

Estudo piloto da influência de *Natrum muriaticum* 6cH e 30cH numa cultura padronizada de *Phaseolus vulgaris* L.

Tatiana Jürgensen Siqueira, Mariana Moreira Lensi, Gustavo Henrique da Silva*

Resumo

O emprego de soluções dinamizadas em altas diluições é amplo e se estende a todos os seres vivos, inclusive aos vegetais, atuando efetivamente nos metabolismos primário e secundário. Este estudo piloto tem como objetivo verificar a ação do *Natrum muriaticum* 6 cH e 30 cH comparando-as à ação da solução de NaCl 5,0% quando administradas separadamente em populações de *Phaseolus vulgaris* L. (feijão). A avaliação foi realizada através da determinação da taxa de crescimento relativo (TCR) de populações de feijão tratadas por 6 semanas e subdivididas em 4 grupos (com 5 vasos cada): P1, grupo controle, foi tratado somente com solução de álcool 30%; P2, tratado com solução aquosa de NaCl a 5,0%; P3, tratado com *Natrum muriaticum* 6 cH; e P4, tratado com *Natrum muriaticum* 30 cH. Os resultados obtidos mostraram que o aumento da salinidade no solo causa inibição no desenvolvimento da população de feijão (P2) e que a utilização da solução de *Natrum muriaticum* promoveu o aumento significativo do crescimento vegetal, sobretudo com relação à diluição 6 cH (P3), que causou significativo aumento na TCR da população de feijão, evidenciando a eficiência deste método em vegetais.

Palavras chave

Altas diluições; *Phaseolus vulgaris*, Taxa de crescimento relativo, *Natrum muriaticum*

A pilot study of the influence of *Natrum muriaticum* 6cH and 30cH in a standardized culture of *Phaseolus vulgaris* L.

Abstract

The use of highly diluted and agitated solutions is widespread. Its use extends to all living beings including plants, acting effectively in the latter's primary and secondary metabolism. This is a pilot study designed to assess the action of *Natrum muriaticum* in dilutions 6 cH and 30 cH in comparison to the action of 5.0% NaCl solution administered separately to a population of *Phaseolus vulgaris* L. (common bean). It was determined the relative growth rate (RGR) of the bean population treated for 6 weeks and subdivided into 4 groups (5 vases each): P1 (control) treated with 30% alcohol solution only; P2, treated with aqueous 5.0% NaCl solution; P3, treated with *Nat-m* 6 cH; P4, treated with *Nat-m* 30 cH. It was seen an increase in the salinity of the soil that caused the inhibition of the development of the bean population P2. In addition, the use of *Nat-m* promoted a significant increase in vegetable growth, chiefly in dilution 6 cH (P3), causing a significant increase in the RGR of the bean population. Therefore, high dilutions of *Nat-m* showed to be efficient to stimulate the growth of common bean.

Keywords

High dilutions, *Phaseolus vulgaris* L, Relative growth rate, *Natrum muriaticum*

* Faculdade de Ciências Farmacêuticas, PUC, Campinas, SP. ✉ gustavohs@puc-campinas.edu.br
Tradução de Lensi MM, Siqueira TJ, Silva GH. A pilot study of the influence of *Natrum muriaticum* 6cH and 30cH in a standardized culture of *Phaseolus vulgaris* L. Int J High Dilution Res [online]. 2010; 9(30): 43-50.

Introdução

O uso de soluções altamente diluídas e agitadas está amplamente difundido, sendo eficiente no tratamento de doenças em seres humanos. Com o tempo, o uso desses preparados foi estendido para todos os seres vivos assim como para o solo e a água.

Nas plantas, acredita-se que as altas diluições agem sobre o metabolismo, resultando no aumento da produção de produtos metabólicos secundários relacionados com os mecanismos de defesa das plantas [1,2] ou na diminuição da formação desses produtos [3]. Em alguns casos, esses preparados podem influenciar o metabolismo primário das plantas provocando uma resposta em seu crescimento e vitalidade. Por esse motivo, agricultores de diversas regiões do país assim como do exterior vêm utilizando essas soluções nas plantas, obtendo resultados positivos a respeito da resistência aos parasitas e doenças, condições físicas desfavoráveis, eflorescência, latência das sementes e produção de mudas sadias [4]. Diversos preparados têm sido utilizados como: *Arnica montana*, *Sulphur*, *Nux vomica*, *Natrum muriaticum*, *Phosphorus*, *Thuja occidentalis*, *Carbo vegetabilis*, *Calcarea carbonica*, *Medohrrinum*, *Staphisagria*, *Mercurius solubilis*, *Kalium iodatum* dentre outros. [5]

