

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SÉRGIO DOMINGUES

BIOFOTÔNICA, RESPIRAÇÃO MICROBIANA E CROMATOGRRAFIA PFEIFFER
DE SOLOS TRATADOS COM ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS

LAGES, SC
2021

SÉRGIO DOMINGUES

**BIOFOTÔNICA, RESPIRAÇÃO MICROBIANA E CROMATOLOGRAFIA PFEIFFER
DE SOLOS TRATADOS COM ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS**

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção de título de Doutor no Curso de
Pós-Graduação em Produção Vegetal pela
Universidade do Estado de Santa Catarina -
UDESC.

Orientador: Ph.D. Pedro Boff

Co-orientadora: Ph.D. Mari Inês Carissimi
Boff.

LAGES, SC

2021

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Domingues, Sérgio
BIOFOTÔNICA, RESPIRAÇÃO MICROBIANA E
CROMATOLOGRAFIA PFEIFFER DE SOLOS TRATADOS
COM ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS / Sérgio
Domingues. -- 2021.
140 p.

Orientador: Pedro Boff
Coorientadora: Mari Ines Carissimi Boff
Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2021.


1. GDV. 2. Cromatografia Circular de Pfeiffer. 3.
Respiração basal dos solos. 4. Silicea terra. 5. Calcarea
carbonica. I. Boff, Pedro. II. Ines Carissimi Boff, Mari. III.
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de
Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Produção Vegetal. IV. Título.

SÉRGIO DOMINGUES

**BIOFOTÔNICA, RESPIRAÇÃO MICROBIANA E CROMATOLOGRAFIA PFEIFFER
DE SOLOS TRATADOS COM ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal pela Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC como requisito parcial para obtenção de título de Doutor em Produção Vegetal, área de concentração Produção Vegetal.

Banca Examinadora:


Dr. Pedro Boff/ orientador
EPAGRI-Lages e UDESC


Dra. Leoni Villano Bonamin
UNIP


Dr. Fabricio Rossi
USP

Membros:


Dr. Jasper Jose Zanco

UNISUL



Documento assinado digitalmente
Joni Stolberg
Data: 19/04/2021 13:27:38-0300
CPF: 683.796.929-34
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Dr. JoniStolberg
UFSC

**Aos meus amados pais, minha família e
a Ana Carolina Maciel.**

Agradecimentos

Acima de tudo agradeço a Deus por me dar força e motivação, confesso que o percurso do doutorado foi muito mais motivante que o mestrado.

A minha Família pelo amor e apoio incondicional. Ao meu pai Otávio Domingues e minha mãe Maria de Lourdes de Oliveira, cujos ensinamentos ajudaram a formar a pessoa que sou hoje, tudo que faço é por vocês também.

Aos Professores Pedro e Mari Boff pela dedicação, conhecimento repassado e principalmente pela amizade nestes anos de trabalho no mestrado e no doutorado, muitos assuntos interessantes foram abordados em nossas reuniões e isso mudou minha visão de vida para sempre. Ao Jasper que me fez olhar para o GDV e nele, ver possibilidades das quais não me arrependo de ter dedicado tempo.

A todos os amigos e colegas, em especial ao grupo do Laboratório de Homeopatia e Saúde Vegetal da Epagri-Lages, seria leviano citar alguém em especial, dada a quantidade de pessoas que conheci nesses 6 anos de convivência.

A Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), em especial ao Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) pela excelência em ensino e aos funcionários que sempre me ajudaram com competência quando precisei. A todos os professores do CAV que contribuíram para a ampliação do meu conhecimento técnico e científico.

A Escola de Educação Básica Vinte e Cinco de Maio, principalmente ao diretor Agnaldo, por me ceder os laboratórios para realização de meus ensaios. A FAPESC e posteriormente a UNIEDU pela concessão de bolsa de estudos.

A Ana pelo apoio e ao Matheus, meu sobrinho aprendiz e companheiro de laboratório.

Aos membros da banca, que me ajudaram de maneira ímpar em aprimorar os temas abordados.

A todos que de alguma forma, contribuíram para minha formação pessoal e profissional, e para que este trabalho fosse realizado.

RESUMO

DOMINGUES, SÉRGIO. **BIOFOTÔNICA, RESPIRAÇÃO MICROBIANA E CROMATOLOGRAFIA PFEIFFER DE SOLOS TRATADOS COM ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS**. 2021. 140p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV. Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Lages, 2021.

Altas diluições dinamizadas têm sido motivo de intenso debate científico pela imponderabilidade de seus princípios ativos a partir de certas ordens de diluição. Por outro lado, seu efeito biológico persiste, o que tem provocado busca de evidências plausíveis sobre seu modo de ação. Neste trabalho de tese, tivemos o objetivo de avaliar as altas diluições dinamizadas, sua influência nos microrganismos do solo e os reflexos desses tratamentos nas plantas. A escolha das altas diluições dinamizadas - homeopáticas - em nosso estudo, levou em consideração não apenas a homeopatia, mas também a agricultura biodinâmica, pela qual Kolisko e Kolisko, no início do sec. XX, estudaram o efeito de diluições em plantas, porém na diluição decimal e não seguindo as convencionais sucussões hahnemannianas. A estrutura do trabalho se fundamenta em quatro tipos de testes, que embora diferentes, cobrem aspectos importantes na investigação do fenômeno, GDV – *Gas discharge visualization* aos preparados homeopáticos, respiração microbiana de solos e cromatografia circular de Pfeiffer, GDV em tecidos vegetais. Os tratamentos que foram utilizados ao longo dos experimentos, foram: água destilada, álcool etílico 30%, *Calcareo carbonica* 30CH e *Siliceo terra* 30CH. O GDV tem várias aplicações sobretudo na saúde humana, semelhante às máquinas Kirlian, emite uma carga elétrica e através da interação com o material testado, são observados os efeitos através do vídeo gerado. A investigação seguiu: (a) GDV – *Gas discharge visualization* aos preparados homeopáticos *Calcareo carbonica* 30CH e *Siliceo terra* 30CH e controles de água destilada, álcool etílico 30%. Foram utilizadas sequências de 500 imagens geradas das preparações a partir do início do pulso. Essas imagens foram analisadas em 6 parâmetros: fractalidade espacial, área, número de fragmentos, coeficiente de forma, entropia de isolinha e comprimento de isolinha, onde foi observada a forma, intensidade e decaimento; (b) Respiração de solos, pelo método de titulação, estimando-se o efeito de *Calcareo carbonica* 30CH e *Siliceo terra* 30CH, após cada aplicação, totalizando três aplicações; (c) Cromatografia circular Pfeiffer dos solos tratados como os preparados homeopáticos, observando-se diferenciação qualitativa dos tratamentos, e desenvolvimento de modelos matemáticos aos cromatogramas obtidos; (d) GDV em folhas de feijoeiro no estágio V2 de plantas que tiveram os solos tratados por água destilada, álcool etílico 30%, *Calcareo carbonica* 30CH e *Siliceo terra* 30CH. O método GDV permitiu diferenciar *Calcareo carbonica* 30CH e *Siliceo terra* 30CH dos demais tratamentos em parâmetros como área e comprimento de isolinha. Resultados da respiração dos solos demonstraram que *Calcareo carbonica* 30CH e *Siliceo terra* 30CH tiveram comportamento semelhante sobre respiração dos solos com picos nas primeiras 24 horas e estabilização das taxas nos dias seguintes. Modelos matemáticos desenvolvidos a partir da cromatografia Pfeiffer possibilitaram diferenciação entre todos os tratamentos, com ênfase na variável entropia. Na análise de imagem de folhas, tanto a área como o comprimento da isolinha apresentaram diferenças nos tratamentos que foram plantados em vasos que receberam *Siliceo terra* 30CH e *Calcareo carbonica* 30CH.

Palavras-chave: GDV; Cromatografia Circular de Pfeiffer, Respiração basal dos solos, *Silicea terra*, *Calcareo carbonica*.

ABSTRACT

DOMINGUES, SÉRGIO. **BIOPHOTONICS, SOIL RESPIRATION AND PFEIFFER CHROMATOGRAPHY OF SOIL TREATED WITH HIGH DYNAMIZED DILUTIONS.** 2021. 140 p. Thesis (Doctor's Degree in Plant Science) – Santa Catarina State University – UDESC, Center of Agroveterinarian Science – CAV. Postgraduate Program in Plant Science, Lages, 2021.

High dynamized dilutions have been the subject of intense scientific debate due to the weightlessness of their active principles based on certain dilution orders. On the other hand, its biological effect persists, which has led to the search for plausible evidence about its mode of action. In this thesis work, we aimed to evaluate the high dynamized dilutions, their influence on soil microorganisms and the reflexes of these treatments on plants. The choice of high dynamized dilutions - homeopathies - in our study, took into account not only homeopathy, but also biodynamic agriculture, by which Kolisko and Kolisko, in the beginning of the sec. XX, studied the effect of dilutions in plants, but in decimal dilution and not following conventional Hahnemannian succussions. The structure of the work is based on four types of tests, which, although different, cover important aspects in the investigation of the phenomenon, GDV - Gas discharge visualization to homeopathic preparations, microbial soil respiration and Pfeiffer's circular chromatography, GDV in plant tissues. The treatments that were used throughout the experiments were: distilled water, 30% ethyl alcohol, *Calcarea carbonica* 30CH and *Silicea terra* 30CH. GDV has several applications mainly in human health, similar to Kirlian machines, it emits an electric charge and through the interaction with the tested material, the effects are observed through the generated video. The investigation followed: (a) GDV - Gas discharge visualization to homeopathic preparations *Calcarea carbonica* 30CH and *Silicea terra* 30CH and distilled water controls, 30% ethyl alcohol. Sequences of 500 images generated from the preparations from the beginning of the pulse were used. These images were analyzed in 6 parameters: spatial fractality, area, number of fragments, shape coefficient, isoline entropy and isoline length, where the shape, intensity and decay were observed; (b) Soil respiration, using the titration method, estimating the effect of *Calcarea carbonica* 30CH and *Silicea terra* 30CH, after each application, totaling three applications; (c) Pfeiffer circular chromatography of soils treated as homeopathic preparations, observing qualitative differentiation of treatments, and development of mathematical models to the chromatograms obtained; (d) GDV in bean leaves in stage V2 of plants that had their soils treated with distilled water, 30% ethyl alcohol, *Calcarea carbonica* 30CH and *Silicea terra* 30CH. The GDV method made it possible to differentiate *Calcarea carbonica* 30CH and *Silicea terra* 30CH from the other treatments in parameters such as area and isoline length. Soil respiration results showed that *Calcarea carbonica* 30CH and *Silicea terra* 30CH had similar behavior on peak soil respiration in the first 24 hours and rate stabilization in the following days. Mathematical models developed from Pfeiffer chromatography enabled differentiation between all treatments, with an emphasis on the entropy variable. In the image analysis of leaves, both the area and the length of the isoline showed differences in the treatments that were planted in pots that received *Silicea terra* 30CH and *Calcarea carbonica* 30CH.

Keywords: GDV; Circular Chromatography Pfeiffer, Basal soil respiration, *Silicea terra*, *Calcareo carbonica*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fragmentação da sequência de frames do comprimento de isolinha a partir dos dados apresentados na Figura 8. Lages, SC, 2020	47
Tabela 2- Valores obtidos do Teste de Esfericidade de Mauchly nas análises de respiração.....	57
Tabela 3 - Atividade microbiana do solo, expressa em taxa de respiração ($mgCO_2 \cdot g - 1dm.24h - 1$). Período correspondente ao período 09/04/2020 a 17/04/2020. Fraiburgo, SC, 2021.....	58
Tabela 4 - Atividade microbiana dos solos, expressa em taxa de respiração ($mgCO_2 \cdot g - 1dm.24h - 1$). Período correspondente ao período de 28/04/2020 a 06/05/2020. Fraiburgo, SC, 2021.....	60
Tabela 5 - Atividade microbiana dos solos, expressa em taxa de respiração ($mgCO_2 \cdot g - 1dm.24h - 1$). Período correspondente ao período de 16/05/2020 a 24/05/2020. Fraiburgo, SC, 2021.....	61
Tabela 6 - Medições geradas a partir da ideia de um centro de massa para estimar as características morfológicas dos cromatogramas.	76
Tabela 7 - Medições de zona, análise de textura dos cromatogramas.	79
Tabela 8 - medidas do GDV a partir das folhas de <i>Phaseolus vulgaris</i> , complementando as informações das figuras	91
Tabela 9 - Medidas de respiração, comparadas por método pairwise. Lages, SC, 2020.	119
Tabela 10 - Medidas de respiração, comparadas por método pairwise. Lages, SC, 2020	120
Tabela 11 - Medidas de respiração, comparadas por método pairwise. Lages, SC, 2020	121

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - GDV. (1) recipiente com líquido; (2) gota de líquido;(3) vidro ótico com revestimento embaixo; (4) descarga gasosa; (5) impulso gerador; (6) sistema óptico; (7) Câmera CCD; (8) digitalizador de vídeo; (9) computador; (10) dispositivo de descarga gasosa.	29
Figura 2 - Bifurcações sucessivas.....	32
Figura 3 - Ramificações características do GDV. Esquerda - Exemplo de padrão de descarga gerado por computador de cerca de 5000 etapas. A dimensão de Hausdorff para essas estruturas acaba sendo $D = 1,75 + 0,02$. Direita - corresponde a uma estrutura fractal e suas ramificações partindo de um ponto de contato no centro da imagem.....	39
Figura 4 - Etapas da formação das imagens GDV:	40
Figura 5 – Dispositivo GDV usado nos experimentos.	41
Figura 6 - Área total dos tratamentos submetidos ao GDV. Lages, SC, 2020.	43
Figura 7 - Coeficiente de forma das altas diluições. Lages, SC, 2020.	45
Figura 8 - Comprimento da isolinha. Lages, SC, 2020.....	46
Figura 9 - Homogeneização do solo. Fraiburgo, SC, 2021.	53
Figura 10- Garrafas de incubação para determinação da respiração do solo (método de laboratório). (A) frasco reagente (250 ml); (B) Tampa de rosca; (C) anel de vazamento; (D) arruela; (E) tubo de centrifugação; (F) abertura para troca de gás; (G) Solo; (H) solução com NaOH; (I) fio de nylon; (J) saco de malha fina de nylon.....	55
Figura 11 - Material a ser incubado. Fraiburgo, SC, 2020.....	56
Figura 12 - Pontos e marcações no papel filtro. Papel de filtro preparado para a cromatografia circular, as marcas estão dispostas com 90 graus entre si	70
Figura 13 - Impregnação do AgNO_3 . Representação gráfica do desempenho dos testes de cromatografia circular da Pfeiffer: uma folha de papel de filtro circular com uma inserção de pavio na perfuração central está localizada em um prato de plástico para que a extremidade do pavio seja imersa na solução (fase líquida) a ser embebida	71
Figura 14 - Cromatogramas prontos para uso.....	71
Figura 15 - Confecção do pavio, realizada com o próprio papel filtro e placas de petri usadas nos ensaios.....	72
Figura 16 - Padrões de medições dos Cromatogramas.....	73

Figura 17 - Cromatografias sendo performadas.....	73
Figura 18 - Diagrama radial comumente visto nos Cromatogramas.	75
Figura 19 - Cromatogramas diferem em cor e padrões, da esquerda para direita, padrões do tratamento água destilada, álcool 30%, <i>Calcareo carbonica</i> 30CH e <i>Siliceo terra</i> 30CH.....	78
Figura 20- Análise de folhas, cortes realizados com 65mm de diâmetro, foram analisadas 30000 imagens. Abaixo, exemplos de imagens dos tratamentos.	84
Figura 21 - Área em pixels. Fraiburgo, SC, 2020	87
Figura 22 - Comprimento da Isolinha. Fraiburgo, SC, 2020.....	88
Figura 23 - Área e Fractalidade espacial. Fraiburgo, SC, 2021.....	89
Figura 24 - Número de fragmentos e Coeficiente de forma. Fraiburgo, SC, 2021.	90
Figura 25 - Entropia e Comprimento da isolinha. Fraiburgo, SC, 2021.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS

CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias.
CCP	Cromatografia circular de Pfeiffer.
CZ	<i>Central Zone</i> (Zona Central).
Epagri	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina.
GDV	<i>Gas Discharge Visualisation</i> .
IMAGEJ	Programa computacional de análise de imagens montado na plataforma JAVA.
LWF	lei de Weber-Fechner.
MZ	<i>Middle Zone</i> (Zona intermediária ou Zona média).
OZ	<i>Outer Zone</i> (Zona externa).
px	<i>pixel</i>
QCD	<i>Quantum coherence domains</i> (Domínios de coerência quântica).
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina.

LISTA DE SÍMBOLOS

cm ²	Centímetros cuadrados
g	gramas
dm	<i>dry matter</i> (massa seca)
px ²	Pixels cuadrados
mgCO ₂	Miligramas de CO ₂ (dióxido de carbono).
nm	nanômetros

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL.....	25
1.1.	HOMEOPATIA, ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS, QCD-QUANTUM COHERENCE DOMAIN E GDV-GAS DISCHARGE VISUALIZATION	25
1.2.	SISTEMAS BIOLÓGICOS E A AÇÃO DE ALTAS DILUIÇÕES NA RESPIRAÇÃO MICROBIANA DO SOLO.....	29
1.3.	PADRÕES DA CROMATOGRAFIA CIRCULAR DE PFEIFFER EM SOLOS	33
1.4.	ANÁLISE DE FOLHAS DE FEIJOEIRO CULTIVADAS EM SOLO TRATADO COM ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS.....	34
2.	USO DE GDV PARA CARACTERIZAR ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS 37	
2.1.	INTRODUÇÃO.....	37
2.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	40
2.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
2.4.	CONCLUSÃO	49
3.	AVALIAÇÃO DAS ALTAS DILUIÇÕES NA RESPIRAÇÃO MICROBIANA DO SOLO.....	51
3.1.	INTRODUÇÃO.....	51
3.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	52
3.2.1.	Local, altas diluições e plano experimental.....	52
3.2.2.	Determinação da respiração microbiana do solo.....	54
3.2.3.	Métodos de medição avaliação	56
3.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
3.4.	CONCLUSÃO	63
4.	CROMATOGRAFIA CIRCULAR DE PFEIFFER EM SOLO TRATADOS COM ALTAS DILUIÇÕES.....	65
4.1.	INTRODUÇÃO.....	65
4.2.	MATERIAIS E MÉTODOS	67
4.2.1.	Local	67
4.2.2.	Preparação do material cromatográfico	69
4.2.3.	Preparo do solo e etapa final do teste	72

4.2.4.	Métodos de medição avaliação	74
4.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4.4.	CONCLUSÃO	80
5.	GDV EM PLANTAS DE FEIJOEIRO CULTIVADAS EM SOLO TRATADO COM ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS.....	81
5.1.	INTRODUÇÃO.....	81
5.2.	MATERIAIS E MÉTODOS	83
5.2.1.	Análises estatísticas	86
5.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
5.4.	CONCLUSÃO	92
6.	DISCUSSÃO GERAL.....	93
	REFERÊNCIAS.....	97
	ANEXO A - EXEMPLO DOS RELATÓRIOS CRIADOS, PRIMEIRA AMOSTRA DE ÁLCOOL ETÍLICO 30%.....	111
	ANEXO B - PARÂMETROS DO IMAGEJ UTILIZADOS NAS MEDIÇÕES DOS CROMATOGRAMAS	118
	ANEXO C – VALORES DAS OBTIDOS NAS COMPARAÇÕES POR MÉTODO DE PAR, PARA AMOSTRAS DE RESPIRAÇÃO	119
	ANEXO D - EXEMPLO DOS RELATÓRIOS CRIADOS DAS ANÁLISES DE FOLHAS DE FEIJOEIRO COMUM.....	122
	ANEXO E – DADOS PRELIMINARES DE ENTROPIA APROXIMADA E ENTROPIA DA AMOSTRA	133
	ANEXO F – ISOLINHAS E ALGORITMOS USADOS	138
	ANEXO G – ESPECIFICAÇÕES GDV USADO NOS EXPERIMENTOS.....	140

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. HOMEOPATIA, ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS, QCD-QUANTUM COHERENCE DOMAIN E GDV-GAS DISCHARGE VISUALIZATION

Trabalhos na literatura científica oriundos de vários centros de pesquisa em física teórico-experimental, agrônômica, médica e biológica, do mundo inteiro, tem demonstrado que preparados em altas diluições exercem efeitos mensuráveis sobre sistemas biológicos (BAUMGARTNER *et al.*, 2012; BAUMGARTNER & FRATANTONI, 2008; BONATO *et al.*, 2009; CHAKRABORTY *et al.*, 2014; De SOUZA GONÇALVES, 2018; ENDLER & SCHULTE, 1994; ENDLER *et al.*, 2010, 2015; JONAS *et al.*, 2001; KOKORNACZYK *et al.*, 2016; RUIZ-VEGA *et al.*, 2003; SCHULTE, ENDLER, 1998; SUKUL *et al.*, 1999; ZANCO., 2016).

A homeopatia pode ser apresentada como ponderal em diluições abaixo de 12CH ou enquadrada na definição das altas diluições, acima de 12CH, com a particularidade de serem dinamizadas, ou seja, passam por sucessivas diluições com concomitantes sucussão (BRASIL, 2011). Considerando-se que não seria possível estabelecer qualquer efeito dose dependente, em preparados cujas diluições ultrapassassem a constante de Avogadro ($6,02 \times 10^{23}$), advoga-se que toda e qualquer perturbação manifesta no organismo tratado por homeopatia seria efeito placebo (TEIXEIRA, 2014). Por outro lado, a Homeopatia como área de conhecimento tem seu corpo teórico-metodológico desenvolvido e orientado em axiomas próprios estabelecidos, inicialmente por Hahnemann no final do séc. XVIII e sendo esse referencial teórico-metodológico enriquecido até os dias de hoje pelos pares científicos (PUSTIGLIONE, 2017). Isto lhe dá o caráter de progressividade que toda área de ciência deve ter para que continue sendo legítima e útil à sociedade (LAKATOS, 1980).

Por mudança semântica, o termo "homeopatia" tornou-se sinônimo de dose mínima de um produto, em referência a uma das características da homeopatia, entretanto o significado original do termo homeopatia tem referência ao princípio da similaridade (AVERSA *et al.*, 2016). O debate científico mais acalorado, no campo da Homeopatia, situa-se em torno do agente de cura ser teoricamente imaterial, não atendendo os pressupostos físico-químico clássicos, por ser os preparados em altas

diluições dinamizadas, também denominados de ultra-diluições, diluições infinitesimais ou simplesmente homeopantias (BELLAVITE *et al.*, 2014).

Hahnemann concluiu com seus experimentos que agitar a solução após cada diluição manteria uma certa eficácia terapêutica. Aconselha-se administrar as preparações na forma líquida logo após agitá-las e sem deixá-las repousar. Essa sucussão não teria o objetivo de misturar bem a solução antes de diluí-la novamente, mas de produzir choques, sem os quais as qualidades terapêuticas do remédio homeopático não apareceriam. Este processo, sem o qual as diluições seriam pouco ou nenhum ativo, foi denominado "Dinamização" por Hahnemann (AVERSA *et al.*, 2016). Recentemente, alguns autores têm preferido usar o termo altas diluições dinamizadas, já que na obtenção de preparados homeopáticos inclui, necessariamente, a agitação do preparado (remédio/medicamento) no processo denominado sucussão - agitação angular (90°) vertical (BRASIL, 2011).

Segundo Hahnemann (1996), a homeopatia, no organismo, promove estímulo sutil (não ponderável) no poder vital do organismo, considerado como um ente organizativo que responde também, de início, sutilmente, e não raramente é dado em tempo espaçado. Influenciado pelo pensamento filosófico vitalista de sua época, Hahnemann atribui ao princípio vital o poder de regular todas as sensações e funções fisiológicas, no organismo em estado de saúde. O estado de doença estaria relacionado a um desequilíbrio desta força vital e a saúde seria restabelecida com o reequilíbrio vital. Apesar de empregar uma terminologia em desuso pelo pensamento científico moderno, os fenômenos vitais descritos por Hahnemann e suas observações clínicas equivalem aos mecanismos homeostáticos estudados pela fisiologia moderna (TEIXEIRA, 2006).

Alguns autores afirmam que essa abordagem é compatível com efeitos não lineares, nos quais, qualitativamente, as entradas são desproporcionais às saídas (GEORGE & ENGEL, 1980). O efeito não linear, não presume mecanismo particular pelo qual o remédio atinge esse efeito. O que se deve salientar é a não linearidade das respostas do organismo tratado e sua característica (BELL *et al.*, 2002). Daqui em diante, para evitarmos a repetição excessiva, trataremos o remédio/medicamento homeopatia na sua peculiaridade de alta diluição dinamizada apenas pelo termo alta diluição.

As altas diluições apresentam características distintas de seus solventes. As Farmacopéias homeopáticas de vários países, consideram a água e o álcool, puros ou em diferentes proporções de misturas, os solventes adequados para diluições líquidas (BRASIL, 2011; HPI, 2016; SSA, 2015). A estrutura nano heterogênea da água pode ser determinada por fenômenos interativos, como epitaxia (transmissão de informações estruturais da superfície de um material para outro sem a transferência de qualquer matéria), processos envolvendo temperatura-pressão durante a sucussão e formação de nanobolhas coloidais contendo gases inclusões de oxigênio, nitrogênio, dióxido de carbono e, possivelmente, o material de origem do remédio (RAO *et al.*, 2007; UPADHYAY, 2017). Como entender a impregnação e longevidade dessas propriedades no solvente são objeto de discussão também na teoria quântica (SILVA *et al.*, 2005). Em um estudo recente, Aparicio *et al.* (2020) constataram que a atividade associada ao *Phosphorus* 30CH pode se propagar através de grandes volumes de água, causando mudanças em todo sistema de lagos conectado, e que essas mudanças podem ser rastreadas usando o corante solvatocrômico. Por sua vez, isto significa que a utilização de medicamentos homeopáticos em grandes volumes de água potável, em contextos agrícolas e ecológicos, apresenta potencial monitoramento físico-químico.

