

VIVIANE MODESTO ARRUDA

APLICAÇÕES DE SOLUÇÕES HOMEOPÁTICAS EM *Achillea millefolium* L.
(Asteraceae): ABORDAGEM MORFOFISIOLÓGICA

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
2005

VIVIANE MODESTO ARRUDA

APLICAÇÕES DE SOLUÇÕES HOMEOPÁTICAS EM *Achillea millefolium* L.
(Asteraceae): ABORDAGEM MORFOFISIOLÓGICA

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: 22 de fevereiro de 2005.

Prof. Paulo Roberto Cecon
(Conselheiro)

Prof.^a Marília Contim Ventrella
(Conselheira)

Prof. João Carlos Cardoso Galvão

Prof. Elder Antônio Sousa e Paiva

Prof. Vicente Wagner Dias Casali
(Orientador)

“É melhor atirar-se à luta em busca de dias melhores mesmo correndo o risco de perder tudo, do que permanecer estático, como os pobres de espírito que não lutam, mas também não vencem, que não conhecem a dor da derrota, nem a glória de ressurgir dos escombros. Esses pobres de espírito, ao final de suas jornadas na Terra não agradecem a Deus por terem vivido, mas desculpam-se perante ele por terem apenas passado pela vida.”

À minha família.

Aos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, a verdadeira essência da vida e que me concebeu a oportunidade de viver buscando conhecer e acreditar na sua imensa bondade, sobretudo estando sempre ao meu lado guiando meus caminhos.

Ao meu orientador Professor Vicente Wagner Dias Casali, um exemplo de ser humano que, com sua sabedoria, dignidade e paciência, ensinou-me a acreditar que é possível vencer desafios e enfrentar as dificuldades com determinação e coragem, pela amizade, confiança, compreensão e orientação em todos os momentos.

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

À Professora Marília Contim Ventrella, pelo aconselhamento e por estar sempre disposta a ajudar com valiosas sugestões e contribuições no polimento deste trabalho.

Aos Professores João Carlos Galvão e Élder Antônio Sousa e Paiva, pela disponibilidade e pelas sugestões.

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 Sr. Ribeiro, pela amizade e constante ajuda na execução deste trabalho.

Ao Srs. Fernando, Quiquinho, Vicente e Zé Geraldo, pela boa vontade em ajudar sempre.

À Secretária da Pós-Graduação Mara, pela amizade e pela ajuda na resolução dos nossos problemas burocráticos.

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

Ao Sr. Domingos e Itamar, do Laboratório de Nutrição Mineral, pela ajuda.

Ao Ernando (Bodão), pela boa vontade em ajudar durante as análises.

Ao pessoal do Laboratório de Anatomia Vegetal, pelos momentos agradáveis, em especial à técnica Vânia, pela ajuda nas preparações dos reagentes, e à estudante Ana Lúcia Barros, pela amizade.

À estagiária do Laboratório de Anatomia Vegetal Cristina, pela ajuda na contagem dos estômatos.

A Fernandinha, Daniel e Emílio, pela amizade e simplicidade em ensinar, cujos incentivos me motivaram na pesquisa com plantas medicinais e homeopatia.

À Suzana, pela amizade e por estar sempre pronta a nos ajudar, com disposição e boa vontade.

A Maira, Rosana e Heloisa Linhales, pela colaboração e acolhida no decorrer do trabalho.

Amigo é coisa pra se guardar dentro do coração, agradeço a amizade, as palavras de incentivo, os momentos alegres compartilhados e o carinho das minhas amigas e companheiras, em ordem alfabética: Andréa, Cíntia, Cris, Elen, Flavia, Josi, Lylian, Myrian, Natália.

À minha amada e querida mãe Maria José, pela dignidade e por ter estado sempre ao meu lado, dando-me a maior força, e pelos primeiros ensinamentos, sobretudo quanto a ter esperança, fé e amor e acreditar na vida.

Ao meu pai Expedito, pelos bons exemplos.

Ao Rodrigo, por todas as suas qualidades, em especial a de ser o melhor irmão do mundo, estando sempre ao meu lado, com toda a sua alegria e constante apoio.

Ao meu tio Salvador e às minhas tias Zizinha e Nilza, pelo incentivo e pelas demonstrações de carinho.

Às minhas amigas e aos meus amigos Luisa, Letícia, Celso, Taís, Marcos, Társis, Tarciano, Thalu, Thaniele, Karina, Cilene, Emerson, Marla, Ronaldo, Simone, Renatinha, Flavinha e Imaculada, os quais, mesmo a distância, estão sempre ao meu lado apoiando-me, pelos momentos de alegria e pelos anos de convivência.

A Andréa, Adriana, Bete, Didia, Climene, Leia, Tavinha e Sr. Feliciano, por acreditar em min.

Aos meus pequeninos amigos José Laerte, Heitor, Laura, Milena, Gustavo, Lara, Maria Eduarda, Rafael, Elemara, Natália e Otavio, pelos momentos agradáveis.

A todos os meus colegas com quem convivi durante o decorrer do curso, pela amizade.

Impossível citar todos, correndo o risco de cometer uma ou outra injustiça pelo esquecimento momentâneo, mas neste caso deixo aqui a minha eterna gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

BIOGRAFIA

VIVIANE MODESTO ARRUDA, filha de Expedito Souza Arruda e Maria José Modesto Arruda, nasceu em 1^o de agosto de 1974, em Leopoldina, MG.

Em agosto de 2001, concluiu o curso de Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

Em março de 2003, iniciou o Programa de Pós-Graduação em nível de mestrado, em Fitotecnia da UFV, submetendo-se à defesa de tese em fevereiro de 2005.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Histórico da Homeopatia.....	4
2.2. Os princípios da Homeopatia.....	6
2.3. Homeopatia e a ciência	7
2.4. Pesquisas científicas.....	8
2.5. Metabólitos secundários.....	11
2.6. Flavonóides	16
2.7. Tanino	17
2.8. Vitamina C	19
CAPÍTULO 1	22
CRESCIMENTO E TEOR DE TANINO EM PLANTAS DE <i>Achillea</i> <i>millefolium</i> L. TRATADAS COM SULPHR 3CH	22
1. INTRODUÇÃO	22
2. MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1. Obtenção das plantas	25
2.2. Condução do experimento.....	25

	Página
2.2.1. Aplicação dos tratamentos	26
2.2.2. Delineamento experimental	26
3.3. Análise de crescimento e patogenesia	27
3.3.1. Altura das plantas (ALT).....	27
3.3.2. Número de folhas (NF)	27
3.3.3. Comprimento da maior folha e comprimento da menor folha (CMF; CFM)	27
3.3.4. Largura da maior folha e largura da folha menor (LMF; LFM).....	27
3.3.5. Número de brotações (NB)	28
3.3.6. Número de flores novas (FLN)	28
3.3.7. Número de folhas novas (FN)	28
3.4. Extração de tanino	28
3.5. Preparo de reagentes.....	29
3.5.1. Folin-Denis.....	29
3.5.2. Solução saturada de carbonato de sódio.....	29
3.5.3. Solução padrão de ácido tânico	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1. Análise do crescimento	30
5. CONCLUSÕES.....	36
CAPÍTULO 2	37
EFEITO DA APLICAÇÃO DE PREPARADOS HOMEOPÁTICOS NA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	37
1. INTRODUÇÃO	37
2. MATERIAL E MÉTODOS	42
2.1. Obtenção das plantas	42
2.2. Condução do experimento em vasos.....	42
2.3. Colheita do experimento	44
2.4. Determinação das variáveis.....	45
2.5. Variáveis de crescimento	45
2.5.1. Altura das plantas (ALT).....	45
2.5.2. Número de folhas (NF)	45
2.5.3. Comprimento da maior e da menor folha	45

	Página
2.5.4. Largura da maior e da folha menor	45
2.5.5. Número de brotações.....	45
2.6. Extração de tanino.....	45
2.7. Extração de flavonóides	46
2.8. Extração de vitamina C	46
2.9. Extração de clorofila	47
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
3.1. Colheita aos 30 dias	48
3.2. Colheita aos 60 dias	51
3.3. Colheita 90 dias.....	54
4. CONCLUSÕES.....	67
CAPÍTULO 3	68
ANATOMIA QUANTITATIVA DE FOLHAS DE <i>Achillea millefolium</i> L. (ASTERACEAE) SUBMETIDAS A PREPARADOS HOMEOPÁTICOS	68
INTRODUÇÃO	68
2. MATERIAL E MÉTODOS	72
2.1. Obtenção das plantas e instalação do experimento	72
2.2. Obtenção das soluções homeopáticas	72
2.3. Aplicação dos tratamentos	73
2.4. Coleta do material para os estudos anatômicos.....	73
2.5. Preparo do material vegetal para os estudos anatômicos	73
2.6. Anatomia quantitativa	74
2.7. Tratamento estatístico	74
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4. CONCLUSÕES.....	80
REFERÊNCIAS	81

RESUMO

ARRUDA, Viviane Modesto, M. S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2005.
Aplicações de soluções homeopáticas em *Achillea millefolium* L. (Asteraceae): abordagem morfofisiológica. Orientador: Vicente Wagner Dias Casali.
Conselheiros: Marília Contin Ventrella e Paulo Roberto Cecon.

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de soluções homeopáticas sobre o crescimento, produção de princípios ativos e anatomia foliar de plantas *Achillea millefolium* L. (milfolhas). Os rizomas foram plantados em vasos mantidos sob telado. As características de crescimento avaliadas foram: altura, número de folhas, comprimento e largura da maior folha, comprimento e largura da menor folha, número de brotações massa fresca e seca da parte aérea e raiz. Foram caracterizadas as respostas morfológicas, o teor de tanino, teor de clorofila a e b, razão clorofila a/b e teor de flavonóides. A hipótese de patogênese e de plantas saudáveis foi considerada no primeiro ensaio, mediante a aplicação de *Sulphur* 3CH, que exerceu influência no teor de tanino em função da época de aplicação. No segundo ensaio foram utilizados *Natrum muriaticum*, *Kali carbonicum*, *Silicea*, *Sulphur* 3CH e a testemunha (água). Os preparados homeopáticos exerceram efeito pouco expressivo nas variáveis de crescimento altura, número de folhas, comprimento e largura da menor folha, mas causaram acúmulo de matéria seca da parte aérea. O teor de tanino e clorofila a e b foram influenciados pelas homeopáticas. O teor de flavonóides foi oscilatório de acordo com os preparados. Os descritores anatômicos foram: espessura da epiderme, área de

parênquima paliçádico, de parênquima incolor, de colênquima e de feixes vasculares, além da área total da epiderme. A aplicação das soluções homeopáticas exerceu efeito na produção de metabólitos secundários, embora a organização anatômica não tenha sido alterada.

ABSTRACT

ARRUDA, Viviane Modesto, M. S., Universidade Federal de Viçosa, February of 2005.
Applications of homeopathic solutions on plants of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae): morphofisiological approach. Adviser: Vicente Wagner Dias Casali.
Committee members: Marilia Contin Ventrella and Paulo Roberto Cecon.

The objective of this work was to verify the effect of homeopathic solutions on the growth, production of active compounds and leaf anatomy of plants *Achillea millefolium* L. (milfolhas). The rhizomes were planted in pots maintained under greenhouse. The growth variables measured were: height, number of leaves, length and width of the largest leaf, length and width of the smallest leaf, number of sprouts, fresh mass and it evaporates of the aerial part and root. It was described the morphological traits: tannin content, chlorophyll the and b, ratio chlorophyll a/b and flavonoids content. It was considered in the first trial hypothesis of pathogenesis and earsal, Sulphur 3CH did influence tannin content as function of time treatment: *Natrum muriaticum*, *Kali carbonicum*, *Silicea*, *Sulphur* 3CH and control (water). The homeopathic solutions caused little effect on variables (growth height, number of leaves, length and width of the smallest leaf) but they caused dry matter accumulation of aerial part. The tannin content and chlorophyll the and b were influenced by the homeopathies. The flavonoids content was oscillatory in agreement with the solutions. The anatomical descriptors were: thickness of the epidermis, area of parenchym palicádico, of colorless parenchym, of colenqym, of vascular bunches, besides the total

area of the epidermis. The application of the solutions homeopathic exercised effect the production of secondary metabolitos, although the anatomical organization has not been altered.

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais e suas formas derivadas constituíram, durante séculos, a base da terapêutica (SCHENKEL et al., 1985). Em papiros datado de 2000 a. C., relata-se o uso de plantas medicinais no Egito. No início da Era Cristã, jardins de plantas condimentares e medicinais foram estabelecidos em várias partes da Europa (BALBAA, 1983).

Ao longo da história, o ser humano busca nas plantas a fonte de bem-estar, utilizando-as como alimento e medicinalmente. Em razão dos valores de vida e do aumento da população mundial, é relevante o papel que as plantas medicinais exercem na qualidade de vida (OLIVEIRA et al., 2001).

Entretanto, com a evolução da Química, a partir do século XIX, modificou-se a forma de utilização das plantas; do uso direto e seus preparados, passou-se a utilizar as moléculas ativas, chegando-se a reproduzir artificialmente a substância ativa isolada; em consequência, relegaram-se ao segundo plano as plantas que originam essas substâncias (NEVES, 1982).

Diante da possibilidade da descoberta de novos compostos com atividade terapêutica ou busca de formulações mais simples, com o menor custo e, portanto, mais acessíveis à maioria da população, a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 1978, recomendou a seus países membros que desenvolvessem pesquisas visando ao estudo da flora nacional com propósito terapêutico (SCHEFFER, 1996).

Nas últimas décadas, têm-se testemunhado o retorno do interesse pelo uso de plantas medicinais e seus derivados (BRINSKIN, 2000). Nos Estados Unidos, por

exemplo, pesquisas mostraram que de 1997 a 1998 as vendas de plantas medicinais aumentaram 101%, movimentando milhões de dólares (AHORLU, 1997).

A população esbarra na dificuldade de obtenção de matéria-prima e na quantidade necessária. Porém, não se cogita essa busca na natureza, pois, além dos danos ecológicos que causariam, quando coletadas em ambiente natural, poderiam provocar dificuldades no controle da qualidade dos fitofármacos, uma vez que existem variações nas concentrações das substâncias ativas das plantas em função da época da coleta (MORS, 1982).

Existem vários problemas relacionados ao uso das plantas medicinais. Além da falta de controle de qualidade, há a contaminação química e microbiológica, especialmente de espécies comercializadas secas no varejo. Parte da demanda por plantas medicinais é proveniente do extrativismo (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002). Esse fato é preocupante, pois se sabe que diversas espécies vegetais podem desaparecer de seus ambientes naturais se o extrativismo tornar-se predatório.

A solução proposta na obtenção da matéria-prima é o cultivo comercial das espécies selecionadas (PEROZIN, 1988), porém são poucas as informações disponíveis do ponto de vista agrônomo. Evidencia-se a necessidade da realização de estudos que revelem o comportamento das espécies medicinais quando submetidas às técnicas de produção agrícola, que devem atender ao duplo objetivo, qual seja, aumentar a produção de biomassa por área sem afetar o valor terapêutico da planta (MADUENO BOX, 1973).

Estima-se que, das 250.000 espécies de plantas, 35.000 a 70.000 têm sido utilizadas com propósito medicinal. O número de espécies nativas do Brasil é aproximadamente 120.000, sendo recente o desenvolvimento da fitoquímica moderna brasileira (FONSECA, 2001).

Muitas plantas possuem compostos economicamente importantes, como óleos, resinas, taninos, borracha natural, gomas, ceras e corantes (BALANDRIN et al., 1985).

As espécies medicinais respondem aos fatores do ambiente, promovendo reações no metabolismo secundário responsável pela defesa da planta. Essas reações de defesa se caracterizam pela síntese de compostos bioativos diversos, de acordo com cada espécie. Os compostos bioativos das plantas medicinais variam a concentração nos tecidos em resposta ao genótipo e ao ambiente. As reações nos seres vivos aos preparados homeopáticos são qualitativas e quantitativas (DUARTE, 2003). 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 colabora com a adaptação e a harmonização das plantas e facilita o convívio com o solo e o meio (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 Homeopatia atua nas informações construtivas e defensivas dos sistemas de vitalidade dos reinos animal e vegetal (CASALI et al., 2002).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de preparados homeopáticos no crescimento, na produção de metabólitos secundários e na anatomia de plantas de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Histórico da Homeopatia

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, na Alemanha, Meissen, e desde jovem 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 profissionalmente. Era dotado de grande cultura, tanto na medicina quanto na química, botânica, matemática e física, além de dominar vários idiomas, sendo considerado notável poliglota. Incomodava-lhe a falta de pensamento lógico que fundamentasse a terapêutica da época, que consistia em sangrias, catártico, ventosas e o uso de substâncias tóxicas (VITHOULKAS, 1980).

No decorrer dos anos, Hahnemann desiludiu-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). Conhecedor de muitos idiomas e dotado de cultura eclética, dedicou-se durante muito tempo à tradução de obras médicas. Foi exclusivamente dessa ocupação que viveu alguns anos (VITHOULKAS, 1980).

Em meados de 1790, na tradução do livro de medicina intitulado *Matéria Médica, de Willian Cullen*, professor de medicina da Universidade de Edimburgo (Escócia), deparou com a revolucionária descoberta. Um dos capítulos dessa obra mencionava o sucesso no tratamento da malária atribuído ao fato de a erva ser amarga. Cullen argumentava que a quina, substância extraída da casca de certas árvores, baixava a febre porque fortificava o aparelho digestivo (CARILLO, 2000), teoria muito estranha de alguém conhecedor da química. 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. Descreveu a auto-experimentação da *China officinalis*, capaz de produzir no organismo sadio sintomas da febre intermitente (MORENO, 2000).

Diante dos resultados, concluiu que a quina, aplicada no indivíduo sadio, gerava os mesmos sintomas que a malária produzia (ALZUGARY e ALZUGARY, 1989). Assim, Hahnemann passou a experimentá-la em seus familiares e amigos. Nos próximos seis anos, ele e vários 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 das 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 à diluição totalmente ineficiente, no interior da qual não restava mais substância alguma. As vantagens da diluição simples mostraram-se extremamente limitadas. 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).

Após concluir sobre seus primeiros experimentos de diluições, em 1785 voltou a clinicar como médico homeopata e, em 1810, publicou seu livro mais importante, o *Organon da Arte de Curar*. Nessa obra revelava 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 pessoas doentes (BRUNINI, 1993).

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

2.2. Os princípios da Homeopatia

De acordo com 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: Hahnemann desenvolveu as bases da utilização do Princípio dos Semelhantes com métodos científicos. Experimentando as substâncias e anotando os efeitos despertados no organismo, passava a utilizá-las em doentes com sintomas semelhantes aos observados no estudo (CARILLO, 2000). A Lei dos semelhantes é natural e resulta da lei de causa e efeito ou de ação e reação (MORENO, 2000).

Experimentação no ser sadio: A experimentação consiste no procedimento sistemático de testar as substâncias em seres saudáveis visando caracterizar os sintomas que refletem a ação da substância. Hahnemann selecionou voluntários em perfeita

saúde, experimentou as substâncias e descreveu com precisão sintomas físicos e mentais, obtendo, desse modo, a característica de cada medicamento (BAROLLO, 1996).

O método da experimentação em homeopatia, feito em seres vivos sadios, propicia o conhecimento das propriedades terapêuticas das substâncias (SCHEMBRI, 1992).

Doses mínimas: Na ciência da homeopatia, o conceito de doses mínimas continua sendo o maior obstáculo na compreensão e adoção desse método terapêutico (BAROLLO, 1996a).

Após dinamizações sucessivas, no insumo inerte é armazenada a força curativa das substâncias; por esse motivo é usada a terminologia de potência designando as diluições. A partir da potência 12CH nada mais resta da substância original, mas sua marca fica impressa na solução alcoólica. O efeito dos medicamentos homeopáticos só ocorre em seres vivos. A informação do medicamento é passada de forma quase instantânea aos líquidos do corpo. Ao contrário do que se pensa, é rápida a ação do medicamento. As alterações ou reações que se processam no corpo físico após a ingestão do medicamento são adaptações da massa corpórea ao novo padrão energético impresso na Energia Vital (BAROLLO, 1996a).

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

Medicamento único: Hahnemann e seus voluntários experimentavam um medicamento de cada vez, de modo a não mascarar seus efeitos no organismo sadio. Ele não admitia que no processo curativo se misturassem duas ou mais substâncias ao mesmo tempo, pois achava que o resultado era imprevisível, uma vez que o doente já estava bastante enfraquecido pela doença em si (MORENO 2000).

2.3. Homeopatia e a ciência

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. A Homeopatia vem sendo aplicada em seres humanos desde de 1796. Na medicina veterinária, há relatos de sua aplicação há 80 anos. Na

agricultura a homeopatia data de 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.

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).

Na ciência da homeopatia estão sendo desenvolvidas inúmeras pesquisas com resultados de grande importância econômico-social. A análise da origem dos desequilíbrios nos vegetais determina o tratamento homeopático das plantas. Ainda que a planta possua riquíssimos mecanismos de homeostase, via síntese bioquímica de compostos do metabolismo secundário, os sintomas físicos são considerados facilmente perceptíveis nos diagnósticos e na aplicação do princípio da semelhança (CASTRO, 1999a).

