999, Viçosa. Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1999. (Palestra).

BAROLLO, C.R. **Homeopatia**: ciência médica e arte de curar. São Paulo, SP: Robe, 1996. 71 p.

BIZÃO, N. **Interação genótipo x ambiente, caracterização isoenzimática, diversidade genética e química em *Eclipta Alba* (L.)**. Viçosa, MG: UFV, DGU, 2002. 139 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

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

BRANDÃO, M.G.L.; GRANDI, T.S.M.; ROCHA, E.M.M.; SAWYER, D.R.; KRETTLI, A.U. Survey of medicinal plants used as antimalarials em the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 36, p. 175-182, 1992.

BRANDÃO, M.G.L.; KRETTLI, A.U.; SOARES, L.S.R.; NERY, C.G.C.; MARINUZZI, H.C. Atimalarial activity of and fractions from *Bidens pilosa* and others *Bidens species* (Asteraceae) correlated with the presence of acetylene and flavonoid compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 57, p. 131-138, 1997.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Brasil em síntese**. Agropecuária (1999). Disponível em: <[http://www1.ibge.gov.br/brasil\\_em\\_sintese/default.htm](http://www1.ibge.gov.br/brasil_em_sintese/default.htm)>. Acesso em: 02 de mar. 2002.

BRASIL. **Farmacopéia homeopática brasileira**. São Paulo: Andrei, 1977. 115 p.

BRASIL. Instrução normativa nº 07 de 17 de maio de 1999. Dispõe sobre normas para a produção de produtos orgânicos vegetais e animais. **Diário Oficial** [da República Federativa do Brasil], Brasília, v. 99, n. 94, p. 11-14, 19 maio 1999. (Seção 1).

BRUNINI, C.; SAMPAIO, C.; SALAMA, L.C. Miasmas. In: BRUNINI, C.; SAMPAIO, C. (Coords.). **Homeopatia: princípios, doutrina, farmácia IBEHE**. São Paulo, SP: Mythos, 1993. p. 39-56.

CAPRA, F. **O ponto de mutação**. São Paulo: Cultrix, 1982. 447 p.

CHARLES, D.J.; SIMON, J.E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 115, n. 3, p. 458-462, 1990.

CARVALHO, L. M. **Disponibilidade de água, irradiância, e homeopatia no crescimento e teor de partenólídeo em artemísia**. Viçosa, MG: UFV, DGU, 2001. 139 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CARVALHO, L.M.; CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: relações com luz, estresse e insetos**. Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1999. 148 p.

CASTRO, D.M.; CASALI, V.W.D.; ARMOND, C. et al. Efeito da homeopatia *Phosphorus* sobre o rabanete. **Horticultura Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 280, nov. 1999. (Resumos do 39º Congresso Brasileiro de Olericultura, Tubarão, SC).

CASTRO, D. M.; CASALI, V.W.D.; ARMOND, C. et al. Produção de óleo essencial e campo eletromagnético de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) tratado com soluções homeopáticas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, 2., 2001, Pinhal. **Anais...** Pinhal, SP: [s. n.], 2001. p. 197. (Palestra).

CASTRO, D.M. **Preparações homeopáticas em plantas de cenoura, beterraba, capim-limão e chambá**. Viçosa, MG: UFV, DGU, 2002. 227 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CASTRO, J. P. Patogenesias em algumas plantas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, I., 1999. Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1999b. p. 120-124.

CASALI, V.W.D.; CASTRO, D.M.; ANDRADE, M.C. Pesquisa sobre Homeopatia nas plantas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA, 3., 2002, Campinas do Sul, RS. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 2002. p.16-24 (Palestra).

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7. ed. Campinas, SP: Ed. da UNICAMP, 1997. 279 p. (Série manuais).

CORREA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 1994. 162 p.