Natrum muriaticum melhora a aclimação das plantas em áreas inadequadas para o crescimento e desenvolvimento. Também está indicado em plantas sob stress devido à secura e congelamento. Esse medicamento é preparado a partir de sal marinho e aplicado de acordo com os princípios de semelhança e doses mínimas. Da perspectiva do princípio de semelhança, graus elevados de salinidade do solo, devidos principalmente à presença de sais de sódio, cloreto de sódio (NaCl) em particular, têm efeitos deletérios nas plantas [6].

De acordo com Greenway e Munns [7], plantas expostas a elevados níveis de salinidade usualmente respondem através de osmorregulação intracelular devida a um aumento da absorção iônica. A adaptação das plantas a tais condições pode depender de uma quantidade aumentada de solutos orgânicos específicos ou da capacidade para prevenir o acúmulo de sais no citoplasma. Alguns estudos sugerem que o alto conteúdo em sais induz alterações no metabolismo das proteínas (hidrólise) [6]. De acordo com Távora [8], o efeito mais notável da salinidade nas plantas, além da alteração do potencial osmótico, é a toxicidade e a falta de balanço na absorção de nutrientes, provocando a diminuição generalizada do crescimento da planta.

A resposta das plantas às condições de salinidade se relaciona com a expressão de diversos genes [9], e cada espécie tem um nível de tolerância ao sal que depende da concentração e natureza dos sais dissolvidos, fatores climáticos, absorção de água e nutrição vegetal [10].

O presente estudo piloto objetivou avaliar a ação de *Natrum muriaticum* 6cH e 30cH comparada à ação de NaCl 5.0% administrados separadamente a amostras de *Phaseolus vulgaris* L. (feijão).

Materiais e métodos

Phaseolus vulgaris L, foi escolhido devido à facilidade da cultura e curto ciclo de vida. Além do mais, a cultura de feijão é considerada como sendo muito sensível à salinidade [11,12].

Para a plantação, sementes de um mesmo lote foram utilizadas a fim de reduzir a variabilidade genética, obtendo, assim, um resultado mais uniforme. O experimento foi realizado em uma estufa na Pontifícia Universidade Católica de Campinas, em Campinas, São Paulo, cujo clima é classificado como tropical, de acordo com a altitude, com temperatura média anual de 22,3°C.

As amostras de feijão foram tratadas durante 6 semanas, de setembro a novembro de 2009. Cada uma das 4 populações estava composta por 25 plantas em 5 vasos, a razão de 5 plantas por vaso. Esse número é justificado pela padronização da cultura com seleção de sementes, sendo que a cultura em estufa diminui a possibilidade de interferências potenciais. Além do mais, os resultados foram analisados através de teste t pareado, e esta configuração foi suficiente para a realização do estudo.

A população 1 (P1) foi tratada apenas com água com 5 gotas de etanol 30%; a população 2 (P2), com solução aquosa de NaCl 5.0%; a população 3 (P3), com *Nat-m* 6cH, e a quarta (P4), com *Nat-m* 30cH.

As altas diluições foram preparadas segundo a prescrição da Farmacopéia Homeopática Brasileira 2ª edição [13], de modo que as diluições 6cH e 30cH foram preparadas em etanol 30%.

As soluções foram ministradas às 4 populações durante um período total de 6 semanas, 5 dias por semana. Na P1, cada vaso recebeu 5 gotas de solução hidralcólica 30% diluída em 50ml de água; a P2 foi tratada com 50ml de solução aquosa de NaCl 5,0% por vaso; a P3 recebeu *Nat-m* 6cH e a P4 *Nat-m* 30cH, dos quais, 5 gotas foram diluídas em 50ml de água em cada vaso. Nenhuma das populações foi previamente intoxicada com solução de NaCl, de modo que a P2 serviu como controle positivo.