2.4. Pesquisas científicas

Experiências de uso da homeopatia em vegetais vêm sendo realizadas por agricultores de vários locais do Brasil e de outros países, como Inglaterra, Cuba, México e França, com resultados positivos quanto ao aumento da resistência a parasitas e doenças, tolerância a condições físicas impróprias, florescimento, quebra de dormência de sementes e produção de mudas saudáveis (ARENALES, 1998).

Pesquisa sobre o controle de insetos-praga foi conduzida por FAZOLIN et al. (1999), que verificaram, na “vaquinha do feijoeiro” (*Cerotoma tingomarianus*), o efeito do preparado homeopático feito a partir do próprio inseto. Houve efeito deterrente, ou seja, o inseto consumiu apenas pequena parte das folhas e a planta não teve danos significativos. 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.

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

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; houve rejeição das borboletas pelas plantas tratadas (ALMEIDA et al., 2003).

Em frutos de tomate recém-colhidos e inoculados com o fungo *Fusarium roseum*, causador da “podridão do fruto”, estudos de pós-colheita foram realizados com *Kali iodatum* 149CH e *Thuja* 87CH. Foi verificado que a doença não progrediu nos frutos que receberam os preparados, em relação à testemunha (KHANNA e CHANDRA, 1976).

Trabalhos foram realizados utilizando Homeopatia em diversas áreas: biologia, fitotecnia, toxicologia, endocrinologia, imunologia e enzimologia. Portanto, apesar de utilizar preparações altamente diluídas e não-moleculares, a Homeopatia produz resultados observáveis na matéria densa que forma os seres vivos (POITEVIN, 1994; CASTRO, 2002).

Define-se 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)” (CASALI et al., 2002).

Todo agente que atua no organismo receberá reação deste, em resposta, com maior ou menor intensidade, de acordo com suas possibilidades biológicas, e seu maior ou menor grau de equilíbrio da Energia Vital, assim como a intensidade dos agentes agressores (SCHEMBRI, 1976).

Os preparados homeopáticos atuam na energia vital, 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.), causas 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 ressonância mórfica), sendo, portanto, a Homeopatia libertária e coerente com o princípio de sustentabilidade dos sistemas agrícolas (ANDRADE et al., 2001).

Os medicamentos homeopáticos são preparados a partir de substâncias vegetais, minerais ou animais, industriais e laboratoriais. A liberação do potencial interno depende não só da substância considerada 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).

A preparação do medicamento homeopático obedece a normas precisas e definidas pela Farmacopéia Homeopática (tratado sobre a composição e preparação de medicamentos), a partir das orientações básicas enunciadas por Hahnemann, já em 1810, na primeira edição do Organon. A Farmacopéia Homeopática Brasileira foi oficializada pelo Governo Federal no Decreto nº 78.841, de 25-11-1976, sendo revista e complementada em 1977 pelo Ministério da Saúde (DANTAS, 1989).

Segundo GUTMANN (1990), o efeito dos preparados homeopáticos é devido a informações das moléculas do soluto que, de alguma forma, passam às moléculas do solvente. Sistemas biológicos teriam a capacidade de perceber tais informações e alterar seu comportamento. A sucussão é caracterizada pelo processo de agitação vertical forte, vigorosa contra um anteparo de consistência firme. A retenção dessas informações seria realizada com a presença dos elementos oxigênio, nitrogênio e dióxido de carbono, quando se considera o sistema hidroalcoólico. Em outros sistemas, como a lactose, as moléculas de água que a hidratam seriam responsáveis pela estabilização das informações moleculares.

As soluções homeopáticas se caracterizam pelas dinamizações (diluições e agitações sucessivas), processo que acentua as propriedades sutis de cura (MARKS, 1997), com o intuito de não apenas curar, mas restabelecer o equilíbrio vital do ser.

Pela Farmacologia Informacional, acredita-se que a água veicularia informações sem, no entanto, estarem presentes nas moléculas (BIGNARDI, 1999).

2.5. Metabólitos secundários

Durante a evolução, as plantas, como organismos vivos, desenvolveram sofisticado sistema de defesa, baseado em fatores físicos e químicos. Os mecanismos de defesa física mais evidentes incluem revestimento com tricomas (tectores e 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 (CARVALHO e CASALI, 1999).

Os metabólitos secundários fazem parte da defesa química, sendo a expressão da individualidade química dos organismos e diferem entre espécies, 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 atividade biológica potencial. Desses compostos, destacam-se os flavonóides, os poliacetilenos, os sesquiterpenos e as cumarinas (BIZÃO, 2002).

A riqueza de metabólitos secundários em plantas é 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.

A Homeopatia pode beneficiar todas as espécies de plantas, em qualquer região ou no solo, com a vantagem adicional de ser aplicada facilmente em diversos locais. Agricultores vêm buscando a cada dia conhecer mais sobre a homeopatia (ARENALES, 1998). 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. Assim, na fitoterapia e na indústria farmacêutica, planta medicinal pode ser definida como aquela que possui, em um dos seus órgãos ou em toda ela, substâncias com propriedades terapêuticas (MARTINS et al., 1994).

Muitas espécies medicinais, comestíveis ou não, possuem 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 (ANDRADE e CASALI, 2001). A patogênese é considerada o efeito detectável na experimentação homeopática, e o sintoma patogênico caracteriza o uso agrônomico potencial do preparado e respectiva dinamização.

Devido ao fato de o mecanismo de defesa das plantas medicinais estar associado à produção de metabólitos secundários passíveis de quantificação por análises

apropriadas, tais espécies são consideradas adequadas ao estudo da resposta aos preparados homeopáticos (ANDRADE et al., 2001). Na inexistência da Matéria Médica Homeopática Vegetal, muitas homeopatias vêm sendo experimentadas em plantas consideradas doentes, procurando-se, em todos os casos, obedecer aos princípios da homeopatia (ARENALES, 1998; ANDRADE, 2000).

A reação dos seres vivos à homeopatia depende não da quantidade, mas da potencialidade, ou seja, número de dinamizações, sendo que a reação é individualizada (MENESCAL, 1995).

Em plantas medicinais como chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.), a aplicação de preparados homeopáticos causou respostas do metabolismo secundário, aumentando significativamente o teor de cumarina em 77%, em relação à testemunha, comprovando a aplicabilidade das leis da homeopatia nesses vegetais (ANDRADE, 2000).

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

Arnica montana (preparado homeopático) aplicada sobre artemísia (*Tanacetum parthenium*) causou aumento de massas fresca e seca. O teor de partenolídeo por planta foi menor naquelas tratadas com as potências 1D, 2D, 4D e 5D. A potência 3D não provocou redução significativa no teor de partenolídeo, em comparação com a testemunha (CARVALHO, 2001).

O preparado homeopático *Cuprum* 30CH causou desintoxicação em plantas de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) intoxicadas por sulfato de cobre. Com *Phosphorus* 30CH ocorreu redução de 140% no rendimento de óleo essencial e aumento de 40% na produção de massa das inflorescências frescas, em comparação com a testemunha (ALMEIDA, 2002).

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 (ARMOND, 2003).

Os sistemas vivos dependem de processos bioquímicos complexos que caracterizam o metabolismo. Durante o metabolismo, compostos são sintetizados e degradados via reações mediadas por enzimas. Aqueles processos, comuns a todos os vegetais pelos quais são sintetizados e utilizados açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos e os polímeros derivados (polissacarídeos, proteínas, lipídios, RNA e DNA), constituem o metabolismo primário, executados por vias comuns a todos os

vegetais. Outras vias são, no entanto, utilizadas na produção de compostos que, de forma geral, não parecem ter função direta no crescimento e desenvolvimento, sendo, portanto, os seus produtos denominados compostos secundários ou metabólitos secundários. Assim, pensava-se até recentemente que os compostos secundários não tinham função reconhecida em processos de assimilação, respiração, transporte e diferenciação. No entanto, atualmente já se conhece a inter-relação entre os metabólitos primários e secundários e as diversas funções desempenhadas pelos produtos secundários, como hormônios, pigmentos fotossintéticos, transportadores de elétrons e componentes estruturais de membrana, dentre outras (TAIZ E ZEIGER, 1991).

Os metabólitos secundários possuem estrutura relativamente complexa e distribuição restrita no reino vegetal. Os metabólitos secundários são particularidades de cada espécie ou grupo de espécies relacionadas taxonomicamente, enquanto os metabólitos primários básicos são generalidades encontradas em todo o reino vegetal (TAIZ E ZEIGER, 1991). Por serem sintetizados em células e tecidos específicos, participam ativamente nos processos de crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo de grande importância na sobrevivência, ajudando na sua adaptação e inter-relação com o meio ambiente.

Os princípios ativos são oriundos do metabolismo secundário e constituídos de alguma substância quimicamente bem definida. Com poucas exceções, esses compostos são sempre sintetizados segundo a rota biossintética proveniente da via dos ácidos mevalônico, malônico e do chiquímico. Compostos sintetizados a partir do metabolismo primário, que podem ser utilizados farmacologicamente, como polissacarídeos ácidos (mucilagem) e proteínas, estão incluídos nesse grupo (SWAIN, 1979). As classes mais bioativas dessas substâncias produzidas pelas plantas são: compostos terpênicos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio. Os sítios de acúmulo dessas substâncias podem ocorrer nos mesmos órgãos em que foram sintetizados ou em outra parte da planta, porém a concentração varia substancialmente e vai depender de suas características genéticas e dos estímulos externos (MARTINS et al., 1994; CLEMENTE FILHA, 1996).

Os produtos secundários podem ser divididos em três grupos principais, de acordo com a sua rota biossintética: terpenos ou terpenóides, compostos fenólicos (lignina, flavonóides, isoflavonóides, taninos) e compostos contendo nitrogênio (alcalóides, glicosídeos cianogênicos e glucosinolatos, dentre outros). Vários desses produtos constituem princípios ativos que são matéria-prima utilizadas na indústria

farmacêutica, de cosméticos e na agroindústria. Os metabólitos secundários podem estar presentes em diferentes órgãos vegetais e em concentrações que podem variar em função de fatores internos ou externos à planta, como o estágio de desenvolvimento e condições ambientais (ATROCH, 1999).

As plantas produzem ampla variedade de compostos secundários contendo um grupo fenol, ou seja, uma hidroxila em um anel aromático (TAIZ e ZEIGER, 1991). Essas substâncias são classificadas como compostos fenólicos. Os fenólicos das plantas são grupos quimicamente heterogêneos. Alguns são solúveis apenas em solventes orgânicos, vários são solúveis em água, em ácido carboxílico e em glicosídeos, enquanto outros são polímeros insolúveis (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os fenólicos possuem diversidade química e exercem variáveis funções na planta. Muitos atuam no sistema de defesa contra herbívoros e patógenos, outros no mecanismo de suporte, na atração de polinizadores e dispersores de frutos, ou na redução do crescimento de plantas em competição (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Os fenólicos de plantas são biossintetizados por diversas rotas e, assim, constituem grupo heterogêneo do ponto de vista metabólico. Duas rotas básicas estão envolvidas: a rota do ácido chiquímico e a do ácido mevalônico (TAIZ e ZEIGER, 1991).

A rota do ácido chiquímico participa na biossíntese de muitos fenólicos de plantas. A rota do ácido mevalônico, embora fonte importante de produtos secundários fenólicos em fungos e bactérias, é menos importante em plantas superiores (TAIZ e ZEIGER, 1991).

A rota do ácido chiquímico começa de carboidratos simples e procede a ácidos aromáticos aminados, sendo encontrada em plantas, fungos e bactérias, mas não em animais (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Muitas classes de compostos fenólicos secundários nas plantas são derivadas de fenilalanina e tirosina, e em muitas espécies de plantas o passo-chave na síntese é a conversão da fenilalanina em ácido cinâmico pela eliminação da molécula de amônia. Essa reação é catalisada pela enzima fenilalanina-amônia-liase (PAL), importante enzima reguladora do metabolismo secundário. Em poucas plantas, particularmente em algumas poáceas, a reação-chave na formação de fenólico parece ser análoga à conversão de tirosina a ácido 4-hidroxicinâmico (TAIZ e ZEIGER, 1991).

A atividade da PAL em plantas é controlada por diversos fatores internos e externos, como hormônios, níveis de nutriente, luz (por meio do efeito de fitocromo),

infecção por fungos e fermentos. A infecção por fungos, por exemplo, aciona a transcrição do RNA-mensageiro que codifica a PAL, assim aumentando a síntese de PAL na planta e estimulando a síntese de compostos fenólicos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

2.6. Flavonóides

Os flavonóides constituem uma das maiores classes de compostos fenólicos. O esqueleto básico dos flavonóides contém 15 carbonos em arranjo com dois anéis aromáticos oriundos de duas vias biossintéticas, conectados por uma cadeia de três carbonos aberta ou fechada. O anel provém da via do ácido chiquímico, pela fenilalanina, e o anel se origina de três unidades de acetato na via do ácido malônico (ATROCH, 1999).

Os flavonóides são divididos em várias subclasses. Cada tipo de flavonóide pode ter modificações como hidroxilação, metilação, acilação e glicosilação, resultando em enorme diversidade de flavonóides na natureza (GOMES, 1998).

Os flavonóides são encontrados em diversos alimentos de origem vegetal que fazem parte da dieta humana, como maçã, uva, cebola, repolho, brócolo, chicória, aipo, chá e vinho tinto (COOK e SAMMAN, 1996; BATLOUNI, 1997).

Vários efeitos biológicos têm sido atribuídos aos flavonóides, visto que são capazes, por exemplo, de inibir a peroxidação de lipídeos e a agregação de plaquetas e de ativar sistemas de enzimas, incluindo ciclooxygenase e lipoxigenase. Esses efeitos são devidos à sua capacidade de remover radicais livres e de quelar cátions divalentes (COOK e SAMMAN, 1996).

Os flavonóides são divididos em vários grupos: dentre eles flavonas, flavanonas e flavonóis.

De acordo com BOBBIO e BOBBIO (1995), já foram identificados mais de 300 tipos de flavonas e flavonóis. A distinção entre flavonas e flavonóis é muito pequena, uma vez que os flavonóis são flavonas nas quais a posição 3 está hidroxilada. As flavonas e flavonóis são encontrados em flores; geralmente esses flavonóides absorvem a luz em comprimento de onda mais curto do que as antocianinas e, então, não são visíveis aos humanos (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Flavonas e flavonóis não são restritos às flores, pois também são encontrados nas folhas das plantas. Essas duas classes de flavonóides provavelmente protegem as células da excessiva radiação UV, porque absorvem fortemente a luz nessa região do

espectro (TAIZ e ZEIGER, 1991). Os flavonóis mais comuns são Kaempferol, a Miricetina, a Quercetina e a Rutina (BOBBIO e BOBBIO, 1995).

2.7. Tanino

Os taninos também fazem parte da classe de compostos denominados fenólicos (OLIVEIRA, 1988). Os taninos são substâncias fenólicas solúveis em água, com possibilidades de formar complexos insolúveis em água, com alcalóides, gelatinas e outras proteínas (SIMÕES et al., 1999).

A palavra tanino foi usada para definir o princípio de adstringência da casca de carvalho, que possui a propriedade de curtir a pele de animais (COSTA, 1975).

Nos taninos vegetais, a composição química é muito variável, devido às propriedades dos compostos fenólicos, sendo a adstringência (do latim “ad” = para e “stringere” = apertar) a principal delas. O modo de ação desses compostos envolve a precipitação das proteínas das células superficiais das mucosas e dos tecidos descobertos, formando revestimentos protetores (ZHU et al., 1997, citados por CASTRO, 1998).

O tanino se liga à proteína colágeno do couro do animal, causando a precipitação da proteína, aumentando sua resistência ao calor, à água e aos microrganismos (TAIZ e ZEIGER, 1991). A ação deve-se à reação dos grupos fenólicos com grupos aminas das proteínas. Essa reação explica as suas propriedades hemostáticas, como antídoto, nos casos de intoxicação com alcalóides (ZHU et al., 1997).

Os taninos são considerados os compostos secundários mais importantes envolvidos na defesa da plantas contra insetos e doenças (SWAIN, 1979). Estes são classificados, segundo sua estrutura química, em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados, ambos distribuídos pelo reino vegetal, seguindo padrões significativamente diferentes (FONSECA, 2001).

Os taninos condensados em geral são amplamente distribuídos em plantas lenhosas e ausentes em plantas herbáceas (POZO, 1997; CHUNG et al., 1998).

Os taninos hidrolisáveis caracterizam-se pelo fato de, quando aquecidos à alta temperatura, liberarem o piragalol, denominando taninos piragálicos (COSTA, 1975; ALMEIDA, 1988). As outras formas existentes compreendem o ácido elágico e o ácido gálico na forma de éteres de açúcares, principalmente glicose (CHUNG et al., 1998;

ZUCKER, 1983). Ocorrem em dicotiledôneas herbáceas e lenhosas, porém dentro de limites taxonômicos bem definidos (SIMÕES et al., 2000).

Os taninos hidrolisáveis são divididos em dois tipos: os galotaninos e os elagitaninos. Ambos os tipos possuem carboidratos, tipicamente glicose; porém, com ácido gálico, são definidos freqüentemente como galotaninos e, quando contêm, além de ácido gálico, alguns ácidos elágicos, são chamados de elagitaninos (ZUCKER, 1983).

Exemplo importante de galotaninos é o ácido tânico (chinese tannin), que contém uma glicose esterificada e oito moléculas de ácido gálico (D' MELLO et al., 1991).

No tratamento de diversas moléstias orgânicas, como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais como azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica, problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral na medicina tradicional é prática utilizar plantas ricas em taninos (HASLAM, 1996).

As atividades farmacológicas e biológicas dos taninos têm sido observadas em teste “in vitro”, por vários grupos de estudos, sendo identificadas atividades biológicas dessa classe de substâncias. Dentre essas atividades podem ser citadas: ação bactericida (SCALBERT, 1991), antiviral (OKUDA et al., 1993), moluscida (MARSTON e HOSTEFFMANN, 1985), inibição de enzimas como glucosil transferases em *Streptococcus mutans* e *S. sobrinus* (HATTORI et al., 1990; OOSHIMA et al., 1993) e ação antitumoral (OKUDA et al., 1989).

Acredita-se que as atividades farmacológicas dos taninos são devidas às três características gerais que são comuns, em maior ou menor grau, aos dois grupos de taninos condensados e hidrolisáveis. Essas características são: complexação com íons metálicos (Fe, Mn, Vn, Cu, Al e Ca, entre outros); atividade antioxidante e seqüestradora de radicais livres; habilidade de complexar com outras moléculas, incluindo macromoléculas como proteínas e polissacarídeos (SIMÕES et al., 1999).

Os taninos ajudam no processo de cura de feridas, queimaduras e inflamações, por meio da formação de uma camada protetora (complexo tanino–proteína e, ou, polissacarídeos) sobre a pele da mucosa danificada. Debaixo dessa camada, o processo natural de cura pode acontecer. Processo similar ocorre, provavelmente, em casos de úlcera gástrica, em que uma camada tanino–proteína complexados protege a mucosa do estômago (HASLAM, 1996).

De acordo com WAAGE et al. (1984), MARWAN e NAGEL (1986) e SCALBERT (1991), outros estudos demonstraram que os taninos têm efeitos inibitórios sobre bactérias e fungos.

2.8. Vitamina C

O termo vitamina C, mais difundido, corresponde ao nome original do ácido ascórbico. Suas propriedades químicas mais importantes são a acidez (face de presença de hidrogênio enólico na molécula) e a fácil oxidação a ácido desidroascórbico catalisada por pequenas concentrações de íons metálicos. O ácido desidroascórbico, reduzido a ácido ascórbico por agentes redutores com cisteína, em meio alcalino passa por hidrólise do anel lactônico, produzindo o ácido dicetogulônico. A história da vitamina C está relacionada com a história do escorbuto. Já no século XVIII foi observada a importância das frutas cítricas na profilaxia do escorbuto. Em 1932, a vitamina foi isolada na forma cristalina (ZANINI, 1989).

A vitamina C constitui fator importante na nutrição humana, sendo metabolicamente constituinte essencial. Pode ser encontrada em diversos frutos e hortaliças (CAMBRAIA et al., 1971).

A carência do ácido ascórbico leva à síndrome do escorbuto. As manifestações clínicas da carência de ácido ascórbico referem-se ao metabolismo anormal do tecido conjuntivo (ZANINI, 1989).

Na Faculdade de Medicina, Centro de Química ICUAP, na cidade do México, um grupo vem tratando pacientes com a doença púrpura trombocitopênica idiopática, combinando vitamina C com extrato de *Achillea millefolium* L., como forma de aumentar a taxa plaquetária dos pacientes (BRAVO et al., 2003).

***Achillea millefolium* L.**

Achillea millefolium L. foi selecionada pela Coordenação do Projeto de Fitoterapia do SUS/PR (PEROZIN, 1988). Pertencente à família Asteraceae, é conhecida por sua ação hemostática, antiespasmódica, antiinflamatória, antiprurídica, analgésica e antipirética (CHANDLER et al., 1982).