- CRUZ, M.E.S.; NAZAKI, M.H.; BATISTA, M.A. Plantas medicinais. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 3, n. 15, p. 28-34, jul./ago. 2000.
- DI STASI, L.C. Medicinal plants popularly used in Brazilian Amazon. **Fitoterapia**, v. 65, n. 6, 1994.
- EDWARDS, P.J.; WRATTEN, S.D. **Ecologia das interações entre insetos e plantas**. São Paulo: EPU-EDUSP, 1981. 71 p.
- EGITO, J. L. **Homeopatia**: introdução ao estudo da teoria miasmática. 3. ed. São Paulo: Robe, 1999. 250 p.
- ERREA, M.P. **Compatibilidade de injertos en Albaricoquero- *P. armeniaca* L. Anatomía y bioquímica de uniones compatibles e incompatibles**. [S. l.]: Universidad de Navarra, 1991. Tesis (Doctoral).
- FARMACOPÉIA. **Homeopática brasileira**. São Paulo, SP: Andrei, 1977. 115 p.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; ARGOLLO, V.M. **Utilização de medicamentos homeopáticos no controle de *Ceratomyxa tingomarianus* Bechyne (Coleoptera, Chrysomelidae) em Rio Branco, Acre**. Disponível em: <<http://www.hospvirt.org.br/homeopatia/port/biblioteca/pesquisahomeopatica/embrapa.htm>>. Acesso em: 28 abr. 2002.
- FRY, S.C. Polymer-bound phenols as natural substrates of peroxidases. In: GREPPIN, H.; PENEL, C.; GASPAR, Th. (Eds.). **Molecular and physiological aspects of plant peroxidases**. Switzerland: Univ. Genève, 1986. p.169-182.
- FUNASA. Ministério da Saúde. Brasil. **Malária**. Situação atual da doença no Brasil. Disponível em: <[funasa.gov.br](http://funasa.gov.br)>. Acesso em: set. 2002.
- GASPAR, T.H.; PENEL, C.L.; THORPE, T.; GREPPIN, H. **Peroxidases**: a survey of their biochemical and physiological roles in higher plants. Genève: Université de Genève, Centre de Botanique, Genève, 1982. 313 p.
- GILBERT, B.; TEIXEIRA, D.F.; CARVALHO, E.S.; DE PAULA, A.E.; PEREIRA, J.F.; FERREIRA, J.L.; ALMEIDA, M.B.; MACHADO RDA, S.; CASCON, V. Activities of the Pharmaceutical Technology Institute of the Oswaldo Cruz Foundation with medicinal, insecticidal and insect repellent plants. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 71, n. 2, p. 265-271, 1999.
- GUTMANN, V. Estudos sobre a organização do sistema molecular. **Revista de Homeopatia**, v. 55, n. 4, p. 111-114, 1990.
- HAMLY, E.C. **A arte de curar pela homeopatia**: o Organon de Samuel Hahnemann. São Paulo: Prol, 1979. 113 p.
- HARBORNE, J.B. **Introduction to ecological biochemistry**. 4. ed. London: Academic Press, 1993. 318 p.

HERTWIN, I.F. Von. **Plantas aromáticas e medicinais**: plantio, colheita, secagem e comercialização. São Paulo: Ícone, 1986. 441 p.

KAMADA, T. **Plasticidade fenotípica da morfologia e do óleo essencial em acessos de manjeriço** (*Ocimum* spp.). Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1998. 59 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

KHANNA, K.K.; CHANDRA, S. Control of tomato fruit rot by *Fusarium roseum* with homeopathic drugs. **Indian Phytopathology**, v. 29, p. 269-272, 1976.

KIRSZENZAFT, S.L. **Desenvolvimento vegetativo de *Bidens pilosa* L.**: fotoperíodo, temperatura e substâncias reguladoras de crescimento. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, 1975. 134 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Farmacologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

KUMAR, R.; KUMAR, S. Effect for certain homoeopathic medicines on fungal growth and conidial germination. **Indian Phytopathology**, v. 33, p. 620-621, 1980.

KURODA, H.; SAGISAKA, S. Metabolic and enzymatic responses associated with oxidative stress in plants acclimatized to cold environments. **Recent Research Developments in Agricultural & Biological Chemistry**, v. 2, p. 395-410, 1998.

LAGRIMINI, L.M.; BRADFORD, S.; ROTHSTEIN, S. Peroxidases-induced wilting in transgenic tobacco plants. **The Plant Cell**, v. 2, p. 7-18, 1990.

LOPES, R.C.; CASALI, V.W.D.; BARBOSA, L.C.A.; CECON, P.R. Influência de três regimes hídricos na produção de óleo essencial em sete acessos de *Polygonum punctatum*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 3, n. 2, p. 7-10, 2001.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestre, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 1982. 868 p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestre, aquáticas, parasitas e tóxicas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2000. 640 p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. 396 p.

LUCCHETTI, L.; SILVA, A.J.R. Caracterização de novos poliacetilenos presentes na fração ativa de *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) contra hepatite B. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14., 1996, Florianópolis. **Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1996. p. 187.

MÄDER, M. Compartmentation of Peroxidase isoenzymes in plant cells. In: TGASPAR, C. P.; GREPPIN, H. (Eds.). **Plan São Paulo t peroxidase**. Switzerland: University of Geneva, 1998. p. 37-46.

MANN, J. **Secondary metabolism**. 2. ed. New York: Oxford University, 1987. 374 p.

MARTINS, E.R. **Morfologia interna e externa, caracterização isozimática e óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth.** Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1996. 97 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. de; CASTELLANI, D. C. et al. **Plantas medicinais.** Viçosa, MG: UFV, 1994. 220 p.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, v. 13, p. 1091-1101, 1972.

MELANDER, W.; HORVATH, C. Salt effects on hidrofobic interactions in precipitation and chromatography of proteins: an interpretation of lyotropic series. **Archives Biochemistry Biophysical**, v. 183, p. 200-215, 1977.