Toda semana uma planta de cada população foi removida ao acaso de cada vaso e submetida a secado num esterilizador a temperatura 100-105°C até a obtenção de uma massa constante (aproximadamente 1 hora). A seguir, as amostras foram esfriadas num dessecador durante tempo suficiente para alcançar a temperatura ambiente. Após o secado, as amostras foram pesadas numa balança analítica. Os valores obtidos foram utilizados para o cálculo da taxa de crescimento relativo (TCR), que representa a relação entre a eficiência assimiladora das folhas e a folhagem do vegetal (número de folhas/planta e tamanho da folha) da própria planta, que foi utilizada para observar a velocidade média do crescimento todo ao longo do período de observação. [14] Esse parâmetro é calculado a partir da razão entre o logaritmo natural da massa total seca obtida de 2 amostras sucessivas (P1 e P2) e o intervalo de tempo (t_2 e t_1) entre ambas as amostras, vale dizer que $TCR = \frac{\ln P_2 - \ln P_1}{t_2 - t_1}$. [15]

Após o cálculo da TCR, os resultados receberam tratamento estatístico através da análise da variância, ANOVA, com medições repetidas, e a diferença entre os grupos foi analisada através de teste t pareado, comparando 2 populações de cada vez.

Além da determinação da TCR durante o período experimental, foram observadas e registradas características tais como despigmentação e dessecação das folhas. No entanto, essas observações não foram quantificadas. Todos os procedimentos experimentais foram realizados em duplo cego.

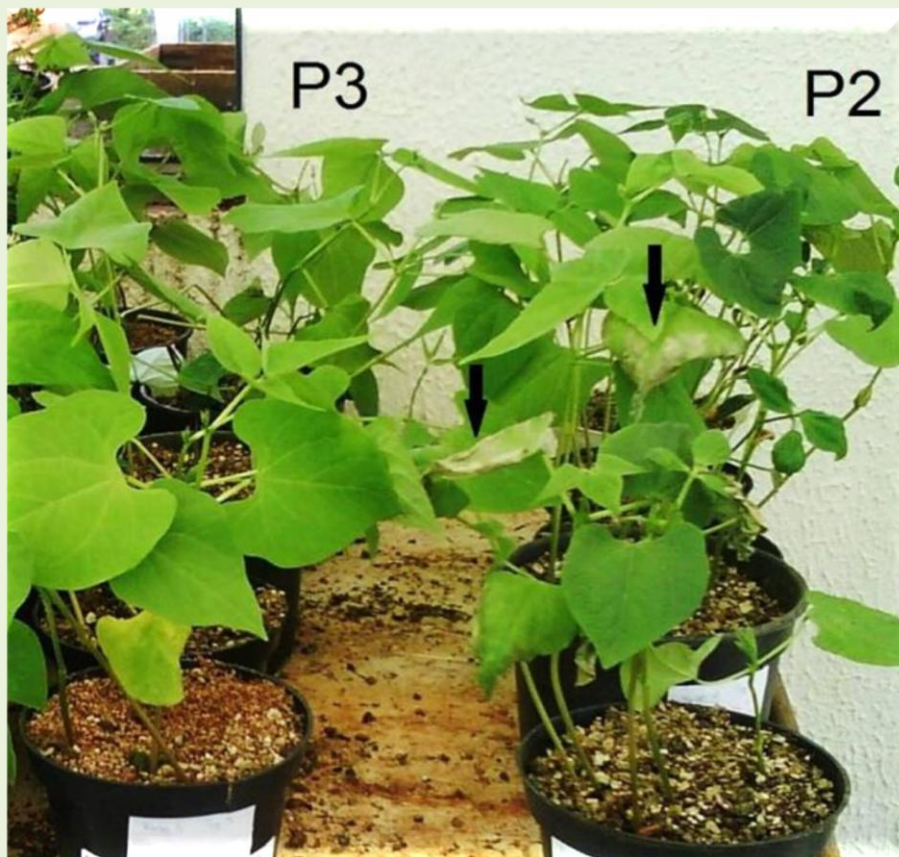
Resultados

Concordando com os relatos na literatura [6,15], a população que recebeu solução de NaCl 5,0% manifestou sinais de intoxicação, como mostrado nas figuras 1 e 2.