Achillea millefolium L. é conhecida no Brasil pelos seguintes nomes populares: alevante, aquiléia, aquiléia-mil-flores, aquiléia-mil-folhas, erva de cortadura, erva do

carpinteiro, erva-dos-carreiros, levante, milefólia, mil-folhada, mil-folhas, mil-ramas e pronto-alívio (PEROZIN e FRANCISCO, 1990).

A mil-folhas vem sendo usada na medicina popular desde a Guerra de Tróia, quando, segundo a lenda, o herói grego Aquiles usou as folhas dessa planta com o objetivo de estancar as hemorragias de seus soldados. Devido a esse fato, o nome do gênero *Achillea* ter sido homenagem ao herói (CHANDLER et al., 1982).

A popularidade da mil-folhas entre os povos foi variável no decorrer dos séculos. Quem primeiro registrou suas virtudes foi Dioscórides. Mais tarde suas folhas e extremidades floridas secas foram oficialmente reconhecidas por diversas farmacopéias, como a United States Pharmacopeia (Farmacopéia dos Estados Unidos) de 1836 – 1882; as da Áustria, Hungria, Polônia e Suíça (CHANDLER et al., 1982) e da Farmacopéia Francesa (PARIS e MOYSE, 1971). E sabe-se que o óleo essencial obtido da mil-folhas consta da Roumanian Pharmacopeia (Farmacopéia Romena) (CHANDLER et al., 1982).

Historicamente, o óleo essencial foi que mais despertou o interesse dos pesquisadores pela mil-folhas devido à sua cor azul e propriedades farmacológicas. A cor azul é devida à presença de sesquiterpenos azulênicos. Inicialmente, atribuíram-se ao azuleno as propriedades antiinflamatórias do óleo essencial (HAGGAG et al., 1975; LENKEY, 1961; PARIS e MOYSE, 1971).

Dentre os componentes do óleo essencial de mil-folhas, destacam-se as lactonas sesquiterpênicas, o mentol e a canfôra, aos quais são atribuídas atividades antiinflamatórias e antiprurídica; o eugenol e o mentol, aos quais é atribuída a atividade analgésica local; e o camazuleno, ao qual é atribuída a atividade antipirética. Além disso, creditam-se ao óleo essencial ações carminativa, expectorante e diaforética (CHANDLER et al., 1982).

Dentre a composição fitoquímica da *Achillea millefolium* L., além do óleo essencial, há presença de taninos, mucilagens, resinas, saponinas, esteróides, ácidos graxos, alcalóides, flavonóides (apigenina, luteolina e seus glicosídeos, artemetina, rutina), aminoácidos, vitamina C, ácido salicílico e caféico, minerais P e K, fitosterol, lactonas sesquiterpênicas.

Quanto à forma de cultivo, a mil-folhas propaga-se por divisão de touceiras, por rizomas ou por sementes, que devem ser importadas, pois não são produzidas sementes no Brasil (CASTRO, 1998).

Em solos arenosos e secos, seu porte é menor, mas seu teor em óleo é maior. Nos solos férteis em minerais e matéria orgânica e levemente úmidos, a produção é máxima. Tem restrições aos solos excessivamente úmidos, mas é resistente quando o pH (acidez) é desfavorável (CASTRO, 1998).

Climas úmidos, bem como chuvas excessivas, prejudicam o seu teor em óleos essenciais (CASTRO, 1998).

Não foi observada, até o momento, a incidência de pragas e doenças nessa espécie. Nos frios intensos, conjugados com ventos frios, ocorrem avermelhamento e, mesmo, morte de muitas folhas (CASTRO, 1998).

No processo de colheita, devem-se colher folhas ou toda a planta quando surgem os primeiros botões florais, no caso de fins comerciais (CASTRO, 1998).

CAPÍTULO 1

CRESCIMENTO E TEOR DE TANINO EM PLANTAS DE *Achillea millefolium* L. TRATADAS COM SULPHR 3CH

1. INTRODUÇÃO

A grande maioria das plantas medicinais é coletada no “habitat” e, por maior que seja a sua população, não atende à demanda constante e ininterrupta, principalmente quando a espécie tem várias indicações terapêuticas (PEREIRA, 1999).

A eficácia e a segurança de muitas plantas medicinais já foram comprovadas cientificamente, o que as legitimizam como recurso terapêutico benéfico e indispensável à humanidade. Entretanto, há problemas de vários níveis que limitam o uso como a dificuldade de identificação botânica. Muitas plantas possuem semelhanças morfológicas que só podem ser distinguidas por especialistas (PEREIRA, 1999).

As plantas produzem substâncias destinadas ao crescimento, consideradas compostos do metabolismo primário. Compostos especiais, também denominados metabólitos secundários, são sintetizados por outras rotas metabólicas, produzindo imensa diversidade de estruturas químicas dentro das classes dos alcalóides, flavonóides, cumarinas, terpenóides etc. Os metabólitos secundários exercem importantes funções de proteção contra microrganismos, herbívoros e intempéries ambientais, além de interferirem em processos simbióticos e atração de polinizadores (BRISKIN, 2000).

O consumo de cosméticos e medicamentos elaborados a partir de produtos naturais tem crescido nos últimos anos, estimulando empresas a investir até 10% de seus recursos financeiros em pesquisas com novas substâncias de origem vegetal (NADER e MATEO, 1998).

Mais de 100.000 compostos secundários de plantas já foram isolados e identificados, e a cada ano centenas de novas descobertas têm aumentado esse número. Muitos desses compostos são consumidos diariamente pela população na forma de dentifrícios, sabonetes, perfumes ou, mesmo, ingeridos em alimentos, condimentos, chás e xaropes (PEREIRA, 1999).

Entre os diversos exemplos de substâncias importantes oriundas de plantas com interesse medicinal atualmente, pode ser mencionada a forskolina, obtida de *Coleus barbatius*, com efeito contra hipertensão, glaucoma, asma e tumores; a artemisina, presente em *Artemisia annua*, é outro exemplo e exerce potente atividade antimalárica (KAMCHONWONGPAISON e MESHNICK, 1996). O diterpeno anticancerígeno taxol, isolado de plantas do gênero *Taxus*, após sua síntese em escala industrial, já se encontra disponível no mercado farmacêutico, no tratamento de câncer dos ovários e dos pulmões (FIDELIS, 2003).

A concentração de princípios ativos na planta depende do controle genético e de estímulos proporcionados pelo meio. Assim, quando há deficiência ou excesso de algum fator de crescimento, a concentração pode ser alterada (BROWN JR., 1988; EINHELLIG, 1996).

O metabolismo secundário responde às condições impostas às plantas medicinais no seu crescimento, expressando as reações fisiológicas com vistas à homeostase. Assim, compostos bioativos das plantas medicinais variam de concentração nos tecidos em resposta ao genótipo e ao ambiente. O aumento no teor de compostos bioativos significa incremento no valor terapêutico da espécie na fitoterapia, valorizando a planta como matéria-prima da indústria farmacêutica (DUARTE, 2003).

A aplicação da homeopatia pode proporcionar incremento no teor de compostos bioativos nos tecidos vegetais (DUARTE, 2003).

Em plantas de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.), foi verificado que algumas preparações homeopáticas alteraram os metabolismos primário e secundário. Houve a intensificação e enfraquecimento periódico do crescimento e produção de cumarina (metabólito secundário) com o aumento da dinamização, demonstrando que os vegetais expressam alternância de resposta à homeopatia, semelhantemente ao verificado em

seres humanos. As baixas dinamizações afetam principalmente o metabolismo primário, enquanto as altas afetam o metabolismo secundário, ou seja, com o aumento da dinamização, diminui a resposta detectável no corpo físico da planta, aumentando o conteúdo do metabólito de defesa (ANDRADE, 2000).

Nas várias experimentações com preparados homeopáticos, considera-se a planta sadia, a fim de investigar os respectivos efeitos no organismo doente, com o objetivo de reequilibrá-lo no seu ambiente (CARVALHO, 2001).

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da homeopatia *Sulphur* 3CH sobre o crescimento e a produção de tanino em plantas sadias de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção das plantas

A propagação das plantas de mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) foi feita por meio de rizomas. Os rizomas foram obtidos de plantas com boas características fitossanitárias, coletadas no Horto Medicinal do Grupo Entre Folhas, localizado na Vila Gianetti, Campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

O plantio foi no dia 05/03/04 em vasos de polietileno com capacidade para 6 L, tendo como substrato terra, areia e húmus de minhoca, nas proporções de 3:2: 1, respectivamente.

2.2. Condução do experimento

O experimento foi conduzido durante o período de 05/03/04 a 18/06/04 sob telado, com cobertura de filme transparente de polietileno (100 micras, resistente a UV) e com lateral de sombrite (30% 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), altitude 651 m.

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

2.2.1. Aplicação dos tratamentos

Quando as plantas atingiram 90 dias de idade, em 05/06/2004 iniciou-se a aplicação dos tratamentos.

As plantas foram separadas de acordo com a fase fisiológica de florescimento: plantas floridas e não-floridas. Cada bloco constou de plantas uniformes com fase fisiológica bem caracterizada. O preparado homeopático *Sulphur* 3CH e a testemunha foram diluídos em recipiente de polietileno com volume de 5 L. Os recipientes foram codificados individualmente, de acordo com o tratamento. Foi diluído 0,3 mL em 300 mL de água comum (torneira), homogeneizando em seguida a solução por agitação simples do recipiente.

Foram aplicados aproximadamente 50 mL da solução em cada vaso, na testemunha 50 mL de água destilada, vertendo-se sobre a planta, molhando toda a superfície do solo. As aplicações do preparado homeopático *Sulphur* 3CH e da testemunha (água) foram realizadas em um dia, variando os regimes de aplicação em horas: a) aplicação às 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15 e 17 horas. Após a aplicação foram feitas avaliações no 5^o, 9^o e 12^o dias, e coletou-se a maior folha posteriormente encaminhada à análise fitoquímica. A colheita das plantas foi realizada em 18/06/2004, no período da manhã, 101 dias após o início da formação das mudas e 15 dias após a aplicação dos tratamentos.

Com o auxílio de tesoura de poda, as plantas foram cortadas rente ao solo, conduzidas ao laboratório em sacos de papel tipo Kraft, devidamente identificados e pesadas em balança semi-analítica.

2.2.2. Delineamento experimental

O experimento foi instalado no delineamento blocos casualizados com quatro tratamentos e cinco repetições, no esquema de parcelas subdivididas, tendo na parcela os tratamentos plantas floridas e sem florir, combinados com *Sulphur* 3CH ou testemunha. Nas subparcelas ficaram as épocas de coleta (dos dados de crescimento). As variáveis analisadas foram: altura (ALT), número de folhas (NF), comprimento da maior folha (CMF), largura da maior folha (LMF), comprimento da folha menor (CFM), largura da folha menor (LFM), número de brotações (NBR), número de flores novas (FLN) e de folhas novas (FN). Os dados foram interpretados por meio das

análises de variância e as médias, feitas no programa SAEG (FURNABE, 1985). Os modelos foram escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão, utilizando o teste F. As médias foram comparadas, utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dados do teor de tanino (TAN) foram interpretados por meio da análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, via programa SAEG (FURNABE, 1985).

3.3. Análise de crescimento e patogenesia

De cada planta foram tomados os seguintes dados: altura, número de folhas, comprimento da maior folha, largura da maior folha, comprimento da folha menor, largura da folha menor, número de brotações, número de flores novas e número de folhas novas, durante as fases de desenvolvimento vegetativo, em intervalos de 15 dias, até o momento da aplicação dos preparados; a partir desse momento, o intervalo foi reduzido a dois dias.

3.3.1. Altura das plantas (ALT)

Foi obtida com régua graduada em centímetros, tomando-se a medida a partir do nível do solo até a região apical da planta.

3.3.2. Número de folhas (NF)

Foram consideradas somente as folhas verdes e maiores que 1 cm.

3.3.3. Comprimento da maior folha e comprimento da menor folha (CMF; CFM)

Foram obtidas com régua graduada em centímetros, tomando-se a medida a partir da inserção no caule até o ápice da folha.

3.3.4. Largura da maior folha e largura da folha menor (LMF; LFM)

Foram obtidas com régua graduada em centímetros, tomando-se a medida na região central mediana da folha.

3.3.5. Número de brotações (NB)

Foi obtido pela contagem acumulativa das brotações laterais emitidas pela planta.

3.3.6. Número de flores novas (FLN)

Foi realizada a contagem dos capítulos floridos recém-abertos a partir da aplicação dos tratamentos.

3.3.7. Número de folhas novas (FN)

Foi realizada a contagem de folhas novas a partir de 1 cm emitidas pela planta a partir da aplicação dos tratamentos.

3.4. Extração de tanino

A extração de tanino foi feita em plantas secas porque, de acordo com FONSECA (2001), é inconveniente a extração de tanino em tecidos frescos, tornando-se indispensável a realização da operação de secagem.

O método de análise utilizado foi o espectrofotométrico, conforme o Método Oficial de Análise da Association of Agricultural Chemist (AOAC, 1970).

Na extração de tanino (fenóis totais), utilizaram-se amostras de 100 mg da planta seca e triturada submetida a três extrações consecutivas. Cada extração foi realizada com 3 mL de metanol a quente, aproximadamente 55 °C em tubos de ensaio com duração de 10 min. Após a extração, o extrato foi pipetado e filtrado em frascos de 30 mL, completando-se o volume até 10 mL com metanol 100%. O volume foi completado em 10 mL. Na preparação da curva-padrão, foram adicionados em tubos de ensaio de 15 mL: solução-padrão de ácido tânico (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; e 1,0 mL), 7,5 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente de Folin-Denis e 1,0 mL de solução saturada de Na₂CO₃, diluindo a 10 mL de água. Após, verteu-se a solução em agitador de tubos até a total homogeneização da solução. Aguardou-se o repouso da mistura por 30 min. Foi determinada a absorvância em 760 nm, obtendo-se a curva-padrão com a absorvância em função de mg de ácido tânico/100 mL. A concentração do ácido tânico na solução-padrão foi de 25 mg de ácido tânico/250 mL água.

A leituras foram feitas em espectrofotômetro de duplo feixe Hitachi U-2000, sendo realizada uma leitura por amostra. Na preparação da amostra destinada à leitura de absorvância, adicionaram-se 7,5 mL de água destilada, 0,5 mL de Folin Denis e 1 mL de solução saturada de carbonato de sódio a 0,1 mL de extrato, completando-se a solução a 10 mL. Após 30 min de repouso, realizou-se a leitura de absorvância em 760 nm (de acordo com a curva padrão). A concentração das amostras foi determinada em mg de ácido tânico/100mL. De acordo com esses valores, posteriormente calculou - se a percentagem de tanino por 100 mg de amostra de planta desidratada, unidade adotada na análise de variância. Essas análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Mineral do Departamento de Fitotecnia UFV.

3.5. Preparo de reagentes

3.5.1. Folin-Denis

Foram adicionados 75 mL de água, 10 g de tungstato de sódio, 2 g de ácido fosfomolibdico e 5 mL de ácido fosfórico. A mistura foi refluxada por duas horas e, após o resfriamento à temperatura ambiente, completou-se o volume até 100 mL.

3.5.2. Solução saturada de carbonato de sódio

Adicionaram-se 35 g de Na_2CO_3 anidro em 100 mL de água destilada, dissolvido a 70-80 °C. Deixou-se resfriar por toda à noite.

3.5.3. Solução-padrão de ácido tânico

Foram dissolvidos 25 mg de ácido tânico em 250 mL de água destilada em balão volumétrico. Em cada determinação da curva-padrão, preparou-se nova solução-padrão de ácido tânico.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise do crescimento

A aplicação do preparado homeopático *Sulphur* 3CH em oito regimes de aplicação (7, 8, 9, 10, 11,13, 15, 17 h), em um único dia, não alterou as variáveis de crescimento. Os resumos da análise de variância são apresentados na Tabela 1. A interação entre os tratamentos e a época não foi significativa.

Resultados semelhantes foram encontrados por CARVALHO (2001), que após aplicação de *Arnica montana*, na escala centesimal em plantas de *Tanacetum parthenium*, verificou que a altura das plantas e o número de folhas não foram alterados significativamente.

DUARTE (2003) obteve resultados semelhantes em plantas de *Ageratum conyzoides*, submetidas ao isoterápico. Esses resultados foram coerentes com ANDRADE (2000) em plantas de chambá (*Justicia pectoralis*). Foi concluído que as soluções homeopáticas auxiliam a retomada do equilíbrio, explicando o fato de os tratamentos não influenciarem o crescimento das plantas.

Nos Quadros 1, 2 e 3, dentre as variáveis de crescimento analisadas, não se constataram diferenças significativas entre tratamentos. Segundo ANDRADE (2001), pode-se inferir que a não-interferência dos tratamentos possa ser decorrente do equilíbrio existente nas plantas. O organismo sadio quando recebe doses de determinada homeopatia reage conforme a patogenesia desse medicamento. No entanto, esse resultado é positivo, uma vez que não houve patogenesia das substâncias experimentadas; a planta manteve seu crescimento, sem limitação, em função dos tratamentos.

Tabela 1 – Resumo da análise de variância da altura (ALT), número de folhas (NF), comprimento da maior folha (CMF), largura da maior folha (LMF), comprimento da folha menor (CFM), largura da folha menor (LFM), número de brotações (NBR), número de folhas novas (FN), número de flores novas (FLN) de plantas de *Achillea millefolium* L., dados do experimento realizado em Viçosa, MG, no período de março a junho de 2004

FV	GL	QUADRADO MÉDIO								
		ALT	NF	CMF	LMF	CFM	LFM	NBR	FN	FLN
Tratamento (T)	3	2335,49 ^{ns}	18602,24 ^{ns}	59,45 ^{ns}	6,126 ^{ns}	3,672 ^{ns}	1,824 ^{ns}	31,777 ^{ns}	937,70 ^{ns}	89,79 ^{ns}
Resíduo (a)	12	2079,20	2051,10	11,07	15,886	15,522	0,915	14,791	511,80	83,08
Época (E)	2	1103,56 ^{ns}	5300,467 ^{ns}	4,3625 ^{ns}	1,5541 ^{ns}	21,45 ^{ns}	1,125 ^{ns}	17,716 ^{ns}	460,016 ^{ns}	5,516 ^{ns}
T x E	6	122,99 ^{ns}	1140,84 ^{ns}	1,651 ^{ns}	1,9597 ^{ns}	9,176 ^{ns}	0,337 ^{ns}	0,894 ^{ns}	56,63 ^{ns}	21,22 ^{ns}
Resíduo (b)	32	345,12	1345,20	4,59479	2,52500	5,9229	0,9833	0,37083	77,900	24,581
CV	%	4,85	35,48	7,34	13,57	18,84	27,46	8,61	47,07	88,29

^{ns} - não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 1 – Valores médios de altura (ALT), número de folhas (NF), comprimento da maior folha (CMF), largura da maior folha (LMF), comprimento da folha menor (CFM), largura da folha menor (LFM), número de brotações (NBR), número de folhas novas (FN), número de flores novas (FLN) de plantas de *Achillea millefolium* L. Dados obtidos no quinto dia após a aplicação da homeopatia *Sulphur* 3CH. Viçosa, MG, março a junho de 2004

Tratamentos	ALT (cm)	NF (unid.)	CMF (cm)	LMF (cm)	CFM (cm)	LFM (cm)	NBR (unid.)	FN (unid.)	FLN (unid.)
Planta com flor <i>Sulphur</i>	73,3	118,0	28,6	11,4	11,7	3,7	4,6	18,6	5,0
Testemunha	62,5	79,4	29,6	12,1	10,7	3,3	6,2	11,6	6,8
Planta sem flor <i>Sulphur</i>	67,5	102,4	30,2	12,7	12,3	3,3	6,2	19,6	3,6
Testemunha	46,4	53,0	26,7	9,8	14,0	3,4	8,8	6,0	0,0

Quadro 2 – Valores médios de altura (ALT), número de folhas (NF), comprimento da maior folha (CMF), largura da maior folha (LMF), comprimento da folha menor (CFM), largura da folha menor (LFM), número de brotações (NBR), número de folhas novas (FN), número de flores novas (FLN) de plantas de *Achillea millefolium* L. Dados obtidos no nono dia após a aplicação da homeopatia *Sulphur* 3CH. Viçosa, MG, março a junho de 2004

Tratamentos	ALT (cm)	NF (unid.)	CMF (cm)	LMF (cm)	CFM (cm)	LFM (cm)	NBR (unid.)	FN (unid.)	FLN (unid.)
Planta com flor <i>Sulphur</i>	79,0	132,0	29,4	11,8	13,1	4,1	5,0	28,8	6,8
Testemunha	69,8	97,6	30,6	12,3	12,7	3,9	6,4	12,4	6,8
Planta sem flor <i>Sulphur</i>	72,2	110,8	31,1	11,4	10,5	3,2	6,2	22,0	7,6
Testemunha	49,6	63,6	25,4	10,9	13,6	2,9	8,8	10,0	2,8

Quadro 3 – Valores médios de altura (ALT), número de folhas (NF), comprimento da maior folha (CMF), largura da maior folha (LMF), comprimento da folha menor (CFM), largura da folha menor (LFM), número de brotações (NBR), número de folhas novas (FN) e número de flores novas (FLN) de plantas de *Achillea millefolium* L. Dados obtidos no décimo segundo dia após a aplicação da homeopatia *Sulphur* 3CH. Viçosa, MG, março a junho de 2004

Tratamentos	ALT (cm)	NF (unid.)	CMF (cm)	LMF (cm)	CFM (cm)	LFM (cm)	NBR (unid.)	FN (unid.)	FLN (unid.)
Planta com flor <i>Sulphur</i>	81,7	190,0	30,0	12,1	14,5	4,4	6,8	28,8	7,0
Testemunha	74,6	105,8	30,5	12,4	14,1	3,9	8,0	22,4	7,8
Planta sem flor <i>Sulphur</i>	82,0	117,0	31,3	11,9	14,8	3,9	8,4	32,6	9,6
Testemunha	53,4	70,0	27,0	11,7	13,0	3,4	9,4	10,8	3,2

De acordo com a Matéria Médica (LATHOUD, 2002; VOISIN, 1987), o *Sulphur* possui extensa patogenesia, sendo considerado policresto. Assim, pode atuar no metabolismo geral e ser promissor nas pesquisas com vegetais (ANDRADE, 2000).