MITTAL, R.; DUBEY, R.S. Behaviour of peroxidases in rice: changes in enzyme activity and isoforms in relation to salt tolerance. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 29, p. 31-40, 1991.

MILANESE, F.E. Associação de substâncias minerais com tecidos vegetais ou órgãos animais. **Associação Brasileira de Medicina Antroposófica**, v. 11, n. 1, p. 23-36, 1991.

MILHOMENS, N. **Fotos kirlian** – Como interpretar. 5. ed. [S. l.: s. n.], 1983. 94 p.

KIRLIAN, Disponível em: <<http://www.kirlian.com.br>>. Acesso em: fev. 2003.

MORENO, J.A. **O direito popular do uso da homeopatia.** Belo Horizonte: UFMG, 1996. 99 p.

MORENO, J.A. Geografia e homeopatia. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, 1., 1999, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1999. p.18-34.

MUSACCHI, S. Aspetti biochimici della disaffinità d'innesto. Dipartimento di Colture Arboree - Università di Bologna. **Rivista di Frutticoltura**, n. 3, p. 73-79, 1994.

MUELLER, M.S.; KARHAGOMBA, I.B.; HIRT, H.M.; WEMAKOR, E. The pontencial of *Artemisia annua* L. as a locally produced remedy for malaria in the tropics: agricultural, chemical and clinical aspects. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, n. 3, p. 487-493, 2000.

NEVES, V.A. Ionical bound peroxidase from peach fruit. **Brazilian Archives of Biology and Tecnhnology**, v. 45, n. 1, p. 7- 6 mar. 2002.

NEVES, L. L.M. **Envolvimento de enzimas oxidativas no escurecimento do quiabo (*Abelmoschus esculentus* L. Moench).** Viçosa, MG: UFV, DGU, 2003. 72 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

OLIVEIRA, F.Q. **Caracterização de extratos vegetais provenientes de raízes de *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) silvestres e cultivadas.** Belo Horizonte: FAFAR/UFMG, 2002. 149 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

OLIVEIRA, J.E.Z. **Variabilidade isozimática e do teor de óleo em acessos de *Bidens Pilosa* L.** Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1997. 72 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

OLIVEIRA, J.E.Z. **Plasticidade fenotípica da morfologia, de marcadores químicos e da anatomia de acessos de *Bidens pilosa* L. crescidos em quatro altitudes.** Viçosa, MG: UFV, DGU, 2001. 239 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS. **Workplan of steering committee on vaccine discovery research.** The UNDP. 2001. Disponível em: < w.w.w. who.int >. Acesso em: set. 2002.

POËSSEL, J.L. **Composés phenoliques et peroxidases de l'abricotier: etude comparative de deux varietés (Luizet et Canino) en relation avec l'incompatibilité, au greffage.** Académie de Montpellier: Université des Sciences et Technique du Languedoc, 1983.

POITEVIN, B. Mecanismos de ação dos medicamentos de uso homeopático. Dados recentes e hipóteses. 1ª parte: mecanismos físico-químicos. **Revista de Homeopatia**, v. 59, n. 1, p. 24-30, 1994.

PORTO, M.E.G. **Alterações de propriedades biológicas e físico-químicas da água induzidas por campos magnéticos.** Campinas, SP: UNICAMP, 1998. 111 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PRADO NETO. **Farmacotécnica homeopática.** São Paulo, SP: Mythos, 1997. v. 1, 159 p.

PRIMAVESI, A.M. A alimentação no século XXI. In: ENCONTRO DE PROCESSOS DE PROTEÇÃO DE PLANTAS CONTROLE ECOLÓGICO DE PRAGAS E DOENÇAS. Botucatu, SP: Agroecológica, 2001. (Palestra).

RASKIN, I. Salicylic acid. In: DAVIES, P. J. **Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology.** New York: [s. n.], 1995.

RICKLI, R.C. **Os preparados biodinâmicos: introdução à preparação e uso.** 2. ed. Botucatu, SP: [s. n.], 1986. 63 p. (Cadernos Deméter, n.1).

ROBAINA, A.D. **Avaliação de eletrofotografias como método de estimar a qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.).** Pelotas, RS: FAEM/UFPEL, 1998. 64 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SCANDALIOS, J.G. Genes isozymes and evolution. In: MARKET, C.L. (Ed.). **Isozymes: genetic and evolution**. New York: Academic Press, 1975. v. 4, p. 1-7.

SCHEMBRI, J. **Conheça a homeopatia**. Belo horizonte, MG: Comunicação, 1976. 18 p.

SIEGEL, B.Z. Plant peroxidases – an organismic perspective - Review. **Plant Growth Regulation**, v. 12, p. 303-312, 1993.

SILVEIRA, F.L. Determinismo, previsibilidade e caos. **Cadernos Catarinense de ensino de Física**, v. 10, n. 2, p. 137-147, 1993.

STEINER, R. **Fundamentos da agricultura biodinâmica: vida nova para a terra**. São Paulo: Antroposófica, 1993. 235 p.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G. et al. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre-RS/Florianópolis-SC: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 1999. p. 387-416.