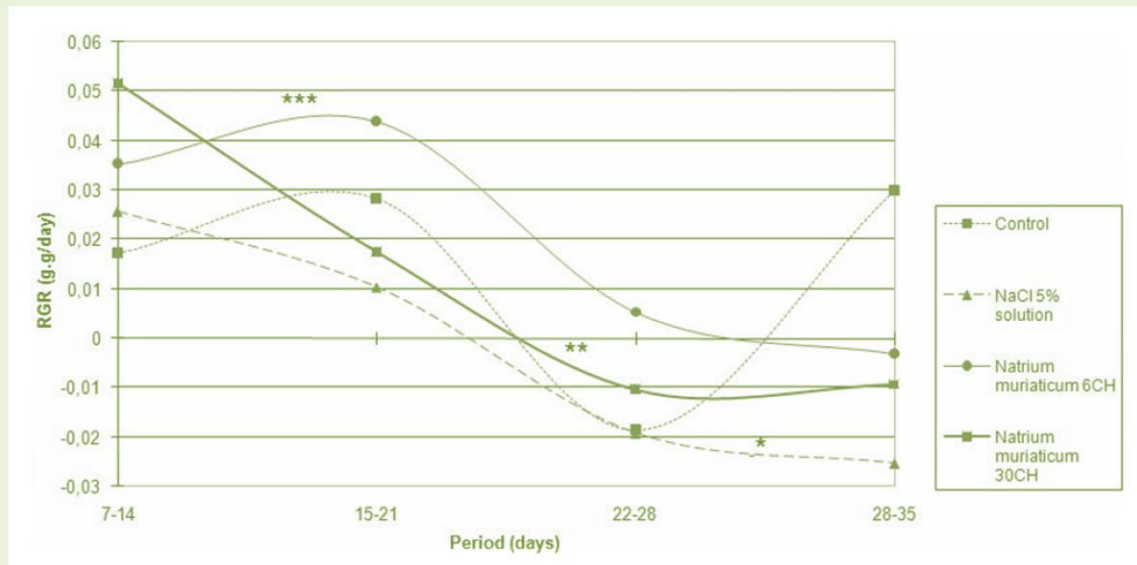
Figura 1: placas de Petri contendo plantas individuais da população P2 (NaCl 0,5%) e P3 (*Nat-m* 6CH), respectivamente, colhidas na quinta semana de tratamento, antes do secado, mostrando diferença significativa no crescimento e desenvolvimento desses grupos.



Figura 2: População P3 (*Nat-m* 6cH) e P2 (5,0% NaCl), respectivamente. Pode ser observado que as folhas dos indivíduos P2 manifestaram sinais de toxicidade (setas)



A figura 3 é a representação gráfica da evolução da taxa de crescimento relativo (TCR) em 4 populações de feijão (controle, NaCl 0,5%, *Nat-m* 6cH e *Nat-m* 30cH) durante os 42 dias do experimento. Os resultados foram analisados através de análise de variância (ANOVA, com medições repetidas) e houve diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Duas populações foram comparadas simultaneamente através de teste t pareado. Houve diferença significativa (***) ($p < 0,05$) a respeito da população controle (P1) e a tratada com NaCl 5,0% (P2), (**) diferença significativa ($p < 0,05$) a respeito da população controle (P1) e a tratada com NaCl 5,0% (P2), e (*) diferença significativa ($p < 0,05$) a respeito da população controle (P1).

Figura 3: representação gráfica da taxa de crescimento relativo (RGR)

Na P2, houve desenvolvimento prematuro de cor amarelada, menor desenvolvimento da massa verde (expressa pela TCR) e dessecação significativa das folhas. Em contraste, a população que recebeu *Nat-m* 6cH mostrou visivelmente maior desenvolvimento da massa verde por comparação com a população controle e a tratada com *Nat-m* 30cH. Além do mais, essa população preservou o pigmento esverdeado durante um maior período de tempo. As características da população que recebeu *Nat-m* 30cH foram muito similares às da população controle, vale dizer, o padrão de pigmentação, o desenvolvimento de massa verde e a dessecação das folhas foram similares em ambos os grupos. Essas observações foram confirmadas após a análise da TCR (figura 3), aonde houve diferença significativa entre os 4 grupos analisados através de ANOVA e diferença significativa entre P1 (*Nat-m* 6cH) e P1 (grupo controle) quando foi aplicado o teste t pareado.