Com relação à variável NB em função da época de aplicação dos tratamentos, não há diferença estatística a 5% pelo teste de Tukey. Larcher (1986) relatou que, quando a planta atinge a maturidade necessária ao florescimento, os surtos de crescimento do corpo vegetativo combinam-se com o ciclo reprodutivo e ora se processam simultaneamente, ora alternadamente de acordo com a espécie vegetal.

A análise de variância na Tabela 2 indica que houve diferença na concentração de tanino em função da época de coleta. Pelo teste F a 5% de probabilidade, observou-se que houve interação entre a época de colheita e a aplicação dos tratamentos na concentração de tanino das plantas.

Pelo Quadro 4, constata-se que no quinto e nono dias de colheita houve numericamente maior concentração de tanino. No quinto dia ocorreu diferença significativa do efeito do *Sulphur*. Ao nono dia, observou-se que houve diferença significativa entre os tratamentos *Sulphur* planta florida e testemunha planta sem florir. No décimo segundo dia não ocorreu diferença entre os tratamentos. Esses resultados estão coerentes com a Lei de Royal, em que potências baixas (neste caso o preparado homeopático *Sulphur* 3CH, é considerado de baixa potência) têm efeito rápido, porém menos duradouro.

Tabela 2 – Resumo da análise de variância do teor de tanino (TAN) em função das épocas após a aplicação em plantas de *Achillea millefolium* L., experimento realizado em Viçosa, MG, no período de março a junho de 2004

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS
		TAN
Bloco (B)	4	0,002424608
Tratamento(T)	3	0,1163732
Resíduo (a)	12	0,002573997
Época (E)	2	0,03314662*
T x E	6	0,01487439*
Resíduo (b)	32	0,002704075
C.V		15,70

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

Quadro 4 – Valores médios do teor de tanino (%) das plantas de *Achillea millefolium* L., em função das épocas (E) de coleta de dados. Viçosa, MG, 2004

Tratamentos (T)	E (5 dias)	E (9 dias)	E (12 dias)
Planta com flor <i>Sulphur</i>	0,558 A	0,470 A	0,346 A
Testemunha	0,310 B	0,303 BC	0,270 A
Planta sem flor <i>Sulphur</i>	0,298 B	0,381 AB	0,260 A
Testemunha	0,256 B	0,257 C	0,258 A

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

Houve maior concentração de tanino nas plantas tratadas com *Sulphur* e floridas (Quadro 4). De acordo com SÁ (1992) foi observado maior concentração de tanino em plantas de *Bacharis myrioccephala*, no período de plena floração, concluindo que a quantidade de compostos produzidos está relacionada com os períodos de vida do vegetal, havendo maior produção na época da floração, quando o metabolismo se torna mais intenso. Entretanto, durante a condução do experimento a quantidade de

inflorescências após a secagem não permitiu amostragem suficiente que viabilizasse a análise de tanino.

Resultados semelhantes foram encontrados por FIDELIS (2003), em plantas de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski, tratadas com *Sulphur* 3CH. Foi verificado que no quinto dia após a aplicação da homeopatia *Sulphur* 3CH houve maior concentração de tanino. REZENDE (2004) observou que a aplicação única do preparado homeopático do adubo em cafezais causou efeito, variando o intervalo de aplicação em cada região. Esse tipo de efeito obtido pela aplicação da dose única dá suporte tecnológico ao agricultor.

5. CONCLUSÕES

Não houve efeito de *Sulphur* 3CH nas variáveis de crescimento em plantas de *Achillea millefolium* L.

Houve resposta das plantas de *Achillea millefolium* L. às aplicações de *Sulphur* 3CH. As plantas respondem à presença do preparado homeopático, via metabolismo secundário, com o aumento do teor de tanino, quando comparado com a testemunha que não tem a informação do preparado homeopático.

Foi maior a concentração de tanino no quinto e nono dias após a aplicação do *Sulphur* 3CH.

A resposta ao preparado homeopático em plantas de mil-folhas revelou que a Homeopatia interfere no metabolismo secundário, aumentando o teor de tanino.

CAPÍTULO 2

EFEITO DA APLICAÇÃO DE PREPARADOS HOMEOPÁTICOS NA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

1. INTRODUÇÃO

A necessidade foi, é e continuará sendo a grande alavanca que impulsiona a humanidade. A dor fez que o ser humano buscasse o analgésico e a doença, o remédio. Portanto, é fácil inferir que o uso de partes de plantas no combate às doenças seja tão antigo quanto a própria humanidade (OLIVEIRA et al., 1996).

O uso de plantas medicinais pelo ser humano se confunde com a história da humanidade, e é notória sua utilização através dos tempos e das civilizações (TERRA e PIMENTA, 2004).

O reconhecimento das potencialidades das plantas medicinais está relacionado ao crescente interesse pelos alimentos e produtos ecológicos e pelos remédios naturais, cujo uso se encontra outra vez em franca expansão.

A pesquisa científica internacional, além de confirmar os efeitos medicinais de muitas plantas, também trouxe novas descobertas sobre a composição química das diversas espécies vegetais, com interesse terapêutico (BENOR et al., 1997).

“Nada é mais imaturo na ciência do que a crença que nada pode ser aprendido do passado”, dizia o Prof. Tyler, em seu artigo “Phytomedicines: Back to the Future”. Examinando o passado, vê-se que a história do desenvolvimento dos fármacos ocorreu

em etapas: no começo a matéria-prima vegetal era encontrada no ambiente; depois, os fármacos foram concentrados visando melhorar a intensidade e uniformidade dos efeitos. Na seqüência, à medida que o progresso da química se impunha, as substâncias ativas puderam ser isoladas e, finalmente, usadas como protótipos de moléculas sinteticamente elaboradas, as quais possuíam atividade ainda maior. Apesar do aumento na síntese de novos medicamentos, com crescimento do arsenal terapêutico disponível, estudos indicam que pelo menos um terço dos pacientes tratados pela medicina convencional nos Estados Unidos faz uso da fitoterapia, segundo avaliou o NIH (National Institute of Health) (FETROW e ÁVILA, 1999), ainda que muitos deles deixem de revelar o uso das plantas medicinais aos médicos.

De fato, em 1990 a indústria de fitoterápicos vendeu, em sete países da Comunidade Européia, 2,4 bilhões de dólares. Nos Estados Unidos em 1995, esse valor foi 3,2 bilhões de dólares, com crescimento anual de 25% desde então. Assim, a fitoterapia, que é utilizada pela humanidade há muitos séculos, não é modismo, mas seu uso vem se generalizando, passando a fazer parte da moderna prática médica (NEWALL et al., 1996, citados por AURICCHIO e BACCHI, 2003).

Nos últimos anos, as plantas medicinais tornaram-se importante fonte de produtos naturais biologicamente ativos; 25% dos medicamentos do mercado farmacêutico possuem extratos em sua composição, alguns dos quais têm sido usados como matéria-prima de drogas semi-sintéticas (BERGMANN et al., 1997).

A procura por propriedades terapêuticas de produtos naturais tem levado à pesquisa dos princípios ativos de várias espécies vegetais. Metabólitos secundários como alcalóides, terpenóides, flavonóides, considerados no passado como inativos, são hoje ferramentas importantes no tratamento e na investigação clínica (SANTOS, 2003).

O metabolismo secundário manifesta-se em células e tecidos específicos, em determinados estágios de crescimento de plantas superiores, e a expressão desse metabolismo está intimamente correlacionada com o crescimento e a diferenciação morfológica de células (CERQUEIRA et al., 2003).

Uma das características mais importantes da maioria dos metabólitos secundários é a sua distribuição restrita na natureza, que limita a espécie adequar-se às condições impostas pelo ambiente. É possível que alguns desses compostos não sejam essenciais à planta, mas em geral devem ter algum significado biológico, presumindo-se que possuam alguma função, provavelmente específica (GROS et al., 1985).

Os fenóis comuns em plantas não são considerados tóxicos em quantidades e condições normais, com exceção dos fenóis poliméricos denominados taninos, que possuem a propriedade de complexar e precipitar proteínas em soluções aquosas (SALUNKHE et al., 1990).

Os taninos pertencem ao grupo de compostos fenólicos do metabolismo secundário das plantas (BUTLER et al., 1984) e são definidos como polímeros fenólicos solúveis em água que precipitam proteínas (HASLAM, 1996). São polímeros de ocorrência natural, que exercem grande influência no valor alimentício de forragens (MANGAN, 1988).

Os taninos são caracterizados pela capacidade de combinarem com proteínas da pele animal no processo de curtimento do couro, inibindo a putrefação (DESHPANDE et al., 1986). Esses compostos também são considerados potentes inibidores de enzimas devido à complexação com proteínas enzimáticas (NACZK et al., 1994).

Os taninos estão amplamente distribuídos dentro do reino vegetal, sendo comuns tanto em espécies de gimnospermas quanto em angiospermas. Dentro das angiospermas, os taninos são mais comuns nas dicotiledôneas do que nas monocotiledôneas (CANNAS, 1999).

Os taninos são encontrados principalmente nos vacúolos das plantas. Nesses locais, não interferem no metabolismo da planta, somente após lesão ou morte desta (CANNAS, 1999). Previnem a degradação rápida da planta no solo (BUNN, 1988), causando aumento de nutrientes que servem como estoque da planta no próximo período de crescimento (SYNGE, 1975).

Há controvérsias em relação à função fisiológica dos taninos na planta. SALATINO et al. (1988) suspeitavam de que os taninos pudessem funcionar como reguladores de crescimento em plantas. O aumento da ocorrência de taninos nas células periféricas e o do conteúdo de tanino decorrentes do incremento luminoso fazem parte do mecanismo de proteção contra o estresse causado pela luz solar.

Segundo GETACHEW (1999), os taninos parecem ter função importante na proteção das plantas contra estresses ambientais, como baixa fertilidade do solo e seca.

Os flavonóides abrangem uma das maiores classes de compostos fenólicos. São substâncias encontradas em diversos tipos de alimentos. Além disso, são os pigmentos mais importantes nas cores das flores. Essas substâncias provavelmente ocorrem em todas as angiospermas e são esporadicamente encontradas em membros de outros grupos. Nas folhas, os flavonóides bloqueiam a penetração da radiação ultravioleta, que

danifica os ácidos nucléicos e as proteínas. Absorvem luzes de cores azul, verde e vermelha, que são importantes na fotossíntese (RAVEN et al., 1996).

Depois que as células fotossintetizantes deixam de existir, os flavonóides são liberados e podem ser detectados em extratos e resinas de plantas. Muitos componentes da classe dos flavonóides possuem cores atraentes e, como consequência, têm função fundamental na ecologia das plantas, tornando flores e frutos atraentes a abelhas e pássaros. Não há nenhuma evidência de que os flavonóides possam ser produzidos em células animais; aparecem em células humanas, mas provenientes de alimentos de origem vegetal (KUHNAU, 1976).

As plantas evoluíram produzindo flavonóides com diversas funções, além das já citadas, como proteção contra fungos parasitas, herbívoros, organismos patogênicos e injúrias que possam causar oxidação às células vegetais. Essas substâncias se tornaram, também, fonte de alimento dos insetos que promovem a polinização (SWAIN, 1996; HARBORNE, 1988).

O crescimento e a adaptação da planta a ambientes variados relaciona-se à sua eficiência fotossintética que, por sua vez, depende, dentre outros fatores, dos teores de clorofila da folha. A síntese e a degradação das clorofilas dependem diretamente da intensidade de luz. Sendo a velocidade de decomposição maior com alta radiação luminosa, então o equilíbrio é estabelecido, com concentração mais baixa (ATROCH, 1999).

O fluxo de fótons no processo fotossintético precisa ser absorvido por alguma molécula, como clorofila e fitocromo, e assim produzir efeito. O subsequente comportamento dessa molécula depois de absorver luz determinará seu uso e efeito sobre a planta: fotoperíodo ou trófico (WHATLEY e WHATLEY, 1982; CARVALHO e CASALI, 1999). No entanto, nem toda a radiação que atinge as plantas tem efeito sobre elas. A radiação fisiologicamente ativa é aquela que tem comprimento de onda que induz respostas fisiológicas nas plantas (WHATLEY e WHATLEY, 1982; BERNARDES, 1987).

As plantas são transformadoras primárias de energia solar, por meio da fotossíntese, sendo sua eficiência fator determinante da produtividade agrícola. Os incrementos em produtividade potencial das plantas têm sido derivados, principalmente, do aumento da proporção de massa seca acumulada nas partes de aproveitamento econômico e pouco em função de aumentos nas taxas de crescimento (BERNARDES, 1987).

A relação entre fotossíntese e produtividade é muito complexa. A inexistência de relação direta é provavelmente explicada pela dependência da produtividade das culturas e da taxa de assimilação líquida. A produtividade não é determinada somente pela taxa fotossintética, mas também pela dimensão da área foliar, duração do período vegetativo, arquitetura da copa, respiração, transporte e partição de fotoassimilados (BERNARDES, 1987). O fluxo fotossintético de fótons que atinge as folhas é dado pela irradiância, que é fluxo radiante interceptado por unidade de área (BERNARDES, 1987).

De acordo com pesquisas recentes, a utilização da Homeopatia na otimização de fármacos ativos das plantas medicinais é nova alternativa com grande potencial (ANDRADE, 2000).

Sendo a Homeopatia recomendada oficialmente na agricultura orgânica, os estudos são fundamentais quanto ao conhecimento básico das reações, interações homeopatia/plantas, além da avaliação das possibilidades na agricultura (ANDRADE, 2000).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta em plantas de *Achillea millefolium* L., expressa em crescimento e produção de taninos, flavonóides, vitamina C e clorofila, às dinamizações 3CH de quatro preparados homeopáticos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção das plantas

A propagação das plantas de mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) foi feita por meio de rizomas. Estes foram obtidos de plantas com boas características fitossanitárias, coletadas no Horto Medicinal do Grupo Entre Folhas, localizado na Vila Gianetti, no Campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

O plantio foi no dia 04/09/04 em vasos de polietileno com capacidade para 6 L, tendo como substrato terra, areia e húmus de minhoca, nas proporções de 3:2:1, respectivamente.

2.2. Condução do experimento em vasos

O experimento foi conduzido durante o período de 04/09/04 a 05/12/04 no telado, com cobertura de filme transparente de polietileno (100 micras, resistente a UV) e com lateral de sombrite 30% de sombreamento, nas dependências do Departamento de Fitotecnia da UFV, em Viçosa, MG.

As coletas de dados de crescimento foram feitas durante 30 dias após o plantio. Os vasos foram dispostos na bancada, de acordo com os tratamentos, de forma a evitar interferência durante a aplicação dos preparados homeopáticos e de modo que as plantas não se tocassem.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições e cinco tratamentos, totalizando 25 parcelas experimentais por época, contendo uma planta/vaso, num total de 75 parcelas experimentais.

Os dados foram interpretados por meio de análises de variância e regressão. Os modelos foram escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste de “t” a 5% de probabilidade e o coeficiente de determinação. Nas variáveis altura, número de folhas, comprimento e largura da maior folha, comprimento e largura da menor folha, número de brotações e número de inflorescências, os dados foram interpretados por meio de análises de variância e regressão. Quanto ao fator qualitativo, as médias foram comparadas, utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade. No fator quantitativo, utilizou-se a regressão e os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste de “t” a 5% de probabilidade e o coeficiente de determinação.

Os tratamentos foram constituídos pelas homeopantias na dinamização 3CH, ou seja, escala centesimal hahnemanniana e na terceira potência. No momento da aplicação, foi preparada a solução com 0,8 mL de homeopatia, em 800 mL de água, aplicada via irrigação com volume aproximado de 50 mL por vaso, realizada entre 7 e 7h30, em intervalos de cinco dias, a partir do plantio.

Os tratamentos utilizados foram: *Sulphur* 3CH, *Kali carbonicum* 3CH, *Silicea* 3CH, *Natrum muriaticum* 3CH e a testemunha água.

As matrizes das homeopantias foram adquiridas de Laboratório Homeopático idôneo, na dinamização 2CH.

De acordo com FARMACOPÉIA (1977), o preparado homeopático deve preencher apenas 2/3 do volume do frasco em que será armazenado. Portanto, sendo o frasco utilizado de 30 mL, apenas 20 mL foram preenchidos. Respeitando-se a relação gota:volume, acima citada, por meio de proveta graduada, mediram-se 99 gotas do álcool, que mais se aproximava dos 2/3 de volume do frasco, chegando-se à proporção de 0,3 mL da tintura-mãe para 20 mL de etanol 70% v/v.

No Laboratório de Homeopatia do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, no preparo dos tratamentos foi vertido 0,3 mL das respectivas homeopantias 2CH, de acordo com a relação volume x volume; fechou-se o vidro com batoque, levando-o ao equipamento dinamizador braço mecânico, que fez 100 sucussões. Após a sucussão, retirou-se o batoque e fechou-se o frasco com cânula de vidro e bulbo plástico, estando pronto o medicamento 3CH.

2.3. Colheita do experimento

Foram feitas coletas de folhas de mil-folhas a cada cinco dias, antes da aplicação dos tratamentos, visando a uma posterior análise fitoquímica.

A colheita da parte aérea e das raízes foi feita de acordo com cada época.

A primeira colheita foi realizada em 04/10/2004 durante o período da manhã, 30 dias após o plantio das mudas nos vasos. Com o auxílio de tesouras de poda higienizadas com álcool 70%, as plantas foram cortadas próximas ao solo e acondicionadas em sacos de papel Kraft, sendo conduzidas, em seguida, ao laboratório. As raízes foram lavadas em água corrente e acondicionadas em sacos de papel e transferidas ao laboratório. Anteriormente à colheita foram coletados 2 g de folhas, aproximadamente, acondicionadas em caixa de isopor contendo nitrogênio líquido (-180 °C), objetivando quantificar a vitamina C.

A segunda colheita foi realizada em 04/11/2004, durante o período da manhã, 60 dias após o plantio das mudas nos vasos. As demais etapas seguiram o mesmo procedimento.

A terceira colheita foi realizada em 03/12/2004, 90 dias após o plantio das mudas nos vasos. As demais etapas seguiram o mesmo procedimento da primeira colheita.

Imediatamente após a chegada das plantas ao laboratório, realizou-se a pesagem, determinando a massa da parte aérea fresca e massa das raízes frescas. Em seguida, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e colocadas em estufa de circulação forçada a ± 35 °C, permanecendo até peso constante; foram retiradas e pesadas, determinando-se a massa da parte aérea seca e a massa das raízes secas. As determinações de massa foram realizadas em balança digital.

As folhas coletadas a cada cinco dias, antes da aplicação dos tratamentos, durante as três épocas, seguiram o mesmo procedimento de pesagem e secagem descritos anteriormente. Entretanto, após a obtenção da massa seca, as folhas secas foram trituradas e acondicionadas em papel-alumínio e envoltas com sacos de papel Kraft até o momento das análises fitoquímicas.

2.4. Determinação das variáveis

Foram determinadas as seguintes variáveis: massa da parte aérea fresca; massa das raízes fresca e seca; conteúdo de clorofila a,b e a/b; conteúdo de tanino em porcentagem; conteúdo de flavonóides; e conteúdo de vitamina C.

2.5. Variáveis de crescimento

2.5.1. Altura das plantas (ALT)

Foi obtida com régua graduada em centímetros, tomando-se a medida a partir do nível do solo até a região apical da planta.

2.5.2. Número de folhas (NF)

Foram consideradas somente as folhas verdes e maiores que 1 cm.

2.5.3. Comprimento da maior e da menor folha

Foi obtido com régua graduada em centímetros, tomando-se a medida a partir da inserção no caule até o ápice da folha.