Uma abordagem teórica promissora explorada atualmente para explicar as altas diluições, é a QCD - *Quantum Coherence Domain* (TOURNIER *et al.*, 2020). Segundo essa proposta, existem estruturas de água de ~100 nm de diâmetro similares a clusteres (PREPARATA, 1988; Del GIUDICE *et al.* 1988, BONO *et al.*, 2012). A ideia baseia-se no fenômeno eletromagnético quântico e é compatível com íons interagindo com as estruturas promovendo estabilidade. Essas estruturas previstas seriam sensíveis a temperatura e desapareceriam com aquecimento (WELLS *et al.*, 2007). Além disso, o conceito de QCD em cristais líquidos e água foi proposto para seguir as teorias eletrodinâmicas quânticas (QED) relativas à matéria condensada (PREPARATA, 1995). A QCD se baseia no comportamento diferente entre os conjuntos macroscópicos de sistemas microscópicos idênticos e a interação microscópica clássica devido a forças fracas; as diferenças são exaltadas abaixo da chamada temperatura crítica ou acima da densidade "crítica" (BELLAVITE *et al.*, 2007). Os domínios de coerência tomam forma como "blocos fundamentais" para a matéria condensada: átomos, moléculas, elétrons e núcleos se sintonizam dentro dos

blocos para um campo eletromagnético macroscópico (clássico), permitindo assim a troca de frequência eficiente entre CDs de diferentes sistemas (BELLAVITE *et al.*, 2007). Algumas evidências sugerem que os efeitos dos campos eletromagnéticos de baixa frequência são manifestados na água (VALLÉ *et al.*, 2005).

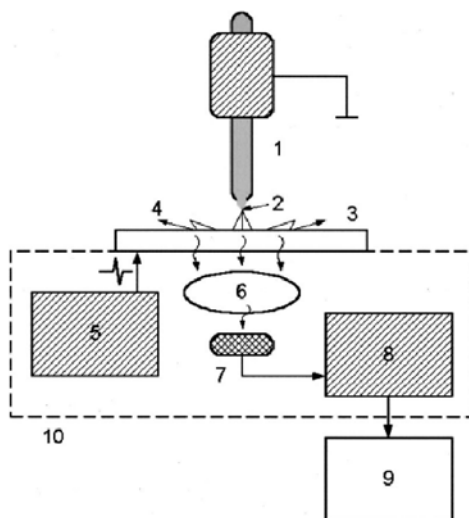
A teoria QCD associada ao modelo de zona de exclusão prevê que as informações são armazenadas como frequências eletromagnéticas, descartando a necessidade da presença da substância original (UPADHYAY, 2017). Neste caso, a informação seria passada de diluição para diluição pelo processo conhecido como “sucussão” (TOURNIER *et al.* 2020). De fato, vários experimentos demonstram vestígios do soluto e que a diluição por vezes é aparente, apresentando característica assintótica (REY, 2003; CHIKRAMANE *et al.*, 2010; CHIKRAMANE *et al.*, 2012). Recentemente corantes solvatocrômicos têm obtido resultados particularmente interessantes, por responderem coletivamente de maneiras opostas e complementares às potências de acordo com a estabilização diferencial de seus estados eletrônico excitado e fundamental (CARTWRIGHT, 2017; 2020).

A materialização das alterações provocadas pelo uso de altas diluições dinamizadas em seres humanos é facilmente percebida no final do processo de cura pela mudança da totalidade sintomática (HAHNEMANN, 1996). Para plantas, a semiologia do processo doença-cura com preparados homeopáticos nem sempre corresponde aos efeitos sutis desses preparados. Isto porque, a planta está interdependente ao meio e suas interações (GLIESSMAN, 2001), outro ponto relevante é que as plantas não exibem sintomatologia como animais, onde a demonstração pode ser dada através de alterações de comportamento, isso dificulta individualizar o organismo doente digno de cura em vegetais, recorre-se então na agricultura em geral, ao conjunto de sintomas peculiares da população (TEIXEIRA, 2010). Para tanto, usam-se métodos que representem mudanças próximas à aplicação dos preparados homeopáticos, no pressuposto de sua relação direta causa-efeito (TEIXEIRA & CARNEIRO, 2017; TOLEDO *et al.*, 2011).

A biofotônica tem sido trabalhada para detectar mudanças sutis em organismos vivos que possam indiretamente refletir alterações na estrutura organizativa desses seres organismos, como por exemplo, germinação de sementes na área agrônoma e diferenciação de preparados homeopáticos (CARDOSO *et al.*, 2011; ZANCO, BOFF & MINKIN, 2013; ZIBETTI, 2016). Imagens captadas em plasma

frio, processo conhecido como GDV - *gas discharge visualisation* (Figura 1), permitem visualizar certo nível de organização no objeto ou material biológico sensível à transformação numérica e análise estatística (KOROTKOV & KOROTKIN, 2001).

Figura 1 - GDV. (1) recipiente com líquido; (2) gota de líquido; (3) vidro óptico com revestimento embaixo; (4) descarga gasosa; (5) impulso gerador; (6) sistema óptico; (7) Câmera CCD; (8) digitalizador de vídeo; (9) computador; (10) dispositivo de descarga gasosa.



Adaptado de Korotkov & Korotkin(2001).

A técnica GDV consiste em fluxos de elétrons capturados da superfície de um objeto, induzidos por pulsos de voltagem curta capaz de discriminar alterações sutis de vários líquidos, incluindo altas diluições dinamizadas (BELL *et al.*, 2003; KOSTYUK *et al.*, 2011), motivo pelo qual, esta técnica será explorada neste trabalho.

1.2. SISTEMAS BIOLÓGICOS E A AÇÃO DE ALTAS DILUIÇÕES NA RESPIRAÇÃO MICROBIANA DO SOLO

Altas diluições, dinamizadas ou não, apresentam comportamento compatível com os fenômenos de coerência e sistemas dinâmicos, nessas abordagens as repostas nem sempre são lineares (BELLAVITE *et al.*, 2014; CALLARD, 1999; ENDLER *et al.*, 2015; SUKUL & SUKUL, 2006). No caos determinístico o comportamento é aparentemente imprevisível e existe sensibilidade aos valores iniciais e perturbações; emergência: auto-organização, formação de padrões,

coerência, oscilações, atratores dinâmicos; adaptação: evolução, plasticidade, histerese, sensibilização/dessensibilização, tolerância, etc. Os sistemas vivos, definidos pela sua complexidade característica, funcionam à beira do caos, onde exibem sensibilidade acentuada às condições iniciais (BELLAVITE *et al.*, 2014, CALLARD *et al.*, 1999; LORENZ, 1972; SHINBROT *et al.*, 1993). Sabe-se que, todo ser vivo precisa de energia, e o gradiente energético sob o qual os organismos trabalham é dado pela diferença de energia entre a fonte e os resíduos (MATURANA & GARCIA, 1997).

Vamos considerar esse gradiente de absorção energética (ΔE - embora seja uma designação provisória), o que resulta da energia livre contida na fonte de energia a ser assimilada pelo organismo (E_{so}) menos a energia contida nos detritos (E_{si}); $\Delta E = \Delta E_{so} - \Delta E_{si}$. O fluxo de energia que percorre todo o sistema é diretamente proporcional a esse gradiente. Segundo Prigogine (1978), em estados estacionários de não-equilíbrio, a perturbação na entropia produzida é dada por $\frac{1}{2} \frac{\partial}{\partial t} \delta^2 S = \sum \delta J_\rho \delta X_\rho$. Onde, $\delta^2 S$ é a perturbação na produção de entropia, o termo δJ_ρ é o desvio nas taxas de vários processos irreversíveis, e δX_ρ são os desvios nas forças generalizadas (afinidades, gradientes de temperatura, etc.), ou seja flutuações.

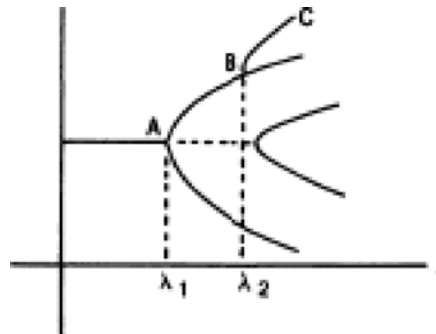
Segundo a Teoria da Estabilidade Termodinâmica de Prigogine (1978), os estados correspondentes ao equilíbrio termodinâmico, ou os estados estacionários correspondentes a um mínimo de produção de S (entropia) em termodinâmica linear de não-equilíbrio, são automaticamente estáveis. No entanto, se o sistema for perturbado, a produção S aumentará, mas o sistema reagirá voltando ao valor mínimo da produção S . Quando o ΔE varia abruptamente, o regime do sistema se distancia do estado estacionário; o aumento rápido (não linear) da entropia dissipada permite que o sistema recupere o regime estacionário, mas em um novo estado, numa espécie de equilíbrio termodinâmico. Pequenas perturbações no sistema podem levar a grandes mudanças se ocorrerem em pontos críticos da dinâmica do sistema que por si só não é linear (LANGTON, 1992). Essas mudanças podem levar a resultados progressivamente divergentes conforme esse sistema complexo evolui dentro de seu ambiente ao longo do tempo.

Desse modo, surge também a possibilidade de estados estacionários não uniformes ou bifurcações. Uma bifurcação é uma “quebra de simetria” relativamente à evolução linear do sistema previsível a partir de uma descrição suficientemente

detalhada de seu estado inicial (PRIGOGINE & STENGERS,1984). Podemos chamá-lo de bifurcação de Turing, já que Turing foi o primeiro a notar a possibilidade de tais bifurcações na cinética de reações em seu clássico artigo sobre morfogênese, onde propôs que os padrões espaciais resultam de um fenômeno que ele denominou “instabilidade dirigida pela difusão”. Turing (1952) mostrou matematicamente que pequenas flutuações espaciais em um sistema de reação e difusão poderiam se tornar instáveis, e que a amplificação dessas flutuações poderia levar a um padrão espacial de substâncias químicas que ele denominou morfogênicos, isto é, substâncias que estimulam o desenvolvimento da forma ou estrutura em um organismo.

A ideia de bifurcação é crucial e introduz, em certo sentido, "história" em fenômenos biológicos. Suponha que a observação nos mostre que o sistema cujo diagrama de bifurcação é representado pela Figura 2 está no estado C e chegou lá através de um aumento no valor de B. A interpretação desse estado C implica o conhecimento da história anterior do sistema, que teve que passar pelos pontos de bifurcação A e B. Toda descrição de um sistema que tenha bifurcações implicará elementos determinísticos e probabilísticos. O sistema obedece a leis determinísticas, como as leis da cinética química, entre dois pontos de bifurcação, enquanto que na vizinhança dos pontos de bifurcação as flutuações desempenham um papel essencial e determinam o ramo que o sistema seguirá. Como assinala Prigogine *et al.* (1972), se o sistema é capaz de evoluir através de instabilidades sucessivas, deve desenvolver um mecanismo pelo qual cada nova transição favorece maior evolução incrementando a não-linearidade e a distância do equilíbrio.

Figura 2 - Bifurcações sucessivas



Fonte: Prigogine (1978).

Desse modo, pode-se testar se as características sutis das altas diluições causam alguma perturbação em organismos vivos. Para isso é possível a mensuração da respiração microbiana do solo e que conseqüentemente teria reflexos na planta em estudo. Na literatura científica, há muitas publicações que mostram efeitos biológicos claros de substâncias diluídas em até 10^{-18} M, que corresponde aproximadamente à diluição homeopática 9CH (BELLAVITE *et al.*, 2014). Isso aponta que os organismos vivos possuem alguma forma de amplificação de estímulos, Bellavite *et al.* (2014), afirmam que essa amplificação pode ser ativada por algum estímulo periódico, quando o ruído que não contém informações específicas e por si só, não ativa o receptor, é adicionado ao sinal, a energia de ativação excede o limite e o sistema recebe uma informação com um componente de frequência igual ao sinal periódico, mas mais forte do que o sinal de entrada. Por este processo, um sistema pode se tornar sensível a estímulos tão pequenos que de outra forma não seriam percebidos. Nos últimos anos, uma série de experimentos mostraram que este fenômeno ocorre em lasers, supercondutores, neurônios e membranas biológicas (WIESENFELD & MOSS, 1995; YU *et al.*, 2011).

Mecanismos de amplificação biológica já são conhecidos desde 1834, quando o fisiologista alemão Ernst Heinrich Weber percebeu a dinâmica dos estímulos. Segundo a lei do mínimo estímulo (FECHNER, 1860, WEBER, 1834), os sistemas sensoriais biológicos são capazes de observar diferenças assim que algum estímulo muda por mais de uma proporção constante de sua magnitude real. A mudança relativa de estímulo foi posteriormente estendida por Gustav Fechner para o que é conhecido hoje como a lei de Weber-Fechner (LWF). Falando formalmente, a percepção diferencial dP é diretamente proporcional à mudança relativa dS/S do

estímulo físico: $dP = k \cdot \frac{dS}{S}$, onde S é a magnitude atual do enquanto a constante k depende da determinação experimental. Integração direta da equação anterior leva a: $P = k \cdot \ln \ln \frac{S}{S_0}$, onde P identifica a magnitude da percepção, e a constante de integração S_0 pode ser interpretada como limiar de estímulo (abaixo do qual nenhuma percepção sensorial é possível). Válida para todos os organismos vivos, tanto animais como vegetais, a lei de Weber-Fechner, afirma que a resposta é proporcional não ao estímulo, mas para o logaritmo do estímulo, o que na prática significa que um estímulo por menor que seja, poderá ser sentido pelo organismo. A lei de Weber-Fechner tem se mostrado promissora em estudos recentes ligados a teoria da informação (REICHL *et al.*, 2010).

Se um estímulo sutil como é o caso das altas diluições, é capaz de promover mesmo que provisoriamente alteração nos organismos, uma forma de medir essas alterações pode ser através das taxas de respiração, por estar intimamente ligadas às características termodinâmicas dos seres vivos. Para aumentar significativamente a quantidade de organismos que recebem estímulos, podem ser usados microrganismos que por si só, são sistemas complexos, adaptativos, consistem em um grande número de agentes individuais (VASCONCELLOS *et al.*, 2015). Os microrganismos são de importância agronômica e estão abundantemente presentes nos solos vivos.

1.3. PADRÕES DA CROMATOLOGRAFIA CIRCULAR DE PFEIFFER EM SOLOS

A Cromatografia Circular de Pfeiffer foi desenvolvida para permitir visualizar graficamente a saúde dos solos com indicativo qualitativo para Agricultura Biodinâmica (PFEIFFER, 1984). Supõe-se que, qualquer alteração dos solos, seja física ou biológica, tenha reflexo nos cromas e sua disposição. Portanto, a respiração dos microrganismos do solo pode formar padrões diferentes, se houver diferença dos compostos metabolizados e peso molecular (SAAVEDRA *et al.*, 2018). Se os estímulos das altas diluições dinamizadas podem causar alterações não lineares na respiração de microrganismos então é provável que as consequências possam ser sentidas no sistema como um todo e haveria formação de padrões distintos nos

cromatogramas circulares de Pfeiffer, devido à diferença de subprodutos dos microrganismos tratados e não tratados, homeopaticamente.

A interação entre os fatores físicos, químicos e biológicos desses sistemas também importa, porque pode levar à produção de padrões de comportamento do sistema como um todo, os quais não podem ser compreendidos ou mesmo preditos com base somente no conhecimento que podemos ter dos indivíduos (VASCONCELLOS *et al.*, 2015). Dessa maneira é imprescindível não nos atermos apenas aos testes de respiração microbiana do solo, mas sim ter uma visão geral, e essa é a finalidade maior dos cromatogramas circulares de Pfeiffer, neles são expressas as características gerais do sistema nos aspectos químicos, físicos e biológicos (RESTREPO & PINHEIRO, 2011).

1.4. ANÁLISE DE FOLHAS DE FEIJOEIRO CULTIVADAS EM SOLO TRATADO COM ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS.

Em geral, cultivos vegetais são sistemas biológicos complexos com limites em bordas tênues, normalmente estabelecidas subjetivamente (BERTALANFFY, 1977). O feijoeiro comum é uma das principais culturas cultivadas no Brasil, além da importância econômica, destaca-se pela sua relevância na segurança alimentar e nutricional (BARBOSA & GONZAGA, 2012). E como a maioria das espécies de plantas, é espacialmente fixo no solo. Logo, possíveis alterações no solo serão possivelmente refletidas no feijoeiro. De fato, alguns trabalhos demonstram que aplicações homeopáticas nos solos apresentam maior efeito nas plantas do que aplicações diretas na parte aérea (ANDRADE, *et al* 2004). Após a aplicação dos tratamentos com altas diluições e seus controles, há um rearranjo da estrutura solo-planta, ou seja, uma auto-organização na busca da homeostase por parte do organismo para manter o equilíbrio dinâmico (FINGER, 2012). A auto-organização resultante, é o desenvolvimento de instabilidades em um sistema desorganizado (termicamente caótico) seguida da estabilização de estruturas coerentes em escala macroscópica, resultante de um balanço estabelecido entre perdas dissipativas e processos internos enquanto o sistema recebe energia e, eventualmente, massa, proporcionada pelas fontes alimentadoras externas (VASCONCELLOS *et al.*, 2015).

Em 1972, o biólogo e filósofo chileno Humberto Maturana, cunhou o termo autopoiese (auto = self, ou it-self, e poiesis ou criação) para dar uma definição de um sistema vivo que não estava relacionado a características funcionais específicas como mobilidade, a capacidade de se reproduzir, ou metabolismo, mas exclusivamente baseada no sistema como tal (VARELA *et al.*, 1974). Ou seja, um sistema autopoietico corresponde a um sistema que reage às leis da termodinâmica do desequilíbrio, que se redefine constantemente e, em seu interior, se sustenta e se reproduz (PRIGOGINE *et al.*, 1999). Essas mudanças são sensíveis ao ambiente (MATURANA & GARCIA, 1997). Dessa forma, as características físicas, químicas e biológicas alteradas no solo devem refletir de algum modo na planta ou de modo mais poético – e sabidamente, não inteiramente correto - um organismo ganha a vida bebendo ordem (SCHRÖDINGER, 1944).

A análise de imagens captadas pelo método GDV podem representar as mudanças nas plantas causadas pela aplicação no solo de preparados em altas diluições dinamizadas, uma vez que se trata de um método extremamente sensível para verificar mudanças físicas e químicas (BELL *et al.*, 2003; KOSTYUK *et al.*, 2011).

As hipóteses propostas no trabalho de tese consistem em: (a) As altas diluições dinamizadas são capazes de causar alterações nos sistemas vivos; é possível que altas diluições dinamizadas por serem vitalizantes, interventores de sistemas organizativos estruturados, possam influir no balanço energético de sistemas vivos com reflexos na respiração microbiana do solo e nas características expressas na técnica GDV; (b) A qualidade do solo pode ser medida através da cromatografia circular de Pfeiffer altas diluições dinamizadas alteram qualitativamente solos, o uso de algoritmos possibilita que a cromatografia Circular de Pfeiffer seja quantificada e expresse diferenças entre tratamentos.

Portanto, o trabalho de tese aqui apresentado, teve o objetivo de verificar a ação de preparados em altas diluições dinamizadas no solo e no feijoeiro através dos métodos de respiração microbiana e da biofotônica em captação de imagens em plasma frio, GDV - *gas discharge visualization*.

O estudo a seguir apresentado está estruturado em cinco capítulos-pesquisa: (1) Introdução geral ao tema (2) Individualização das altas diluições dinamizadas de *Silicea terra* 30CH e *Calcareo carbonica* 30CH e dos solventes Água destilada e Álcool etílico 30%, através da análise de imagens captadas pelo método GDV - *gas*

discharge visualization em plasma frio; (3) Avaliação da respiração microbológica dos solos em resposta à aplicação de altas diluições dinamizadas; (4) Desenvolvimento de métodos quantitativos com uso algoritmos para interpretação de imagens obtidas pela cromatografia circular de Pfeiffer em solos; (5) Avaliação da ação das preparações homeopáticas em plantas de feijoeiro, quando aplicadas em solos, através de atributos morfológicos e análise de imagens GDV de plantas de feijoeiro.

2. USO DE GDV PARA CARACTERIZAR ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS

2.1. INTRODUÇÃO

A eficácia das preparações em altas diluições dinamizadas (homeopantias) na terapêutica homeopática tem sido, frequentemente, contestada no argumento do efeito placebo (ENDLER, SCHULTE, 1994; SCHULTE & ENDLER, 1998, TEIXEIRA, 2014). De fato, altas diluições de soluções que ultrapassem a constante de Avogadro ($6,02 \times 10^{23}$), partindo de um (1) mol do soluto, não mais apresentariam, acima desse nível, a presença de qualquer partícula do soluto (VAN WASSENHOVEN *et al.*, 2018). Entretanto, preparações em altas diluições dinamizadas, acima desse limiar (constante de Avogadro), continuam demonstrar efeito biológico (BAUMGARTNER *et al.*, 2008, 2012; BONATO *et al.*, 2009; ENDLER *et al.*, 2010, 2011; JONAS *et al.*, 2001; SAHA *et al.*, 2015; SUKUL *et al.*, 1999, 2006). Isto supõe haver alteração nas propriedades do solvente, impregnadas de início pelo soluto e após, mantidas pelo solvente (água, álcool ou a mistura dos dois), nas sucessivas dinamizações (diluição seguida de succussão) (HOLANDINO *et al.*, 2017; RUIZ-VEGA *et al.*, 2000; SUKUL *et al.*, 2000).

Um dos maiores desafios na pesquisa em homeopatia é evidenciar, cientificamente, a identidade particular das preparações dinamizadas nas potências em que métodos físico-químicos convencionais não são capazes de detectar a presença de soluto (CHIKRAMANE *et al.*, 2010, 2012; DEMANGEAT, 2013). Argumenta-se ainda, que o poder de cura dos preparados em altas diluições dinamizadas é decorrente da reação dinâmica do poder vital. Na obra “Ensaio sobre um novo princípio para se averiguar o poder curativo das drogas”, 1796, Hahnemann descreve o “efeito primário dos medicamentos”, promotores de alterações nos diversos sistemas orgânicos, e o “efeito secundário do organismo” (reação vital ou homeostática), que atuaria como uma resposta neutralizadora dos distúrbios primários promovidos pelos fármacos, na tentativa de retornar ao “equilíbrio do meio interno” (força de conservação ou homeostase) anterior à intervenção medicamentosa (TEIXEIRA, 2006). Na agricultura o uso de altas diluições teve seus primeiros usos relatados por Rudolf Steiner quando proferiu em Koberwitz, um ciclo

de oito conferências sobre agricultura e os preparados biodinâmicos, que são pulverizados sobre as plantas ou adicionados aos adubos orgânicos em pequenas quantidades com o objetivo de dinamizar/estimular processos de crescimento (KOEPP *et al.*, 1983).

Mudanças sutis em materiais e sistemas vivos tem sido relatada pelo uso da análise de imagens (CARDOSO *et al.*, 2011; ZDUNEK *et al.*, 2014). Essa abordagem fornece informações do que está ocorrendo com o conteúdo analisado no momento da visualização (HENRIQUE; JORGE; RAY, 2005). Através do processamento digital é possível compactar, destacar informações bem como buscar padrões (ALDER, 2001). Korotkov e Kovotkin (2001) e outros na Rússia desenvolveram o GDV (*gas discharge visualisation*) uma técnica de processamento computadorizado com objetivo de replicar observações biofísicas do estado interno dos organismos e capaz de evidenciar alterações sutis de vários líquidos, incluindo altas diluições dinamizadas.

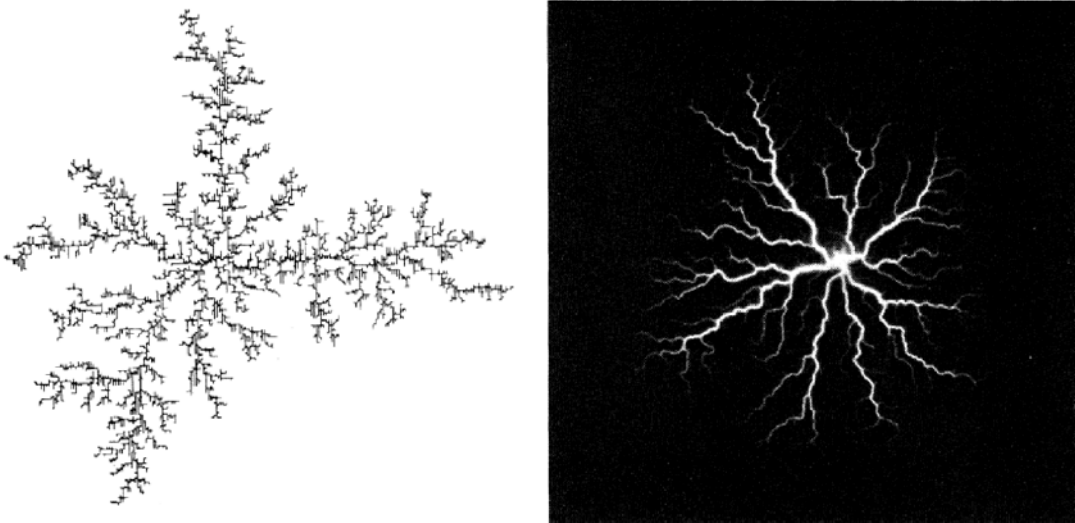
O GDV consiste em fluxos de elétrons capturados da superfície de um objeto ou material biológico, induzidos por pulsos de voltagem curta. Este fenômeno é pesquisado e conhecido na física e na biofísica como “emissão de fotoelétrons” (KOSTYUK *et al.*, 2011). As partículas excitadas, emitidas e aceleradas no campo eletromagnético, ocorrem como avalanches eletrônicas na superfície do eletrodo de vidro causando descarga de gás no entorno do objeto estimulado (GROZDEVA & DIKOVA, 2018).

A descarga de moléculas causa brilho natural devido à excitação elétrica. O brilho então é medido pelo método GDV em tempo real e fornece informações sobre o objeto testado (KOROTKOV *et al.*, 2010; GROZDEVA & DIKOVA, 2018).

A formação de imagens na descarga de gás em torno de objetos de natureza diferente iniciada por fortes campos eletromagnéticos impulsivos, também chamados de efeito Kirlian, é conhecida há mais de dois séculos (KOROTKOV *et al.*, 2001). Descobriu-se que as imagens de descarga de gás ao redor de objetos biológicos podem fornecer informações substanciais sobre o estado interno do objeto (KOROTKOV *et al.*, 2010). O GDV é semelhante ao usado por Vieilledent e Marc Henry, no entanto, sua pesquisa era baseada em submeter a frequência de 200 e 400 Hz UV (VIEILLEDENT *et al.*, 2014). O estudo do GDV leva sempre em consideração

a dimensão fractal, testes iniciais que abordaram o fenômeno, apresentaram dimensões fractais (Figura 3).