Discussão

Soluções altamente diluídas e agitadas têm sido aplicadas com sucesso em seres humanos, animais, plantas e, inclusive, microrganismos.[16] Em vários estudos em vegetais, os experimentos mostraram que as plantas são sensíveis a essas soluções, e ao mesmo tempo estão isentas de um importante fator de interferência: o efeito placebo. Os dados obtidos, portanto, são mais concretos, pois lidam com medições de alterações fisiológicas e não psicológicas.

Na agricultura, soluções altamente diluídas podem ser utilizadas para o controle de pragas, doenças, melhorando a produtividade da cultura e a defesa natural das plantas. Também podem ser utilizadas diretamente no solo, com excelentes resultados [5].

É importante ressaltar as vantagens dos experimentos em plantas similares ao nosso. Essa pesquisa apresenta grande diversidade: os estudos se estendem desde culturas perenes a culturas de ciclo muito curto. É possível estudar grandes populações de plantas. Além do mais, algumas plantas se propagam de modo assexuado, o que facilita a pesquisa com indivíduos clonados geneticamente idênticos [16].

O presente estudo corrobora relatos prévios, confirmando a efetividade das altas diluições nas plantas, mais especificamente no feijão, aonde foi observada a influência positiva das diluições 6cH e 30cH. A hipótese formulada para desenvolver este modelo experimental esteve baseada nos bem conhecidos efeitos imediatos da salinidade nas plantas, por exemplo, secura fisiológica, originada na diminuição do potencial osmótico, desequilíbrio nutricional, devido a alta concentração iônica, inibindo a absorção de outros nutrientes. [15]

Os resultados obtidos confirmam a hipótese de que a adição de NaCl 5,0% na cultura afetou globalmente o crescimento da população de *Phaseolus vulgaris* L. avaliada, principalmente em termos de altura individual, formação de novas folhas, folhas amareladas e folhas completamente necrosadas. Em contraste, as populações tratadas com *Nat-m* 6cH e 30cH responderam de modo positivo e não apresentaram sinais de toxicidade durante o crescimento. Foi observado melhor desenvolvimento ao longo das 6 semanas de tratamento com *Nat-m*. *Nat-m* 6cH apresentou maior TCR em comparação ao grupo controle, mostrado incontestavelmente uma diferença significativa. A diluição 6cH se mostrou mais efetiva que a diluição 30cH, que não induziu resultados significativos em comparação com o grupo controle.

A falta de efeito significativo da diluição 30cH pode ter sido devida à possível produção de efeitos patogênicos leves. Esse é um fenômeno observado na prática clínica, no qual o uso de diluições inadequadas pode causar o aparecimento de sintomas característicos da ação primária da substância. É evidente que essa diluição não teve os mesmos efeitos que os causados pela solução de NaCl 5,0%. No entanto, é indicação de uma diluição limítrofe: é possível que diluições maiores exerçam efeitos inibidores ao invés de estimuladores do crescimento vegetal.

Esses resultados corroboram os obtidos por Carvalho [17], quem observou o efeito de *Nat-m* 2cH em plantas de artemísia (*Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip) considerados saudáveis, aonde aumentou o conteúdo em prolina das folhas, e nas mesmas plantas submetidas a déficit de água, aonde apresentaram redução imediata no conteúdo em prolina. Esses resultados também corroboram os obtidos por Grisa et al. [18], que observaram aumento no peso da massa seca de alface cultivado tratado com *Arnica montana* 6cH e 12cH. O mesmo resultado não foi observado com o uso da diluição 30cH. Além do mais, Luis e Moreno [19] estudaram o efeito de altas diluições de medicamentos *Calcarea* no crescimento vegetativo de cebolinha observando que *Calcarea fluorica* 30cH aumentou a produção do peso fresco em aproximadamente 45% em comparação ao grupo controle.

Um resultado diferente foi obtido por Carvalho et al. [4] no cultivo de Artemísia tratada com *Arnica montana* em altas diluições, aonde a altura e a massa fresca das plantas

não apresentaram mudanças depois da aplicação dessas soluções, e observaram que diminuiu o conteúdo em partenólídeos, especialmente com as diluições 3cH e 5cH.

Dos resultados obtidos no presente desenho experimental, conclui-se que o uso de *Nat-m* em altas diluições promoveu aumento significativo do crescimento vegetal, especialmente na diluição 6cH, que causou aumento significativo na TCR da população de feijão.