SINHA, K. K.; SINGH, P. Homeopathic drugs – inhibitors of growth and aflatoxin by *Aspergillus parasiticus*. **Indian Phytopathology**, v. 36, p. 356-357, 1983.

SUBASHINI, K.; REDDY, G.M. Effect of salt stress on enzyme activities on callus culture of tolerant and susceptible rice cultivars. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 28, p. 277-279, 1990.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Redwood City: Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1991. 594 p.

TAN, P.V.; DIMO, T.; DONGO, E. Effects of methanol, cyclohexane and methylene chloride extracts of *Bidens pilosa* on various gastric ulcer models in rats. **Journal of Ethnofarmacology**, v. 73, n. 3, p. 415-421, 2000.

TIEFENTHALER, A. **Homeopatia para animais domésticos e de produção**. São Paulo: Andrei, 1996. 336 p.

TRIUNFOL, M.L. More bark than bites. **Science**, v. 297, p. 342, 2002.

VANIA ABATT/NETTO, L. S. Landel de Moura. Disponível em: <<http://www.vaniaabatt/netto.com.br>>. Acesso em: fev. 2003.

VANNER, L. A idéia da homeopatia na história. **Revista de Homeopatia**, v. 59, p. 9-15, 1994.

VASQUES, C.A.V.; VASQUES, N.V.; GELLER, M. Contribuição ao estudo do picão (*Bidens pilosa* L.). **Arquivos Brasileiros de Medicina**, v. 60, n. 4, p. 283- 287, 1986a.

VASQUES, C.A.V.; VASQUES, N.V.; GELLER, M. Revisão farmacognóstica do picão (*Bidens pilosa* L.). **Arquivos brasileiros de Medicina**, v. 60, n. 2, p. 107-108, 1986b.

VERMA, H.N.; VERMA, G.S.; VERMA, V.K.; KRISHNA, R.; SRIVASTAVA, K.M. Homeopathic and pharmacopoeial drugs as inhibitors of tobacco mosaic virus. **Indian Phytopathology**, v. 22, p. 188-193, 1969.

VITHOULKAS, G. **Homeopatia: ciência e cura**. São Paulo: Cultrix, 1980. 463 p.

VOISIN, H. **Manual de matéria médica para o clínico homeopata**. 2. ed. São Paulo: Andrey, 1987. 1160 p.

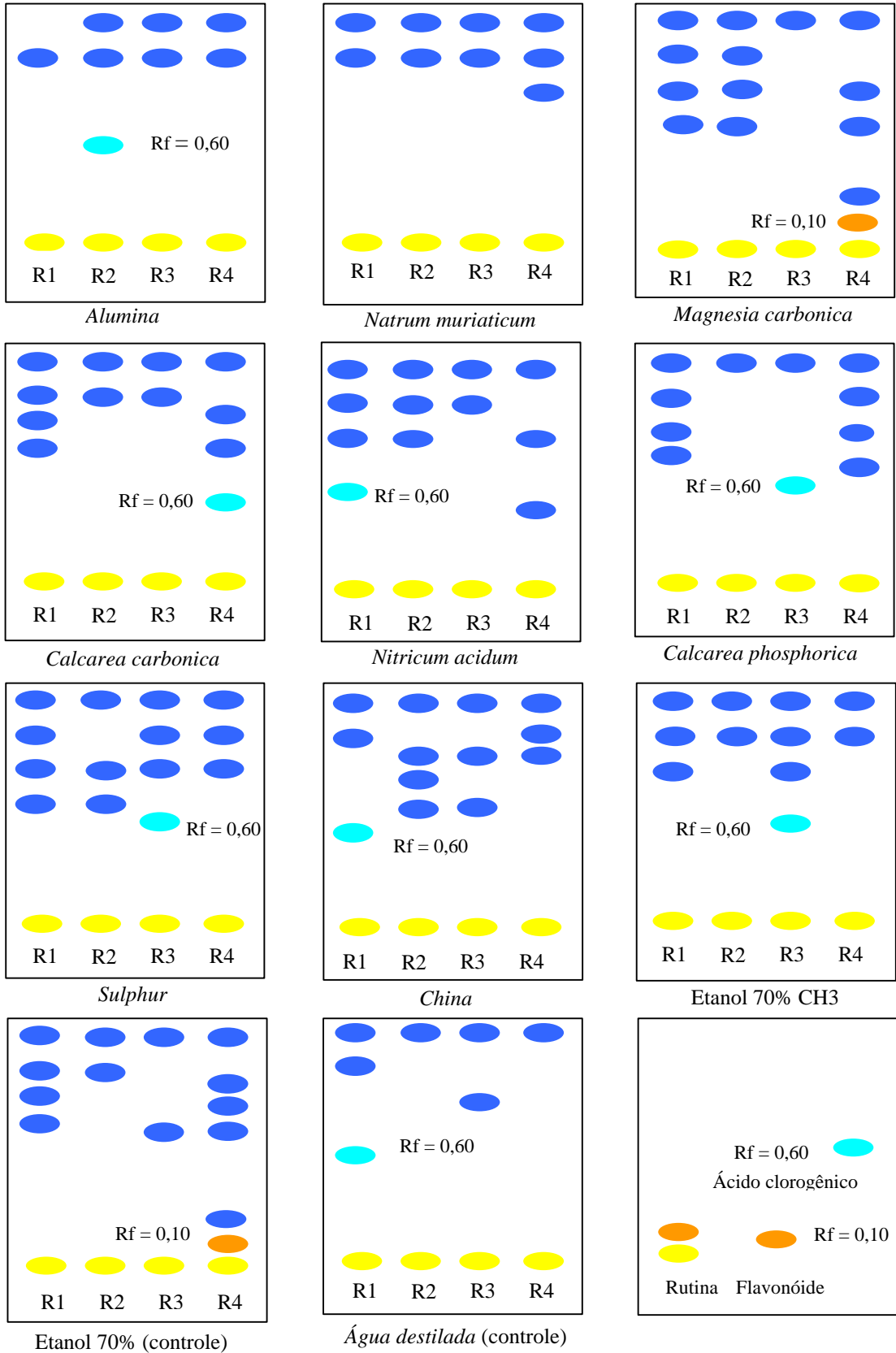
WISSEMANN, K.W.; LEE, C.Y. Polyphenoloxidase activity during grape maturation and wine production. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 31, n. 3, p. 206-211, 1980.