2.5.4. Largura da maior e da folha menor

Foi obtida com régua graduada em centímetros, tomando-se a medida na região central mediana da folha.

2.5.5. Número de brotações

Foi obtido pela contagem acumulativa das brotações laterais emitidas pela planta.

2.6. Extração de tanino

A extração de tanino foi feita conforme o procedimento descrito no capítulo 1.

2.7. Extração de flavonóides

A extração foi feita a partir de amostras de 1 g das folhas secas e trituradas de mil-folhas. Em tubos de ensaio, adicionou-se 1 g das folhas com 30 mL de metanol 70%. Os tubos foram identificados de acordo com cada tratamento e a extração, feita a quente, em banho-maria, com temperatura aproximada de 60 °C, pelo tempo de 1h15. Os extratos resultantes foram filtrados em balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com metanol 70%.

Preparo da curva-padrão

No preparo da curva-padrão foram adicionados em tubos de ensaio, solução padrão de rutina (0; 2,0;4,0; 6,0; 8,0;10,0; e 12,0 mL) em (49,0; 48,0; 47,0; 46,0; 45,0; e 44,0 mL de metanol 70% e 1 mL de cloreto de alumínio 10%. Verceu-se a solução em agitador de tubos e determinou-se a absorvância, após 30 min a 425 nm, obtendo-se a curva-padrão com absorvância de mg de rutina /100 mL.

As leituras das amostras foram feitas em espectrofotômetro de duplo feixe Hitachi U-200. Na preparação das amostras destinadas à leitura de absorvância, pipetaram-se 5,0 mL do extrato em balão volumétrico 50 mL, ao qual foi adicionado 1,0 mL de cloreto de alumínio e completou-se o volume com metanol 50%. Após a adição dos reagentes, verteram-se os balões três vezes, com o intuito de homogeneizar a solução. Após 30 min, foi feita a leitura em espectrofotômetro com absorvância 425 nm.

2.8. Extração de vitamina C

O teor de vitamina C foi determinado em amostras de aproximadamente 2 g de tecido fresco, em metodologia modificada de Pergollato e Pergolatto (1985).

A extração foi realizada em almofariz, com 10 mL de ácido sulfúrico a 20%, mais 2 g da amostra das folhas frescas. O extrato foi filtrado em algodão, e pipetou-se uma alíquota de 10 µL do extrato em béquer de 100 mL. Adicionaram-se ao extrato do béquer 10 mL de ácido sulfúrico 20%, 1 mL de iodeto de potássio 10% e 2 mL de amido de milho (maizena) 2%; em seguida, titulou-se com KIO₃. A reação foi observada pela mudança de cor (PERGOLATTO e PERGOLATTO, 1985).

2.9. Extração de clorofila

A metodologia de extração de clorofila foi adaptada de Arnon (1949), modificada utilizando metanol 100% em banho-maria a 55 °C, durante 10 min, sendo o sobrenadante filtrado em algodão. Foi feita a leitura das absorvâncias clorofila (a) a 663 nm e da clorofila (b) a 645 nm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Colheita aos 30 dias

As Tabelas 3 e 4 resumem a análise de variância da massa da parte aérea de folhas frescas e secas e do teor de tanino e flavonóides nas folhas e raízes, indicando que houve diferença significativa a 5% de probabilidade entre os tratamentos. As massas de raízes frescas e secas não foram significativas.

Pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, observou-se que o preparado homeopático *Sulphur* 3CH causou aumento na massa da parte aérea fresca de folhas e secas da parte aérea das plantas (Quadro 5). Castro (2002), em plantas de Capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.), observou que a homeopatia *Sulphur* produziu a maior variação no peso da matéria seca, com picos de valores altos e baixos, visíveis nas dinamizações 12 CH e 30 CH.

Quanto à massa de folhas secas no tratamento com a homeopatia *Natrum muriaticum* 3CH (Quadro 5), ocorreu o menor valor (PMS). No entanto, o teor de tanino (Quadro 5) foi maior nas plantas tratadas com esse preparado. De acordo com Castro (1999), recomendações em vegetais e animais devem ser feitas com base na analogia dos sintomas descritos nos livros de Matéria Médica, extrapolando os sintomas até que obtenha o quadro patogenésico nos animais e vegetais. *Natrum muriaticum*, o sal, ou cloreto de sódio, é considerado um dos principais policrestos da homeopatia, sendo a patogenesia extensa e com sintomas variados. Dentre os sintomas patogenésicos destacam-se os distúrbios de retenção de água (WEINER, 1994). Por analogia dos

Tabela 3 – Análise de variância da massa da parte aérea total fresca (MPATF), massa da parte aérea total seca (MPATS), massa das raízes frescas (MRF) e massa das raízes secas (MRS) de plantas de *Achillea millefolium* L. tratadas com preparados homeopáticos, colheita de 30 dias. Viçosa, MG, período de setembro a outubro de 2004

FV	GL	Quadrado Médio			
		MPATF	MPATS	MRF	MRS
Tratamento (T)	4	322,1131**	37,3238**	188,7059 ^{ns}	7,4793 ^{ns}
Resíduo	20	54,6165	2,0945	107,4169	3,2817
Média Geral	–	28,1412	5,5080	20,4064	2,9980
C.V(%)	–	26,26	26,27	50,78	60,42

** e ^{ns} significativo a 1% e não-significativo a 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Tabela 4 – Resumo da análise de variância do tanino das folhas (TANFOL), tanino das raízes (TANR), flavonóides das folhas (FLAVOFOL), flavonóides das raízes (FLAVORAIZ) e vitamina C (VIT C) de plantas de *Achillea millefolium* L. tratadas com preparados homeopáticos, colheita de 30 dias, em Viçosa, MG, período de setembro a outubro de 2004

FV	GL	Quadrados Médios				
		TANFOL	TANR	FLAVOFOL	FLAVORAIZ	VIT C
Tratamento (T)	4	0,05311**	0,013832**	0,001785 ^{ns}	0,00000956 ^{ns}	0,000002219**
Resíduo	20	0,00275	0,000086	0,000149	0,00015800	0,000000232
Média geral	–	0,431	0,205	0,0684	0,0265	0,0046

** e ^{ns} significativo a 1% e não-significativo a 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Quadro 5 – Valores médios da massa parte aérea total fresca MATF (g), massa parte aérea total seca MATS (g), tanino das folhas TANF (%), tanino das raízes TANR (%), clorofila B CLO B, razão clorofila a/b CLO A/B, vitamina c VIT C (mg/g), das plantas de *Achillea millefolium* L., 30 dias após a aplicação dos tratamentos homeopáticos, Viçosa, 2004

TRAT	MATF	MATS	TANF	TANR	CLO B	CLO A/B	VIT C
<i>Sulphur</i>	40,81 A	9,68 A	0,539 A	0,248 A	2,267 A	2,006 A	0,0055 A
<i>Kali carbonicum</i>	30,58 A B	5,64 B	0,461 A B	0,242 A	1,595 B	1,986 A	0,0049 A B
<i>Silicea</i>	25,95 B	5,62 B	0,461 A B	0,239 A	1,506 B	1,851 A B	0,0049 A B
<i>Natrum muriaticum</i>	22,83 B	4,52 B C	0,434 B	0,149 B	1,311 B	1,816 A B	0,0044 B C
Testemunha	20,52 B	2,13 C	0,261 C	0,145 B	1,304 B	1,270 B	0,0037 C
C.V. (%)	26,26	26,27	12,15	4,52	20,21	18,18	10,29

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

sintomas descritos no modo de ação de *Natrum muriaticum* em plantas de mil-folhas consideradas sadias, a princípio não causaria mudança do estado atual, ou seja, qualquer alteração retrataria a patogênese (ação primária), conforme o princípio da experimentação (LISBOA, 2005). Pode-se inferir que, por causa da menor massa da parte aérea seca, houve maior perda de água nas amostras e, conseqüentemente, maior concentração do tanino em relação à testemunha.

O mesmo tipo de resposta aconteceu no teor de tanino das raízes, após o tratamento. *Natrum muriaticum*, *Sulphur* e *Kali carbonicum* causaram aumento no teor de tanino em relação à testemunha. O efeito dos preparados homeopáticos sobre a clorofila consta no Quadro 5. Houve efeito significativo de *Sulphur*, em relação à testemunha. O resumo da análise de variância das variáveis clorofila a, b e razão clorofila a/b são apresentados na Tabela 5. O *Sulphur* causa extensa patogênese, por essa razão é promissora a sua utilização em vegetais. Dentre os sintomas descritos, destacam-se a alteração no metabolismo (VOISIN, 1987). Comportamento contrário ocorreu (Quadro 5), entre as clorofilas a e b e razão clorofila a/b, em que o tratamento *Sulphur* provocou menor razão clorofila a/b, em relação à testemunha. A razão clorofila a/b significa que, quanto mais alta essa correlação para b, a tendência seria menor incidência de luz no ambiente. De acordo com Castro (2002), na ciência homeopática é comum observar que a mesma solução pode causar efeitos muito distintos, de acordo com a dinamização, ora estimulando muito, ora estimulando pouco o organismo, ocorrendo essa observação na prática clínica desde a época de Hahnemann (GODOY, 1988). No tratamento *Kali carbonicum*, houve maior teor de Vitamina C.

3.2. Colheita aos 60 dias

O resumo da análise de variância das variáveis massa da parte aérea total fresca (MPATF), massa da parte aérea total seca (MPATS), massa das raízes frescas (MRF) e massa das raízes secas (MRS) consta da Tabela 6. As variáveis MPATS, MRATF e MRS não foram influenciadas pelos tratamentos. A massa da parte aérea fresca foi aumentada pelo preparado *Sulphur*, em relação à testemunha.

Castro (2002), em plantas de chambá, verificou que *Sulphur* causou menor valor de matéria fresca, em relação aos demais tratamentos, demonstrando os efeitos distintos que a mesma solução pode causar.

Tabela 5 – Resumo de análise variância de clorofila A (CLOA), clorofila B (CLO B) e clorofila AB (CLOA/B), de plantas de *Achillea millefolium* L. tratadas com preparados homeopáticos, colheita de 30 dias. Viçosa, MG, período de setembro a outubro de 2004

FV	GL	Quadrados Médios		
		CLOA	CLOB	CLOA/B
Tratamento (T)	4	0,065001 ^{NS}	0,78132**	4,4958**
Resíduo	20	0,035557	0,10423	0,1054
Média geral	-	2,680	1,597	1,786
C.V(%)	-	7,03	20,21	18,18

** e ^{NS} significância a 1% e não-significativo a 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Tabela 6 – Análise de variância da massa da parte aérea total fresca (MPATF), massa da parte aérea total seca (MPATS), massa das raízes frescas (MRF) e massa das raízes secas (MRS) de plantas de *Achillea millefolium* L. tratadas com preparados homeopáticos, colheita de 60 dias. Viçosa, MG, período de outubro a novembro de 2004

FV	GL	Quadrado Médio			
		MPATF	MPATS	MRF	MRS
Tratamento (T)	4	1195,6560**	7,4894 ^{NS}	470,4774 ^{NS}	15,7849 ^{NS}
Resíduo	20	180,1850	8,2030	369,8420	9,8100
Média geral	-	39,67	7,39	36,46	6,60
C.V(%)	-	33,83	38,72	52,73	47,46

** e ^{NS} significativo a 1% de probabilidade e não-significativo a 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

As variáveis, teor de tanino nas folhas e raízes, teor de flavonóides nas folhas e raízes, clorofila B e vitamina C não foram influenciadas significativamente pelos tratamentos, conforme o resumo da análise de variância (Tabelas 7 e 8).

A homeopatia *Sulphur* 3CH causou maior teor de clorofila a e maior razão clorofila a/b (Quadro 6), ao contrário da colheita aos 30 dias, quando o teor de clorofila b foi maior. A aplicação de *Sulphur* causa efeitos, ora estimulando, ora reduzindo

Tabela 7 – Resumo da análise de variância do tanino das folhas (TANFOL), tanino das raízes (TANR), flavonóides das folhas (FLAVOFOL), flavonóides das raízes (FLAVORAIZ) e vitamina C (VIT C) de plantas de *Achillea millefolium* L. tratadas com preparados homeopáticos, colheita de 60 dias. Viçosa, MG, período de outubro a novembro de 2004

FV	GL	Quadrado Médio				
		TANFOL	TANR	FLAVOFOL	FLAVOR	VIT C
Tratamento (T)	4	0,01002 ^{ns}	0,00088 ^{ns}	0,01298 ^{ns}	0,0000101 ^{ns}	0,0000002 ^{ns}
Resíduo	20	0,00537	0,00703	0,00578	0,0000258	0,0000008
Média geral	–	0,479	0,104	0,527	0,018	0,003
C.V(%)	–	15,29	25,44	14,44	28,12	35,66

** e ^{ns} significativo a 1% de probabilidade pelo teste F e não-significativo pelo teste F a 5% de probabilidade, respectivamente.

Tabela 8 – Resumo da análise de variância de clorofila A (CLOA), clorofila B (CLO B), clorofila AB (CLOA/B), de plantas de *Achillea millefolium* L. tratadas com preparados homeopáticos, colheita de 60 dias. Viçosa, MG, período de outubro a novembro de 2004

FV	GL	Quadrado Médio		
		CLO A	CLOB	CLOAB
Tratamento (T)	4	0,70884 **	0,036745 ^{ns}	0,072951**
Resíduo	20	0,12089	0,026956	0,013089
Média geral	–	2,709	1,781	1,521
CV(%)	–	19,52	6,06	17,51

** e ^{ns} significativo a 1% de probabilidade e não-significativo, respectivamente, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Quadro 6 – Valores médios da parte aérea total fresca PATF em (g), clorofila A CLO A, razão clorofila a/b, das plantas de *Achillea millefolium* L., aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos homeopáticos. Viçosa, 2004

TRATAMENTOS	PATF (g)	CLO A	CLO A/B
<i>Sulphur</i>	66,81 a	2,223 a	0,791 a
<i>Silicea</i>	36,17 b	2,160 a b	0,780 a
<i>Natrum muriaticum</i>	34,25 b	1,545 bc	0,580 a b
<i>Kali carbonicum</i>	33,02 b	1,507 bc	0,561 b
Testemunha	28,09 b	1,419 c	0,552 b
C.V (%)	33,83	19,52	17,51

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

(CASTRO, 2002). Conforme Andrade (2000), é preciso entender os vegetais como seres vivos dinâmicos, com o intuito de avaliar a interpretação desses resultados. Não existindo linearidade e havendo variação, tem-se a possibilidade de a planta viver estados diversos de defesa próprios do seu ritmo natural e causados pela informação homeopática.

3.3. Colheita 90 dias

Conforme o resumo da análise de variância da Tabela 9, verifica-se que não houve efeito de tratamento nas variáveis massa da parte aérea total fresca (MPATF), massa da parte aérea total seca (MPATS), massa das raízes frescas (MRF) e massa das raízes secas (MRS). Na Tabela 11, os dados indicam que não houve efeito do tratamento sobre a variável clorofila a, clorofila b e entre a razão clorofila a/b, indicando, talvez, a redução de final de ciclo nas plantas de mil-folhas. Conforme Rezende (2004), na aplicação repetida em cafezais adota-se a interpretação de que, por crescerem continuamente, surgem novos estados com novos quadros de sintomas, demandando outras doses. Desse modo, as plantas de mil-folhas, quando receberam as doses do preparado nessa fase final do ciclo, passaram a assimilar menos do que o necessário à sua reserva energética. Na variável tanino nas raízes, o preparado homeopático *Sulphur* causou maior teor nas raízes. Nesse caso, as plantas de mil-folhas,

Tabela 9 – Análise de variância da massa da parte aérea total fresca (MPATF), massa da parte aérea total seca (MPATS), massa das raízes frescas (MRF) e massa das raízes secas (MRS) de plantas de *Achillea millefolium* L. tratadas com preparados homeopáticos, colheita de 90 dias. Viçosa, MG, no período de novembro a dezembro de 2004

FV	GL	Quadrado Médio			
		MPATF	MPATS	MRF	MRS
Tratamento (T)	4	118,5140 ^{ns}	3,2415 ^{ns}	47,0903 ^{ns}	7,6470 ^{ns}
Resíduo	20	93,2840	9,8222	62,7500	6,2606
Média geral	–	31,43	8,99	17,64	6,34
C.V(%)	–	30,72	34,83	44,90	39,46

** e ^{ns} significativo a 1% de probabilidade pelo teste F e não-significativo pelo teste F a 5% de probabilidade, respectivamente.

Tabela 10 – Resumo da análise de variância do tanino das folhas (TANFOL), tanino das raízes (TANR), flavonóides das folhas (FLAVOFOL), flavonóides das raízes (FLAVORAIZ) e vitamina C (VIT C) de plantas de *Achillea millefolium* L. tratadas com preparados homeopáticos e colheita de 90 dias. Viçosa, MG, período de novembro a dezembro de 2004

FV	GL	Quadrado Médio				
		TANFOL	TANR	FLAVOFOL	FLAVOR	VIT C
Tratamento (T)	4	0,0056000 ^{ns}	0,002011 ^{**}	0,018535 ^{**}	0,000051 ^{ns}	0,0000022 ^{**}
Resíduo	20	0,0121730	0,000323	0,004728	0,000073	0,0000002
Média geral	–	0,320	0,074	0,429	0,027	0,005
C.V(%)	–	34,42	24,27	16,03	32,34	10,29

** e ^{ns} significativo a 1% de probabilidade e não-significativo pelo teste F a 5% de probabilidade, respectivamente.

Tabela 11 – Resumo da análise de variância de clorofila A (CLOA), clorofila B (CLOB) e clorofila A/B (CLOA/B) de plantas de *Achillea millefolium* L. tratadas com preparados homeopáticos, colheita de 90 dias. Viçosa, MG, período de novembro a dezembro de 2004

FV	GL	Quadrado Médio		
		CLO A	CLOB	CLOAB
Tratamento (T)	4	0,0223590 ^{ns}	0,0689548 ^{ns}	0,1144079 ^{ns}
Resíduo	20	0,0290089	0,1127142	0,1228009
Média Geral	–	2,664	1,537	1,800
C.V(%)	–	6,39	21,83	19,48

** e ^{ns} significância a 1% de probabilidade e não-significativo pelo teste F a 5% de probabilidade, respectivamente.

ao receberem o preparado homeopático, intensificaram suas potencialidades de defesa na produção de metabólitos, na retomada do equilíbrio. Observou-se que o teor de flavonóides das folhas na testemunha não difere dos demais tratamentos (Quadro 7). *Kali carbonicum* promoveu patogênese, diminuindo o teor de flavonóides, analogicamente, de acordo com a Matéria Médica Homeopática, organismos sadios tratados com *Kali carbonicum*; com frequência, não conseguem encontrar a expressão correta, cometendo erros de fala. As plantas de mil-folhas quando tratadas com esse medicamento não conseguiram se expressar metabolicamente.

Verificou-se que houve efeito de *Kali carbonicum* aos 90 dias, fenômeno semelhante ao que ocorreu na colheita aos 30 dias. EIZAYAGA (1992) afirmou que o equilíbrio com o tratamento homeopático nos seres humanos é atingido após várias fases em que o organismo responde, porém, com instabilidade. As respostas observadas em plantas de mil-folhas tratadas com *Kali carbonicum* não foram contínuas, pois alternaram com picos de altos e baixos. Plantas de mil-folhas tratadas com *Kali carbonicum* tiveram aumento no teor de vitamina C. De acordo com GODOY (1993), determinadas dinamizações nos organismos vivos promovem respostas marcantes, bem perceptíveis. Cada homeopatia causa efeitos particulares no ser vivo, sendo a Ciência Homeopática essencialmente experimental, pois as reações das substâncias são estudadas em seres saudáveis (KENT, 1996).

Quadro 7 – Valores médios de tanino nas raízes TANR (%), flavonóides das folhas (FLAVOFOL) e vitamina C (Vit C) mg/g das plantas de *Achillea millefolium* L. aos 90 dias após a aplicação dos tratamentos homeopáticos. Viçosa, MG, 2004

TRATAMENTO	TAN R	FLAVO FOL	VIT C
<i>Sulphur</i>	0,092 a	0,475 a	0,0055 a
<i>Silicea</i>	0,080 a	0,469 a	0,0049 a b
<i>Natrum muriaticum</i>	0,087 a	0,459 a b	0,0049 a b
<i>Kali carbonicum</i>	0,069 a b	0,410 a b	0,0044 b c
Testemunha	0,041 b	0,330 b	0,0037 c
C.V (%)	24,27	16,03	10,29

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

Avaliação do crescimento em plantas de mil-folhas ao final de 30 dias

As variáveis de crescimento foram avaliadas no período de 30 dias, no intervalo de coleta de dados a cada cinco dias, e encontram-se representadas na Tabela 12. As equações de regressão ajustadas constam nos Quadros 8 a 14.