Referências

1. Andrade FMC. Homeopatia no Crescimento e na Produção de Cumarina em *Chambá Justicia pectoralis Jacq.* Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2000.
2. Castro DM, Casali VWD, Armond C, Duarte ESM, Henriques H, Arruda VM, Silva CV, Almeida AA. Utilização de soluções homeopáticas em hortelã (*Mentha spicata*). In: Proceeding of the seminário brasileiro sobre homeopatia na agropecuária orgânica. 2001; Espírito Santo do Pinha (Brazil). Viçosa:2001. p. 187-197.
3. Carvalho LM, Casali VWD, Lisboa SP, Souza MA, Cecon PR. Efeito da homeopatia *Arnica montana*, nas potências centesimais, sobre plantas de Artemísia. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2005; 7: 33-6.
4. Almeida MAZ. Resposta do Manjericão (*Ocimum basilicum* L.) à aplicação de preparações homeopáticas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2002.
5. Centro de Apoio ao Pequeno Agricultor (CAPA), Grupo de Estudos de Homeopatia na Agricultura Alternativa. Homeopatia Simples – Alternativa para pequenos produtores. Maringá, PR:UEL. 2004. Universidade Estadual de Londrina, Maringá.
6. Chandrashekar KR, Sandhyarani S. Salinity induced chemical changes in *Crotalaria striata* dc. plants. Indian Journal Plant Physiology. 1996; 1: 44-48.
7. Greenway H, Munns R. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. Annu Rev Plant Physiol. 1980; 31: 149-190.
8. Tavora FJAF, Ferreira RG, Hernandez FFF. Crescimento e relações hídricas em plantas de goiabeira submetidas a estresse salino com NaCl. Rev. Bras. Frutic. 2001; 23: 441-446.
9. Zhu, J. Plant salt tolerance. Trends in Plant Science. 2001; 6: 66-71.
10. Moura GED, Bento DM, Martins K, Macedo CEC, Aloufa MAI. Efeito do NaCl sobre a multiplicação *in vitro* de bananeiras da variedade *Grand naine*. In: Proceedings of the V Encontro Nacional de Biólogos; 2003; Natal, Brasil. p74-74.
11. Broetto F, Lima GPP, Brazil OG. Tolerância à salinidade em feijão (*Phaseolus vulgaris* L). Sci. Agric. 1995; 52: 164-6.
12. De Paula SV, Ruiz HA, Mantovani-Alvarenga E. Avaliação de plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) como critério para seleção de cultivares tolerantes à salinidade. Revista Brasileira de Sementes. 1994; 16; 220-224.
13. Farmacopéia Homeopática Brasileira. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 1997.
14. Gomide CAM, Gomide JA, Alexandrino E. Índices Morfogênicos e de Crescimento durante o Estabelecimento e a Rebrotagem do Capim-Mombaça (*Panicum maximum* Jacq.). R. Bras. Zootec. 2003; 32: 795-803.
15. Santana JM, Carvalho JA, Andrade MJB, Gervásio GG, Braga JC, Lepri EB. Viabilidade técnica e econômica da aplicação de água na cultura do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Ciênc. agrotec. 2009; 33: 532-8.

16. Rossi F, Ambrosano EJ, Melo PCT, Guirado N, Mendes PCD. Experiências básicas de homeopatia em vegetais - Contribuição da pesquisa com vegetais para a consolidação da ciência homeopática. *Cultura Homeopática*. 2004;7: 12-3.
17. Carvalho, LM. Disponibilidade de água, irradiância e homeopatia no crescimento e teor de partenólídeo em artemísia. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2001.
18. Grisa S, Toledo MV, Oliveira LC, Holz L, Marine D. Crescimento e produtividade de alface sob diferentes potências do medicamento homeopático *arnica Montana*. *Rev. Bras. de Agroecologia*. 2007; 2: 1050-3.
19. Luis SJ, Moreno NM. Efecto de cinco medicamentos homeopáticos en la producción de peso fresco, en cebollín (*Allium fistulosum*); cited 2010 March 01. Disponível em: http://www.comenius.edu.mx/Cinco_medicamentos_homeop_ticos_en_Ceboll_n.pdf