XAVIER, A. **Variabilidade genética de óleo essencial e de crescimento em progênies de meio-irmãos de *Eucalyptus citrodora* Hook.** Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1993. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

## **APÊNDICES**

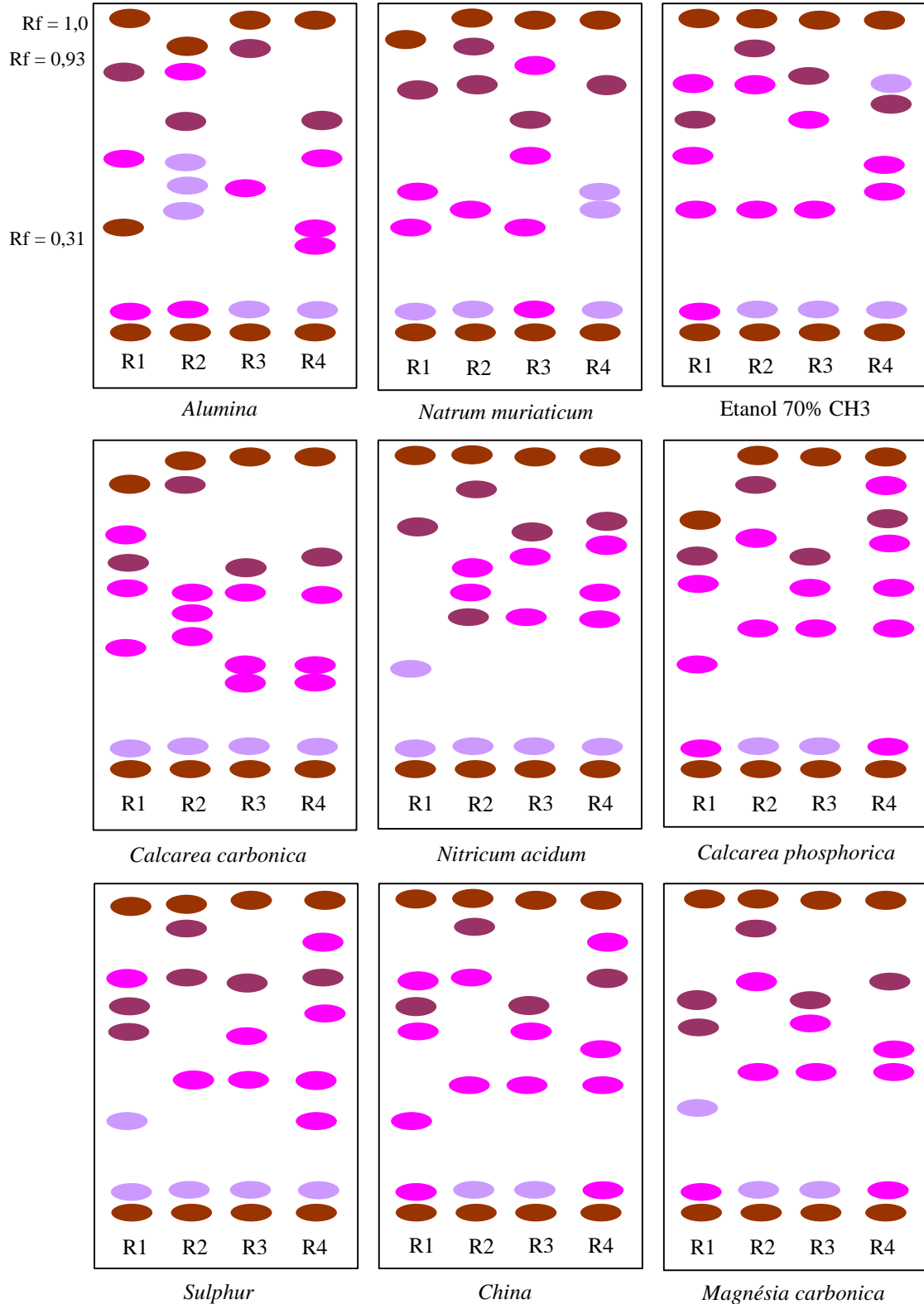
## APÊNDICE 1

Perfil cromatográfico em CCD de flavonóides em *Bidens pilosa* L. tratado com preparados homeopáticos. Eluentes: acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26) e revelador:  $\text{AlCl}_3$ /etanol 2%.



## APÊNDICE 2

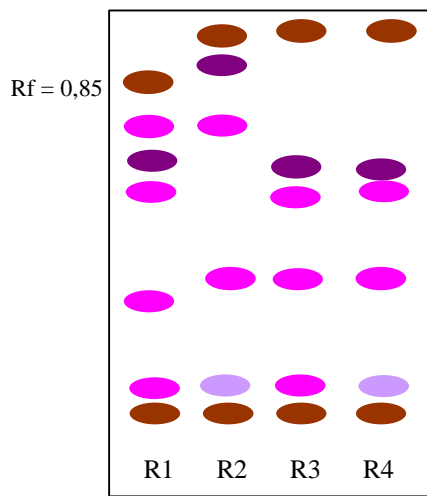