As variáveis número de folhas, comprimento e largura da folha menor não foram influenciadas pelas aplicações dos preparados homeopáticos em função da época. DUARTE (2003), estudando plantas de mentrasto, também não observou diferenças significativas em relação ao número de folhas, o qual teve aumento linear, não sendo influenciado pelas soluções. De acordo com ANDRADE (2000) e considerando que as soluções homeopáticas auxiliam a retomada do equilíbrio, pode-se inferir que a não-interferência dos tratamentos no crescimento das plantas possa estar relacionada ao equilíbrio natural da planta em relação às características avaliadas. Portanto, não foi detectado patogenesisia.

Pelo resumo da análise de variância da Tabela 12, as variáveis de crescimento altura, comprimento e largura da folha maior e número de brotações tiveram alterações significativas nas aplicações dos tratamentos em função da época.

Tabela 12 – Resumo de análise de variância da altura (ALT), número de folhas (NF), comprimento da maior folha(CMF), largura da maior folha (LMF), comprimento da folha menor (CFM), largura da folha menor (LFM) e número de brotações (NB) de plantas de *Achillea millefolium* L., obtidos em Viçosa, MG, no período de setembro a outubro de 2004, após o tratamento com preparados homeopáticos

FV	GL	Quadrados Médios						
		ALT	NF	CMF	LMF	CFM	LFM	NB
Tratamento (T)	4	44,9444 ^{ns}	104,95 ^{ns}	50,582 ^{ns}	5,0802*	103,24 ^{ns}	3,8226 ^{ns}	6,976 ^{ns}
Resíduo (a)	20	15,6573	48,1700	14,999	3,4545	57,238	0,23213	3,32000
Época (E)	5	557,609 ^{ns}	366,854 ^{ns}	577,919 ^{ns}	234,149 ^{ns}	162,295*	8,6239 ^{ns}	8,5880 ^{ns}
TxE	20	7,954753**	17,224 ^{ns}	6,93205*	3,01166*	72,944 ^{ns}	1,90384 ^{ns}	1,1446 **
Resíduo (b)	10	3,5582	11,654	3,5398	1,5458	62,0628	0,2828	0,5000
CV(%) parcela		26,79	92,29	26,09	31,50	41,10	22,40	154,41
CV(%) subparcela	-	12,76	45,35	12,67	21,05	35,17	22,43	59,92
MediaGeral	-	14,77	7,52	14,84	5,90	5,82	2,15	1,18

^{ns}, * e ** não-significativo e significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Quadro 8 – Equações de regressão ajustadas da altura das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão	R ²
<i>Sulphur</i>	$Y=10,1867+0,37542^{***}E$	0,86
<i>Kali carbonicum</i>	$Y=4,82800+0,516114^{***}E$	0,81
<i>Silicea</i>	$Y=5,39467+0,558400^{***}E$	0,84
<i>Natrum muriaticum</i>	$Y=4,95200+0,511886^{***}E$	0,93
Testemunha	$Y=6,44133+0,443543^{***}E$	0,92

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 9 – Equações de regressão ajustadas do número de folhas das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão	R ²
<i>Sulphur</i>	$Y=1,66667+0,502857^{**}E$	0,91
<i>Kali carbonicum</i>	$Y=6,83$	
<i>Silicea</i>	$Y=7,16$	
<i>Natrum muriaticum</i>	$Y=3,26667+0,120000^{*}E$	0,60
Testemunha	$Y=9,60000 - 0,75285^{**}E+0,30000^{**}E^2$	0,76

* e ** significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

Quadro 10 – Equações de regressão ajustadas do comprimento da maior folha das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão	R ²
<i>Sulphur</i>	$Y=9,72000+0,415429^{***}E$	0,93
<i>Kali carbonicum</i>	$Y=4,59467+0,536114^{***}E$	0,84
<i>Silicea</i>	$Y=5,39467+0,558400^{***}E$	0,84
<i>Natrum muriaticum</i>	$Y=4,95200+0,511886^{***}E$	0,93
Testemunha	$Y=6,44133+0,443543^{***}E$	0,92

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 11 – Equações de regressão ajustadas da largura da maior folha das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão	R ²
<i>Sulphur</i>	$Y=6,21$	
<i>Kali carbonicum</i>	$Y=0,392000+0,309600^{*}E$	0,74
<i>Silicea</i>	$Y=1,10133+0,305257^{*}E$	0,57
<i>Natrum muriaticum</i>	$Y=1,33733+0,241486^{*}E$	0,62
Testemunha	$Y=5,406687-1,22519^{*}E+0,120359^{*}E^2-0,00262370^{*}E^3$	0,95

*significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 12 – Equações de regressão ajustadas do comprimento da folha menor das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão	R ²
<i>Sulphur</i>	$Y=4,0800+0,112000*E$	0,64
<i>Kali carbonicum</i>	$Y=5,05$	
<i>Silicea</i>	$Y=2,44$	
<i>Natrum muriaticum</i>	$Y=2,87733+0,119771*E$	0,72
Testemunha	$Y=4,51$	

*significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 13 – Equações de regressão ajustadas da largura da folha menor das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão
<i>Sulphur</i>	$Y=2,53$
<i>Kali carbonicum</i>	$Y=2,06$
<i>Silicea</i>	$Y=2,44$
<i>Natrum muriaticum</i>	$Y=2,09$
Testemunha	$Y=1,63$

*significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 14 – Equações de regressão ajustadas do número de brotações das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão	R ²
<i>Sulphur</i>	Y=0,320000-0,0788571**E	0,67
<i>Kali carbonicum</i>	Y=-0,20000-0,0514586**E	0,42
<i>Silicea</i>	Y=1,06	
<i>Natrum muriaticum</i>	Y=0,2000+0,0342857**E	0,70
Testemunha	Y=0,81333333-0,04685 **E	0,42

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

Os modelos de regressão ajustados dos efeitos dos tratamentos sobre as variáveis altura, comprimento e largura da folha maior e número de brotações das plantas de mil-folhas constam dos Quadros 8, 10, 11 e 14.

De acordo com ANDRADE (2000), as manifestações dos seres vivos são diversificadas e constantes na natureza. Detectar variabilidade na planta decorrente da interação genótipo–ambiente significa detectar também a expressão de vida regulada pelo princípio vital.

CARVALHO((2001), em plantas de *Tanacetum parthenium*, observou efeito pequeno na altura, em plantas tratadas com *Arnica montana* a partir dos 30 dias. CASTRO (2002), em plantas de beterraba tratadas com *Phosphorus*, verificou que as dinamizações causaram efeito desde de 10 dias após a sementeira em plantas com adubação orgânica e a partir dos 28 dias após a sementeira em plantas sem adubação orgânica.

Na largura da folha maior (Quadro 11), houve efeito linear dos tratamentos *Silicea*, *Natrum muriaticum* e *Kali carbonicum*. No tratamento *Sulphur* não houve efeito da época. Na testemunha, percebeu-se o acréscimo a partir do décimo quinto dia, até por volta do vigésimo quinto dia, bem como decréscimo no final, pelo fato de ter ocorrido senescência das folhas. CASTRO (2002), em plantas de beterraba, observou que o maior incremento na variável comprimento da maior folha ocorreu na dinamização 3CH, tanto na condição de adubação orgânica quanto sem adubação orgânica.

Na variável número de brotações (Quadro 14), nos tratamentos *Sulphur*, testemunha, *Kali carbonicum* e *Natrum muriaticum* houve efeito linear, ressaltando-se que *Sulphur* aumentou o número de brotações em relação aos demais. Quanto ao tratamento *Silicea*, não houve alteração significativa no número de brotações.

A aplicação dos preparados homeopáticos a cada cinco dias, de acordo com o resumo da análise de variância (Tabela 13) em relação ao conteúdo dos compostos analisados, foi significativa a 5% de probabilidade, em função da época de aplicação.

Tabela 13 – Resumo da análise de variância de tanino (TAN), clorofila A (CLOA), clorofila B (CLOB), clorofila A/B (CLO AB) e flavonóides (FLAVO) extraídos de folhas de plantas de *Achillea millefolium* L. tratadas com preparados homeopáticos

FV	GL	Quadrado Médio				
		TAN	CLOA	CLOB	CLOAB	FLAVO
Tratamento (T)	4	0,03308772**	3,318788**	5,501955**	18,88841**	0,02044607**
Resíduo (a)	20	0,007131776	0,1141043	0,04743992	0,4063561	0,0057864
Época (E)	4	0,14945 ^{ns}	4,8880 ^{ns}	10,0737 ^{ns}	35,9073 ^{ns}	0,0076768 ^{ns}
T x E	16	0,048308**	1,287042**	1,301449**	7,404141**	0,03015790**
Resíduo (b)	80	0,011593	0,13106	0,065130	0,58634	0,0058012
CV (%) subparcela	-	34,18	15,64	18,61	30,27	76,98
CV(%) parcela	-	26,89	14,59	15,89	37,74	89,40
Media Geral	-	0,314	2,314	1,370	1,689	0,098

^{ns} e ** não-significativo e significativo a 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

De acordo com ANDRADE (2000), a resposta do organismo a qualquer preparado homeopático depende da similaridade, da dinamização, do tempo e da forma de aplicação.

Verificou-se que os dados das plantas de mil-folhas tiveram comportamento linear (Quadro 15). Efeito positivo foi o aumento do teor de tanino causado pelo preparado homeopático *Sulphur*. FONSECA (2001) constatou maior teor de tanino em plantas de *Porophyllum ruderale* no período de plena floração, contrariando esses resultados quanto à inferência de que *Sulphur* teria causado precocidade na produção de tanino (Quadro 15).

Quadro 15 – Equações de regressão ajustadas do teor de tanino (%) das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão	R ²
<i>Sulphur</i>	$Y=0,192900+0,0107640** E$	0,45
<i>Kali carbonicum</i>	$Y=-0,250800+0,149743*E+0,0121134*E^2+0,000290000*E^3$	0,99
<i>Silicea</i>	$Y=-0,478040+0,212999**E-0,0159629**E^2+0,000356267**E^3$	0,98
<i>Natrum muriaticum</i>	$Y=-0,714280+0,301553**E-0,0236540** E^2+0,000538267**E^3$	0,77
Testemunha	$Y=0,262$	

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

Na testemunha não ocorreu efeito. Nos demais tratamentos houve comportamento cúbico. Observaram-se oscilações, ou seja, ora diminuindo, ora aumentando, considerado por MILANESE (1991), movimento universal, ou seja, na natureza tudo se processa em movimentos rítmicos. De acordo com KENT (1996), na ciência da homeopatia é comum esse tipo de comportamento de alternância, ou seja, de acordo com a dinamização da homeopatia e da afinidade do organismo com a substância.

É relevante salientar que o mesmo comportamento do teor de tanino ocorreu com relação ao conteúdo das clorofilas a e b, respectivamente (Quadros 16 e 17), ou seja, na testemunha não houve efeito. Entretanto, *Sulphur* causou efeito linear em função da época. A alternância da resposta dos demais tratamentos, ou seja, ora aumentando, ora reduzindo, pode ser explicado pela hipótese de a planta ter estados de defesa devido ao ritmo natural (ANDRADE, 2000) e pela informação homeopática (CASTRO, 2002).

Quanto à variável conteúdo de clorofila a/b (Quadro 18), os tratamentos *Sulphur*, *Natrum muriaticum* e testemunha não causaram efeito significativo nas épocas. O preparado *Silicea* causou picos de efeitos positivo e negativo alternados. Verificou-se que na resposta de *Kali carbonicum* houve ponto de máximo, ou seja, limite no incremento dos compostos aos 20 dias após o plantio.

Verificou-se que houve efeito da época em cada tratamento. *Sulphur*, *Natrum muriaticum* e a testemunha não causaram efeito significativo no teor de flavonóides (Quadro 19). *Silicea* e *Kalium carbonicum* causaram efeito quadrático, o pico aos

Quadro 16 – Equações de regressão ajustadas do teor de clorofila a (%) das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão	R ²
<i>Sulphur</i>	$Y=2,06428+0,0826263^{**} E$	0,59
<i>Kali carbonicum</i>	$Y=-3,01736+1,65733^{**}E-0,146845^{**}E^2+0,00359720^{**}E^3$	0,91
<i>Silicea</i>	$Y=-0,408600+0,667636^{**}E-,0468354^{**}E^2+0,00100907^{**}E^3$	0,62
<i>Natrum muriaticum</i>	$Y=-0,861760+0,765121^{**}E-0,0521991^{**} E^2+0,00109933^{**}E^3$	0,70
Testemunha	$Y=2,374$	

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 17 – Equações de regressão ajustadas do teor clorofila b% das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão	R ²
<i>Sulphur</i>	$Y=-3,75760+1,4742^{**}E-0,116580^{**}E^2+0,00264467^{**}E^3$	0,72
<i>Kali carbonicum</i>	$Y=-2,18932+0,793589^{**}E-0,0408983^{**}E^2+0,000662400^{**}E^3$	0,99
<i>Silicea</i>	$Y=-4,86236+1,72957^{**}E-0,133287^{**}E^2+0,00297253^{**}E^3$	0,86
<i>Natrum muriaticum</i>	$Y=-5,78292+2,02641^{**} E-0,16009^{**} E^2+0,00367800^{**}E^3$	0,88
Testemunha	$Y=1,039$	

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 18 – Equações de regressão ajustadas do teor clorofila ab% das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão	R ²
<i>Sulphur</i>	Y=3,229	
<i>Kali carbonicum</i>	Y=4,74387- 0,530278**E +0,015360**E ²	0,98
<i>Silicea</i>	Y=11,9141-3,01073**E+0,252955**E ² – 0,00593952**E ³	0,99
<i>Natrum muriaticum</i>	Y=2,706	0,99
Testemunha	Y=2,788	0,95

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

Quadro 19 – Equações de regressão ajustadas do teor de flavonóides (%) das plantas de *Achillea millefolium* L., em função da época (E) e após o início das aplicações dos tratamentos homeopáticos, e os respectivos coeficientes de determinação

Tratamentos	Equação de Regressão	R ²
<i>Sulphur</i>	Y=0,09	
<i>Kali carbonicum</i>	Y=0,659040-0,0653617**E +0,00170686**E ²	0,95
<i>Silicea</i>	Y=-0,0724400+0,0234749 **E-0,000695429 ** E ²	0,76
<i>Natrum muriaticum</i>	Y=0,08	
Testemunha	Y=0,07	

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t.

20 dias causado por *Silicea* coerente com CASTRO (1999), que detectou aceleração no desenvolvimento das plantas com *Silicea*, podendo-se inferir que ao incrementar o metabolismo primário, reprimiria o metabolismo secundário. Em *Kali carbonicum*, ocorreu queda brusca aos 20 dias, podendo ser que justamente aos 20 dias houve incremento no crescimento. De acordo com HARBORNE (1996), as plantas reagem, expressando-se na dualidade crescimento ou defesa (metabólito secundário).

4. CONCLUSÕES

Nas plantas de mil-folhas tratadas com a dinamização 3 CH dos preparados homeopáticos *Sulphur*, *Silicea*, *Natrum muriaticum* e *Kalium carbonicum* não houve alterações significativas nas variáveis de crescimento estudadas.

Houve efeito dos preparados homeopáticos nas variáveis de produção da massa da parte aérea fresca e seca na colheita, feita aos 30 e 60 dias após o plantio.

As respostas das plantas aos preparados homeopáticos com relação aos compostos analisados refletem alterações no metabolismo secundário, alterando o ritmo natural da planta, havendo flutuação da resposta, ou seja, ora aumentando, ora diminuindo os teores de tanino, flavonóides e clorofila.

CAPÍTULO 3

ANATOMIA QUANTITATIVA DE FOLHAS DE *Achillea millefolium* L. (ASTERACEAE) SUBMETIDAS A PREPARADOS HOMEOPÁTICOS

INTRODUÇÃO

A maior frequência de pesquisas com plantas medicinais tem sido nas áreas de fitoquímica, farmacognosia e fitotecnia. Na fitoquímica, as plantas são caracterizadas em função dos compostos bioativos, os quais têm sido isolados em laboratório e submetidos à análise estrutural detalhada. Pesquisas na farmacognosia têm envolvido ensaios de bioatividade, identificação de modos de ações potenciais e sítios-alvo de compostos farmacotivos. As pesquisas dentro da agronomia têm se concentrado no crescimento máximo ou ótimo das plantas, particularmente importante no caso de plantas medicinais que ainda são obtidas por extrativismo e cujas condições de cultivo ainda são desconhecidas. A coleta de plantas medicinais nativas tem causado perda de biodiversidade, além disso, nas amostras há variação potencial na qualidade das plantas e, ocasionalmente, identificação incorreta (BRISKIN, 2000).

De acordo com HENKEL et al. (1999), dos 30 mil compostos naturais bioativos, 27% são provenientes de vegetais, ressaltando-se a importância do estudo desse grupo pela farmacognosia no mundo (KINGHORN, 2001). Assim, informações que faziam parte apenas da sabedoria popular de determinada região foram validadas cientificamente e divulgadas, auxiliando pessoas no planeta todo.

A utilização das plantas medicinais é tão antiga quanto a espécie humana, que desenvolveu a arte de curar em consequência de longo processo de experimentação e cuja existência está ligada aos processos naturais, assim como a sobrevivência dependia do aprender a distinguir plantas malélicas, comestíveis e curativas (ATISSO, 1979).

As plantas medicinais são assim consideradas devido à presença, em seus tecidos, de compostos químicos com atividade biológica (princípios ativos) que agem no corpo humano de alguma forma, no alívio ou cura de doenças. A maior parte destes compostos são originados da atividade do metabolismo secundário (SANTOS, 1999). Muitas plantas possuem compostos economicamente importantes, como óleos, resinas, taninos, borracha, gomas e ceras, podendo ser usados como produtos medicinais (BALANDRIN et al., 1985). Esses compostos, conhecidos como produtos secundários ou metabólitos secundários, têm função ligada à ecologia da planta, isto é, ao relacionamento da planta com o ambiente. Esse metabolismo é altamente influenciado por diversos fatores, como microclima, nutrição mineral, genética, relações ecológicas, sazonalidade e outras, ressaltando-se que mínimas alterações ocorridas em algum deles podem ocasionar grandes mudanças na qualidade das plantas produzidas (Organização Mundial de Saúde, 2002, citado por CASTRO, 2002).

A família Asteraceae representa, aproximadamente, 23.000 espécies que variam de espécimes herbáceas a árvores que alcançam 30 m em altura; é a maior família do grupo das angiospermas, e pode ser considerada uma das mais importantes fontes de espécies vegetais de interesse terapêutico, em razão do grande número de plantas que são usadas popularmente como medicamento (FERREIRA et al., 2003).

Achillea millefolium L., pertencente à família botânica Asteraceae (antiga Compositae), é originária da Europa e Ásia. Conhecida popularmente pelo nome de mil-folhas, é aromática, rizomatosa, perene, apresenta caule simples ou pouco ramificado na parte superior, de esparso a densamente pubescente (SCHEFFER, 1998). As folhas alternas são simples, mas profundamente fendidas, semelhantes à folha composta. Pecíolo com bainha achatada, listrado e piloso nas laterais. Lacínias do limbo verde-escuras e brilhantes, aroma agradável e gosto amargo. Inflorescências terminais formadas de capítulos com poucas flores sobre o receptáculo cônico, constituindo o conjunto dos capítulos, corimbo composto. Flores reunidas em capítulos dimorfos, com as flores do raio liguladas, brancas ou levemente rosadas, unissexuadas-feminas (pistiladas) e, as do centro, tubulosas e hermafroditas, brancas, com estigma bifurcado e papiloso na sua extremidade. Anteras reunidas rodeando o longo estilete. As flores têm

aroma agradável, lembrando o mel. O período de florescimento é longo, de setembro até abril (CASTRO, 1998).

O óleo essencial é usado como cicatrizante de feridas na pele, age também contra úlceras internas, varizes, hemorróidas, cólicas menstruais, reumatismo e celulite (SARTÓRIO et al., 1998).

De acordo com FIGUEIREDO (1994), estudos têm mostrado que tricomas secretores em *A. millefolium* sintetizam o proazuleno, precursor do camazuleno, importante componente do óleo essencial desta planta.

Apesar de todo conhecimento acumulado sobre as características morfológicas e anatômicas das espécies, pouca atenção tem sido dada aos aspectos morfológicos da superfície das folhas (BONATES, 1993). Os tricomas, de acordo com BUVAT (1989), podem ser protetores, sem células secretoras, e glandulares, contendo células secretoras. Tricomas glandulares localizados em depressões da epiderme foram verificados por CASTRO (1998) em *Leonurus sibiricus*, SILVA (2000) em *Hyptis suaveolens* e *H. glomerata* e CARVALHO (2001) em *Tanacetum parthenium*. A ocorrência desse tipo de tricoma em depressões da epiderme pode conferir alguma proteção a essas estruturas, dificultando a ação de fatores externos que possam rompê-los, impedindo perdas desnecessárias das substâncias secretadas. STAHL e WOLLENSAH (1985), citados por FIGUEIREDO e PAES (1994), verificaram a síntese de proazuleno, precursor do camazuleno, importante componente do óleo essencial presente em tricomas de *A. millefolium*. Segundo ASCENSÃO et al. (1995), esses tricomas são estruturados de modo a se romperem facilmente com a ação de fatores externos, como ventos, altas temperaturas, baixa umidade relativa e ações por parte de animais, liberando seu conteúdo ao meio. Podem produzir, além de substâncias lipofílicas, polissacarídeos e até mesmo proteínas (FAHN, 1988). De acordo com esse mesmo autor, tricomas glandulares ocorrem em muitas famílias e em Asteraceae são, em geral, multicelulares e bisseriados, podendo ser pedunculados ou sésseis. Vários são os produtos secretados que têm importância econômica, como a borracha, o ópio, o balsamo, a cânfora, as resinas e os óleos essenciais (FAHN, 1979).