Figura 3 - Ramificações características do GDV. Esquerda - Exemplo de padrão de descarga gerado por computador de cerca de 5000 etapas. A dimensão de Hausdorff para essas estruturas acaba sendo $D = 1,75 \pm 0,02$. Direita - corresponde a uma estrutura fractal e suas ramificações partindo de um ponto de contato no centro da imagem.

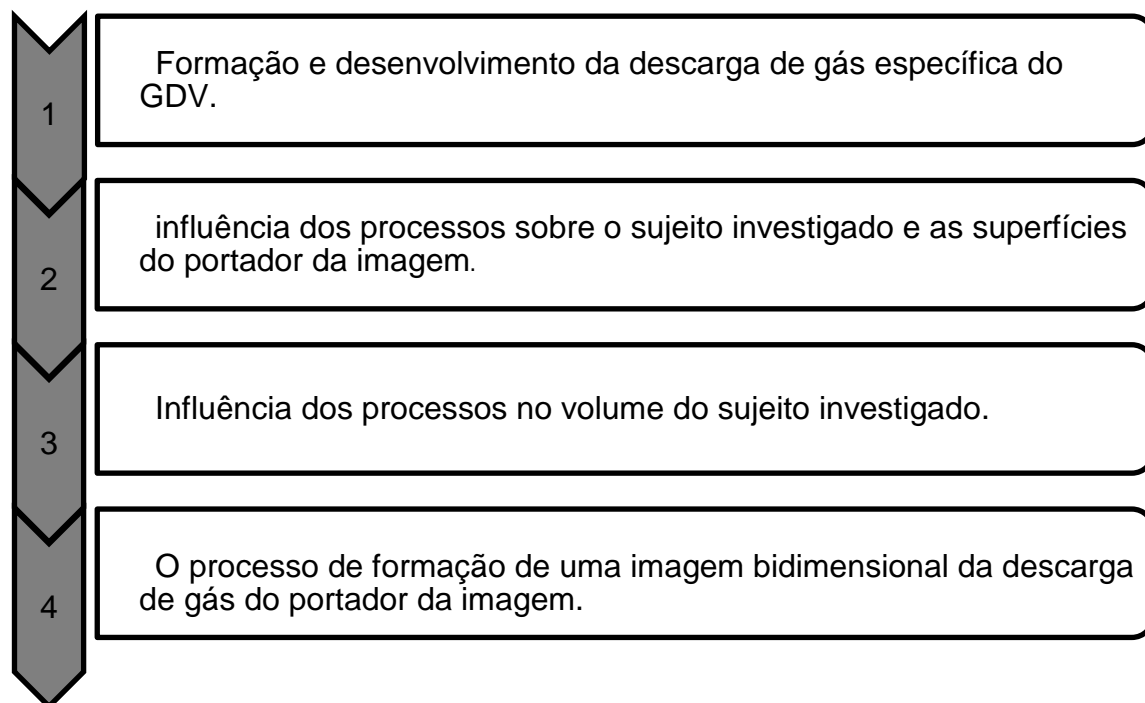


Fonte: Niemeyer *et al.* (1984).

Após a captação das imagens, são formados padrões fractais (Figura 18).

O fluxograma a seguir trata de modo resumido a abordagem analítica do GDV (Figura 4).

Figura 4 - Etapas da formação das imagens GDV:



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Nos últimos anos, houve aumento significativo do uso do GDV com emprego em diversas áreas da pesquisa, como da saúde, educação, psicologia, medicina do trabalho e desportiva, teste em plantas, avaliação de líquidos e outros materiais (ZIBETTI, 2016). O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento de altas diluições dinamizadas através de análise de imagens obtidas em plasma frio GDV.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em Fraiburgo/SC, nas dependências dos Laboratórios de Biologia e Solos da Escola de Educação Básica 25 de Maio. As altas diluições foram obtidas no laboratório de Homeopatia e Saúde vegetal de Lages/Epagri. Os tratamentos utilizados foram: água destilada (T1), álcool etílico 30% (T2), *Calcareo carbonica* 30CH (T3) e *Silicea terra* 30CH (T4). A escolha de *Silicea terra* como tratamento foi em base aos trabalhos em agricultura biodinâmica, que tem seu uso indicado, desde começo do século XX, por Rudolf Steiner (1861-1925). Na

biodinâmica e na homeopatia para plantas, este preparado está associado a estruturação interna das plantas, desenvolvimento, qualidade nutritiva das plantas e resistência às doenças (BERTALOT *et al.*, 2010). Já a *Calcarea carbonica* associa-se aos relatos da aplicação em vegetais relacionados à germinação de sementes desenvolvidos por Kolisko e Kolisko, na Alemanha (KOLISKO & KOLISKO, 1939). A água destilada foi a mesma utilizada para preparação do álcool etílico 30% e a álcool etílico 30%, foi a mesma utilizada na preparação de *Silicea terra 30CH* e *Calcarea carbonica 30CH*. A preparação das altas diluições dinamizadas seguiu os métodos descritos na Farmacopeia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011). Foi utilizada uma micropipeta da marca HTL labmate® para maior precisão no manuseio do tratamento. Foi utilizado papel whatman nº1 com 25 mm de diâmetro para servir de base para espalhamento do preparado a ser estudado. Com auxílio da micropipeta, foram pipetadas 30µl por amostra no centro do papel. Não foi realizada a sucussão (10 x) dos preparados antes do ensaio. As amostras foram pipetadas e submetidas imediatamente à captura de imagem pelo dispositivo GDV pertencente ao laboratório de Homeopatia e Saúde Vegetal da Epagri, Estação experimental Lages (Figura 5).

Figura 5 – Dispositivo GDV usado nos experimentos.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

A captação das imagens foi feita pelo software GDV capture® por 35 segundos, taxa 25 fps, resolução 720/576 pixels, cada pixel tinha comprimento

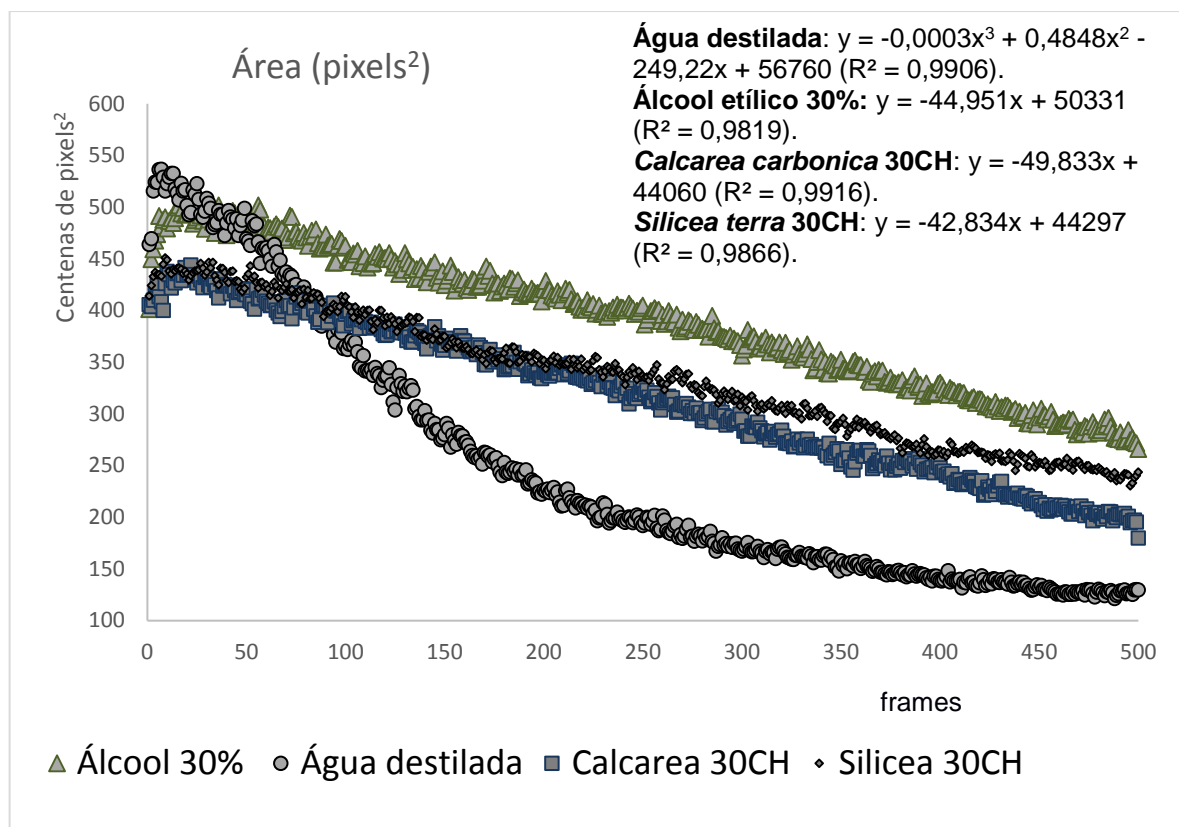
aproximado de 0,003781317mm. Para a fragmentação do vídeo foi utilizado software imageGrab®, para as análises das imagens foi utilizado o software *Scientific laboratory*®. De cada tratamento foram testadas 10 amostras e cada amostra gerou 500 imagens, totalizando 5000 imagens por tratamento e 20000 imagens analisadas no total. Cada imagem foi testada em pelo menos 6 parâmetros, que foram: área, número de fragmentos, coeficiente de forma, entropia de isolinha e comprimento de isolinha (explicações sobre isolinha podem ser encontradas nos Anexos), obtidos a partir do programa *Scientific laboratory*®. As sequências vão de 1 a 500, sendo que cada ponto representa a média de 10 medidas, com isso, houve maior estabilidade nos dados, posteriormente os dados foram submetidos a análises estatísticas.

Para avaliar o comportamento ao longo do tempo, foi realizada a fragmentação da sequência de frames do comprimento de isolinha, para isso foram divididos em valores que foram de 0-100, 101-200, 201-300, 301-400 e 401-500.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento de água destilada apresentou maior expansão nos primeiros frames da análise, com pico máximo de 51576 px², vindo a decair rapidamente, mostrando um padrão de declínio semelhante à meia vida, isso está relacionado com a estrutura diferente do líquido, diferente dos outros tratamentos, este não possui álcool. Água destilada foi o único que não apresentava na sua composição álcool etílico. Os tratamentos compostos por álcool etílico 30%, *Calcareo carbonica* 30CH e *Siliceo terra* 30CH tiveram um padrão semelhante. No entanto, a área álcool 30% foi superior desde o início, com pico no frame 16, onde apresentou 50180 px² e no último frame analisado, frame 500 – 26622 px². *Calcareo carbonica* 30CH e *Siliceo terra* 30CH obtiveram picos de área que corresponderam 44166 px², 44903 px², respectivamente. Os tratamentos *Calcareo carbonica* 30CH e *Siliceo terra* 30CH, tiveram comportamento semelhante nas emissões do início (Figura 6). Uma possível explicação pode estar relacionada com a forma que as altas dinamizações são manipuladas, durante a manipulação há agitação, trabalhos recentes constataram que tratamentos que passaram pela sucussão apresentaram características físicas diferentes dos controles (BRASIL, 2011; DEI, 2020; RAO, 2007).

Figura 6 - Área total dos tratamentos submetidos ao GDV. Lages, SC, 2020.



Fonte: Autor (2021).

O comportamento ao final das medições, ou seja, mais próximo ao frame 500, demonstrou diferenças entre os tratamentos, uma explicação para esse fenômeno pode ser a sensibilidade às condições iniciais (BELLAVITE & SIGNORINI, 2002). O último frame medido dos tratamentos obteve os seguintes valores de área em pixels: água destilada: 12966 px²; álcool etílico 30%: 26622 px²; *Calcareia carbonica* 30CH: 18008 px² e *Sílicea terra* 30CH: 24385 px².

A área mostrou ter forte correlação com o tempo e em todos os tratamentos o coeficiente de determinação (R^2) foi superior a 0,98. Isso se deu ao fato que cada um dos pontos do gráfico é a média de 10 medidas independentes, eliminando assim, as oscilações características do GDV.

O comportamento foi compatível com as hipotéticas estruturas de água em QCD-*Quantum coherence domain* que transportariam cargas eletrostáticas. As técnicas que usam tais efeitos elétricos podem ser úteis aos sistemas. As observações de aumento da condutividade para amostras homeopáticas e de excesso de calor em estudos calorimétricos, podem ser compatíveis com as dos QCDs (ELIA *et al.*, 2013).

Os comportamentos das altas diluições mostradas na Figura 2, são compatíveis com ideias de que mesmo em número muito diluído, o líquido em teste pode apresentar características diferentes do solvente puro (NAIN *et al.*, 2015).

Uma das opções que podem ser levantadas para explicar o fenômeno, sobretudo quando se leva em relação apenas os tratamentos *Silicea terra* 30CH e *Calcarea carbonica* 30CH é a formação de domínios de coerência, onde o material testado apresentaria diferentes padrões devido ao próprio arranjo estrutural molecular, sensível às cargas elétricas do GDV, explicaria o porquê do decaimento (WELLS *et al.*, 2007). Álcool 30% apresenta padrão semelhante às altas diluições no que se refere ao decaimento, mas em termos percentuais a curva se mantém pelo menos 5% com valores acima se comparados com as altas diluições.

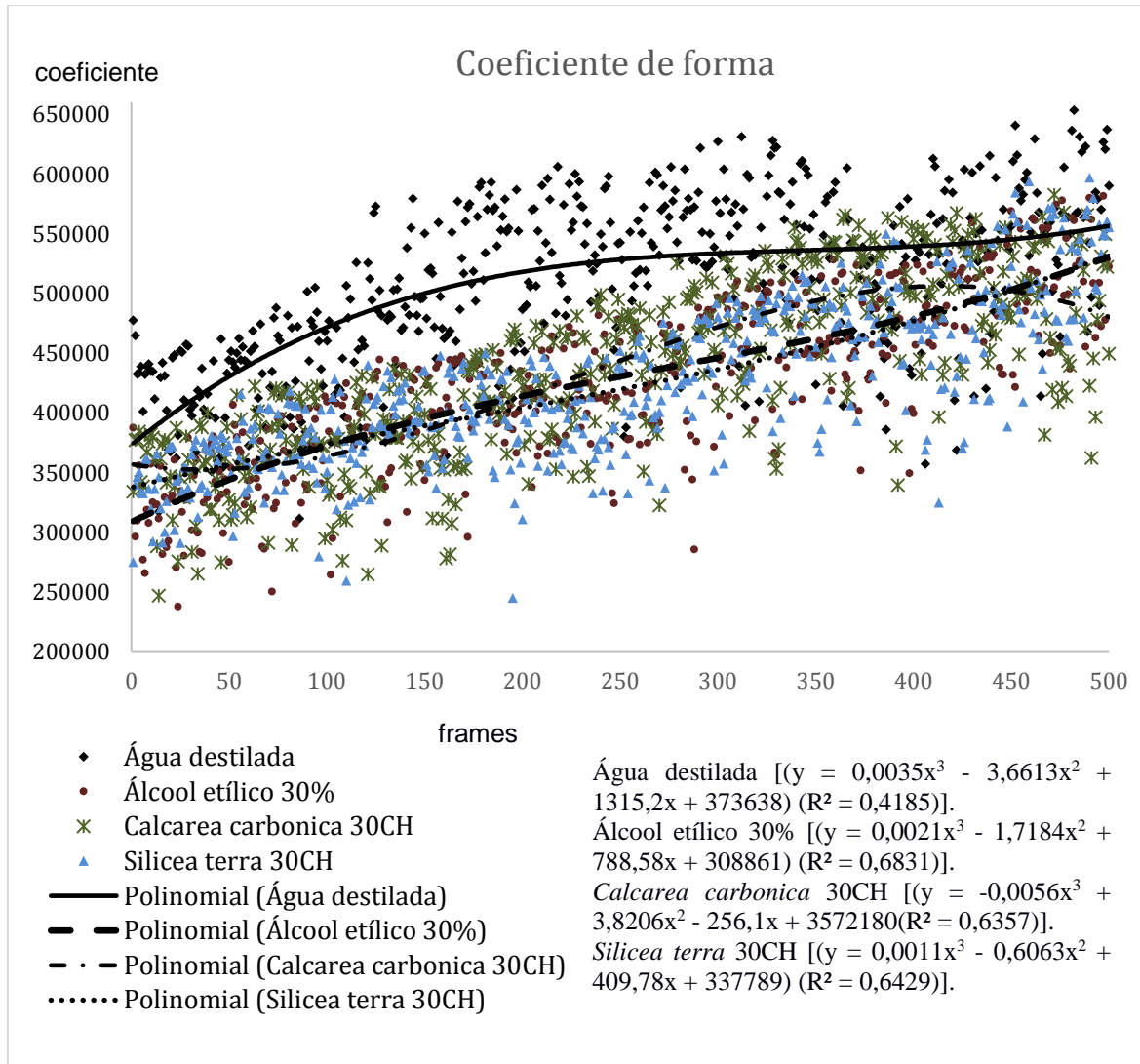
A menor área expressa na luminosidade poderia significar líquido mais coerente e mais estável devido a formação de estruturas, se compararmos o comportamento da água destilada como referência. Fica claro que a maior área, no gráfico do tratamento com Água destilada, não significou maior estabilidade, houve um declínio rápido da área que culminou em menor área após 500 frames (Figura 6). Em relação a entropia, menor entropia significa menor número de estados e, portanto, um líquido mais estável. Estados coerentes em altas diluições podem estar relacionados com as ligações de hidrogênio (KONAR *et al.*, 2016). Alguns estudos preliminares sobre a entropia do sinal gerado estão no Anexo E.

Os tratamentos *Silicea terra* 30CH e *Calcarea carbonica* 30CH tiveram comportamento similar até a primeira metade dos frames analisados, apresentando comportamento diferente ao longo do tempo, é possível afirmar que nesse caso o tempo representado pelos frames, exerce papel importante na diferenciação dos tratamentos.

As regressões polinomiais evidenciaram forte ajuste da área em função dos frames (tempo, 24 frames por segundo), esse resultado é devido a quantidade de amostras testadas, que resolve em parte problemas de ruídos relatados (BELL *et al.*, 2003).

Ressalta-se a robustez do método ao longo do tempo, se considerados apenas os 200 primeiros frames, não haveria diferença visível nos tratamentos álcool etílico 30%, *Calcarea carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH (Figura 7).

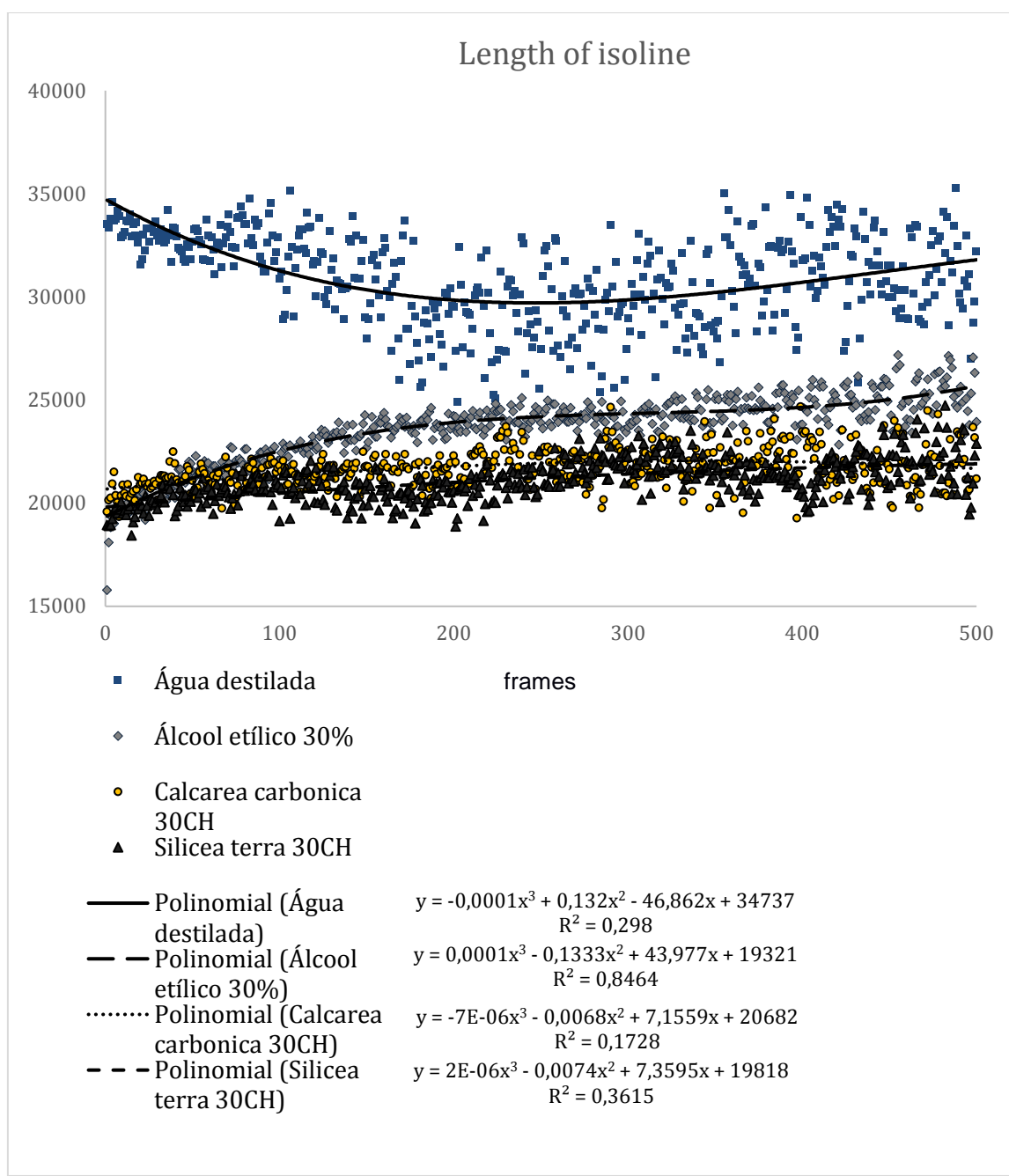
Figura 7 - Coeficiente de forma das altas diluições. Lages, SC, 2020.



Fonte, próprio autor.

O tratamento com Água destilada, apresentou maior comprimento de isolinha - 33525 px - se comparados aos demais tratamentos, Álcool etílico 30%: 15785 px; *Calcareia carbonica* 30CH: 19587 px e *Silicea terra* 30CH: 18948 px. É evidente a diferença entre o comportamento da água destilada se comparada aos demais tratamentos (Figura 8). O comprimento da isolinha é um parâmetro importante que realça a capacidade que o uso do GDV possui em diferenciar características físicas dos líquidos, a resposta do material testado ao GDV é expressa em termos de comprimento e variação da isolinha (BELL *et al.*, 2003).

Figura 8 - Comprimento da isolinha. Lages, SC, 2020.



Fonte: o próprio autor.

A fragmentação da sequência de frames do comprimento de isolinha, divididas em valores que foram de 0-100, 101-200, 201-300, 301-400 e 401-500. Quando observado os valores de 0 a 100, percebe-se que existem diferenças entre os tratamentos, o tratamento composto apenas por água destilada apresentou os maiores valores, 3290,63px, enquanto que *Silicea terra* 30CH apresentou os menores valores, 2026,17px (Tabela 1).

Os tratamentos apresentaram comportamento diverso desde o início, para o tratamento com água destilada, a diferenciação é significativa dos demais tratamentos desde o primeiro segmento de frames, 0-100 até o último segmento analisado 401-500, entretanto, dos frames 301 a 500, houve comportamento similar entre as altas diluições. Uma característica importante que deve ser levada em consideração ao se trabalhar com GDV, é que seu uso em líquidos em poucos frames e poucas amostras é passível de erros de estimativa, o comportamento é alterado conforme a análise é performada, isto se deve às descargas que ocorrem e vão destruindo a estrutura inicial do líquido testado (Tabela 1).

Tabela 1 - Fragmentação da sequência de frames do comprimento de isolinha a partir dos dados apresentados na Figura 8. Lages, SC, 2020

Tratamentos	Frames				
	0-100	101-200	201-300	301-400	401-500
Água destilada	3290,63 a	3050,73 a	2915,57 a	3054,71 a	3131,99 a
Álcool etílico 30%	2113,27 b	2336,71 b	2408,11 b	2450,31 b	2508,18 b
<i>Calcareea carbonica</i> 30CH	2107,49 b	2143,90 c	2202,34 c	2202,40 c	2183,41 c
<i>Silicea terra</i> 30CH	2026,17 c	2055,68 d	2131,05 d	2161,39 c	2176,76 c
CV	11,387	16,220	16,661	16,892	18,662

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Bonferroni ($p < 0,05$).
Fonte: Produção do próprio autor, 2020.

Os preparados de *Silicea terra* 30CH e *Calcareea carbonica* 30CH mostram grande afinidade ao longo do tempo, isso pode ser devido ao processo de manipulação farmacotécnica que passam ser semelhante, isso qualificaria sensibilidade às condições iniciais e poderia ser descrito como pontos de bifurcação, uma “quebra de simetria” relativamente à evolução linear do sistema previsível a partir de uma condição inicial (PRIGOGINE & STENGERS, 1984).

Outros métodos, como por exemplo o uso da espectroscopia UV, foram capazes de captar diferenças estatisticamente significativas para *A. napellus*, *Sulphur* e *A. mellifica*. Além disso, a absorvância dentro dos níveis de diluição foi comparada entre os vários materiais de partida. Diferenças estatisticamente significativas foram encontradas entre as diluições 30CH, 200CH e 200CF (KLEIN & WOLF, 2016).