Perfil em CCD de acetileno em *Bidens pilosa* L. tratado com diversos preparados homeopáticos, em escala centesimal de diluição. Eluente: diclorometano: acetona (9:1) e revelador: vanila: ácido sulfúrico.



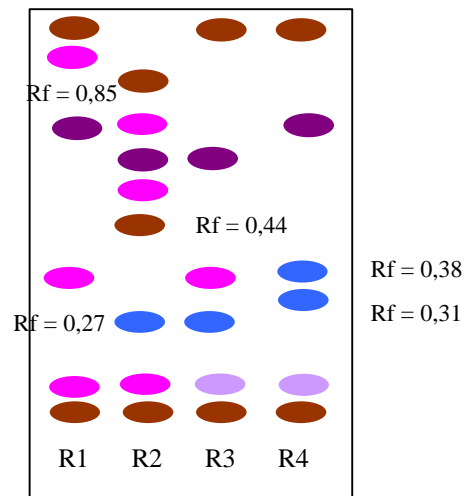
Continua...

## APÊNDICE 2

Continuação dos perfis de CCD/acetileno.



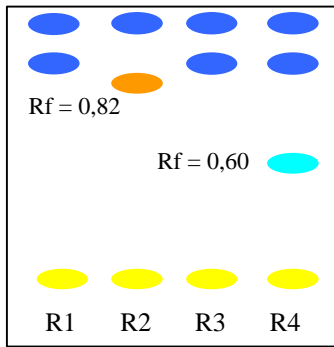
Etanol 70%



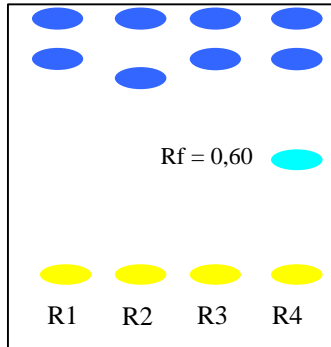
Água destilada

### APÊNDICE 3

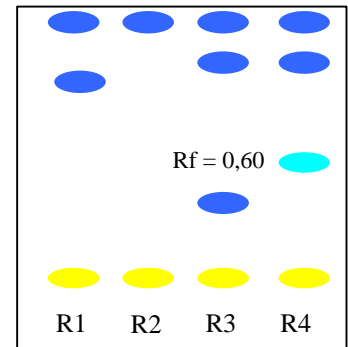
Perfil cromatográfico em CCD de flavonóides em *Bidens pilosa* L. tratado com crescentes dinamizações de *China*, em escala centesimal de diluição. Eluentes: acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26) e revelador:  $\text{AlCl}_3$ /etanol 2%.