Nas plantas medicinais, pelo fato de serem altamente influenciadas por fatores do meio, é insuficiente o número de pesquisas realizadas, não apenas na área agrônômica, mas em todas as áreas de interesse, como a etnobotânica, botânica, farmacognosia, fitoquímica, fisiologia, toxicologia, farmacologia e outras. Outro agravante dessa situação é o número muito reduzido de pesquisadores dedicados aos trabalhos

com plantas medicinais em relação ao número de espécies que necessitam de estudos (GOTTLIEB e BORIN, 1997).

O conhecimento de aspectos anatômicos de plantas medicinais contribui para a determinação de ações específicas e o manejo dessas plantas, já que permite localizar as estruturas secretoras, bem como definir, em alguns casos, o momento em que as glândulas estão em pleno desenvolvimento (OLIVEIRA e AKISUE, 1987).

Estudos anatômicos são altamente significativos, especialmente quando associados aos aspectos ecológicos, fisiológicos e comparativos, subsidiando trabalhos taxonômicos (SANTO e PUGIALLI, 1999).

Obter informações que permitam conhecer os efeitos de tratamentos utilizados no cultivo das ervas medicinais sobre a estrutura interna dessas plantas é de fundamental importância, pois existe íntima relação entre os tipos e a organização dos tecidos vegetais e a produção de metabólitos (TAIZ e ZEIGER, 1991). A anatomia das folhas, em particular, pode ser muito afetada pelas condições do meio, pois é o órgão vegetal de maior plasticidade, com grande capacidade de adaptação de suas estruturas internas, capacidade que lhes confere amplo potencial de aclimação (BJÖRKMAN, 1981).

A aplicação de preparados homeopáticos provoca reação no princípio vital do ser vivo. Esse princípio vital mantém em vida os constituintes orgânicos e promove a integridade do organismo. Tal reação dos seres vivos à homeopatia depende não da quantidade, mas do número de diluições e das dinamizações (MENESCAL, 1995).

CASTRO (2002), estudando o efeito de *Sulphur* 30CH em plantas de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.), verificou que a aplicação da homeopatia ocasionou alterações na espessura da epiderme da face adaxial e do parênquima paliádico em relação à testemunha.

A lâmina foliar é a estrutura que mais se modifica em resposta às alterações ambientais e constitui o principal sítio na produção de fotoassimilados (DALE, 1992), sendo viável a utilização da anatomia quantitativa como ferramenta, com o objetivo de verificar as alterações nas estruturas internas de plantas de mil-folhas submetidas a diferentes tratamentos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar quantitativamente as alterações anatômicas em plantas de *Achillea millefolium* L. submetidas a *Sulphur* na dinamização 3CH.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção das plantas e instalação do experimento

A propagação das plantas de mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) foi feita por meio de rizomas. Estes foram obtidos de plantas com boas características fitossanitárias, coletadas no Horto Medicinal do Grupo Entre Folhas, localizado na Vila Gianetti, no Campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

O plantio foi realizado dia 10/07/04, em vasos de polietileno com capacidade para 6 L, tendo como substrato terra, areia e húmus de minhoca, nas proporções de 3:2:1, respectivamente. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e três repetições. Os tratamentos constituíram-se do preparado homeopático *Sulphur* 3CH e testemunha (água).

O experimento foi conduzido sob telado com teto de polietileno translúcido e sombrite nas laterais (30% de sombreamento), no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, no período de julho a setembro de 2004.

2.2. Obtenção das soluções homeopáticas

O preparado homeopático *Sulphur* na dinamização centesimal hahnemaniana 2CH foi adquirido de laboratório farmacêutico idôneo. A solução homeopática 3CH do respectivo medicamento foi preparada no Laboratório de Homeopatia do Departamento

de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, de acordo com as instruções da Farmacopéia Homeopática Brasileira (BRASIL, 1977) e mantidas ao abrigo da luz e em temperatura ambiente.

2.3. Aplicação dos tratamentos

Logo após o plantio dos rizomas, iniciou-se a aplicação dos tratamentos. Cada homeopatia foi diluída em recipiente apropriado e identificada com o mesmo código. As diluições foram realizadas em recipientes plásticos com volume de 5 L. Utilizou-se 0,3 mL de homeopatia diluída em 300 mL de água comum, em seguida homogeneizando a solução por agitação simples do recipiente.

Foram aplicados aproximadamente 50 mL da solução em cada vaso, vertendo-se sobre toda a planta. As aplicações foram realizadas diariamente, sempre entre 7 e 7h30.

2.4. Coleta do material para os estudos anatômicos

A coleta da parte aérea das plantas foi realizada em 27/09/2004, durante o período da tarde, entre 14h30 e 15 h, 70 dias após o plantio das mudas no vasos e da aplicação dos tratamentos. Da parte aérea das plantas foram retiradas porções da região mediana do caule, do 3º ao 6º nó, com quatro folhas. O material foi fixado em FAA₅₀ (JOHANSEN, 1940), por 48 h, em frascos devidamente etiquetados.

No Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, o material foi transferido para solução de etanol 70% para a estocagem (JOHANSEN, 1940).

2.5. Preparo do material vegetal para os estudos anatômicos

Como as folhas de *A. millefolium* são profundamente recortadas, em cada repetição retirou-se um recorte subterminal da região mediana da folha para os cortes transversais. Assim, estabeleceu-se a padronização do material destinado aos estudos de anatomia quantitativa. As porções amostradas foram previamente tratadas em solução de sacarose preparada em tampão-fosfato de sódio 0,1 M, por 3 h, e seccionadas transversalmente em criomicrotomo (LEICA, MC 1850), com espessura de 50 µm. Os cortes obtidos ficaram estocados em etanol 50% até o momento da coloração. Parte dos cortes foi corada com azul de astra e fucsina básica, destinada ao estudo anatômico

quantitativo, enquanto o restante foi corado com Sudan III (JENSEN, 1962), para evidenciar lipídeos totais e observar eventuais alterações na cutícula e, ou, no armazenamento de óleo essencial nos tecidos. A montagem das lâminas foi feita com gelatina glicerinada.

A análise da superfície foliar foi feita em porções da região mediana da folha, excluindo-se as nervuras de primeira e segunda ordens, e submetidas ao processo de diafanização. Para tal, as amostras permaneceram em hipoclorito de sódio 20% até a completa clarificação. Em seguida, foram lavadas em água corrente, coradas com azul de astra e fucsina básica. As porções foliares foram montadas entre lâmina e lamínula com gelatina glicerinada.

2.6. Anatomia quantitativa

As imagens digitalizadas dos cortes foram obtidas com microscópio de luz (Olympus - AX70), acoplado à câmera digital e conectado a um microcomputador. Os dados da área e medidas lineares foram obtidos via programa computacional “Image pro-plus”.

Nas seções transversais da folha foram feitas medições das seguintes características: área total da folha (AT), da epiderme (AE), do parênquima paliçádico (PALI), do parênquima incolor (PI), do feixe vascular (FV), do colênquima (COL) e da espessura da parede periclinal externa da epiderme (ESPAP). Os dados de área foram transformados em porcentagem em relação à área total da folha.

No material diafanizado foram feitas contagens de estômatos, tricomas sésseis e pedunculados, em ambas as faces da folha, sendo tomados 10 campos por repetição.

2.7. Tratamento estatístico

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste F a 5% de probabilidade, com relação à análise anatômica relativa à superfície da folha, no delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos e três repetições. Para a análise das características anatômicas da seção transversal com dois tratamentos, foram feitas 12 repetições no delineamento inteiramente casualizado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cortes transversais da folha, corados com azul de astra e fucsina básica, são encontrados nas Figuras 1 e 2. As porções de lâmina foliar diafanizadas são apresentadas na Figura 3.

A lâmina foliar de mil-folhas apresenta epiderme uniestratificada e é anfiestomática. Segundo MOTT et al. (1982), a característica anfiestomática pode representar um meio de aumentar a taxa fotossintética, por permitir a troca gasosa eficiente, se comparada com outros tipos de folhas. Os estômatos estão localizados no mesmo nível das demais células epidérmicas ou em pequenas elevações.

O mesófilo é isobilateral, com dois estratos de células de parênquima paliçádico na face adaxial e apenas um estrato na face abaxial; e na região mediana, parênquima incolor.

Na região amostrada, a folha apresenta apenas três feixes vasculares, imersos no parênquima incolor. Em posição subepidérmica, acima e abaixo do feixe vascular central, encontram-se até duas camadas de colênquima angular.

Na epiderme, em ambas as faces da folha, encontram-se tricomas glandulares, sésseis e longipedunculados. Os tricomas sésseis ocorrem em depressões da epiderme, enquanto os pedunculados, preferencialmente ao longo das nervuras.

Os valores médios de área e proporção de tecidos encontrados na seção transversal da folha e as contagens na superfície foliar de *A. millefolium* estão nos Quadros 1 e 2, respectivamente. Com relação às características anatômicas quantitativas avaliadas, pode-se observar que não houve diferença significativa entre a testemunha e o tratamento homeopático *Sulphur* 3CH (Tabelas 1 e 2). Todavia, quando se trata da

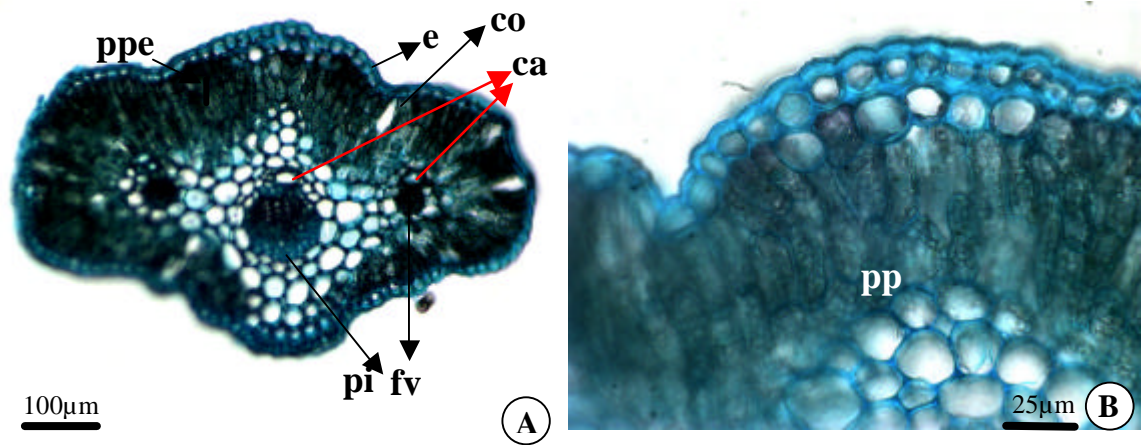


Figura 1 – (A-B) Corte transversal de lâmina foliar de *Achillea millefolium* corada com azul de astra e fucsina básica. fv: feixe vascular; pi: parênquima incolor; pp: parênquima paliçádico; co: colênquima; e: epiderme; ca: cavidade secretora.

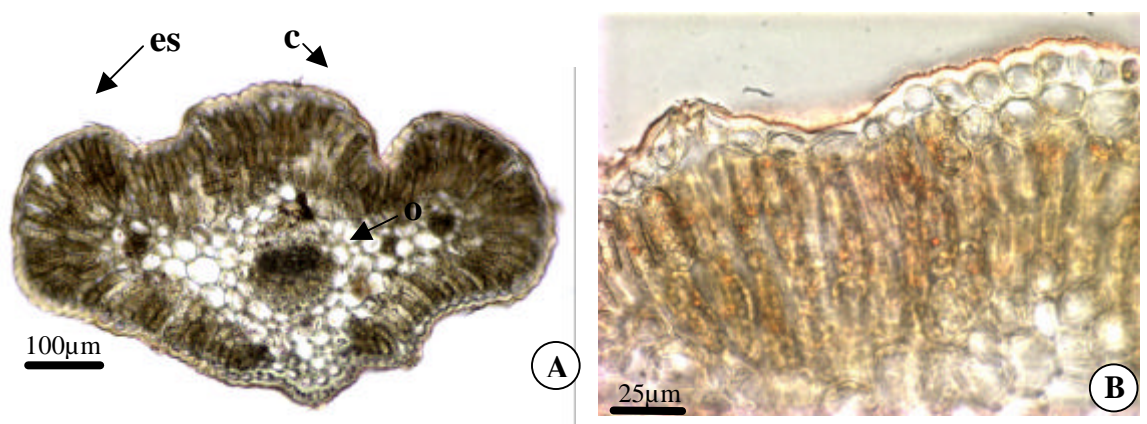


Figura 2 – (A-B) Corte transversal de lâmina foliar de *Achillea millefolium* corada com sudan III. c: cutícula; es: estômato; o: óleo essencial.

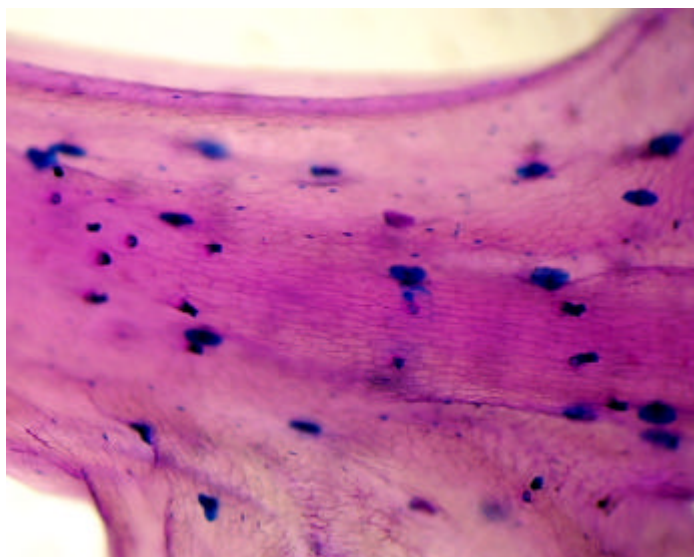


Figura 3 – Superfície adaxial de folha de *Achillea millefolium*.

Quadro 1 – Valores médios das características anatômicas da seção transversal da folha de *A. millefolium* L. tratadas ou não com o preparado homeopático *Sulphur* 3CH. EP: epiderme; PALI: parênquima paliçádico; PI: parênquima incolor; FV: feixe vascular; CO: colênquima; ESPAP: espessura da parede periclinal externa da epiderme

Tratamento	EP (%)	PALI (%)	PI (%)	FV (%)	CO (%)	ESPAP (μm)
Testemunha	9,00 A	43,64 A	27,44 A	6,17 A	2,68 A	0,068 A
<i>Sulphur</i>	9,48 A	47,12 A	26,03 A	6,16 A	2,08 A	0,064 A

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

Quadro 2 – Valores médios das características anatômicas relativas à superfície da folha de *A. millefolium* L. tratadas ou não com o preparado homeopático *Sulphur* 3CH. EAD: estômatos da face adaxial; TSAD: tricoma sésil da face adaxial; TPAD: tricoma pediculado da face adaxial; EAB: estômato da face abaxial; TSAB: tricoma sésil da face abaxial; e TPAB: tricoma pediculado da face abaxial

Tratamentos	EAD (.mm ⁻²)	TSAD (.mm ⁻²)	TPAD (.mm ⁻²)	EAB (.mm ⁻²)	TSAB (.mm ⁻²)	TPAB (.mm ⁻²)
Testemunha	43,75 A	6,52 A	28,64 A	106,67 A	17,77 A	10,86 A
<i>Sulphur</i>	39,80 A	9,87 A	24,69 A	117,14 A	13,82 A	12,14 A

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

Tabela 1 – Análise de variância das características anatômicas da seção transversal da folha de *A. millefolium* L. tratadas ou não com o preparado homeopático *Sulphur* 3CH. AT: área total da folha; EP: epiderme; PALI: parênquima paliádico; PI: parênquima incolor; FV: feixe vascular; CO: colênquima; e ESPAP: espessura da parede periclinal externa da epiderme

FV	GL	Quadrado Médio						
		AT (µm)	EP (%)	PALI (%)	PALI (%)	FV (%)	CO (%)	ESPAP (µm)
TRAT	1	9993672 ^{ns}	0,7105 ^{ns}	36,261 ^{ns}	5,922 ^{ns}	0,00013 ^{ns}	1,092 ^{ns}	2,4030 ^{ns}
RES	10	0,9851705	20,9571	121,5504	27,392	2,74590	0,371	2,1156
MÉDIA	-	297619	9,3	45,4	26,8	6,2	2,4	6,97
CV(%)	-	33,35	15,65	24,29	19,57	26,85	25,59	22,97

^{ns} não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Tabela 2 – Análise de variância das características anatômicas relativas à superfície da folha de *A. millefolium* L. tratadas ou não com o preparado homeopático *Sulphur* 3CH. EAD: estômatos da face adaxial; TSAD: tricoma sésil da face adaxial; TPAD: tricoma pediculado da face adaxial; EAB: estômato da face abaxial; TSAB: tricoma sésil da face abaxial; e TPAB: tricoma pediculado da face abaxial

FV	GL	Quadrado Médio					
		EAD (.mm ⁻²)	TSAD (.mm ⁻²)	TPAD (.mm ⁻²)	EAB (.mm ⁻²)	TSAB (.mm ⁻²)	TPAB (.mm ⁻²)
TRAT	1	0,24000 ^{ns}	0,16666 ^{ns}	0,2016 ^{ns}	1,7066 ^{ns}	0,2400 ^{ns}	0,0816 ^{ns}
RES	4	1,858	0,10666	0,3716	3,7866	0,11000	0,13166
MÉDIA	-	4,23	0,83	2,71	11,33	1,60	1,11
CV(%)	-	32,20	39,19	22,44	17,70	20,72	32,49

^{ns} não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.

aplicação de preparados homeopáticos, as modificações encontradas geralmente são sutis e mais evidentes na fisiologia da planta que na própria morfologia, refletindo em alterações na produção qualitativa e quantitativa de princípios ativos, sem necessariamente alterar a sua anatomia. Deve-se considerar, ainda, que os efeitos tratamentos homeopáticos sobre as plantas são oscilatórios, variando durante o período das aplicações com as condições do meio.

A coloração com sudam III, utilizada na análise descritiva de possíveis alterações na produção de lipídeos totais, revelou a presença de cutícula delgada e levemente ondulada na região correspondente aos feixes vasculares, e em ambas a faces da folha foram evidenciadas gotículas de lipídeo no parênquima clorofiliano, isto é, óleo essencial. Essas características foram comuns a todos os tratamentos.

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho, embora se tenha dado a devida importância à padronização nas coletas e amostragens do material, assim como nos demais procedimentos laboratoriais, as características anatômicas avaliadas não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, porém isso pode ser resultado da perda de informações causada pelo número muito limitado de repetições. Assim, uma sugestão de futuros trabalhos com a aplicação de preparados homeopáticos seria a utilização de maior número de repetições.

REFERÊNCIAS

AHORLU, C.K. Malaria – related beliefs and behavior in southern Ghana: implications for treatment, prevention and control. **Tropical Medicine and International Health**, v. 2, n. 5, p. 488-499, 1997.

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, 2002. 286 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

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

ANDRADE, F.M.C. **Homeopatia no crescimento e na produção de cumarina em chambá *Justicia pectoralis* Jacq.** Viçosa, MG: UFV, 2000. 214 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ANDRADE, F.M.C.; CASALI, V.W.D.; DEVITA, B.; CECON, P.R.; BARBOSA, L.C.A. Efeito de homeopatias 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).

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).

ARNON, D.I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.

ARMOND, C. **Crescimento e marcadores químicos em plantas de *Bidens pilosa* L. (asteraceae) tratadas com homeopatia.** Viçosa, MG: UFV, 2003. 145 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ASCENSÃO, L.; MARQUES, N.; PAIS, M. S. Glandular trichomes on reproductive organs of *Leonotis leonorus* (Lamiaceae). **Annals of Botany**, v. 75, p. 619-626, 1995.

ASSOCIATION OF AGRICULTURAL CHEMIST – A.O.A.C. **Official methods of analysis**. 11. ed. Washington, D.C., [s.d.].

ATISSO, M.A. As plantas medicinais voltam a florescer. Rio de Janeiro. **O correio da Unesco**, v. 7, p. 6-8, 1979.

ATROCH, E.A.C. **Aspectos fisiológicos anatômicos e biossíntese de flavonóides em plantas jovens de *Bauhinia fortificata* Link. submetidas a diferentes níveis de irradiância.** Lavras, MG: UFLA, 1999. 62 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): Revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 62, n. 1, p. 55-61, 2003.