ŠKARJA et al (1998) compararam imagens de descarga de gás em torno de gotas de soluções de água de vários sais não orgânicos usando o método tradicional

de fotografia de descarga de gás, vários parâmetros numéricos caracterizando a descarga de gás em torno das gotas de solução, que em particular correspondem ao tamanho e forma de serpentinas separadas. Usando esses parâmetros, eles foram capazes de demonstrar diferenças quantitativas essenciais entre imagens de descarga de gás em torno de gotas de soluções de diferentes sais em diferentes concentrações. A análise de imagens captadas pelo método GDV fornece um método de verificar as propriedades de remédios homeopáticos e distingui-los dos controles com solventes (BELL *et al.*, 2003).

As altas diluições testadas, *Calcareo carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH mostraram características iniciais parecidas, isso pode ser devido ao processo de manipulação dessas altas diluições que segue protocolos padronizados pela Farmacopeia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011).

2.4. CONCLUSÃO

Houve diferença significativa entre o comportamento da Água destilada e os demais tratamentos. Isso por si só, demonstra que o método GDV apresenta alta sensibilidade para detectar diferenças entre preparados em altas diluições dinamizadas. A junção de fatores, pode contribuir para diferenciar os tratamentos

O ensaio conduzido pela destruição do líquido em análise demonstrou ser metodologia eficaz, sobretudo para observar o comportamento de decaimento dos líquidos analisados.

As altas diluições dinamizadas de *Calcareia carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH mostraram características iniciais parecidas.

A repetição das medidas mostrou-se eficaz para atenuar as variações não lineares que o GDV apresenta em amostras únicas.

O método GDV pode contribuir para diferenciar altas diluições dinamizadas dos solventes, motivo de desconfiança por grande parte dos pesquisadores quando as diluições excedem o número de Avogadro. A metodologia mostrou-se compatível com QCD, abordagem bastante teórica, mas que tem obtido êxito na explicação de vários fenômenos, inclusive biológicos.

São necessários vários ensaios para melhorar e validar metodologias envolvendo GDV, aspectos como um grande número de amostras e captação de imagens por maior tempo mostraram-se importantes na diferenciação e estudo do comportamento dos líquidos testados.

3. AVALIAÇÃO DAS ALTAS DILUIÇÕES NA RESPIRAÇÃO MICROBIANA DO SOLO

3.1. INTRODUÇÃO

A saúde e qualidade do solo pode ser estimada através de características físicas, químicas e biológicas com uso de indicadores que reflitam o desenvolvimento da planta no seu todo integral de modo a completar o ciclo vegetativo-reprodutivo similarmente ao da sua espécie (HEGER; IMFELD; MITCHELL, 2012; CHERUBIN *et al.*, 2015). É sabido que o carbono estocado no solo é duas ou três vezes maior que o liberado na atmosfera (COELHO, 2005). A presença da matéria orgânica é indispensável para a bioestrutura, produtividade e manutenção da vida no solo (PRIMAVESI, 1982). Um dos atributos que pode inferir sobre a qualidade do solo nesses sistemas é a atividade microbiana, mensurada pela avaliação do CO₂ liberado em função das atividades metabólicas de oxidação da matéria orgânica (DIONÍSIO *et al.*, 2016; MEDEIROS *et al.*, 2019). O CO₂ produzido no solo é liberado para a atmosfera, contribuindo com cerca de 50% do carbono que compõem a respiração total do ecossistema (DA SILVA *et al.*, 2017).

A taxa de respiração microbiana do solo, também denominada de respiração basal, tem demonstrado ser mais sensível do que indicadores físicos e químicos para detectar perturbações diversas nos solos (CARDOSO *et al.*, 2009; STÖCKER *et al.*, 2017; ZHOU *et al.*, 2020). Por exemplo, o fluxo de nutrientes pode alterar negativamente as taxas de respiração microbiana do solo (KASCHUK *et al.*, 2011). A adição de matéria orgânica causa mudanças nas taxas de respiração microbiana do solo devido ao crescimento rápido e maior mineralização realizada pelos microrganismos (PRIMAVESI, 1982). A evolução do CO₂ de um solo é, portanto, medida da atividade biológica total do solo (ANDERSON, 1982).

Dada a sensibilidade da análise de respiração microbiana (respiração basal), a mesma tem o potencial de responder a intervenções sutis, como aplicação das altas diluições dinamizadas. A ação em microrganismos foi reportada por Trebbi *et al.* (2016), os quais concluíram que altas diluições de arsênico inibiram a germinação de esporos *in vitro* de *A. brassicicola*. As altas diluições dinamizadas estão regulamentadas para uso na produção orgânica no Brasil e têm apresentado

excelentes resultados com seu uso na agricultura (ANDRADE & CASALI, 2011; BRASIL, 2014; CAMPOS & PEDROSO, 2020; DOMINGUES *et al.*, 2019, KAVIRAJ, 2015). Altas diluições dinamizadas produzem respostas não lineares em organismos vivos, onde qualitativamente, as entradas são desproporcionais as saídas, na agricultura isso pode ser refletido em maior produtividade (BELL *et al.*, 2002; BELLAVITE *et al.*, 2014; DOMINGUES *et al.*, 2019, OLIVEIRA *et al.*, 2020a). A taxa de respiração, como variável de resposta sensível a perturbações diversas, pode refletir a ação das altas diluições dinamizadas nos microrganismos do solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar variações na respiração microbiana do solo com a finalidade de verificar as alterações decorrentes da aplicação de altas diluições dinamizadas.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Local, altas diluições e plano experimental

O experimento foi conduzido em Fraiburgo/SC, nas dependências do Laboratório de Biologia e de Solos da Escola de Educação Básica 25 de Maio. As amostras de solo foram obtidas em área de APP (área de preservação permanente), tomou-se cuidado para coletar solo não antropizado para que houvesse diversidade de microrganismos. Foram coletados cerca de 65 kg de solo da camada superficial que corresponde a uma profundidade máxima aproximada de 15 cm, em seguida o solo foi espalhado para que se pudesse retirar pedras e raízes, o solo restante foi homogeneizado e então passado por peneiras de 10 mm e na sequência por peneiras de 5 mm, para que as amostras de solo tivessem homogeneidade granulométrica. Foram então separados em 4 cubas com 15 kg cada, conforme Figura 9.

As altas diluições dinamizadas foram obtidas no Laboratório de Homeopatia e Saúde Vegetal de Lages/Epagri. Os tratamentos foram: água destilada (T1), álcool etílico 30%(T2), *Calcareo carbonica* 30CH (T3) e *Silicea terra* 30CH (T4). A água destilada foi a mesma utilizada para todos os tratamentos. A preparação das altas diluições dinamizadas seguiu os métodos descritos na Farmacopéia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011).

Figura 9 - Homogeneização do solo. Fraiburgo, SC, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Com auxílio de pulverizador manual Tramontina® de 2 litros, foram pulverizados 500 mL do respectivo tratamento no solo presente nas cubas, desses 500 mL, o conteúdo foi estimado pela capacidade de campo e determinação da umidade de 5 amostras do solo coletado, 5mL eram do tratamento e o restante era água destilada, o tratamento foi realizado antes da separação em parcelas, descrita adiante. Os 5ml foram medidos com auxílio de pipeta de 10ml. Enquanto era pulverizado, o conteúdo de solo era virado para maior homogeneidade dos tratamentos. Após o tratamento, foram pesados 1kg de solo por vaso (parcela) e 15 vasos por tratamento, constituindo-se nas repetições. Cada vaso (repetição) recebeu um número de 1 a 4 que representava os tratamentos, seguido por outro número de 1 a 15, dos quais os vasos de 1 a 10 foram utilizados para os testes de respiração, os vasos de 11 a 15 receberam os mesmos tratamentos e serviram como reservas caso houvesse problemas com algum dos tratamentos.

Delineamento em Blocos Casualizados com 15 repetições, sendo 1 vaso por parcela com 1 kg de solo. A ordem que cada vaso assumia da esquerda para a direita, foi feita por sorteio. Cada vaso (parcela) deu origem a duas amostras para determinação das taxas de respiração da primeira fase, realizada no período de 09/04/2020 – 17/04/2020. Após os tratamentos os vasos foram pesados para o peso servir de referência para a segunda (28/04/2020 – 06/05/2020) e terceira (16/05/2020 – 24/05/2020) aplicação dos tratamentos. Foram pesados 20 g de solo úmido em campo em dois tubos de centrifugação por amostra de solo conforme SCHINNER et al (2012). Cada medida de respiração foi avaliada independentemente, portanto,

foram realizadas 20 medidas de respiração por tratamento. As amostras foram incubadas por 24 horas e foram iniciadas as determinações em temperatura ambiente.

O experimento foi tratado por mais duas vezes com as altas diluições, onde se preservou o mesmo delineamento experimental e o solo não foi revolvido novamente, isso para simular um ambiente agrícola, onde numa primeira intervenção foi feito revolvimento no solo e posteriormente apenas tratamento. Na segunda e na terceira aplicação das altas diluições do experimento, não houve alteração nos tratamentos no que se refere às mudanças de blocos, ordem de vasos, etc. No entanto, novas amostras para determinação da respiração foram feitas.

Para as novas aplicações das altas diluições, foi levada em consideração a umidade evaporada durante o período, que foi obtida pelo peso atual menos o peso após a primeira aplicação. O valor de 20 ml foi definido antes da segunda fase dos tratamentos, pelo peso médio evaporado de 10 vasos e convencionou tratar da segunda e terceira vez com a mesma dosagem. Dos 20 ml de cada tratamento, 18 ml eram de água destilada e 2 ml dos tratamentos (a concentração foi diferente para que não ficasse muito aquém dos 5 ml do primeiro tratamento). Foram gotejados 20 ml dos tratamentos sobre a superfície dos vasos e após 30 minutos realizada nova coleta de material para respiração. A espera foi estimada para que o conteúdo aplicado pudesse penetrar no solo.

3.2.2. Determinação da respiração microbiana do solo

A respiração microbiana do solo por Titulação seguiu o princípio enunciado por SCHINNER *et al.* (2012):

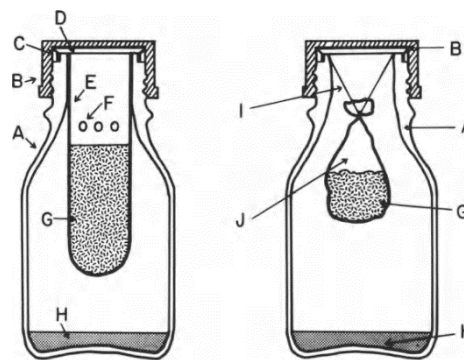
- As amostras de solo foram incubadas em recipiente fechado, onde o CO₂ produzido é absorvido em hidróxido de sódio e quantificado por titulação (JÄGGI, 1976).

Os materiais e equipamentos necessários foram:

- Frasco reagente (250 ml) com tampa de rosca e anel de vazamento.
- Tubos de centrífuga ou tubos de ensaio (polipropileno, diâmetro externo 29mm, comprimento 105mm), onde foram feitos pequenos furos nos tubos para permitir as trocas de gasosas (Figura 7). Ao invés de tubos, pode-se também inserir sacos de nylon de malha fina nas garrafas. Os ensaios

preliminares foram realizados com sacos de nylon, os resultados foram semelhantes, mas o manuseio das amostras deixou muito a desejar, sendo que toda a metodologia relatada neste trabalho foi feita com tubos centrífugas (Figura 10).

Figura 10- Garrafas de incubação para determinação da respiração do solo (método de laboratório). (A) frasco reagente (250 ml); (B) Tampa de rosca; (C) anel de vazamento; (D) arruela; (E) tubo de centrifugação; (F) abertura para troca de gás; (G) Solo; (H) solução com NaOH; (I) fio de nylon; (J) saco de malha fina de nylon.



Fonte: Schinner *et al.* (2012).

Sobre a parte química foram necessários os reagentes químicos:

- Solução de hidróxido de sódio (0,05M);
- Ácido clorídrico diluído (0,1M);
- Solução de cloreto de bário (0,5M) – para o preparo dessa solução foram dissolvidos 10,4 g de BaCl_2 em água destilada e o volume ajustado para 100 mL com água destilada em um balão volumétrico, procedimento realizado nas dependências do laboratório de análises químicas da Epagri/ Estação Experimental de Lages.
- solução indicadora de fenolftaleína (BAYER, 1871) para determinação do CO_2 dissolvido – foram dissolvidos 0,1 g de fenolftaleína em etanol (60% v/v), e se fez o aumento do volume para 100 mL com etanol em um balão volumétrico.

Com uso de dispensador foram colocados 20 mL de solução de hidróxido de sódio nos frascos do laboratório e inseridos os tubos nos frascos (Figura 11). Após 24 horas de incubação foi realizada a titulação, processo que foi realizado por 9 dias. Os tubos eram removidos e eram adicionados 2 mL de solução de cloreto de bário para

precipitar o CO₂ absorvido como carbonato de bário. Logo após foram adicionadas 3-4 gotas da solução indicadora e titulado o hidróxido de sódio remanescente com HCl diluído. Na titulação tomou-se o cuidado de retirar duas amostras sem solo contendo apenas a solução aquosa de NaOH 0,05M, para que fosse calibrada a titulação.

Figura 11 - Material a ser incubado. Fraiburgo, SC, 2020.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

3.2.3. Métodos de medição avaliação

O cálculo é dado através da equação:

$$\frac{(C-S) \cdot 2.2 \cdot 100}{SW \cdot \%dm} = mgCO_2 \cdot g^{-1}dm \cdot 24h^{-1}$$

C - Volume médio de HCl consumido pelos controles (mL)

S - Volume médio de HCl consumido pelas amostras (mL)

2.2 - Fator de conversão (1 mL de 0,1 M de HCl corresponde a 2,2 mg de CO₂)

SW - Peso inicial do solo (g) -1 dm - fator para matéria seca do solo.

Os dados foram tabulados e analisados utilizando o software R Core Team (2020). Para os resultados foi aplicado o teste de ANOVA para medidas repetidas. O teste de esfericidade de Mauchly foi aplicado, e quando violado, as correções técnicas necessárias foram feitas usando o teste de Greenhouse-Geisser. Sempre que o teste

F indicou significância estatística, a análise foi complementada por meio do teste de comparação múltipla de Bonferroni, que apresenta taxas mais baixas de erro do tipo I e é adequado para comparações múltiplas (GIRARDI, CARGNELUTTI, STORCK, 2009). Foi realizado o teste de Esfericidade de Mauchly para testar a propriedade de simetria composta, que implica na condição de que a variável aleatória seja igualmente correlacionada e tenha variâncias iguais considerando as três análises. O limite de significância estatística foi fixado em 5% ($P < 0,05$).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de Esfericidade de Mauchly foi aplicado para os três testes realizados (Tabela 2).

Tabela 2- Valores obtidos do Teste de Esfericidade de Mauchly nas análises de respiração

Medidas de respiração	critério de Mauchly	Qui-Quadrado (χ^2)	Pr $> \chi^2$
09/04/2020 – 17/04/2020	0,001	949,497	$< 0,001^*$
28/04/2020 – 06/05/2020	0,004	411,513	$< 0,001$
16/05/2020 – 24/05/2020	0,003	436,334	$< 0,001$

*Valores menores que 0,05 são significativos.

Os resultados para as amostras de respiração, demonstram que a condição de esfericidade foi violada, isto é, a hipótese de que a distribuição dos dados seja normal com variáveis independentes não-correlacionadas e com variâncias constantes nas três coletas não foi aceita, indicando que a análise da variância usando medidas repetidas deva ser aplicada nessa situação. Se a condição de esfericidade fosse aceita, a análise de variância deveria ser através do delineamento em blocos inteiramente casualizado arranjado em parcelas subdivididas. Assim, os efeitos foram analisados por meio de *Greenhouse-Geisser*, o qual não assume esfericidade.

Assumindo que as comparações entre os dias e entre os dias e os tratamentos deram significativas pelo teste *Greenhouse-Geisser* ($p < 0,001$) e o efeito entre as amostras em relação aos tratamentos sem levar em conta os dias, também foi significativo ($p < 0,001$), foi necessário fazer os desdobramentos.

Segundo Vargas e Scholles (2000), os microrganismos são muito sensíveis, no primeiro dia de avaliações das taxas de respiração, houveram diferenças entre

todos os tratamentos, o tratamento composto por água destilada apresentou a menor taxa de respiração, com $16,42 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$, já álcool etílico 30% apresentou $40,24 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$, os tratamentos com altas diluições dinamizadas apresentaram os maiores valores, $50,29 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$ para *Calcareia carbonica* 30CH e $55,09 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$ para o tratamento *Silicea terra* 30CH (Tabela 3), essa reação é conhecida como agravação, comum em organismos vivos que são tratados com altas diluições dinamizadas (VITHOULKAS, 2017).

Do segundo dia até o sexto dia, houve diminuição das diferenças das taxas entre os tratamentos, sendo que no sétimo e oitavo dia, não apresentaram diferenças entre as altas diluições e os controles. O nono dia apresentou novamente diferenças significativas, onde as altas diluições dinamizadas tiveram valores superiores aos controles água destilada ($3,18 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$) e álcool etílico 30% ($3,22 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$), *Calcareia carbonica* 30CH apresentou valores de $5,01 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$ e *Silicea terra* $4,76 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$, isso indica mudanças que persistiram ao longo do tempo (Tabela 3).

Tabela 3 - Atividade microbiana do solo, expressa em taxa de respiração ($\text{mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$). Período correspondente ao período 09/04/2020 a 17/04/2020. Fraiburgo, SC, 2021.

Tratamentos e taxas de respiração ($\text{mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$)					
Período	Água destilada	Álcool etílico 30%	<i>Calcareia carbonica</i> 30CH	<i>Silicea terra</i> 30CH	
1º dia	16,42 ± 1,24 d	40,24 ± 13,89 c	50,29 ± 8,93 b	55,09 ± 2,09 a	
2º dia	4,68 ± 1,57 ab	3,12 ± 1,08 bc	3,86 ± 1,18 abc	4,06 ± 1,57 abc	
3º dia	3,36 ± 1,52 a	1,80 ± 0,82 b	2,48 ± 0,56 b	2,39 ± 0,46 b	
4º dia	3,87 ± 1,92 b	6,95 ± 1,78 a	6,95 ± 1,85 a	4,90 ± 1,19 b	
5º dia	1,86 ± 0,93 b	2,99 ± 1,33 a	3,44 ± 1,11 a	2,01 ± 0,78 b	
6º dia	4,05 ± 2,65 b	8,53 ± 2,72 a	8,65 ± 2,58 a	5,40 ± 1,91 b	
7º dia	4,28 ± 2,56 ns	3,24 ± 0,91 ns	3,44 ± 1,72 ns	3,11 ± 1,67 ns	
8º dia	3,74 ± 1,66 ns	3,40 ± 0,96 ns	4,88 ± 2,90 ns	4,20 ± 2,06 ns	
9º dia	3,18 ± 1,73 b	3,22 ± 1,19 b	5,01 ± 1,81 a	4,76 ± 2,19 a	

Médias e erro padrão seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste de Bonferroni ($p > 0,05$); CH: ordem de diluição centesimal hahnemanniana; Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

No primeiro dia de avaliações da segunda fase, houve aumento significativo das taxas de respiração. Não houveram diferenças significativas entre as altas diluições testadas, *Calcarea carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH, os valores foram de $76,94 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm.} 24\text{h}^{-1}$ e $75,21 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm.} 24\text{h}^{-1}$, sendo superiores aos tratamentos testemunhas; Água destilada e Álcool apresentou o $66,0 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm.} 24\text{h}^{-1}$ e Água destilada $34,40 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm.} 24\text{h}^{-1}$, novamente o período de 24 horas após os tratamentos, foi importante para que houvesse diferenças (Tabela 4). É evidente a ação apenas do álcool no aumento da respiração basal, no entanto, as altas diluições incrementam a respiração no período de 24 horas, até 16,5% em relação ao álcool 30%, controle que mais se aproxima das altas diluições.

O tempo de incubação necessário para atingir uma respiração basal constante depende do conteúdo de compostos de C facilmente degradáveis nos solos. Se os solos foram armazenados por alguns dias em temperatura ambiente antes da análise, a respiração basal será linear após 10-15h e em alguns casos 1-2 dias (SCHINNER *et al.*, 2012). Isso pode explicar o porquê da estabilização das taxas após os primeiros 2 dias.

O segundo dia apresentou diferenças entre todos os tratamentos, no entanto, os valores foram menores que os apresentados no primeiro dia da segunda fase de testes, isso indica que a ação mais efetiva nas taxas de respiração ocorre nas primeiras 24 horas após os tratamentos. No quarto dia se destacou o tratamento com álcool etílico 30% que apresentou $9,41 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm.} 24\text{h}^{-1}$. Já no sétimo dia, novamente *Silicea terra* 30CH apresentou maior taxa de respiração. Em geral a variação durante os dias, apresentou os melhores valores nos primeiros dois ou três dias (Tabela 4).

Tabela 4 - Atividade microbiana dos solos, expressa em taxa de respiração ($mgCO_2 \cdot g^{-1}dm.24h^{-1}$). Período correspondente ao período de 28/04/2020 a 06/05/2020.

Fraiburgo, SC, 2021.

Tratamentos e taxas de respiração ($mgCO_2 \cdot g^{-1}dm.24h^{-1}$)				
Período	Água destilada	Álcool etílico 30%	<i>Calcareea carbonica.</i> 30CH	<i>Silicea terra</i> 30CH
1º dia	34,40 ± 2,71 c	66,01 ± 3,49 b	76,94 ± 1,62 a	75,21 ± 2,28 a
2º dia	13,05 ± 1,30 d	14,11 ± 1,27 c	15,00 ± 0,54 b	16,29 ± 0,67 a
3º dia	4,34 ± 0,61 ns	3,66 ± 0,33 ns	4,27 ± 1,03 ns	3,79 ± 1,24 ns
4º dia	6,63 ± 0,77 c	9,41 ± 1,09 a	7,82 ± 0,78 b	7,14 ± 0,61 bc
5º dia	8,30 ± 1,12 b	7,87 ± 1,09 bc	10,80 ± 2,07 a	6,96 ± 0,75 c
6º dia	7,21 ± 0,87 b	8,48 ± 0,81 a	8,80 ± 0,80 a	7,49 ± 0,58 b
7º dia	5,41 ± 0,54 b	5,57 ± 0,39 b	5,80 ± 0,66 b	6,92 ± 1,08 a
8º dia	5,70 ± 0,38 ns	5,77 ± 0,34 ns	5,90 ± 0,67 ns	6,22 ± 0,92 ns
9º dia	7,91 ± 1,97 cd	9,98 ± 3,18 bcd	10,86 ± 1,41 abc	12,37 ± 3,15 ab

Médias ± erro padrão seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste de Bonferroni ($p>0,05$); CH: ordem de diluição centesimal hahnemanniana; Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

No primeiro dia de avaliações da terceira fase, houve aumento significativo das taxas de respiração, assim como nas duas fases anteriores (Tabela 3 e Tabela 4), as primeiras observações foram de maior valia, por apresentarem valores significativamente diferentes nas três vezes que foram aplicadas as altas diluições. No período que compreendeu os dias 16/05/2020 até 24/05/2020, podem ser destacados o primeiro e segundo dia, nos quais os tratamentos *Calcareea carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH apresentaram taxas de respiração significativamente maiores em relação aos controles. No primeiro dia da terceira fase, *Calcareea carbonica* 30CH - $64,47 mgCO_2 \cdot g^{-1}dm.24h^{-1}$, *Silicea terra* 30CH - $65,52 mgCO_2 \cdot g^{-1}dm.24h^{-1}$, álcool etílico 30% $54,27 mgCO_2 \cdot g^{-1}dm.24h^{-1}$ e água destilada $29,49 mgCO_2 \cdot g^{-1}dm.24h^{-1}$. Pode-se afirmar que o tratamento composto apenas por álcool etílico 30%, apresenta diferença significativa quando comparado com água destilada apenas, significa que parte do efeito atribuído às taxas de respiração se devem ao álcool presente no tratamento. No entanto, ainda assim, as altas diluições apresentam valores diferentes nos dois primeiros dias de tratamento, o resultado em si, é prova que a dispensação para uso na agricultura deve ser menor que álcool 30%. Importante ressaltar que álcool 30% se refere ao preparado, a diluição aplicada foi 1% e posteriormente 10% (10% visando não aumentar a umidade, recomenda-se 1%), no

presente estudo, optou-se por usar essa porcentagem pela longevidade conferida ao preparado (BRASIL, 2014). No oitavo dia *Silicea terra* 30CH apresentou valor significativamente maior aos demais tratamentos, $8,50 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm. } 24\text{h}^{-1}$ (Tabela 5).

Tabela 5 - Atividade microbiana dos solos, expressa em taxa de respiração ($\text{mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm. } 24\text{h}^{-1}$). Período correspondente ao período de 16/05/2020 a 24/05/2020.

Fraiburgo, SC, 2021.

Período	Tratamentos e taxas de respiração ($\text{mgCO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{dm. } 24\text{h}^{-1}$)			
	Água destilada	Água destilada+ Álcool 30%	<i>Calcareia carbonica</i> 30CH	<i>Silicea terra</i> 30CH
1º dia	29,49 ± 1,84 c	54,27 ± 6,67 b	64,47 ± 4,86 a	65,52 ± 1,37 a
2º dia	14,67 ± 0,88 b	14,56 ± 0,58 b	15,56 ± 0,83 a	16,03 ± 0,51 a
3º dia	12,03 ± 1,11 a	10,48 ± 0,77 b	11,73 ± 0,50 a	11,41 ± 0,31 a
4º dia	12,53 ± 1,28 ns	13,31 ± 1,92 ns	13,42 ± 2,05 ns	12,55 ± 1,55 ns
5º dia	11,20 ± 0,79 ns	11,60 ± 1,26 ns	11,49 ± 0,92 ns	11,29 ± 0,58 ns
6º dia	10,62 ± 3,69 bc	12,85 ± 4,26 abc	14,33 ± 4,26 ab	12,49 ± 2,67 abc
7º dia	9,89 ± 2,50 bc	11,52 ± 1,13 abc	12,18 ± 1,11 ab	10,45 ± 3,08 abc
8º dia	7,17 ± 0,69 b	7,27 ± 0,72 b	6,99 ± 2,04 b	8,50 ± 1,11 a
9º dia	6,20 ± 1,37 ns	7,02 ± 1,96 ns	6,24 ± 2,00 ns	7,28 ± 2,58 ns

Médias ± erro padrão seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste de Bonferroni ($p > 0,05$); CH: ordem de diluição centesimal hahnemanniana; Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Nesse estudo, observou-se um aumento súbito na taxa de respiração no primeiro dia após tratamento do solo em relação às testemunhas. Isto pode inferir uma reatividade imediata em resposta aos tratamentos, de modo semelhante ao fenômeno de reatividade no ser humano e animais, identificado como efeito secundário. O efeito secundário ocorre como resposta à ação dos remédios sobre o organismo (efeito primário). Isso ocorre em organismos sensíveis aos preparados homeopáticos. E podemos inferir que os microrganismos dos solos foram sensíveis à ação dos preparados, com reflexos temporários na respiração do solo, o que demonstra poder de cura, reorganização da flora microbiana (BOFF, 2009).