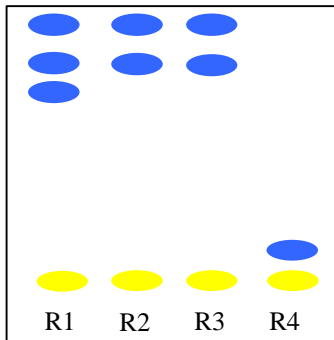
CH2



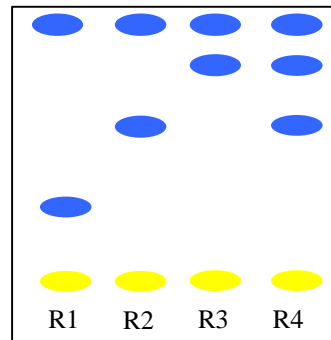
CH4



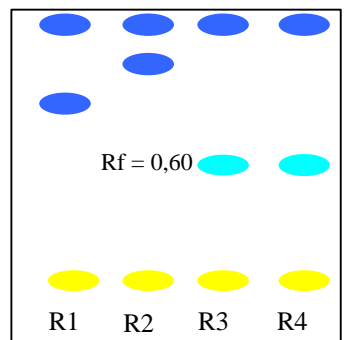
CH6



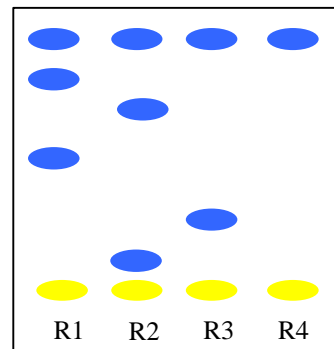
CH8



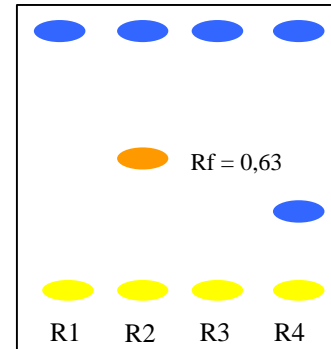
CH10



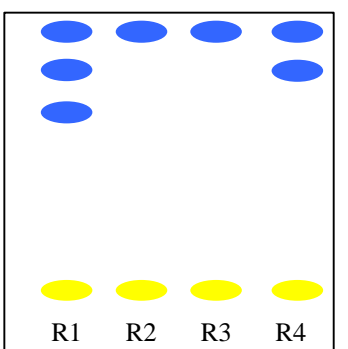
CH12



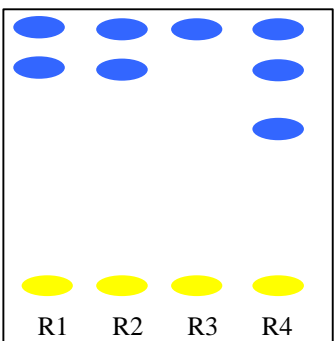
CH14



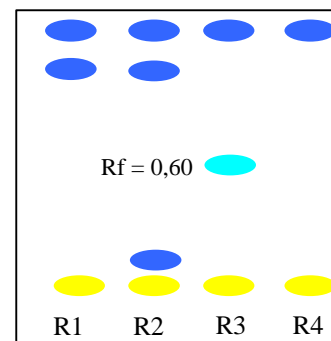
CH16



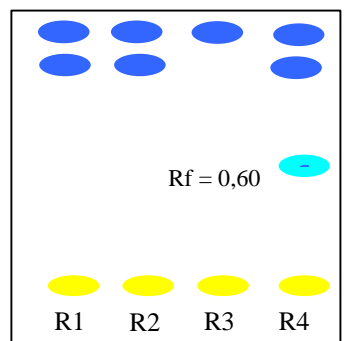
CH18



CH20



CH22

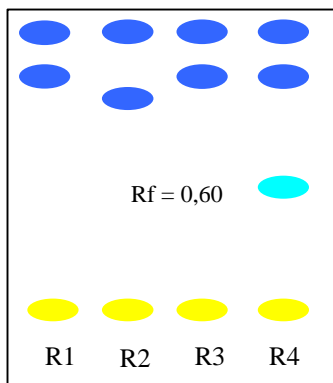


CH24

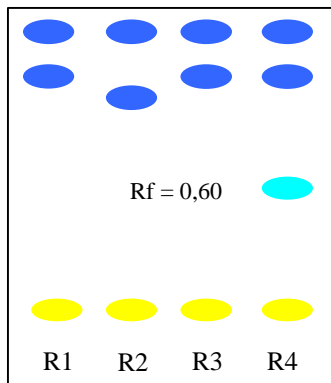
Continua...

### APÊNDICE 3

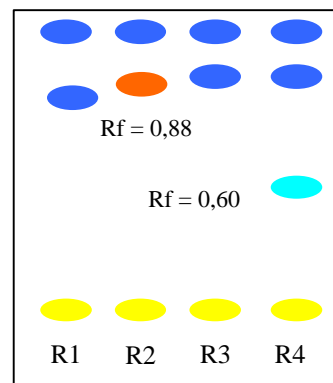
Continuação Perfil Cromatográfico em CCD de flavonóides em *Bidens pilosa* L.  
Eluente: acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26) e  
revelador:  $\text{AlCl}_3$ /Etanol 2%.