BALANDRIN, M.F. et al. Natural plant chemical – source of industrial and medicinal materials. **Science**, v. 228, p. 1154-1160, 1985.

BALBAA, S.I. Satisfying requirements of medicinal plant cultivation. **Acta Horticulturae**, v. 132, p. 75-84, 1983.

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

BAROLLO, C.R. **O que é... Como é... E o porquê da Homeopatia.** 1. ed. São Paulo, SP: Ed. Roubé, 1996a. 73 p.

BATLOUNI, M. Hipotese oxidativa da arterosclerose e emprego dos antioxidants na doença arterial coronaria. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 68, n. 1, p. 55-65, 1997.

BERNARDES, M. S. Fotossíntese no dossel das plantas cultivadas. In: CASTRO, P. R. C.; FERREIRA, S. O.; YAMADA, T. (Eds.). **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba, SP: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1987. p. 13-45.

BERGMANN, B.R.; COSTA, S.S.; MORAES, V.L.G. Brazilian medicinal plants: A rich source of immunomodulatory substances. **Brazilian Journal Association for the Advancement of Science**, v. 49, p. 395-402, 1997.

BIGNARDI, F. Ecologia médica, homeopatia e agricultura orgânica. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, 1999, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 1999. p. 7-17.

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.

BJÖRKMAN, O. Responses to different quantum flux densities. In: LANGE, O.; NOBEL, P. S.; OSMONA, C. B.; ZIEGLER, H. (Eds.). *Physiological plant ecology. I – responses to the physical environment*. **Encyclopedia of Plant Physiology**. New York: Springer-Verlag, 1981. 652 p.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1995. p. 223.

BONATES, L.M.C. Estudos ecofisiológicos de Orchidaceae da Amazônia, II. Anatomia ecológica foliar de espécies com metabolismo CAM de uma campina da Amazônia Central. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 23, n. 4, p. 315-348, dez. 1993.

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 de maio de 1999. Seção 1.

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

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

BRAVO, Y.R.; ROJAS, J.A.Y.; VERGARA, E.G. Vitamina C y extractos de *Achillea millefolium* como primera línea de terapia en el tratamiento de purpura trombocitopénica. **Rev. Cubana Invest Biomed**, v. 22, n. 1, p. 71-6, 2003.

BRISKIN, D. P. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. **Plant Physiology**, v. 124, p. 507-514, 2000.

BROWN JR., K. S. Engenharia ecológica: novas perspectivas de seleção e manejo de plantas medicinais. **Acta amazônica**, v. 18, p. 291-303, 1988.

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.

BUNN, S.E. Processing of leaf litter in 2 northern jarrah Forest streams, Western-Australia. The role of macroinvertebrates and the influence of soluble polyphenols and inorganic sediment. **Hydrobiologia**, v. 162, n. 3, p. 211-223, 1988.

BUTLER, L.G.; RIEDL, D.J.; LEBRYK, D.G.; BLYTT, H.J. Interaction of proteins with sorghum tannin; mechanism, specificity and significance. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 61, n. 5, p. 916-920, 1984.

BUVAT, R. **Ontogeny, cell differentiation, and structure of vascular plants**. Berlin: Springer-Verlag, 1989. 581p.

CAMBRAIA, J.; CASALI, V.W.D.; BRUNE, W.; COUTO, F.A.A. Vitamina C em pimentas e pimentões. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 18, n. 97, p. 177-94, maio-jun. 1971.

CANNAS, A. **Tannins: fascinating but sometimes dangerous molecules**. Itaka, 1999. Disponível em: <<http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin.htm>>. Acesso em: 30 mar. 1999.

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

CARILLO JUNIOR, R. O que é a Homeopatia. In: Homeopatia, Medicina Interna e terapêutica. São Paulo, SP: Ed. Santos, 2000.

CARVALHO, L.M. **Disponibilidade de água, irradiância e homeopatia no crescimento e teor de partenolídeo em Artemísia**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 139 f. Dissertação (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. et al. Efeito da homeopatia *Phosphorus* sobre o rabanete. **Horticultura Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 280, nov. 1999. (Resumos do 39^o Congresso Brasileiro de Olericultura, Tubarão, SC).

CASTRO, D. M. 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. Patogênese em algumas plantas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, I., 1999, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1999a. p. 120-124. 155 p.

CASTRO, D. M. **Caracterização isozimática, da anatomia foliar, do óleo essencial e germinação de *Leonorus sibiricus* L.** Viçosa, MG: UFV, 1998. 96 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

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).

CHANDLER, R.F.; HOOPER, S.N.; HARVEY, M.J. Ethnobotany and phytochemistry of yarrow, *Achillea millefolium*, Asteraceae. **Econ. Bot.**, Bronx, v. 36, p. 203-223, 1982.

CHUNG, K.T.; WONG, T.Y.; WEI, C.I.; HUANG, Y.W. Tannins and human health: a review. **Critical Review in Food Science Nutrition**, v. 38, n. 6, p. 421-464, 1998.

CLEMENTE FILHA, A.C. **Aspectos fisiológicos e fitoquímicos de *Bauhinia fortificata* Link e *Plantago major* L.** Lavras, MG: UFLA, 1996. 67 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids – Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources – review. **The journal of Nutrition Biochemistry**, v. 7, n. 1, p. 66-76, 1996.

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

COSTA, A.F. **Farmacognosia.** 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1975. v. 1, 988 p.

CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal: experimentos e interpretação – 2ª Parte: Órgãos.** São Paulo: Livraria Roca Ltda., 1987. 336 p.

DANTAS, F. **O que é Homeopatia.** 4. ed. São Paulo: Brasiliense, 1989. v. 134. (Col. Primeiros Passos).

DALE, J.E. How do leaves grow? **BioScience**, v. 42, p. 423-432, 1992.

DESHPANDE, S.S.; CHERYAN, M.; SALUNKHE, D.K. Tannin analysis of food products. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.24, p. 401-449, 1986.

D'MELLO, J.; DUFFUS, J.H. **Toxic substances in crop plants.** [S.l.]: Royal Society of Chemistry, 1991. 339 p.

DUARTE, E.S.M. **Soluções homeopáticas, crescimento e produção de compostos bioativos em *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae).** Viçosa, MG: UFV, 2003. 92 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

EDWARDS, P.J.; WRATTEN, S.D. **Ecologia das interações entre insetos e plantas**. São Paulo: EPU–EDUSP, 1981. 71 p.

EINHELLIG, F. A. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, v. 88, p. 886-893, 1996.

FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New Phytologist**, v. 108, p. 229-257, 1988.

FAHN, A. **Secretory tissues in vascular plants**. London: Academic Press Inc., 1979. 302 p.

FARMACOPÉIA. **Homeopática brasileira**. São Paulo, SP: Andrei, 1977. 115 p.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; ARGOLO, V.M. **Utilização de medicamentos homeopáticos no controle de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera, Chrysomelidae) em Rio Branco, Acre**. Disponível em: <<http://www.hospvirt.org.br/homeopatia/port/biblioteca/pesquisahomeopatica/embrapa.htm>>. Acesso em: 28 nov. 2004.

FERREIRA, M.J.P; BARBOSA, K. O.; ALVARENGA, S.A.V. **Previsão de ocorrências de metabólitos secundários em asteraceae através de redes neurais – XVI RESEM**. [S.l.: s.n.], 1 a 3 dez. 2004.

FETROW, C.W.; ÁVILA, J.R. **Manual de medicina alternativa para o profissional**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999. 743 p.

FIDELIS, I. **Crescimento, Armazenamento, Homeopatia, produção de metabólitos secundários e teste biológico do extrato de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski em coelhos diabéticos**. Viçosa, MG: UFV, 2003. 185 f. Dissertação (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

FIGUEIREDO, A.C.; PAIS, M.S.S. **Annals botany**, v. 74, p. 179, 1994.

FONSECA, M.C.M. **Crescimento, composição do óleo Essencial, teores de óleo e tanino em *Porophyllum ruderale* (Jacq.)**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 62 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

GETACHEW, G. **Tannins in tropical multipurpose tree species: localization and quantification of tannins on in vitro rumen fermentation**. Stuttgart: Verlag Ulrich E. Grauer, 1999. 186 p.

GODOY, M. As potências em homeopatia, escala de dinamização de frequência ascendente. In: BRUNINI, C.; SAMPAIO, C. (Coords.). **Homeopatia: princípios doutrina, farmácia IBEHE**. São Paulo: Mythos, 1988. p. 187-198.

GOMES, S.M. **Efeitos de flavonoides no metabolismo lipídico**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 239 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. Natural products research in Brazil. **Ciência e Cultura**, v.49, n.5/6, p. 315-320, 1997.

GROS, E.G. et al. **Introduction al estudio de los productos naturales**. Washington: OEA, 1985. 146 p.

GUTMANN, V. Estudos sobre a organização do sistema molecular. **Revista de Homeopatia**, v. 55, n. 4, p. 111-114, 1990.

HAGGAG, MY.; SHALABY, A.S.; VERZAR-PETRI, G. **Planta med.**, v. 27, p. 361.

HAMLY, E.C. **A arte de curar pela homeopatia: o Organon de Samuel Hahnemann**. São Paulo: Prol, 1979. 113 p.

HARBORNE, J.B. **Methods in plant biochemistry**. New york: Academic Press, 1989. v. 1.

HARBORNE, J.B. **Introduction to ecological biochemistry**. 4. ed. London: Academic Press, 1993. 318 p.

HARBORNE, J.B. **Introduction to ecological biochemistry**. 3. ed. London: Academic Press, 1988. 356 p.

HASLAM, E. **Plant polyphenols**. Cambridge: Cambridge University, 1989.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs and medicines: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v. 59, p. 205-215, 1996.

HATTORI, M.; KUSUMOTO, L.T.; NAMBA, T.; ISHIGAMI, T.; HARA, Y. Effect of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyl transferase from *Streptococcus mutans*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 37, p. 717-720, 1990.

HENKEL, T.; BRUNE, R. M.; MULLER, H.; REICHEL, F. Statistical investigation into the structural complementarity of natural products and synthetic compounds. **Angewande Chemie International Edition**, v. 38, n. 5, p. 643-647, 1999.

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

JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry: principles and practice**. San Francisco: W.H. Freeman and Company, 1962. 408 p.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New york: Macgraw-Hill, 1940. 523 p.

KAMCHONWONGPAISON, S.; MESHINCK, S.R. **Gen. Pharmac.**, v. 27, p. 587, 1996.

KENT, J.T. **Filosofia homeopática**. São Paulo: Robe, 1996. 302 p.

- KHANNA, K.K.; CHANDRA, S. Control of tomato fruit rot by *Fusarium roseum* with homeopathic drugs. **Indian Phytopathology**, v. 29, p. 269-272, 1976.
- KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. 1. ed. São Paulo: Ed. Agr. Ceres, 1985. 492 p.
- KINGHORN, A. D. Pharmacognosy in the 21st century. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, n. 2, p. 135-148, 2001.
- KOES, R.E.; QUATTROCCHIO, F.; MOL, J.N.M. The flavonoid biosynthetic pathway in plants; function and evolution. **Bioessays**, v. 16, n. 2, p. 123-132, 1994.
- KUHNAU, J. The flavonoids. A class of semi essential food components: their role in human nutrition. **World. Revil Nutricion Diet**, v. 24, p. 117-191, 1976.
- LATHOUD, J.A. **Estudos de matéria médica homeopática** – Revisada e atualizada. São Paulo: Robe Ed., 2002. 601 p.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1986. 319 p.
- LENKEY, K.B. Die gegenwertigen Handelsdrogen Von Flos und Herba Millefolii. **Pharm. Acta Helv.**, Berne, v. 36, p. 43-55, 1961.
- LISBOA, S.P.; CUPERTINO, M.C.; ARRUDA, V.M.; CASALI, V.W.D. **Nova visão dos organismos vivos e o equilíbrio pela homeopatia**. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema Gráfica e Editora, 2005. 104 p.
- MADUENO BOX, M. **Cultivo de plantas medicinales**. Madrid: Publicaciones de Extension Agraria, 1973. 490 p. (Manuales Tecnicos, Serie A, n. 38).
- MANGAN, J.L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. **Nutrition Research Reviews**, v. 1, p. 209-231, 1988.
- MANN, J. **Secondary metabolism**. 2. ed. New York: Oxford University, 1987. 374 p.
- MARTINS, E.R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: Editora UFV, 1994. 220 p.
- MARSTON, A.; HOSTEFFMANN, K. Plant Molluscides Review. **Phytochemistry**, v. 24, p. 639-652, 1985.
- MARKS, C. **Homeopatia: guia prático**. São Paulo: Callis, 1997. 58 p.
- MARWAN, A.G.; NAGEL, C.W. Microbial inhibitors of cranberries. **J. Food Sci.**, v. 51, p. 1009-1013, 1986.
- MENESCAL, V. Evolução do conceito Hahnemanniano de efermidade. In: **Compêndio de Homeopatia**. São Paulo, SP: Ed. Robe, 1995. v. 2, 466 p.

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.

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.

MORENO, J.A. **Breve historia de hanhemann. Ciência da Homeopatia** – Livro Básico. Belo Horizonte, B.H. Ed. Hipocrática – Hahnemanianna, 2000. 112 p.

MORS, W. Plantas medicinais. **Cienc. Hoje**, São Paulo, v. 1, p. 14-19, 1982.

MOTT, K.A.; GIBSON, A.C.; O'LEARY, J.W. The adaptative significance of anphiistomatic leaves. **Plant Cell and Environment**, v. 5, p. 455-460, 1982.

NACZK, M.; NICHOLS, T.; PINK, D.; SOSULSKI, F. Condensed tannins in canola hulls. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 10, p. 2196-2200, 1994.

NADER, W.; MATEO, N. Biodiversity-resource for new products, development and self reliance. In: BARTHLOTT, W.; WINIGER, M. **Biodiversity** – A challenge for development research and policy. Berlin: Springer, 1998. p. 121-126.

NEVES, E.S. Plantas medicinais na saúde pública. **Silvic. São Paulo**, São Paulo, v. 6-A, p. 181-186, 1982.

NEWALL, C.A.; ANDERSON, L.A.; PHILLIPSON, J.D. **Herbal medicines: a guide for health-care professionals**. London: Pharmaceutical Press, 1996. 296 p.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de farmacobotanica**. 2. ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 1987.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1996. 412 p.

OLIVEIRA, J.E.Z.; AMARAL, C.L.F.; CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: Avanços no melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, Departamento de Fitotecnia, 2001. p.1-6.

OLIVEIRA, J.R. de. **Idade da folha e suscetibilidade do cafeeiro a *Pseudomonas cichorii* e a *P. syringae* pv *garcae***. Viçosa, MG: UFV, 1988. 79 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. Ellagitannins as active constituents of medicinal plantas. **Planta Med.**, v. 55, p. 127-122, 1989.

OOSHIMA, T.; MINAMI, T.; AONO, W.; IZUMATANI, A.; SOBUE, S.; FIJIWARA, T.; KAWABATA, S.; HAMADA, S. Oolong tea polyphenols inhibit experimental dental caries in SPF ratas infected with *Streptococcus mutans*. **Caries res.**, v. 27, p. 124-129, 1993.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Traditional medicine strategy 2002 – 2005**. Genebra: Organização Mundial de Saúde, 2002b. 62 p.

PARIS, R.R.; MOYSE, H. Millefeuille. In: **Précis de matière médicale**. Paris: Masson, 1971. v. 3, p. 420-421.

PEREIRA, A.M.S.; CÂMARA, F.L.A.; FRANÇA, S.C. Vegetative propagation in *Mikania glomerata*: Micropropagation and Cuttings. **Acta Horticulturae**, v. 3, n. 502, p. 357-362, 1999.

PEROZIN, M.M. **Projeto de fitoterapia do SUDS**: plantas medicinais no serviço de saúde; anteprojeto. Curitiba: SESA/FCMR, 1988. 19 p.

PEROZIN, M.M.; FRANCISCO, N. **Revisão bibliográfica das sinonímias populares das 16 plantas medicinais selecionadas para estudos pelo projeto de fitoterapia do SUDS/PR**. Curitiba: SESA/FCMR, 1990. 32 p.

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.

POZO, L.A. **Estudo “in vitro” do efeito de extratos aquosos de plantas medicinais sobre *Clostridium difficile***. Viçosa, MG: UFV, 1997. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

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

PERGOLLATO, W.; PERGOLLATO, D.P. **Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo: Adolfo Lutz, 1985. p. 392-394.

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

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1996. 906 p.

REZENDE, J.M. **Cartilha de homeopatia**: instruções práticas geradas por agricultores sobre o uso da homeopatia no meio rural. Viçosa, MG: UFV, jun. 2004. 40 p.

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

SÁ, M.F.A. **Estudo anatômico e ensaios fitoquímicos de *Baccharis myriocephala* D.L. carqueja**. Rio de Janeiro: UFRJ, 1992. 91 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SALATINO, A.; GOTTLIEB, O.R. Quinolizidine alkaloids as systematics markers of the Pappilonoideae. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 8, p. 133-147, 1981.

SANTO, A. E.; PUGIALLI, H.R.L. Estudo da plasticidade anatômica foliar de *Stromanthe thalia* (Vell.) J.M.A. Braga (Marantaceae) em dois ambientes de Mata Atlântica. **Rodriguésia**, v. 50, n. 76/77, p. 109-124, 1999.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre-RS/Florianópolis-SC: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 1999. p. 323-354.

SANTOS, A.M.G. **Aproveitamento de resíduos das culturas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e pupunha (*Bactris gasipae*) como adubo orgânico em sistemas agroflorestais na Amazônia**. Manaus: UFAM, 2003. 49 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroflorestais) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

SALUNKHE, D.K.; CHAVAN, J.K.; KADAM, S.S. **Dietary tannins: consequences and remedies**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p.1-310.

SARTÓRIO, M.L. et al. **Cultivo orgânico de Plantas medicinais**. Viçosa, MG: Ed. Aprenda Fácil, [s.d.]. 260 p.

SILVA, A.F. **Anatomia dos órgãos vegetativos aéreos e análise do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. e *H. glomerata* Mart ex Schrank (Lamiaceae)**. Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 2000. 91 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

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

SIMOES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, 2000. 883 p.

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

SCHEFFER, M.C. **Influência da adubação orgânica sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Achillea millefolium* L. – mil-folhas**. Curitiba: PR: UFPar, 1998. 22 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SCHEFFER, M.C. Conservação, manejo e legislação da extração de plantas medicinais: é possível fazer manejo de plantas medicinais. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DE BOTUCATU, 2., 1996, Botucatu. **Anais...** Botucatu, SP: UNESP, 1996. p. 12-16.

SCHENKEL, E.P. et al. O espaço das plantas medicinais e suas formas derivadas na medicina científica. **Cad. Farm.**, Porto Alegre, v. 1, n. 2, p. 65-72, 1985.

- SOUZA, M. M. **Crescimento e metabolismo secundário em duas condições de luminosidade e cultura in vitro de *Plantago major* L.** Viçosa, MG: UFV, 1998. 45 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3875-3883, 1991.
- SCHEMBRI, J. **Conheça a homeopatia.** Belo horizonte, MG: Comunicação, 1976. 18 p.
- SCHEMBRI, J. **Conheça a homeopatia.** 3. ed. Belo horizonte, MG: Comunicação, 1992. 263 p.
- SYNGE, R.L.M. Interactions of polyphenols with proteins in plants and plant products. **Qualitas Plantarum** – Plant foods for human nutrition, v. 24, p. 337-350, 1975.
- STEINER, R. **Fundamentos da agricultura biodinâmica: vida nova para a terra.** São Paulo: Antroposófica, 1993. 235 p.
- SWAIN, T. Phenolics in the environment. In: T- SWAIN, J.B.; HARBONE, C.F. Van SUMERE. (Eds.). **Recent advances in phytochemistry.** New York: Plenum Press, 1979. v. 12, p. 624-637.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology.** Redwood City: Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1991. 594 p.
- TIEFENTHALER, A. **Homeopatia para animais domésticos e de produção.** São Paulo: Andrei, 1996. 336 p.
- 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.
- WAAGE, S.K.; HEDIN, P.A.; GRIMLEY, E. A biologically- active procyanidin from *Machaerium floribundum*. **Phytochemistry**, v. 23, p. 2785-2787, 1984.
- WHATLEY, J. M.; WHATLEY, F. R. **A luz e a vida das plantas.** Trad. de Gil Martins Felipe. São Paulo: EPU-USP, 1982. 100 p.
- ZANINI, O. **Farmacología aplicada.** 4. ed. [S.l.: s.n.], 1989. 459 p.
- ZUCKER, W.V. Tannins: does structure determine function? An ecological perspective. **The American Naturalist**, v. 121, n. 3, p. 335-365, 1983.
- ZHU, M.; PHILLIPSON, J.D.; GREENGRASS, P.M.; BOWERY, N.E.; CAI, Y. Plant polyphenols: biologically active compounds or non selective binders to protein. **Phytochemistry**, v. 44, n. 33, p. 441-447, 1997.