A ideia conhecida como agravação na homeopatia consiste na alteração de sinais vitais diversos nos primeiros momentos após a ingestão do medicamento, esse fenômeno parece não ser exclusivo dos mamíferos e demais animais, os resultados do primeiro dia de avaliações após os tratamentos contidos nas tabelas 3, 4 e 5

apontam que esse tipo de fenômeno pode ocorrer também em microrganismos. A agravação é pouco estudada em trabalhos que visam criticar os efeitos advindos do uso da homeopatia (VITHOULKAS, 2017).

Durante a determinação da respiração basal em laboratório foi observado aumento na produção de CO₂ durante as primeiras horas. Isso se deve a um aumento na disponibilidade de nutrientes após a mistura, bem como a um rápido ajuste do equilíbrio entre o CO₂ gasoso e dissolvido (SCHINNER *et al.*, 2012). Isso ocorreu nas três fases do experimento realizado em 09/04/2020 – 17/04/2020, 28/04/2020 – 06/05/2020 e 16/05/2020 – 24/05/2020 respectivamente. A relação entre a atividade microbiana e a umidade do meio também é um fato relevante e tem sido mostrada em vários trabalhos (BARROS *et al.*, 1995; PRADO & AIROLDI, 1999, PEÑA *et al.*, 2005). Portanto, taxas de respiração superiores eram esperadas nas primeiras avaliações.

Em solos florestais com grande fração de serapilheira, essa linearidade não pode ser alcançada mesmo após longos períodos de incubação. Com solos aráveis biologicamente menos ativos, níveis com alta sensibilidade são adequados para determinar uma respiração linear (SCHINNER *et al.*, 2012). Dada a origem do solo de nosso experimento pode-se observar que não houve linearidade durante os dias.

3.4. CONCLUSÃO

Foi possível evidenciar que os tratamentos *Silicea terra* 30CH e *Calcareo carbonica* 30CH apresentam comportamento diferente dos controles Água destilada e Álcool etílico 30%.

Foi essencial a repetição dos experimentos para observar o efeito das altas diluições, sobretudo nas primeiras 24 horas. Os resultados após 24 horas dos tratamentos foram os mais expressivos, diferindo estatisticamente dos controles. Nota-se que Água destilada foi o tratamento que produziu menor taxa de respiração. O álcool presente nos demais tratamentos pode explicar parte dos resultados, entretanto, picos de respiração com as altas diluições notados nas primeiras avaliações e em alguns momentos sugerem haver efeito significativo dos tratamentos *Silicea terra* 30CH e *Calcareo carbonica* 30CH.

Nas três fases do experimento, houve diferenças nas taxas de CO₂ gerado também ao longo dos 9 dias de experimento, cujo efeito foi significativamente menor.

O protocolo para próximos experimentos envolvendo altas diluições e solo pode ser restrito a incubação por 2 ou 3 dias, levando em consideração que passados 3 dias, os resultados tendem a não ser representativos do estímulo dos tratamentos.

4. CROMATOGRAFIA CIRCULAR DE PFEIFFER EM SOLO TRATADOS COM ALTAS DILUIÇÕES

4.1. INTRODUÇÃO

O potencial produtivo de um solo pode ser estimado por indicadores de propriedades, processos ou características físicas, químicas e biológicas que possam refletir seu nível de suporte no cultivo e desenvolvimento de plantas (HEGER; IMFELD; MITCHELL, 2012). Entretanto, Ehrenfried Pfeiffer (1899–1961), ao propor a cromatografia circular dos solos, argumentava que a fertilidade de um solo é seu próprio vitalismo e métodos adequados para estimar o nível de organização são os de maior fidelidade para refletir o estado de saúde e sua adequação aos cultivos vegetais com nos quais se pretende realizar (PFEIFFER, 1984). A cromatografia circular foi, inicialmente, usada em análises químicas, com ela foi possível separar 16 aminoácidos (KRISHNAMURTHY & SWAMINATHAN, 1955). Segundo a IUPAC, cromatografia é um método de separação em componentes a serem distribuídos entre duas fases, uma das quais é estacionária (fase estacionária) enquanto a outra se move (fase móvel) em uma direção definida (IUPAC, 1997). As adaptações de Ehrenfried Pfeiffer (1899–1961) deram origem ao teste conhecido por cromatografia circular de Pfeiffer (CCP), usado para analisar a qualidade dos solos, compostos e produtos de colheitas (PFEIFFER, 1984). Kolisko & Kolisko (1939) no Instituto Biológico do Goetheanum (Stuttgart), propuseram a dinamólise capilar como uma medida de avaliação de padrões formados nas imagens, o método avaliava a migração de soluções orgânicas e sais metálicos em papel de filtro cromatográfico. É perfeitamente possível relacionar a CCP com a dinamólise capilar de Kolisko & Kolisko, uma vez que ambos tiveram forte influência do pensamento de Rudolf Steiner e sua proposta de agricultura biodinâmica (KOLISKO & KOLISKO, 1939; PFEIFFER, 1984).

Pfeiffer (1984) propunha haver três zonas principais da CCP e a largura das zonas externa e intermediária refletiria as quantidades de matéria orgânica nas amostras. Dessa maneira, a CCP é capaz de fornecer aos agricultores um indicador instantâneo da biomassa que reflita a atividade biológica e saúde do solo, bem como na análise da qualidade biológica da compostagem, partes das plantas e alimentos.

Trabalhos demonstram que a proposta de CCP tem sido desenvolvida e usada em práticas da agricultura biodinâmica e orgânica em várias partes do mundo e orientado agricultores no manejo ecológico dos solos (FRITZ *et al.*, 2011; ZUAZAGOITIA & VILLARROEL, 2016; BEZERRA *et al.*, 2019; FRITZ *et al.*, 2020).

Um problema encontrado pelos agricultores que utilizam a CCP para avaliar a saúde do solo é a dificuldade de interpretar os padrões de cromatografia com o nível de fertilidade que possa significar suficiência ou deficiência de algum componente aos cultivos a serem trabalhados. Embora o procedimento para obter cromatogramas seja bem descrito desde Pfeiffer (1984), um procedimento robusto e padronizado para interpretação generalizada ainda não foi apresentado (KHEMANI *et al.*, 2008). Uma tentativa de fornecer padrões que refletem os solos sul americanos tem sido desenvolvida por Restrepo & Pinheiro (2011). Entretanto, a proposta é restrita a interpretação qualitativa com dificuldade de relacionar a que nível poderia o solo estar aquém ou além da fertilidade ótima. Mesmo pesquisadores da área de solos admitem que ainda existem limitações na técnica CCP, e são necessários vários estudos para que a técnica se estabeleça de forma universal (PFEIFFER, 1984, KHEMANI *et al.*, 2008; KOKORNACZYK *et al.*, 2017; SAAVEDRA *et al.*, 2018).

Segundo Saavedra *et al.* (2018), as cores do cromatograma são sensíveis às mudanças na carga de nutrientes (nitrogênio) e na saúde geral do solo e seus estudos demonstram que isso reflete nas várias práticas de uso. Mudanças nos cromatogramas foram relatadas como reflexo de mudanças nas relações entre microbiologia, matéria orgânica e minerais, embora os resultados apresentados tenham sido descritivos em vez de quantitativos. Pilon *et al.* (2018) propuseram guia prático, onde a presença de certas características no croma, indicam qualidade enquanto que a ausência, qualifica a inferioridade do conteúdo analisado. Kokornaczyk *et al.* (2017) examinaram 16 amostras de solo usando cromatografia de papel e análise química padrão. Esses autores relataram forte correlação entre os padrões dos cromatogramas e o conteúdo de matéria orgânica, nitrogênio total, fósforo assimilável e níveis de bromo. Os mesmos concluíram que um forte desenvolvimento de características radiais, como canais e pontas, era indicativo de solos mais saudáveis, enquanto características concêntricas eram indicativas de solos com pior saúde. Entretanto, os autores não propuseram uma definição objetiva do que seria saúde (KOKORNACZYK *et al.*, 2017). Estudos realizados por Khemani *et al.*

(2008) parecem apontar para a confiabilidade da técnica pela digitalização dos cromatogramas, com análises de imagem e correlação das propriedades do solo pelo seu nível de organização.

Perumal *et al.* (2016) correlacionaram os índices de nutrientes no solo com um banco de dados de imagens de cromatogramas de 164 amostras de solos. À medida que o banco era alimentado, conseguiram chegar a altos níveis de correlação. A comparação dos dados extraídos dos cromatogramas com análises convencionais, chegou a ter próximo de 100% de correlação com a Condutividade elétrica e os teores de K, Mn, Cu.

Deste modo, a CCP parece ser apropriada para se obter um panorama do estado do solo, compatível por exemplo com possíveis efeitos das altas diluições dinamizadas sobre a organização desses solos. As altas diluições dinamizadas estão regulamentadas para uso na produção orgânica no Brasil e têm apresentado excelentes resultados na agricultura (ANDRADE & CASALI, 2011; BRASIL, 2014). Altas diluições produzem respostas não lineares em organismos vivos, onde qualitativamente, as entradas são desproporcionais às saídas (BELL *et al.*, 2002; BELLAVITE *et al.*, 2014). Assim, com uso de algoritmos e softwares adequados, é possível analisar estatisticamente a formação de padrões em solos tratados com altas diluições dinamizadas. A premissa básica é que se as altas diluições dinamizadas produzem alguma alteração nas relações físicas, químicas e biológicas, bem como sua forma de organização, essa alteração será refletida de alguma forma nos padrões dos cromatogramas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar solo tratado com altas diluições dinamizadas através da Cromatografia Circular de Pfeiffer visando verificar possíveis alterações nos cromatogramas.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Local

O experimento foi conduzido em Fraiburgo/SC, nas dependências do Laboratório de Biologia e de Solos da Escola de Educação Básica 25 de Maio. As amostras de solo foram obtidas em área de APP (área de preservação permanente),

tomou-se cuidado para coletar solo não antropizado para que houvesse diversidade de microrganismos. Foram coletados cerca de 65 kg de solo da camada superficial que corresponde a uma profundidade máxima aproximada de 15 cm, em seguida foram espalhadas sobre lona e visando tirar pedras e raízes, o solo restante foi homogeneizado e então passadas por peneiras de 10 mm seguidas por peneiras de 5 mm, para que as amostras de solo tivessem homogeneidade granulométrica. Foram então separados em 4 cubas com 15 kg cada. As altas diluições dinamizadas foram obtidas no laboratório de Homeopatia e Saúde vegetal de Lages/Epagri. Os tratamentos foram: água destilada, álcool etílico 30%, *Calcarea carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH. A água destilada foi a mesma utilizada para preparação do álcool etílico 30%, foi a mesma utilizada na preparação de *Silicea terra* 30CH e *Calcarea carbonica* 30CH. A preparação das altas diluições dinamizadas seguiu os métodos descritos na Farmacopéia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011).

As altas diluições foram aplicadas três vezes, a primeira foi realizada no dia 08/04/2020, a segunda no dia 29/04/2020 e a terceira no dia 15/05/2020. No dia 25/05/2020, 10 dias após a última aplicação, foram realizados os testes com Cromatografia de Circular de Pfeiffer.

A primeira aplicação foi realizada com auxílio de pulverizador manual de 2 litros da marca Tramontina®, foram pulverizados 500 ml dos tratamentos no solo presente nas cubas, desses 500 ml, 5ml eram dos tratamentos e o restante era água destilada. Os 5 ml foram medidos com auxílio de pipeta de 10 ml. Enquanto era pulverizado, o conteúdo de solo era revolido para maior homogeneidade dos tratamentos no solo.

Após o tratamento, foram pesados 1 kg de solo num total de 15 vasos por tratamento, cada vaso recebeu um número de 1 a 4 que representava os tratamentos, seguido por outro número de 1 a 15. A junção de 4 vasos, um de cada tratamento, formava um bloco e ficava em uma bancada diferente. A ordem que cada vaso assumia da esquerda para a direita, foi feita por sorteio. Os vasos de 1 a 10 foram utilizados para os testes com CCP, os vasos de 11 a 15 receberão os mesmos tratamentos e serviram como reservas caso houvesse problemas com algum dos tratamentos. Cada tratamento originou 10 blocos, um vaso de cada tratamento, em cada vaso foram realizadas 3 subamostras, 30 cromatogramas por tratamento, totalizando 120 cromatogramas. Todos os cromatogramas foram digitalizados e

analisados para que não houvesse nenhum viés de escolha pela aparência do cromatograma.

O experimento foi tratado por mais duas vezes com as altas diluições, onde se preservou o mesmo delineamento experimental e o solo não foi revolvido novamente, isso para simular um ambiente agrícola, onde numa primeira intervenção foi feito revolvimento no solo e posteriormente apenas tratamento. Na segunda e na terceira aplicação das altas diluições do experimento, não houve alteração nos tratamentos no que se refere às mudanças de blocos, ordem de vasos, etc. No entanto, novas amostras para determinação da respiração foram feitas.

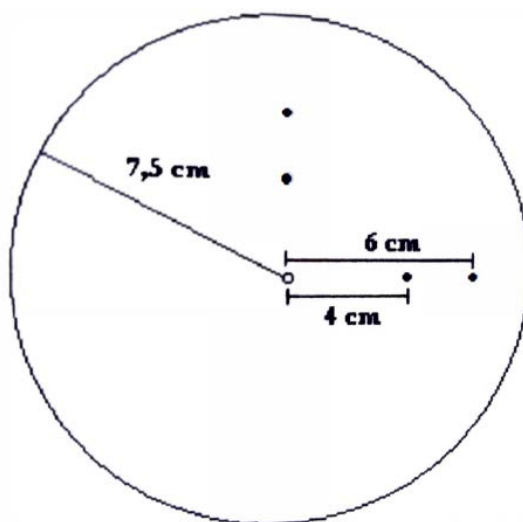
Para as novas aplicações das altas diluições, foi levada em consideração a umidade evaporada durante o período, que foi obtida pelo peso atual menos o peso após o primeiro tratamento. O valor de 20 ml foi definido pelo peso médio evaporado de 10 vasos e convencionou tratar da segunda e terceira vez com a mesma dosagem. Dos 20 ml de cada tratamento, 18 ml eram de água destilada e 2 ml dos tratamentos. Foram gotejados 20 ml dos tratamentos sobre a superfície dos vasos e após 30 minutos realizada nova coleta de material para respiração. A espera foi estimada para que o conteúdo aplicado pudesse penetrar no solo.

4.2.2. Preparação do material cromatográfico

Os cromatogramas foram criados usando papéis de filtro Whatman nº 1 (150 mm de diâmetro). O papel foi perfurado no centro e neste orifício foi colocado um pequeno cilindro do mesmo tipo de papel de filtro (2 x 2 cm). Foi tomado cuidado para que o cilindro tivesse bom contato com o papel circular.

O papel de filtro foi marcado a 4 cm do centro e a 6 cm do centro (Figura 12). Como nem sempre a solução se espalha de maneira regular por conta da disposição das fibras do papel, as marcas foram repetidas em ângulo de 90°.

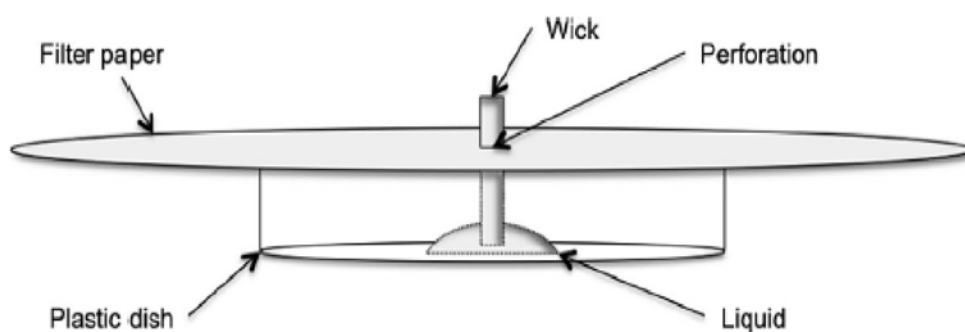
Figura 12 - Pontos e marcações no papel filtro. Papel de filtro preparado para a cromatografia circular, as marcas estão dispostas com 90 graus entre si



Pfeiffer (1984).

Uma pequena placa de Petri (diâmetro externo de 58 mm) foi preenchida com aproximadamente 2-3 mm de profundidade com solução de nitrato de prata a 0,5% (0,5 g de AgNO_3 em 100 mL de água destilada) e colocada em uma placa de Petri com diâmetro de 90 mm (Figura 13). O papel de filtro com o pavio inserido foi colocado sobre a grande placa de Petri, garantindo que o pavio estivesse na solução de nitrato de prata. A solução foi deixada até atingir a marca de 4 cm no papel de filtro. O papel foi então removido da placa de Petri e o pavio descartado. O papel filtro foi colocado em uma folha de papel limpa em local escuro para secar.

Figura 13 - Impregnação do AgNO_3 . Representação gráfica do desempenho dos testes de cromatografia circular da Pfeiffer: uma folha de papel de filtro circular com uma inserção de pavio na perfuração central está localizada em um prato de plástico para que a extremidade do pavio seja imersa na solução (fase líquida) a ser embebida



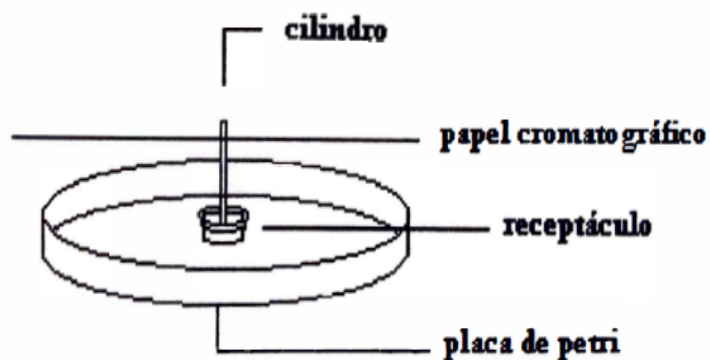
Kokornaczyk *et al.* (2017).

Após o tratamento com Nitrato de Prata, os papéis foram furados e colocados em sequência (Figura 14), para que fossem realizados os testes com maior agilidade, o tempo foi medido com auxílio de cronômetro. O papel utilizado para confecção dos cilindros foi proveniente do papel cromatográfico (Figura 15).

Figura 14 - Cromatogramas prontos para uso. Abaixo, diagrama do receptáculo dos cromatogramas. Equipamento para produção de imagens através da cromatografia circular. O papel cromatográfico é perfurado, neste orifício é inserido um cilindro do mesmo papel de 2x2 cm.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).



Fonte Pfeiffer (1984).

Figura 15 - Confeção do pódio, realizada com o próprio papel filtro e placas de petri usadas nos ensaios.



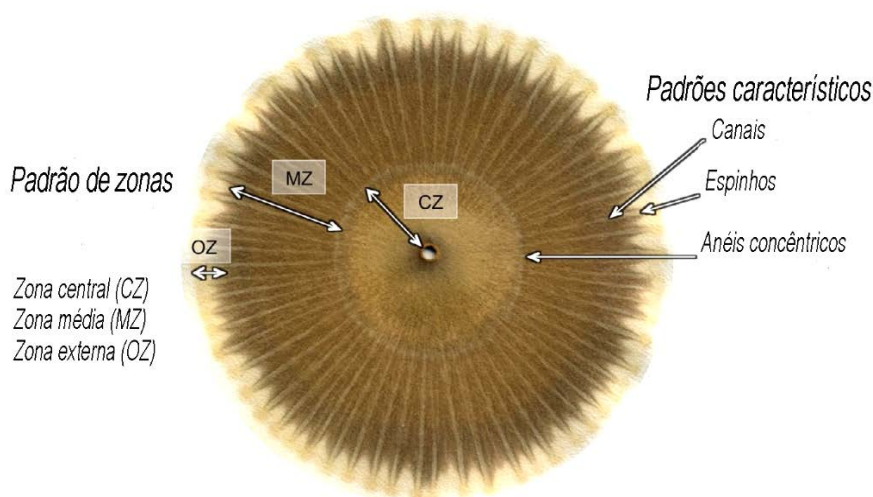
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

4.2.3. Preparo do solo e etapa final do teste

O hidróxido de sódio foi preparado a 1%. Conforme Pfeiffer (1984), foram colocados 5 gramas do solo em erlenmeyer de 100 mL e acrescentados 50 mL de solução 1 % de hidróxido de sódio, agitados para que a amostra fosse umedecida totalmente e o ar fosse expulso. Foram deixados em repouso a 20° C por um total de 4 horas. O material foi mexido após dez minutos e após 60 minutos por aproximadamente 30 segundos. Foi retirado o sobrenadante com auxílio de uma pipeta pasteur para ser utilizado na cromatografia. O teste foi performado até que o líquido atingisse a marca de 6 cm. Após procedeu-se a secagem dos cromatogramas

para captação das imagens. Todos os padrões de CCP obtidos na presente experimentação foram baseados em medidas de forma disponíveis no software Scientific Laboratory® que possibilita medidas de imagens que expandem a partir do centro, também foram medidos os cromatogramas pela avaliação proposta por Kokornaczyk *et al.* (2017), que consistiam em três zonas em forma de anel localizadas em torno da perfuração central (Figura 16): (i) a zona central (CZ), localizada mais próxima do orifício e caracterizada por uma cor bastante clara, então (ii) a zona intermediária mais escura (MZ) e, na periferia do padrão (iii) a zona muito clara e, em muitos casos, apenas fracamente visível (OZ). A figura 17 mostra o teste sendo realizado.

Figura 16 - Padrões de medições dos Cromatogramas.



Kokornaczyk *et al.* (2017), adaptado pelo autor.

Figura 17 - Cromatografias sendo realizadas.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

4.2.4. Métodos de medição avaliação

As imagens cromatográficas CCP foram captadas por escâner H.P.® digitalizadas na resolução de 3500 × 3500 pixels. A análise computadorizada consiste na medição da textura do padrão por meio do software ImageJ (COLLINS, 2007) com o plug-in Texture Analyzer (Cabrera 2003–2005) instalado.

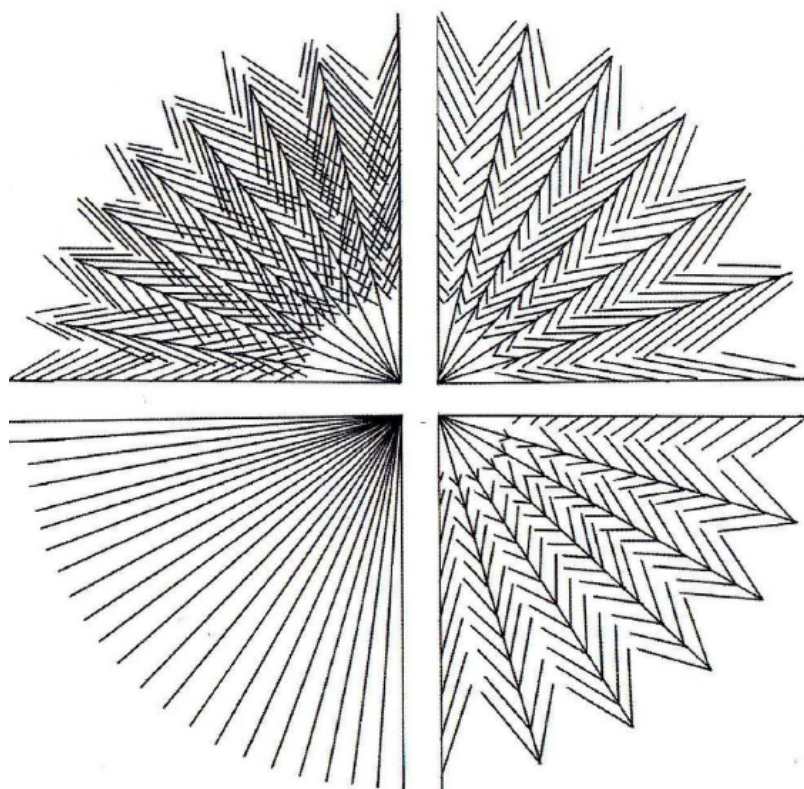
De cada imagem, uma região retangular de interesse (1000 × 200 pixels) da zona mediana foi selecionada aleatoriamente (de forma a não conter partes da zona central ou externa [OZ]), recortada e convertida para 8- tipo de bit (pixels apenas em escala de cinza). Em tais seleções de imagens preparadas, a análise de textura foi realizada. Apenas o parâmetro entropia foi considerado para análise posterior, uma vez que é sensível às diferenças de intensidade de brilho entre os pixels e, portanto, também à presença ou ausência de canais.

A Entropia das imagens é dada pela fórmula: $Entropia = - \sum_i \sum_j p(i,j) \log(p(i,j))$, onde $p(i,j)$ são as entradas em uma matriz de dependência espacial normalizada em tons de cinza (Haralick). Entropia (E): mede o grau de dispersão dos níveis de cinza e, também pode ser definida como um número quantificador da randomicidade da imagem, ou seja, quanto maior for este número, mais irregular, atípica ou despadronizada será a imagem analisada. Quando a entropia é alta, os valores matriciais são iguais e é baixa quando os valores na diagonal da matriz são altos, ou quando os valores de entrada da matriz de co-ocorrência são baixos (ZANCO, 2016). O parâmetro entropia é capaz de captar alterações radiais nas imagens (Figura 18).

Foi utilizado também o ImageJ para medições das zonas, através da calibração com escala graduada de paquímetro.

Para as análises morfológicas dos cromatogramas foi utilizado o software Scientific Laboratory®. As variáveis analisadas foram: Area, número de fragmentos, coeficiente de forma, entropia por isolinha, fractalidade espacial, comprimento de isolinha.

Figura 18 - Diagrama radial comumente visto nos cromatogramas.