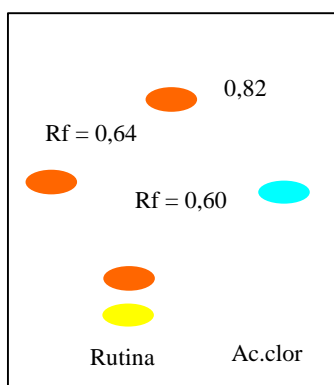
Etanol 70% CH<sub>3</sub>



Etanol 70%

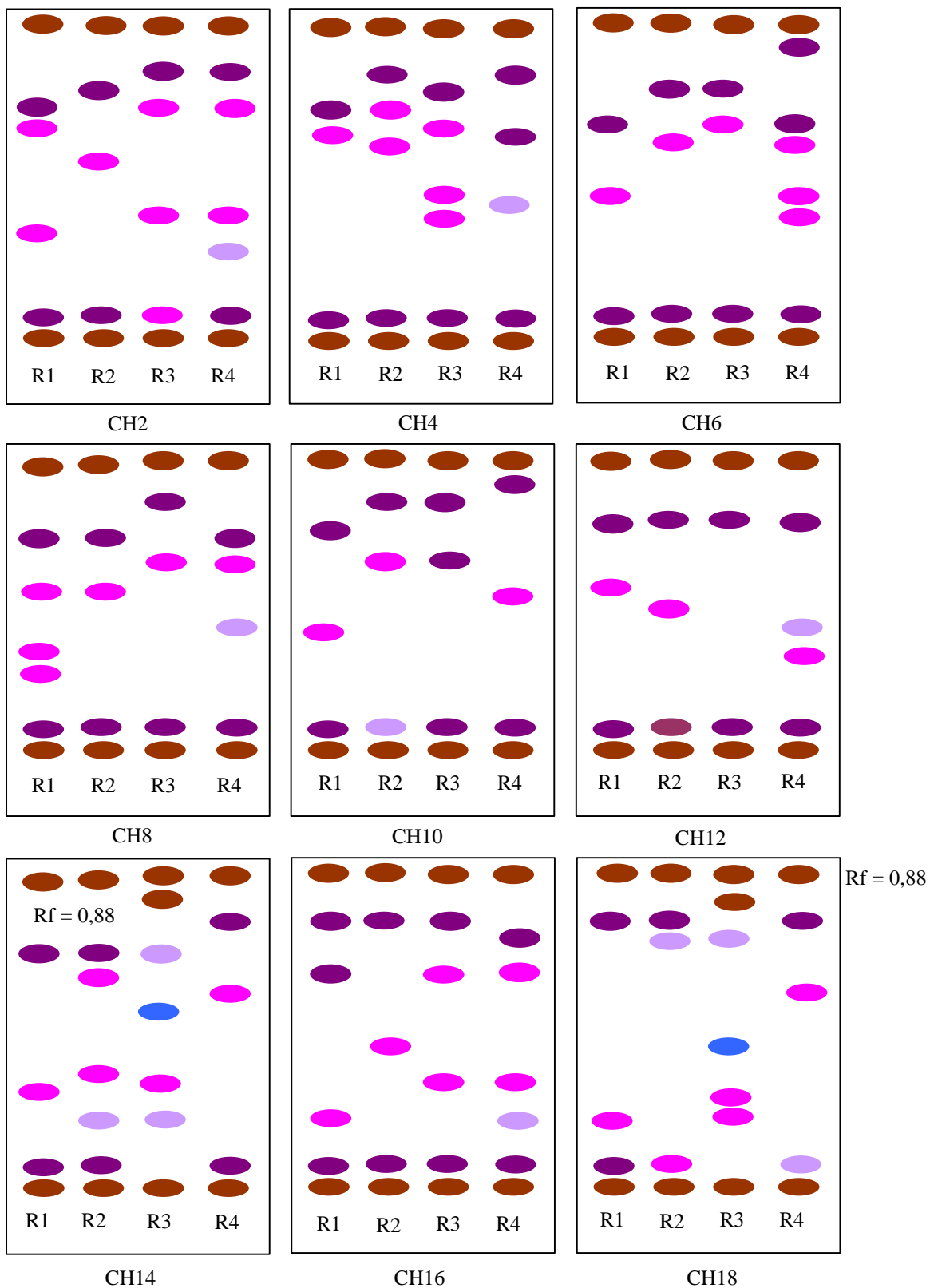


Água destilada



## APÊNDICE 4

Perfil em CCD de acetileno em *Bidens pilosa* L. tratado com crescentes dinamizações de *China*, em escala centesimal de diluição. Eluente: diclorometano: acetona (9:1) e revelador: vanila: ácido sulfúrico.



Continua...

## APÊNDICE 4

Continuação do perfil CCD de acetileno em *Bidens pilosa* L. tratado com diversos preparados homeopáticos na dinamização CH3. Eluente: diclorometano: acetona (9:1) e revelador: vanila: ácido sulfúrico.