Trama radial no deseada

Restrepo e Pinheiro (2011).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo estudo, observou-se que o software *Scientific Laboratory*®, inicialmente criado para GDV, serve aos nossos propósitos quando adaptado às medidas dos cromatogramas digitalizados (Tabela 6).

Tabela 6 - Medições geradas a partir da ideia de um centro de massa para estimar as características morfológicas dos cromatogramas.

Tratamentos	Area (px ²)	Número de fragmentos (unidade)	Coefficiente de forma (px ²)	Entropia por isolinha	Fractalidade espacial	Comprimento de isolinha (px)
Água destilada	285782 b	8,36 bc	411,71 b	138,14 b	164,3 ns	7997,03 c
Álcool etílico 30%	292788 b	12,1 ab	637,71 a	175,49 a	173,9 ns	14947,9 a
<i>Calcareea carbonica</i> 30CH	328525 a	5,43 c	392,73 b	144,00 ab	166,4 ns	8317,68 c
<i>Silicea terra</i> 30CH	235508 c	13,3 a	558,22 ab	149,74 ab	161,5 ns	12249,4 b
CV	10,19	26,3	28,7	33,8	27,32	28,19

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Observa-se que existem diferenças em vários aspectos dos cromatogramas. Na variável área dos cromatogramas, que mede a área total em pixels, a maior área observada do tratamento composto por *Calcareea carbonica* 30CH, que apresentou 328525 px², já a menor área foi do tratamento *Silicea terra* 30CH que apresentou o valor de 235508 px². Valores de área estão relacionados a maior ou menor capacidade de capilarização do material e dizem respeito ao formato da camada mais externa, tendo em vista que quando o líquido atinge a marca de 6cm é imediatamente retirado. Solos com componentes moleculares menores terão maior arraste nos cromatogramas, sendo capazes de chegar às extremidades dos cromatogramas, formando padrões parecidos com nuvens onduladas (Restrepo & Pinheiro, 2011).

A variável *número de fragmentos*, mede o número de fragmentos, a homogeneidade da distribuição dos líquidos nos cromatogramas. *Silicea terra* 30CH que apresentou menor área, apresentou o maior número de fragmentos, com o valor de 13,3 unidades, *Calcareea carbonica* 30CH apresentou o menor valor 5,43 unidades.

A variável coeficiente de forma, que diz respeito a forma que os cromatogramas exibem, o grau de irregularidade do padrão, sendo obtido pela isolinha. É possível afirmar que a forma dos cromatogramas das altas diluições *Calcareea carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH, foi similar ao tratamento com água destilada, essa igualdade no nosso caso, demonstra que houve padronização na condução dos cromatogramas.

A variável entropia por isolinha que representa a medida da entropia da isolinha mede o grau de aleatoriedade do comprimento radial da imagem desde o seu centro de massa. A mesma nos mostrou que as altas diluições obtiveram um grau

elevado de semelhança com os controles compostos por Água destilada e Álcool etílico 30%. Isso significa que o método foi conduzido sem que houvesse grandes diferenças radiais. O mesmo pode ser dito do parâmetro fractalidade espacial, que tem relação direta a forma do cromatograma, neste parâmetro em especial não houve diferenças significativas entre os tratamentos com as altas diluições e os controles.

A variável comprimento da isolinha que mede o comprimento da isolinha apresentou diferenças nos tratamentos compostos por *Silicea terra* 30CH e Álcool etílico 30%, esse comportamento expressa o caráter total radial e essas diferenças pode ser explicada por algum composto mais leve que é levado até as camadas mais externas do cromatogramas. Não necessariamente é algo positivo ou negativo, mas diz respeito ao comportamento da camada mais externa e seus limites.

Diante do que foi exposto, o método passa pelas características principais que garantem a repetibilidade e consistência dos resultados obtidos pelo método. Pelo nosso estudo, demonstra-se que é possível a condução de experimentos envolvendo a cromatografia circular de Pfeiffer desde que executada com critério. As diferenças descritas demonstram a sensibilidade em captar diferenças nos tratamentos.

A interpretação dos cromatogramas podem ser interpretados a partir de pelo menos três diferentes zonas (PINHEIRO, 2015). Nas análises que seguem, as letras Cz, Mz E Oz, onde Cz representa a zona central, Mz a zona média e Oz a zona externa. Essas três zonas, são as mesmas medidas por Kokornaczyk *et al.* (2017).

A variável entropia se mostra interessante, onde a menor entropia foi obtida pelo tratamento *Silicea terra* 30CH (Tabela 6). Os parâmetros área e perímetro foram introduzidos para estimar a área central, também chamada de zona central (oxidação-redução), esta zona carrega as substâncias minerais ou orgânicas dissolvidas que ao passar sobre a parte impregnada com AgNO_3 há a formação imediata de Hidróxido de Prata (AgOH), a qual é instável e forma um precipitado escuro de Óxido de Prata (Ag_2O), proporcional a quantidade da substância. Se no ambiente do solo predomina uma condição (anaeróbia), não permitindo a oxidação dos minerais, acumulam-se substâncias tóxicas na atmosfera do solo, manifestando-se uma cor escura a preta. Esta zona expressa primordialmente o metabolismo microbiano, portanto, de acordo com a qualidade de vida do solo e a concentração de substâncias nitrogenadas presentes na amostra, este precipitado negro de Ag_2O torna-se solúvel. A cor modifica para tonalidade branco prateado e/ou de cor creme, isto é desejável, formando assim

o complexo diaminprata $[Ag (NH_3)_2]^+$. As cores que variam do preto (mínimo metabolismo microbiano aeróbico e máxima fermentação anaeróbica) a prata maior plenitude no metabolismo microbiano aeróbico e harmonia estrutural (RESTREPO & PINHEIRO, 2011; DOMINGUES *et al.*, 2018).

Para a variável entropia, *Silicea terra* 30CH foi o tratamento que obteve maiores valores, pode haver uma relação inversa entre a área dos cromatogramas com os valores de entropia. A entropia é sensível aos padrões formados nos cromatogramas (Figura 19).

Figura 19 - Cromatogramas diferem em cor e padrões, da esquerda para direita, padrões do tratamento água destilada, álcool 30%, *Calcareo carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Vale lembrar que o termo entropia aqui se refere unicamente à imagem, uma vez que é sensível às diferenças de intensidade de brilho entre os pixels e, portanto, nos fornece informações sobre a presença ou ausência de canais (já apresentados na figura 18). Não tiramos nenhuma conclusão sobre o fator ordem que os tratamentos podem influenciar no sistema. Outro ponto que pode ser relacionado com a entropia apresentada, pode ser o parâmetro *número de fragmentos* (Tabela 6), que consiste basicamente na quantidade de fragmentos gerados na imagem, novamente *Silicea terra* 30CH, apresenta maior quantidade de fragmentos e consequentemente maior entropia (Tabela 7).

Para a variável Mz ou zona média, embora *Calcareo carbonica* 30CH não tenha apresentado diferença dos tratamentos compostos por Água destilada e Álcool etílico 30%, *Calcareo carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH obtiveram os maiores valores Mz, 2,09 cm e 2,35 cm respectivamente, *Silicea terra* 30CH obteve valores significativamente maiores que os demais tratamentos. Se comparados aos dados das

respirações já apresentadas no capítulo anterior, que sugerem maior atividade microbiana nos tratamentos *Calcareea carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH, nossos dados corroboram com Graciano *et al.* (2018) que apontou que na Mz (zona média) há forte correlação positiva com o carbono da massa microbiana do solo, evidenciando a relação desta zona com a biologia do solo.

Tabela 7 - Medições de zona, análise de textura dos cromatogramas.

Tratamentos	Parâmetros medidos					
	Cz(cm)	Mz (cm)	Oz (cm)	Área central (cm ²)	Perímetro central (cm)	Entropia
Água destilada	3,12 b	1,99 b	0,441 c	2,265 b	1,794 bc	6,650 b
Álcool etílico 30%	3,24 ab	2,02 b	0,729 b	2,118 b	1,421 c	6,120 d
<i>Calcareea carbonica</i> 30CH	3,37 a	2,09 ab	0,462 c	1,690 b	2,217 b	6,440 c
<i>Silicea terra</i> 30CH	2,61 c	2,35 a	0,979 a	3,595 a	3,170 a	6,950 a
CV	11,05	21,61	17,48	28,9	31,6	16,41

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). Cz – Zona central, Mz – Zona média, Oz – Zona externa. Fonte: Produção do próprio autor, 2021.

Silicea terra 30CH obteve maior grau de diferenciação se comparados aos demais tratamentos, apresentou diferenças nos parâmetros; Área, comprimento da isolinha, CZ, Área central, perímetro central e Entropia. *Calcareea carbonica* 30CH apresentou diferenças na Área e Entropia. Sendo assim, esses parâmetros parecem ser os mais sensíveis a diferenças. O parâmetro entropia foi o mais efetivo para captar diferenças sutis entre as fases, assim sendo, qualquer efeito dos tratamentos no solo, foi capaz de ser refletido neste parâmetro.

Com os avanços dos algoritmos, a Cromatografia circular de Pfeiffer, um tipo de análise qualitativa, pode se tornar quantitativa e possibilitou avanços por fornecer novos pontos de vista e interpretação sobre os fenômenos. Outros autores têm chegado nessa conclusão, Oliveira *et al.* (2020b) afirma que os trabalhos realizados nos últimos 10 anos trouxeram importantes avanços para o entendimento e aprofundamento científico da Cromatografia Circular de Pfeiffer.

4.4. CONCLUSÃO

Silicea terra 30CH obteve maior grau de diferenciação se comparados aos demais tratamentos, área, comprimento de isolinha, CZ, área central, perímetro central e Entropia. *Calcareo carbonica* 30CH apresentou diferenças na Área e Entropia.

O parâmetro entropia mostra-se ser o mais efetivo parâmetro da análise digitalizada da cromatográfica circular de Pfeiffer pelos algoritmos (14 no total) presentes no plugin *Texture Analyzer* do ImageJ (HARALICK, 1973).

Calcareo carbonica 30CH e *Silicea terra* 30CH obtiveram os maiores valores Mz, sendo que *Silicea terra* 30CH obteve valores significativamente maiores que os demais tratamentos. Esses dados sugerem maior atividade microbiana nos tratamentos *Calcareo carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH, nossos dados corroboram com as taxas de respiração medidas anteriormente.

É possível verificar diferenças nos cromatogramas entre os tratamentos que anteriormente poderiam ser obtidas apenas de modo qualitativo, embora mais estudos nos trará maior consistência e confiança no método de análise das imagens cromatográficas digitalizadas.

5. **GDV EM PLANTAS DE FEIJOEIRO CULTIVADAS EM SOLO TRATADO COM ALTAS DILUIÇÕES DINAMIZADAS**

5.1. INTRODUÇÃO

Seres vivos são complexos sistemas não lineares consistindo em grande número de estruturas funcionais, onde a mudança introduzida em qualquer nível desse sistema induzirá mudança em todos os outros níveis de organização - subsistemas, para acima e abaixo (BELL *et al.*, 2002). A análise sistêmica e abordagem dinâmica dos organismos vivos, podem ser apreciadas dentro do novo paradigma de sistemas complexos (SHEPPERD *et al.*, 1994; BERTALANFFY, 1977).

Níveis hierárquicos mais altos mudam mais lentamente do que os níveis mais baixos (mais dinâmicos), devido à diferença na escala espacial e na dinâmica, de modo quantitativo. As variações em um nível da hierarquia resultam em variações no próximo nível superior (JØRGENSEN, 2012). Estímulos em um nível superior podem causar alterações no nível inferior (JORDÁN & JØRGENSEN, 2012).

Como exemplo, podemos perceber que em um ser vivo individualizado, podemos considerar os construtos básicos - menores unidades desse sistema - as células. Porém, cada célula será composta, também, de subsistemas, cujas substâncias individualizadas chamamos de moléculas. No nosso trabalho sobre efeito de altas diluições dinamizadas, a água é de especial interesse. As moléculas de água individuais são ligadas umas às outras por ligações de hidrogênio e formam o que são chamados de *clusters* (água estrutural). Os *clusters* medem de dezenas de nanômetros a milímetros em dimensões que podem ser vistas no microscópio eletrônico de transmissão (TEM) (HO, 2014, JERMAN & RATAJC; 2014)

A formação de um domínio coerente é uma propriedade emergente do comportamento auto organizativo coletivo e espontâneo de todos os componentes de um dado nível de sistema, no nosso caso, as moléculas de água (WALDROP, 2003). De acordo com Giuliano Preparata, Emilio Del Giudice e colaboradores (PREPARATA *et al.*, 1999), a água líquida é um sistema de dois fluidos que consiste em uma fase coerente - cerca de 40 por cento do volume total à temperatura ambiente - e uma fase incoerente. Os campos eletromagnéticos que estão presos nos domínios de coerência da água e em sua matriz coerente, produzem potenciais eletromagnéticos que

regulam a fase de todo o sistema, que por sua vez dá origem a atrações seletivas entre as moléculas do soluto (MURUGAN *et al.*, 2014). As altas diluições podem causar alterações estruturais no solvente aquoso que, por sua vez, desencadeiam a formação de agregados moleculares das moléculas de água (YINNON & ELIA, 2013). Assim, de acordo com essa ideia, mudanças estruturais na água poderiam desencadear mudanças em outros níveis, acima ou abaixo.

As altas diluições têm sido usadas na agricultura (FAEDO *et al.*, 2020; VERDI *et al.*, 2020) e existem dados incontestáveis dos efeitos das altas diluições em plantas (DOMINGUES *et al.*, 2019; TEIXEIRA & CARNEIRO, 2017; TOLEDO *et al.*, 2011). As altas diluições dinamizadas estão regulamentadas para uso na produção orgânica no Brasil e têm apresentado excelentes resultados na agricultura (ANDRADE & CASALI, 2011; BRASIL, 2014).

Levando em consideração que nos capítulos anteriores ficou evidente a ação das altas diluições nos microrganismos do solo, no presente capítulo, incluímos a análise das plantas com as alterações nas relações dos microrganismos com o solo, solo tratado com altas diluições e que possa refletir na parte aérea. Também observamos que o próprio ato de tratar o solo com altas diluições dinamizadas pode inferir organização na água presente no solo. Para capturar as alterações nas plantas de feijão comum, recorreremos à biofotônica em plasma frio GDV.

Nos últimos anos, houve aumento significativo do uso do GDV para avaliações em diversas áreas da pesquisa, como da saúde, educação, psicologia, medicina do trabalho e desportiva, teste em plantas, avaliação de líquidos e outros materiais (ZIBETTI, 2016). O GDV consiste no imageamento dos fluxos de elétrons capturados da superfície de um objeto ou material biológico, induzidos por pulsos de voltagem curta, mas de alta amperagem. Este fenômeno é pesquisado e conhecido na física e na biofísica como “emissão de fotoelétrons” (KOSTYUK *et al.*, 2011). As partículas excitadas, emitidas e aceleradas no campo eletromagnético, ocorrem como avalanches eletrônicas na superfície de o eletrodo de vidro causando uma descarga de gás deslizante. A descarga de moléculas causa brilho natural devido à sua excitação no meio com hidrogênio (GROZDEVA & DIKOVA, 2018).

As primeiras pesquisas em imagens de ionização dos gases no entorno de tecido vegetal foram feitas por Emboden *et al.* (1979), utilizando o método kirliengrafico padrão Milhomens (KIRLIAN & KIRLIAN, 1963). O mesmo princípio foi

aplicado por Konstantin Korotkov - St Petersburg State Technical University durante a década de 90 para desenvolver o GDV (KOROTKOV, 1998).

As primeiras pesquisas em que o método de visualização de descarga de gás (GDV) foi aplicado em vegetais é relativamente recente, Weibel *et al.* (2005) utilizou o método de visualização de descarga de gás (GDV) para estimar a qualidade em folhas e frutos de maçã. Portanto, o GDV é semelhante a “Fotografia Kirlian”, com incorporação da digitalização da imagem ao aparato de captura dos gases ionizados do entorno do espécime em análise. No método GDV, uma amostra de tecido vivo fresco é exposta a um campo elétrico de alta tensão e alta frequência (KOROTKOV, 2004). A imagem é gravada digitalmente, sequenciada em parâmetros de imagem definidos, que então podem ser analisados estatisticamente (KOROTKOV & KOROTKIN, 2001).

O objetivo deste trabalho foi avaliar folhas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) cultivado em solo tratado com altas diluições dinamizadas, para isso recorreremos ao uso do GDV.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Biologia e de Solos da Escola de Educação Básica 25 de Maio, Fraiburgo, SC. Inicialmente, foi necessário coletar amostras de solo para o experimento. As amostras de solo foram obtidas em área de APP (área de preservação permanente). Tomou-se cuidado para coletar solo não antropizado para que houvesse diversidade de microrganismos. Foram coletados cerca de 65 kg de solo da camada superficial que corresponde a uma profundidade máxima aproximada de 15 cm. Em seguida, o solo foi espalhado para que se pudesse retirar pedras e raízes. O solo restante foi homogeneizado e então passado por peneiras de 10 mm e na sequência por peneiras de 5 mm, para que as amostras de solo tivessem homogeneidade granulométrica. Foram então separados em 4 cubas com 15 kg cada (Figura 6).

Cada cuba recebeu seu respectivo tratamento, que foram: água destilada (T1), álcool etílico 30%(T2), *Calcareia carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH. A água destilada foi a mesma utilizada para preparação do álcool etílico 30% e o álcool etílico 30%, foi a mesmo utilizado na preparação de *Silicea terra* 30CH e *Calcareia carbonica*

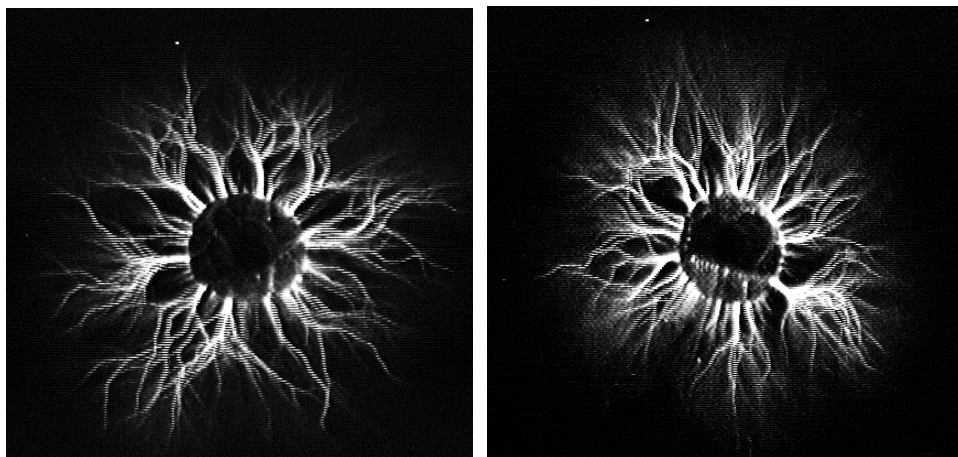
30CH. As altas diluições dinamizadas foram obtidas no laboratório de Homeopatia e Saúde vegetal de Lages/Epagri. A preparação das altas diluições dinamizadas seguiu os métodos descritos na Farmacopéia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011).

As sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) eram provenientes da seleção de sementes crioulas que a própria escola realiza. As sementes foram selecionadas para que tivesse tamanho semelhante e não apresentassem defeitos visíveis. Foram utilizadas 15 parcelas com 3 plantas por vaso, contendo 1 Kg de solo tratado com altas diluições. A análise foi realizada quando as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento V2 (OLIVEIRA *et al.*, 2018). Foi retirado uma folha por vaso que possuía ao menos 3 cm de comprimento de cada vaso e desta folha foi realizado um corte circular de 65 mm com auxílio de um cilindro oco de metal. Este segmento foi imediatamente submetido ao GDV, tendo cuidado de manter o mais centralizado possível.

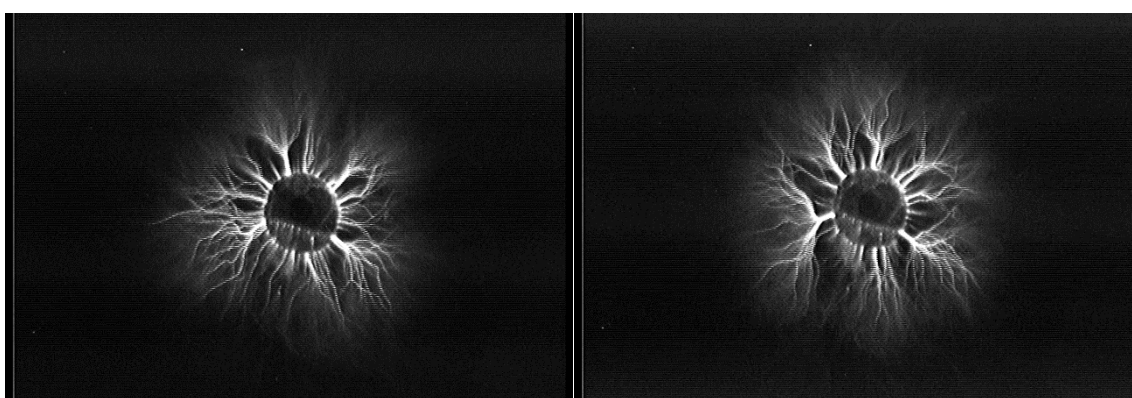
As amostras vegetais foram submetidas imediatamente ao teste. A captação das imagens foi feita pelo software GDV capture® por 35 segundos, taxa 25 fps, resolução 720/576 pixels. Para a fragmentação do vídeo foi utilizado software imageGrab®, para as análises das imagens foi utilizado o software Scientific laboratory®. De cada tratamento foram testadas 15 amostras e cada amostra gerou 500 imagens, totalizando 5000 imagens por tratamento e 30000 imagens analisadas no total. Cada imagem foi testada em pelo menos 6 parâmetros: área, número de fragmentos, coeficiente de forma, entropia de isolinha e comprimento de isolinha. As sequências vão de 1 a 500, sendo que cada ponto representa a média de 10 medidas, com isso, houve maior estabilidade nos dados das amostras vegetais, não apresentaram decaimento como ocorreu nas amostras das altas diluições descritas no capítulo 2.

A figura 20 mostra em detalhes imagens das amostras das folhas, 30000 imagens obtidas a partir de 4 tratamentos, 15 repetições com 500 imagens cada.

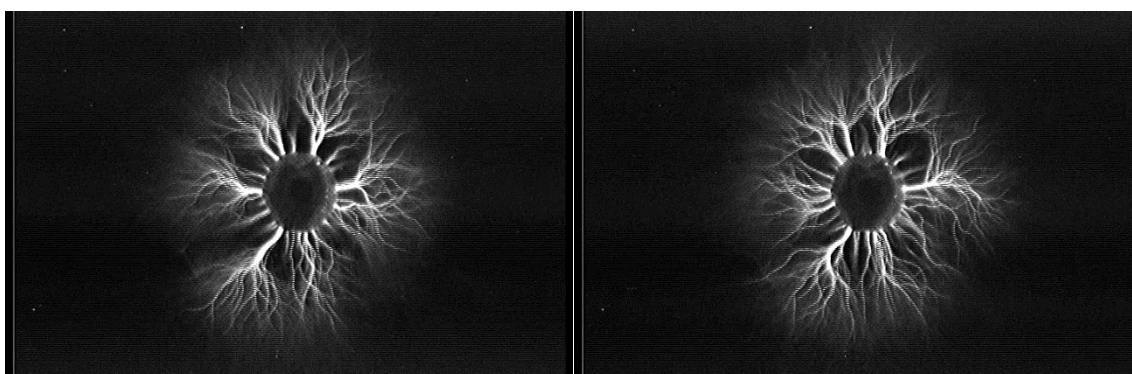
Figura 20- Análise de folhas, cortes realizados com 65mm de diâmetro, foram analisadas 30000 imagens. Abaixo, exemplos de imagens dos tratamentos.



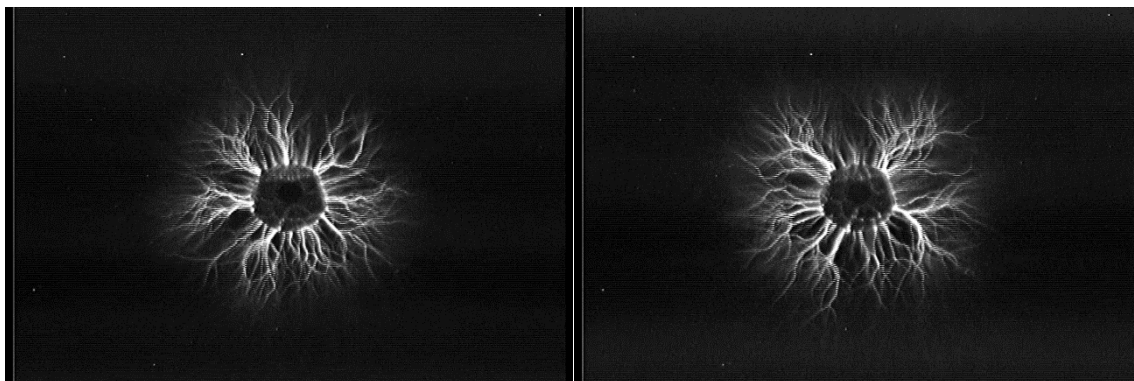
Água potável



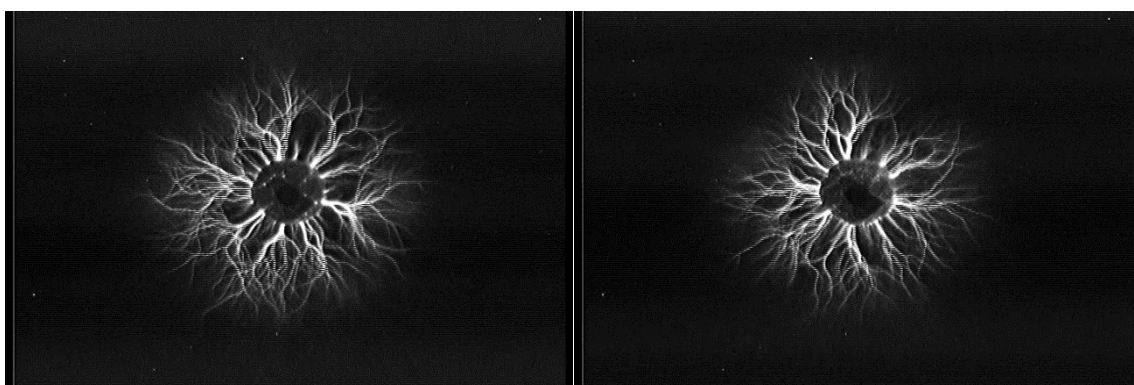
Álcool 30%



Calcarea carbonica 30CH



Silicea terra 30CH



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Foi realizada contagem de folhas e contagem de plantas para estimar a mortalidade, não foi observada diferença estatística nos tamanhos das plantas e mortalidade.

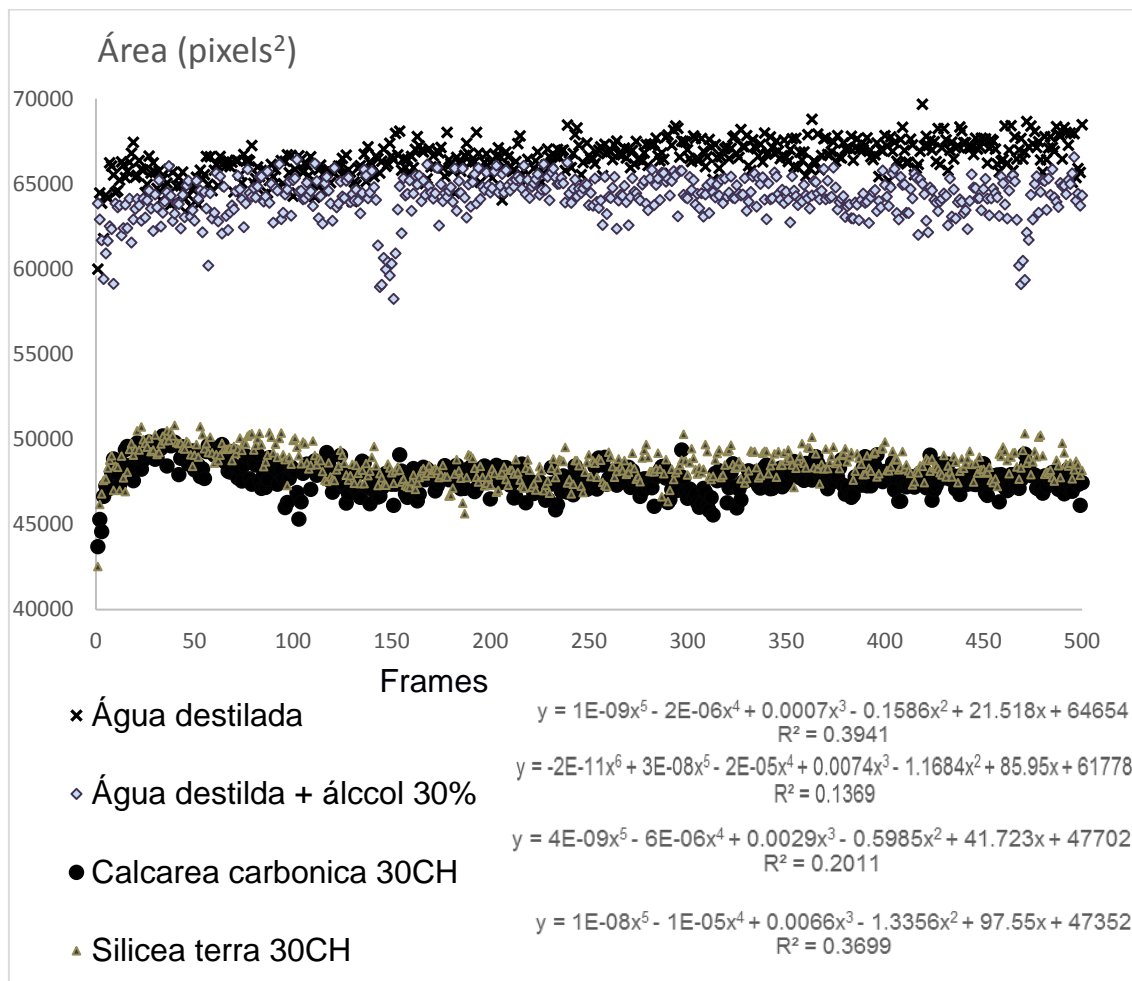
5.2.1. Análises estatísticas

Levando em consideração que os dados não são nem normais nem homogêneos, optou-se por usar o teste Kruskal - Wallis com limite de significância estatística foi fixado em 5% ($P < 0,05$). Sempre que houve significância estatística, a análise foi complementada por meio do teste de subconjuntos homogêneos baseados em significâncias assintóticas com limite de significância estatística fixado em 5% ($P < 0,05$). Os dados foram tabulados e analisados utilizando o R Core Team (2020).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferenciação das amostras controle se comparadas com *Silicea terra* 30CH e *Calcareia carbonica* 30CH no que diz respeito à área em pixels. Nota-se que a área de *Silicea terra* 30CH e *Calcareia carbônica* 30CH foram inferiores a 50000 px², enquanto que nos tratamentos de água destilada e álcool etílico 30% apresentaram área superior a 60000px² (Figura 20). Os dados são semelhantes aos encontrados por BELL *et al.* (2003), em que *Natrum muriaticum* 30CH, *Lachesis muta* e *Pulsatilla* 30CH foram menores em área das altas diluições do que os controles compostos por água destilada (Figura 21).

Figura 21 - Área em pixels. Fraiburgo, SC, 2020

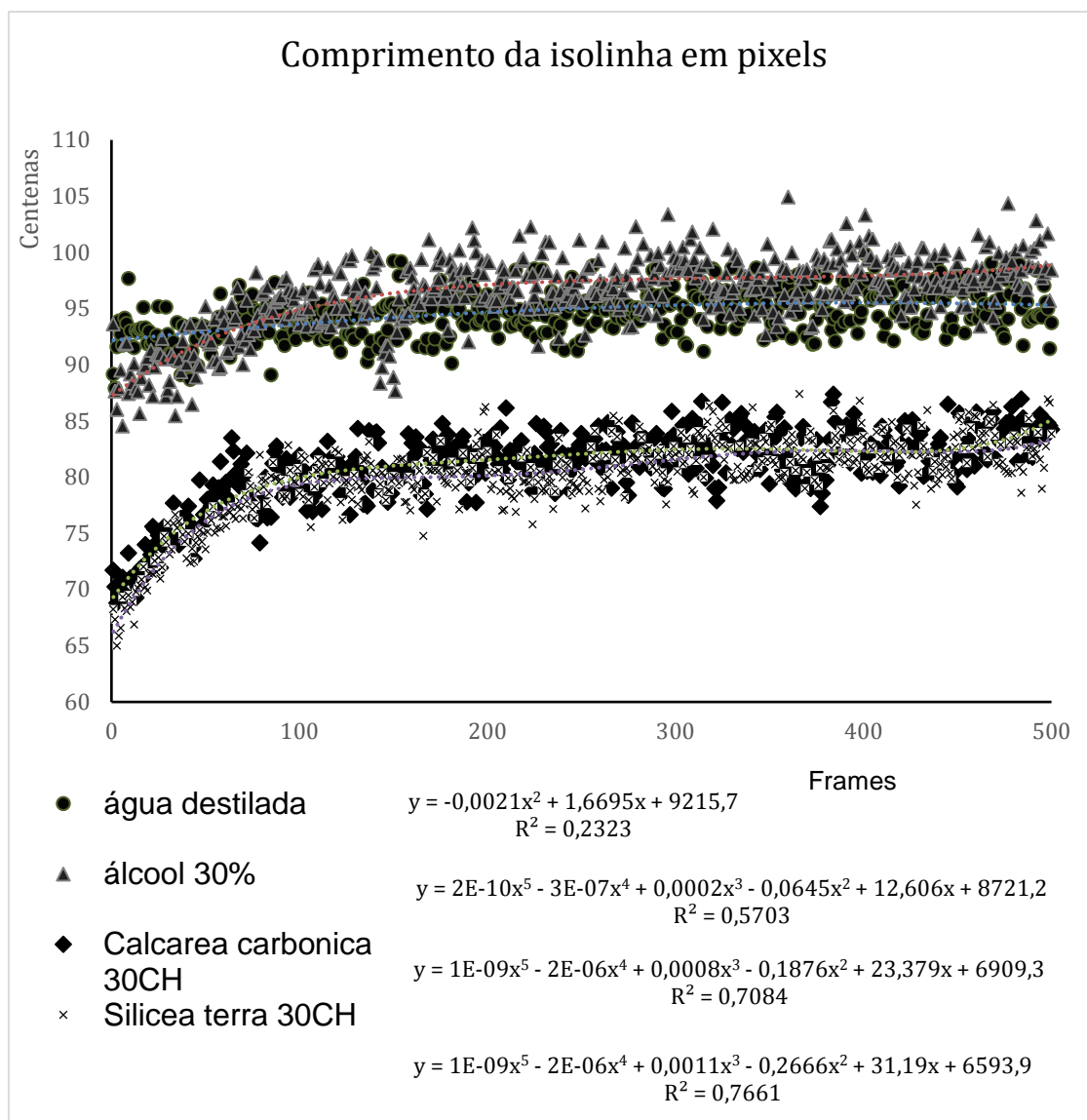


Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Para a variável comprimento de isolinha foi observado que nos tratamentos que receberam *Silicea terra* 30CH e *Calcareia carbonica* 30CH, o comprimento foi

menor que 85 px, *Silicea terra* 30CH – 80,91 px e *Calcareo carbonica* 30CH – 80,05 px, enquanto que nos tratamentos que receberam Água destilada – 94,60 px e Álcool etílico 30% - 96,30, os comprimentos foram maiores que 90 pixels (Figura 22).

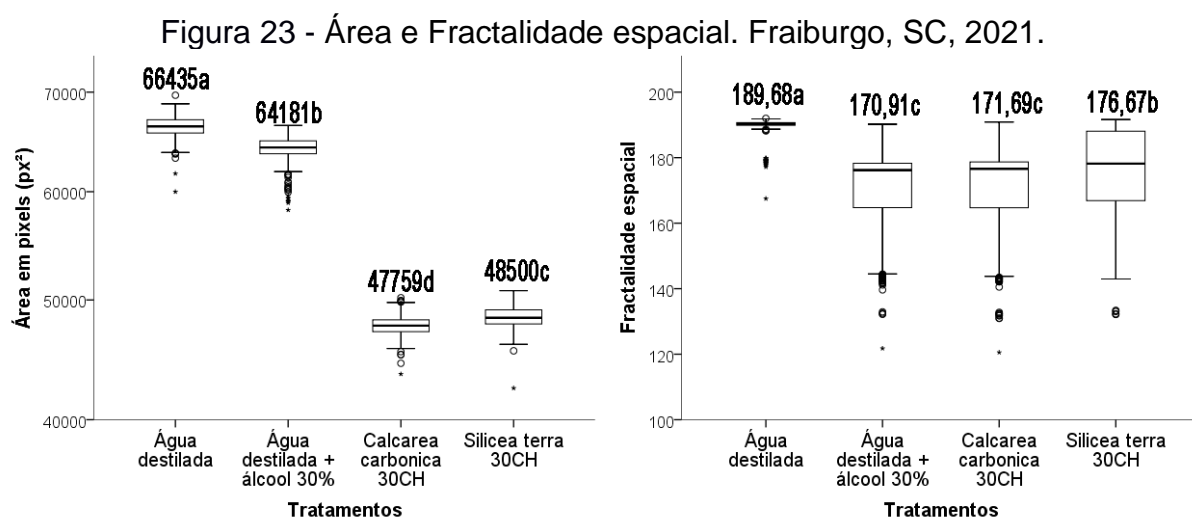
Figura 22 - Comprimento da Isolinha. Fraiburgo, SC, 2020.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Em relação ao parâmetro área (px²), os tratamentos *Calcareo carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH apresentaram os menores valores, enquanto que o tratamento com água destilada apresentou maior área. O teste Kruskal – Wallis mostrou que há efeito dos tratamentos sobre a área [$X^2(3) = 1681,81$; $p < 0,001$], os valores para *Calcareo carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH foram menores que os controles. BELL

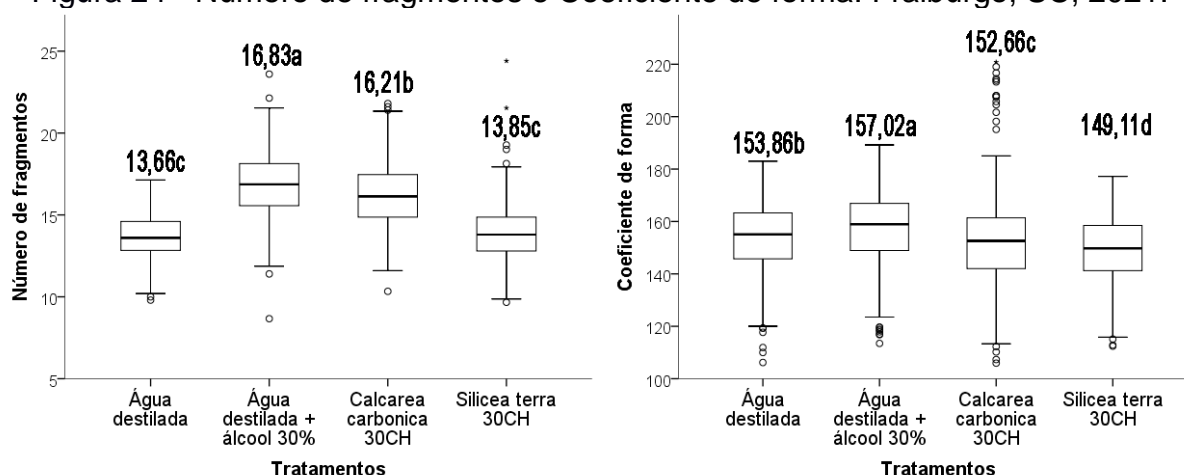
et al. (2003) observaram, também, diferenças significativas entre a dinamização 30CH e seu controle, utilizando os parâmetros de área para comparar altas diluições na 30CH. O teste Kruskal – Wallis mostrou que há efeito dos tratamentos sobre a fractalidade espacial [$X^2(3) = 973,32$; $p < 0,001$]. *Silicea terra* 30CH diferenciou dos demais tratamentos. O tratamento com água destilada foi notavelmente maior que os demais tratamentos, quanto à área total das imagens GDV (Figura 23 e Tabela 8).



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

O teste Kruskal – Wallis mostrou que há efeito dos tratamentos sobre o número de fragmentos [$X^2(3) = 871,90$; $p < 0,001$], em relação ao número de fragmentos o tratamento com *Calcareia carbonica* 30CH diferenciou dos controles, *Silicea terra* 30CH apresentou valores semelhantes a água destilada. O teste Kruskal – Wallis mostrou que houve efeito dos tratamentos com altas diluições sobre o coeficiente de forma [$X^2(3) = 94,49$; $p < 0,001$], o Coeficiente de forma foi significativamente inferior nos tratamentos que envolveram *Calcareia carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH. BELL *et al.* (2003) também observaram diferenças significativas entre a dinamização 30CH e seu controle, utilizando os parâmetros coeficiente de forma (Figura 24 e Tabela 8).

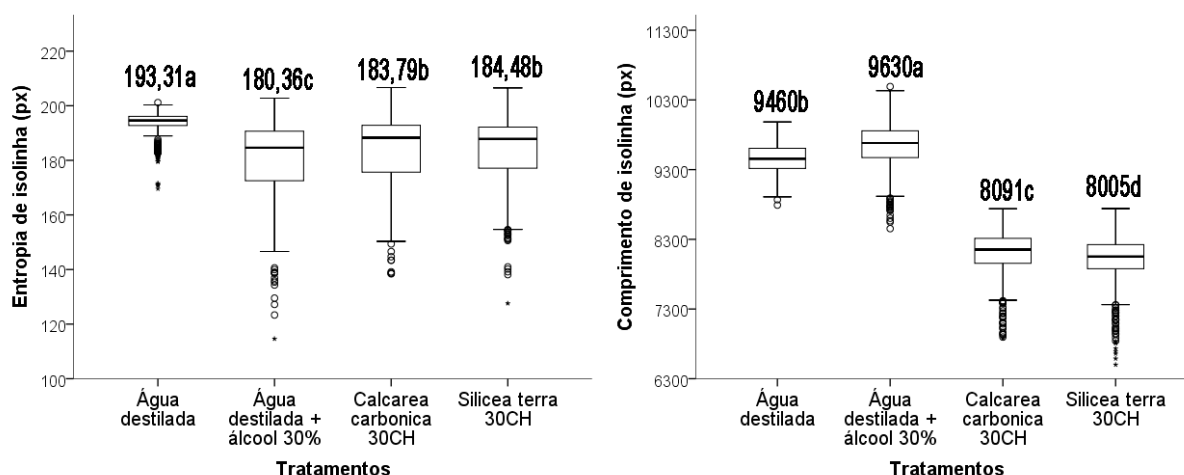
Figura 24 - Número de fragmentos e Coeficiente de forma. Fraiburgo, SC, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

O teste Kruskal – Wallis mostrou que houve efeito dos tratamentos sobre comprimento de isolinha [$X^2(3) = 1535,92$; $p < 0,001$], foi possível diferenciar os tratamentos *Silicea terra* 30CH e *Calcareia carbonica* 30CH dos controles Água destilada e Álcool etílico 30%. O teste Kruskal – Wallis mostrou que há efeito dos tratamentos sobre entropia de isolinha [$X^2(3) = 270,91$; $p < 0,001$], todos os tratamentos apresentaram resultados diferentes estatisticamente, no entanto, os tratamentos *Calcareia* e *Silicea* apresentaram os menores valores. Este talvez foi o parâmetro mais interessante, que demonstra de maneira inequívoca a capacidade do GDV captar diferenças entre os tratamentos que possuíam álcool, bem como foi capaz de diferenciar os controles da *Calcareia carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH (Figura 25 e Tabela 8).

Figura 25 - Entropia e Comprimento da isolinha. Fraiburgo, SC, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Tabela 8 - medidas do GDV a partir das folhas de *Phaseolus vulgaris*, complementando as informações das figuras

Tratamentos	Fractalidade espacial	Área (px ²)	Número de fragmentos	Coeficiente de forma	Entropia de isolinha	Comprimento de isolinha (px)
Água	1678,79 a	1718,11 a	594,25 c	1045,90 b	1356,92 a	1396,81 b
Álcool etílico 30%	692,67 c	1282,88 b	1457,47 a	1172,31 a	794,92 c	1603,85 a
<i>Calcareia c.</i> 30CH	701,81 c	384,19 d	1296,35 b	954,54 c	922,18 b	543,61 c
<i>Silicea t.</i> 30CH	928,72 b	616,80 c	653,92 c	829,23 d	927,97 b	457,71 d
CV	21,80	30,21	14,30	23,84	13,85	18,24

Testes não paramétricos de Kruskal – Wallis. Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de subconjuntos homogêneos baseados em significâncias assintóticas ($p < 0,05$).
Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Esforços para explicar como o GDV pode se relacionar com tecidos vivos têm sido propostos, alguns autores supõem que os elétrons excitados na medição, estão intimamente relacionados ao trifosfato de adenosina e ao oxigênio ativo, que são a base da energia in vivo, e isso pode ser considerado um índice de saúde do corpo. A área e a intensidade podem ser interpretadas como fisicamente relacionadas à energia do fóton e são definidas como energia de reserva ou convertidas em energia retida (SUBOUCHI *et al.*, 2018).

Em relação às aplicações no solo, de acordo com Modolon *et al.* (2016), aplicações de preparados homeopáticos na água de irrigação do milho são mais efetivas no controle de lagartas, do que aplicações aéreas em plantas de milho.

5.4. CONCLUSÃO

É possível diferenciar os tratamentos dos solos, pela análise em GDV de folhas de feijoeiro oriunda de plantas cultivadas sobre esses solos tratados. Tanto a área como o comprimento da isolinha apresentaram diferenças nos tratamentos que foram plantados em vasos que receberam *Silicea terra* 30CH e *Calcareia carbonica* 30CH. No comprimento de isolinha foram observadas diferenças significativas na *Silicea terra* 30CH – 80,91 px e *Calcareia carbonica* 30CH – 80,05 px, enquanto que nos tratamentos que receberam água destilada – 94,60 px e álcool etílico 30%- 96,30. A diferenciação dos tratamentos nos parâmetros analisados a partir do imageamento GDV pode estar relacionada ao metabolismo primário da planta, bem como na produção de metabólitos secundários e/ou absorção de nutrientes. Altas diluições dinamizadas de *Calcareia carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH proporciona ação significativa no feijoeiro, mesmo quando aplicadas nos solos nos quais as plantas são cultivadas.

A quantidade de imagens GDV analisadas foi suficiente para determinar que o efeito das altas diluições no sistema solo-planta não é um fenômeno aleatório.

6. DISCUSSÃO GERAL

As altas diluições se provaram capazes de causar alterações em organismos vivos em uma história que já dura mais de 200 anos Samuel Hahnemann através de um sentido de observação privilegiado, sabia que mesmo quantidades infinitesimais, seus medicamentos trariam saúde ao organismo. A homeopatia e as altas diluições, tem sido motivo de intenso debate científico ao longo de muitos anos, essa situação está longe de acabar. Ao mesmo tempo que novas evidências surgem, surgem novos questionamentos.

No meio agrícola, há uma cultura científico-formal e demanda prática de alta intervenção nos processos produtivos por agentes excludentes de organismos indesejáveis, intervenções que não levam em consideração as alterações na dinâmica do todo agroecossistema (BOFF, 2009). A agroecologia é um ramo da ciência que busca o entendimento do funcionamento de agroecossistemas complexos, suas diferentes interações, princípios que envolvem a conservação e a ampliação da biodiversidade dos sistemas agrícolas, tendo isso por base para produzir auto regulação e consequentemente sustentabilidade (ASSIS & ROMEIRO, 2002; CANUTO, 1998). A Homeopatia busca a cura e respeita a complexidade biológica existente e integrá-la ao pensamento agroecológico contribui para o desenvolvimento de sistemas sustentáveis na produção de alimentos, fibras e bioenergia (BOFF, 2009). Assim, as ideias gerais deste trabalho foram além de testar o efeito biológico apenas, algo esperado na área agrônômica, tentamos observar, a qualidade das altas diluições, seu efeito nos microrganismos do solo, como essas alterações causaram mudanças nas relações solo/microrganismos e por fim como isso foi refletido nas plantas.

A abordagem moderna dos sistemas proposta por Jørgensen *et al.* (2011), adaptada aos sistemas agrícolas também foi contemplada, de acordo com a termodinâmica clássica, todos os sistemas isolados se moverão em direção ao equilíbrio termodinâmico. Todos os gradientes e estruturas do sistema serão eliminados e um sistema morto homogêneo será o resultado, ou seja, a entropia sempre aumentará em um sistema isolado. Como a capacidade de trabalho é resultado de gradientes em certas variáveis intensivas, como temperatura, pressão e potencial químico, etc., um sistema em equilíbrio termodinâmico não pode funcionar.

Mas os sistemas agrícolas estão se afastando do equilíbrio termodinâmico com uma taxa quase cada vez mais rápida a cada dia. Isso significa que nossos sistemas agrícolas não podem ser sistemas isolados. Pássaros, insetos, microrganismos e sementes entram de fora em nossos sistemas agrícolas. Assim, o sistema agrícola, como todos os outros ecossistemas, é um sistema aberto. Os sistemas agrícolas são, antes de tudo, abertos às entradas de energia da radiação solar, que são absolutamente necessárias para evitar que o sistema se mova em direção ao equilíbrio termodinâmico. Sem radiação solar, o sistema morreria. Dessa forma, é impossível no atual estado do conhecimento, desconsiderar as complexas relações que ocorrem em sistemas abertos. As novas teorias ecológicas já discutem que as alterações podem ter início no nível molecular e chegar até os níveis mais altos da organização dos seres vivos, o que se convencionou chamar por hierarquia (BERTALANFFY, 1977; ODUM & OTTENWAELDER, 1972). Assim, alterações nos níveis moleculares, poderiam causar alterações nos demais níveis. Podemos afirmar que foi possível captar, através de diferentes ferramentas, com graus variados de sensibilidade, diferenças desde os preparados em altas diluições, e em sua aplicação no solo e no feijoeiro.

Não deixamos de considerar os avanços nas teorias que explicam as altas diluições, que envolvem as características únicas das moléculas de água, como *clusters* de moléculas que foram fotografados, a Zona de exclusão, *quantum coherence domain* e a influência do comportamento da água nos seres vivos (Del GIUDICE *et al.* 1988, HO, 2014, JERMAN & RATAJC, 2014; PREPARATA, 1988).

As implicações dos resultados relatados, sugerem que existe sensibilidade suficiente nos microrganismos do solo e no feijoeiro para apresentar mudanças mensuráveis em diferentes níveis advindos do uso das altas diluições. A aplicação de altas diluições nos sistemas agrícolas é investigada há muito tempo e o uso de equipamentos cada vez mais sensíveis, que avaliem características tão profundas como o GDV faz, nos possibilita resultados e aplicações sem precedentes.

Os resultados de trabalhos recentes ligados às altas diluições tem se apoiado com sucesso em novas teorias do funcionamento da matéria condensada, na física clássica, os átomos e moléculas da matéria estão completamente confinados em sua localidade no espaço e no tempo e se movem ao longo de um caminho bem definido. Na física quântica, tanto a matéria quanto os campos eletromagnéticos são

considerados campos quânticos que flutuam no espaço e no tempo e apresentam sobreposições de estados agindo sobre distâncias que excedem em muito os comprimentos das ligações químicas e dão origem a domínios espaciais dentro dos quais todos os átomos e moléculas oscilam (SMITH, 2004).

Em resumo, nesta tese testamos as altas diluições e notamos que eram diferentes de nossos controles (Capítulo 2). No capítulo 3 seguimos a hipótese que isso poderia causar alterações mensuráveis nos microrganismos do solo. No capítulo 4, sugerimos que essas alterações não eram apenas passageiras, restritas a maior atividade nas taxas de respiração, mas sim causaram alguma bifurcação, levando o sistema a outro nível de organização. No último capítulo das investigações, o capítulo 5, mensuramos como essas intervenções no solo causaram alterações nas plantas.

Por fim, acreditamos que as altas diluições possuem grande potencial agrícola e que as interações entre os organismos na agricultura é a chave para as aplicações das altas diluições e homeopatia. Foi no mínimo inesperado, captar tantas diferenças sobretudo no GDV, de fato, o organismo agrícola é sensível a estímulos, mesmo que sejam sutis, como é o caso das altas diluições. O estudo das altas diluições está aberto a novas abordagens, sendo que hipóteses que levem em consideração as teorias da informação, poderão ser bem-sucedidas. São grandes os esforços, para que a homeopatia na agricultura seja ampla e contemple todo o ambiente e suas relações ecológicas, desta forma compatível a agricultura limpa e sustentável, pilares da agroecologia.

REFERÊNCIAS

- ALDER, L. **An Introduction to Pattern Recognition**: HeavenForBooks.com. 2001. 561p.
- ANDERSON, J. P. Soil respiration. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties, (methods of soil analyses), 831-871. 1982.
- ANDRADE, F. M. C. de. Alterações da vitalidade do solo com o uso de preparados homeopáticos. 2004. 362f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2004. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/10509>.
- ANDRADE, F. M. C. de; CASALI, V. W. D. Homeopatia, agroecologia e sustentabilidade. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 6, n. 1, p. 49-56, 2011.
- ASSIS, R. L., ROMEIRO, A. R. Agroecologia e agricultura orgânica: controvérsias e tendências. **Desenvolvimento e meio ambiente**, v. 6, 2002.
- AVERSA, R., PETRESCU, R. V., APICELLA, A., & PETRESCU, F. I. About homeopathy or *Similia similibus curentur*. **American Journal of Engineering and Applied Sciences**, v. 9, n. 4, 2016.
- BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014. Santo Antônio, de Goiás: **Embrapa Arroz e Feijão**, 2012.
- BARROS, N.; GOMEZORELLANA, I.; FEIJOO, S.; BALSÀ, R. The effect of soil-moisture on soil microbial activity studied by microcalorimetry. **Thermochimica Acta**. v. 249, p. 161-168, 1995.
- BAUMGARTNER S., BETTI L., *et al.* Use of plant bioassays in homeopathic basic research – a systematic review. **Int. J High Dilution Res** 2012; 11(40):140-141 Proceedings of the XXVI GIRI Symposium; Florence (Italy); Sep: 20-22; 2012.
- BAUMGARTNER, M. F.; FRATANTONI, D.M. Diel periodicity in both sei whale vocalization rates and the vertical migration of their copepod prey observed from ocean gliders. **Limnology and Oceanography**, v. 53, n. 5part2, p. 2197-2209, 2008.
- BAUMGARTNER S., SHAH D., SCHALLER J., *et al.* Reproducibility of dwarf pea shoot growth stimulation by homeopathic potencies of gibberellic acid. **Complement Ther Med**. 16(4): 183–191; 2008.
- BAEYER, A. V. On a new class of dyes. **Reports of the German Chemical Society**, v. 4, n. 1871, p. 555-558, 1871.
- BELLAVITE, P., MARZOTTO, M., OLIOSSO, D., MORATTI, E., & CONFORTI, A High-dilution effects revisited. 2. Pharmacodynamic mechanisms. **Homeopathy**, v. 103, n. 1, p. 22-43, 2014.

BELLAVITE, P., ORTOLANI, R., PONTAROLLO, F., PITARI, G., & CONFORTI, A. Immunology and homeopathy. 5. The rationale of the 'Simile'. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 4, n. 2, p. 149-163, 2007.

BELLAVITE, P; SIGNORINI, A. **The emerging science of homeopathy: complexity, biodynamics, and nanopharmacology**. North Atlantic Books, 2002.

BELL, I. R.; BALDWIN, C. M.; SCHWARTZ, G. E. Translating a nonlinear systems theory model for homeopathy into empirical tests. **Alternative therapies in health and medicine**, v. 8, n. 3, p. 58, 2002.

BELL, I. R.; LEWIS, D. A.; BROOKS, A. J.; LEWIS, S. E.; SCHWARTZ, G. E. Gas discharge visualization evaluation of ultramolecular doses of homeopathic medicines under blinded, controlled conditions. **J Altern Complement Med.**, v. 9, n. 1, p. 25-38, 2003.

BERTALANFFY, Ludwig Von. **Dois sistemas de teoria geral**. Petrópolis: Vozes, 1977.

BERTALOT, Maria José Alves *et al.* Métodos alternativos para controle de doenças fúngicas na cultura de jambu (*Spilanthes oleraceae* L.) através de *Equisetum* spp e preparado biodinâmico 501. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, n. 2, p. 264-274, 2010.

BEZERRA, L. P., FRANCO, F. S., SOUZA-ESQUERDO, V. F., & BORSATTO, R. Participatory construction in agroforestry systems in family farming: ways for the agroecological transition in Brazil. **Agroecology and sustainable food systems**, v. 43, n. 2, p. 180-200, 2019.

BOFF, P. Saúde vegetal e a contribuição da homeopatia na transição ecológica da agricultura. **Cadernos de Agroecologia**, v. 4, n. 1, 2009.

BONATO, C. M., PROENÇA, G. T. D., & REIS, B. Homeopathic drugs *Arsenicum album* and *Sulphur* affect the growth and essential oil content in mint (*Mentha arvensis* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, n. 1, p. 101-105, 2009.

BONO, I., DEL GIUDICE, E., GAMBERALE, L. AND HENRY, M. Emergence of the coherent structure of liquid water. **Water**, 4(3), pp.510-532, 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 17, de 18 de junho de 2014. Estabelece o regulamento técnico para os sistemas orgânicos de produção animal e vegetal. Diário Oficial da União, 2014.

BRASIL. **Farmacopeia homeopática brasileira**, 3. ed. Brasil, 2011.

CALLARD, R; GEORGE, A.J.T; STARK, J. Cytokines, chaos, and complexity. **Immunity**, v. 11, n. 5, p. 507-513, 1999.

CAMPOS, I. M; PEDROSO, T. R. Avaliação do crescimento e desenvolvimento da planta rúcula com medicamento homeopático *sulphur* em diferentes dinâmizações. **Farmácia-Tubarão**, 2020.

CANUTO, J. C. Agricultura ecológica e sustentabilidade socioambiental. **Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 1998.

CARDOSO, R. R.; COSTA, A. G.; NOBRE, C. M. B.; BRAGA JÚNIOR, R. A. Frequency signature of water activity by biospeckle laser. **Optics Communications**, v. 284, n. 8, p. 2313-2136, Apr. 2011.

CARDOSO, E. L., SILVA, M. L. N., DE SOUZA MOREIRA, F. M., & CURI, N. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em pastagem cultivada e nativa no Pantanal. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.44, n.6, p.631-637, 2009.

CARTWRIGHT, S. J. Homeopathic Potencies May Possess an Electric Field (-like) Component: Evidence from the Use of Encapsulated Solvatochromic Dyes. **Homeopathy**, v. 109, n. 01, p. 014-022, 2020.

CARTWRIGHT, S. J. Interaction of homeopathic potencies with the water soluble solvatochromic dye bis-dimethylaminofuchson. Part 1: pH studies. **Homeopathy**, v. 106, n. 1, p. 37-46, 2017.

CHAKRABORTY, I., DATTA, S., SUKUL, A., CHAKRAVARTY, R., & SUKUL, N. C. Variation in free and bound water molecules in different homeopathic potencies as revealed by their Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). **International Journal of High Dilution Research-ISSN 1982-6206**, v. 13, n. 49, p. 189-196, 2014.

CHERUBIN, M.R. *et al.* Qualidade física, química e biológica de um latossolo com diferentes manejos e fertilizantes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.39, p. 615-625, 2015.

CHIKRAMANE, P. S., KALITA, D., SURESH, A. K., KANE, S. G., & BELLARE, J. R. Why extreme dilutions reach non-zero asymptotes: a nanoparticulate hypothesis based on froth flotation. **Langmuir**, v. 28, n. 45, p. 15864-15875, 2012.

CHIKRAMANE, P. S., SURESH, A. K., BELLARE, J. R., & KANE, S. G. Extreme homeopathic dilutions retain starting materials: A nanoparticulate perspective. **Homeopathy**, v. 99, n. 4, p. 231-242, 2010.

COELHO, M. M. **Estudo da respiração do solo em floresta de transição no Sudoeste da Amazônia**. 2005. 46 f. Dissertação, Mestrado em Física e Meio Ambiente, Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2005.

COLLINS, T. ImageJ for Microscopy. **BioTechniques**, 43. S25-S30. [http://dx. doi. org/10.2144/000112517](http://dx.doi.org/10.2144/000112517), 2007.

DA SILVA, L. B., NOVAIS, J. W. Z., SANCHES, L., MACHADO, N. G., AQUINO, A. M., & DA SILVA SALLO, F. Serrapilheira e Efluxo de Co2 do Solo em Floresta

sazonalmente alagável no pantanal brasileiro. **Ensaio e Ciência**, v. 21, n. 3, p. 178-182, 2017.

Da SILVA, O. F; WANDER, A. E. O feijão-comum no Brasil: passado, presente e futuro. **Embrapa Arroz e Feijão-Documents (INFOTECA-E)**, 2013.

De SOUZA GONÇALVES, P. A; BOFF, P; NETO, J. V. Altas diluições no rendimento de rúcula, salsa e *Gypsophila elegans*. **Revista Thema**, v. 15, n. 2, p. 521-530, 2018.

DEI, Andrea. Experimental evidence supports new perspectives in homeopathy. **Homeopathy**, v. 109, n. 04, p. 256-260, 2020.

Del GIUDICE, E, PREPARATA G., VITIELLO G. "Water as a free electric dipole laser." **Physical review letters** 61, no. 9 1085,1988.

DEMANGEAT, Jean-Louis. Nanosized solvent superstructures in ultramolecular aqueous dilutions: twenty years' research using water proton NMR relaxation. **Homeopathy**, v. 102, n. 2, p. 87-105, 2013.

DIONÍSIO, J. A; PIMENTEL, I. C; SIGNOR, D. Respiração microbiana. In: DIONÍSIO, J. A; PIMENTEL, I. C; SIGNOR, D; PAULA, A. M; MACEDA, A; MATANNA, A. L. **Guia prático de biologia do solo**. Curitiba: SBCS: NEPAR, Cap. 12, p. 72-77, 2016.

DOMINGUES, S., WERNER, S. S., BOFF, M. I. C., & BOFF, P. Regrowth of Yerba Mate Plants (*Ilex paraguariensis* A. St.-hill.) Submitted to Dynamized High-dilution Preparations. **Journal of Experimental Agriculture International**, p. 1-11, 2019.

ELIA, V.; NAPOLI, E.; NICCOLI, M. On the stability of extremely diluted solutions to temperature. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 113, n. 2, p. 963-970, 2013.

EMBODEN W; MOSS T; JOHNSON K; GANNON J. **Health and Disease in Plants, As Seen Through Kirlian Photography**. CALIFORNIA STATE UNIV., DEP. BIOL., NORTHRIDGE CA, USA. Vol. 3; n. 1-4; pag. 33-45; 1979.

ENDLER, P. C., BELLAVITE, P., BONAMIN, L., JÄGER, T., & MAZON, S. Replications of fundamental research models in ultra-high dilutions 1994 and 2015—update on a bibliometric study. **Homeopathy**, v. 104, n. 4, p. 234-245, 2015.

ENDLER, P. C., LEONIDE, A., WEBER, A., TIETZ, F., & IVERS-TIFFÉE, E. Time-dependent electrode performance changes in intermediate temperature solid oxide fuel cells. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 157, n. 2, p. B292, 2009.

ENDLER, P. C., MATZER, W., REICH, C., REISCHL, T., HARTMANN, A. M., THIEVES, K., ... & SCHERER-PONGRATZ, W. Seasonal variation of the effect of extremely diluted agitated gibberellic acid (10^{-30}) on wheat stalk growth: a multiresearcher study. **The Scientific World JOURNAL**, v. 11, 2011.

ENDLER, P. C.; SCHULTE, J. **Ultra-High Dilution, Physiology and Physics**. 268 Seiten. 1994.

ENDLER, P. C., THIEVES, K., REICH, C., MATTHIESSEN, P., BONAMIN, L., SCHERR, C., & BAUMGARTNER, S. Repetitions of fundamental research models for homeopathically prepared dilutions beyond 10-23: a bibliometric study. **Homeopathy**, v. 99, n. 1, p. 25-36, 2010.

FAEDO, L. F., VERDI, R., DE LIMA, J. M., WELTER, P. D., KRETZCHMAR, A. A., & BOFF, P. Preparado Homeopático *Silicea terra* e biogente *Trichoderma harzianum* na qualidade de frutos de morangueiro. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 59731-59737, 2020.

FECHNER, G.T. Elemente der Psychophysik. Leipzig: Breitkopf und Härtel, 2, p. 559, 1860.

FINGER, Eduardo. A termodinâmica como princípio motriz do sistema imune. **Einstein (São Paulo)**, v. 10, n. 3, p. 386-388, 2012.

FRITZ, J., ATHMANN, M., KAUTZ, T., & KÖPKE, U. Grouping and classification of wheat from organic and conventional production systems by combining three image forming methods. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 27, n. 3-4, p. 320-336, 2011.

FRITZ, J., ATHMANN, M., MEISSNER, G., KAUER, R., GEIER, U., BORNHÜTTER, R., & SCHULTZ, H. Quality assessment of grape juice from integrated, organic and biodynamic viticulture using image forming methods. **OENO One**, v. 54, n. 2, 2020.

GEORGE, E.; ENGEL, L. The clinical application of the biopsychosocial model. **American journal of Psychiatry**, v. 137, n. 5, p. 535-544, 1980.

GIRARDI, L. H.; CARGNELUTTI F. A.; STORCK, L. ERRO TIPO I E PODER DE CINCO TESTES DE COMPARAÇÃO MÚLTIPLA DE MÉDIAS. **Rev. Bras. Biom**, v. 27, n. 1, p. 23-36, 2009.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. Ed. da Univ. Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, 2001.

GROZDEVA, D & DIKOVA, T. Gas discharge visualization-historical developments, research dynamics and innovative applications. **Scripta Scientifica Salutis Publicae**, v. 4, p. 27-33, 2018.

HAHNEMANN, Samuel. Organon da arte de curar. In: **Organon da arte de curar**. p. 248. 1996.

HEGER, J.T.; IMFELD, G.; MITCHELL, E.A.D. Special issue on "Bioindication in soil ecosystems": Editorial note. **European Journal of Soil Biology journal**, v.49, p. 1-4, 2012.

HENRIQUE, M; JORGE, A; RAY, D, T. Germination characterization of guayule seed by morphology, mass and, X-ray analysis. **Industrial Crops and Products**., v. 22, n. 1, p. 59-63, July 2005.

HO, M. W. Large supramolecular water clusters caught on camera-A review. **Water**, v. 6, p. 1-12, 2014.

HOLANDINO, C., OLIVEIRA, A. P., HOMSANI, F., DE PAIVA, J. P., BARBOSA, G. M., DE LIMA ZANETTI, M. R., ... & DE SOUZA PICCIANI, P. H. Structural and thermal analyses of zinc and lactose in homeopathic triturated systems. **Homeopathy**, v. 106, n. 3, p. 160-170, 2017

HPI. **Homoeopathic Pharmacopoeia of India**. Government of India Ministry Of Health & Family Welfare Department Of Ayurveda, Yoga & Naturopathy, Unani, Siddha And Homoeopathy New Delhi, p. 1342, 2016.

IUPAC. **Compendium of chemical terminology**. Oxford: Blackwell Science, 1997.

JÄGGI W. Die Bestimmung der CO₂-Bildung als Maß der bodenbiologischen Aktivität. *Schw Landw Forsch* 15:371-380. 1976

JERMAN, I; RATAJC, P. A further indication of the self-ordering capacity of water via the droplet evaporation method. **Entropy**, v. 16, n. 10, p. 5211-5222, 2014.

JONAS, W; LIN, Yu; TORTELLA, F. Neuroprotection from glutamate toxicity with ultra-low dose glutamate. **Neuroreport**, v. 12, n. 2, p. 335-339, 2001.

JORDÁN, F; JØRGENSEN, S. E. **Models of the ecological hierarchy: from molecules to the ecosphere**. Newnes, 2012.

JØRGENSEN, S. E. **Introduction to systems ecology**. CRC Press, Baton Rouge. Florida, 320 pag, 2012.

JØRGENSEN, S. E., FATH, B. D., BASTIANONI, S., MARQUES, J. C., MULLER, F., NIELSEN, S. N., ... & ULANOWICZ, R. E. **A new ecology: systems perspective**. Elsevier, 2011.

KASCHUK G, ALBERTON O, HUNGRIA M. Quantifying effects of different agricultural land uses on soil microbial biomass and activity in Brazilian biomes: inferences to improve soil quality. **Plant and Soil**. 338(1-2): 467-481; 2011.

KAVIRAJ, D. V. Homeopathy for Farm and Garden: The Homeopathic Treatment of Plants. Narayana Verlag, 2015.

KHEMANI, D., JOSEPH, M. M., & VARIGANTI, S. Case based interpretation of soil chromatograms. In: **European Conference on Case-Based Reasoning**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008. p. 587-599.

KIRLIAN, S. D; KIRLIAN, V. K. **Photography and visual observation by means of high-frequency currents**. FOREIGN TECHNOLOGY DIV WRIGHT-PATTERSON AFB OHIO, 1963.

KLEIN, S. D.; WOLF, U. Comparison of homeopathic globules prepared from high and ultra-high dilutions of various starting materials by ultraviolet light spectroscopy. **Complementary therapies in medicine**, v. 24, p. 111-117, 2016.

KOEPPF, H. H.; PETTERSSON, B.D.; SCHAUMANN, W. Agricultura biodinâmica. São Paulo: Nobel, 1983. 316p.

KOKORNACZYK, M. O., BAUMGARTNER, S., & BETTI, L. Polycrystalline structures formed in evaporating droplets as a parameter to test the action of Zincum metallicum 30c in a wheat seed model. **Homeopathy**, v. 105, n. 2, p. 173-179, 2016.

KOKORNACZYK, M. O., PRIMAVERA, F., LUNEIA, R., BAUMGARTNER, S., & BETTI, L. Analysis of soils by means of Pfeiffer's circular chromatography test and comparison to chemical analysis results. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 33, n. 3, p. 143-157, 2017.

KOLISKO, E & KOLISKO, L. Agriculture of tomorrow. Gloucester: Kolisko Archive, 1939.

KONAR A, SARKART, CHAKRABORTY I, SUKULNC, MAJUMDAR D, SINGHA A, SUKUL A. Raman spectroscopy reveals variation in free OH groups and hydrogen bond strength in ultrahigh dilutions. *Int J High Dilution Res.*15(2): 2-9.7, 2016.

KOROTKOV, K. Aura and consciousness: New stage of scientific understanding. **St. Petersburg, Russian Ministry of Culture**, 1998.

KOROTKOV, K. **Measuring Energy Fields: State of the Science**, Backbone Publishing, Fair Lawn, USA. P. 278; 2004.

KOROTKOV, K.G. KOROTKIN, D.A. Concentration Dependence of Gas Discharge Around Drops of Inorganic Electrolytes. **Journal of Applied Physics**. St Petersburg, v. 9, p. 4732-4726, 2001.

KOROTKOV, K. G., MATRAVERS, P., ORLOV, D. V., & WILLIAMS, B. O. Application of electrophoton capture (EPC) analysis based on gas discharge visualization (GDV) technique in medicine: a systematic review. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 16, n. 1, p. 13-25, 2010.

KOSTYUK, N., COLE, P., MEGHANATHAN, N., ISOKPEHI, R. D., & COHLY, H. H. Gas discharge visualization: an imaging and modeling tool for medical biometrics. **International journal of biomedical imaging**, pg. 1-7, 2011.

KRISHNAMURTHY, K; SWAMINATHAN, M. Quantitative determination of amino acids by circular paper chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 27, n. 9, p. 1396-1399, 1955.

LAKATOS, Imre. **The methodology of scientific research programmes: Volume 1: Philosophical papers**. Cambridge university press, 1980.

LANGTON, C. G. **Life at the edge of chaos**. In: Langton CG, Taylor JD, Farmer D, Rasmussen S, eds. Artificial Life II. Santa Fe Institute Studies in the Sciences of Complexity, vol. X. Redwood City, CA: Addison-Wesley; p.41-91, 1992.

LORENZ, Edward. **Predictability: does the flap of a butterfly's wing in Brazil set off a tornado in Texas?**. na, 1972.

MATURANA, H. R., GARCIA, F. J. V. **De máquinas e seres vivos: autopoiese; a organização do vivo**. Artes médicas, 1997.

MEDEIROS, T.S. de; GOMES, A.R.M.G.; ALVES, M.P.B.; MARCELINO, A. de S.; SANTOS, D. de M.; GIONGO, A.M.M.; COSTA, A.R. da. Production of radish (*Raphanus sativus* L.) cultivated under bovine manure levels and soil basal respiration. **Brazilian Applied Science Review**. Curitiba, v.3, n. 2, p. 1348-1357, 2019.

MODOLON, T. A., PIETROWSKI, V., ALVES, L. F. A., & GUIMARÃES, A. T. Desenvolvimento inicial do milho tratado com o preparado *homeopático* *Nux vomica* e submetido ao percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* Dallas (Heteroptera: Pentatomidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 11, n. 2, 2016.

NAIN, A. K., DROLIYA, P., MANCHANDA, R. K., KHURANA, A., & NAYAK, D. Physicochemical studies of extremely diluted solutions (homeopathic formulations) of sulphur in ethanol by using volumetric, acoustic, viscometric and refractive index measurements at different temperatures. **Journal of Molecular Liquids**, v. 211, p. 1082-1094, 2015.

MURUGAN, N. J.; KARBOWSKI, L. M.; PERSINGER, M. A. Serial pH increments (~20 to 40 milliseconds) in water during exposures to weak, physiologically patterned magnetic fields: implications for consciousness. **Water**, v. 6, p. 45-60, 2014.

NIEMEYER, L; PIETRONERO, L; WIESMANN, HANS J. Fractal dimension of dielectric breakdown. **Physical Review Letters**, v. 52, n. 12, p. 1033, 1984.

ODUM, Eugene P. *et al.* **Ecologia**. México: Interamericana, 1972.

OLIVEIRA, L. F. C., OLIVEIRA, M. D. C., Wendland, A., HEINEMANN, A., GUIMARÃES, C., FERREIRA, E. D. B., ... & da SILVA, S. C. Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos. **Embrapa Arroz e Feijão-Livro técnico (INFOTECA-E)**, 59 p. 2018.

OLIVEIRA, L. P., DE OLIVEIRA, M. S., MACHADO, J. P., DE OLIVEIRA, M. S., DE ASSIS, R. A., & DA ROCHA, T. C. Uso dos preparados homeopáticos Carbo vegetabilis e Sulphur no crescimento e desenvolvimento do Alface (*Lactuca sativa*). **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 2, 2020.

OLIVEIRA, W. S., DO VALE COSTA, J. L., CARDOSO, E. P., TEIXEIRA, R. D. N. P., & DA SILVA OLIVEIRA, M. E. Métodos de interpretação para teste de qualidade em solos a partir da Cromatografia Circular Plana (FCC). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 1107-1125, 2020.

PERUMAL, K.; ANANTHI, S.; ARUNKUMAR, J. Innovative and Simplest Alternative Analytical Technology (AAT) for Testing Soil Nutrients. **Jornal Of Soil Science Research**, v. 1, n. 1, p. 10, 2016.

PEÑA, M. L. P., MARQUES, R., JAHNEL, M. C., & DOS ANJOS, A. Respiração microbiana como indicador da qualidade do solo em ecossistema florestal. **Floresta**, v. 35, n. 1, 2005.

PFEIFFER, E. **Chromatography applied to quality testing**. SteinerBooks, 1984.

PILON, L. C.; CARDOSO, J. H.; MEDEIROS, F. S. Guia prático de cromatografia de Pfeiffer. **Embrapa Clima Temperado-Documents (INFOTEC-A-E)**, 2018.

PINHEIRO, Sebastião. Saúde do Solo: Biopoder camponês versus agronegócio. **Rio Grande do Sul: Salles Editora**, 2015.

PRADO, A. G. S.; AIROLDI, C. The influence of moisture on microbial activity of soils. **Thermochimica Acta**, v.332, p. 71-74, 1999.

PREPARATA G. Quantum field theory of the free-electron laser. **Physical Review A**. 1;38(1):233, 1988.

PREPARATA G. Quantum Electrodynamics Coherence in Matter. Singapore: World Scientific, 1995.

PREPARATA, G. *et al.* The role of QED (Quantum Electro Dynamics) in medicine. In: **Rivista di Biologia/Biology Forum**. p. 1-27.1999.

PRIGOGINE, Ilya. Time, structure, and fluctuations. **Science**, v. 201, n. 4358, p. 777-785, 1978.

PRIGOGINE, I; KONDEPUDI, D; DA COSTA, M. P. **Termodinâmica: dos motores térmicos às estruturas dissipativas**. 1999.

PRIGOGINE, I; NICOLIS, G; BABLOYANTZ, A. Thermodynamics of evolution I. **Physics today**, v. 25, n. 11, p. 23-28, 1972.

PRIGOGINE, I; STENGERS, I. **A nova aliança a metamorfose da ciência**. Universidade de Brasília, 1984.

PRIMAVESI, A. **O manejo ecológico do solo**. São Paulo: Nobel, 1982. 542p.

PUSTIGLIONE, M. O organon da arte de curar de Samuel Hahnemann para o século 21. In: **O organon da arte de curar de Samuel Hahnemann para o século 21**. p. 286. 2017.

RAO, M. L., ROY, R., BELL, I. R., & HOOVER, R. The defining role of structure (including epitaxy) in the plausibility of homeopathy. **Homeopathy**, v. 96, n. 3, p. 175-182, 2007.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>. 2020.

REICHL, P., EGGER, S., SCHATZ, R., & D'ALCONZO, A. The logarithmic nature of QoE and the role of the Weber-Fechner law in QoE assessment. In: **2010 IEEE International Conference on Communications**. IEEE, 2010. p. 1-5.

RESTREPO, J. R.; PINHEIRO, S. **Cromatografía: Imágenes de vida y destrucción del suelo**. Cali: Feriva, 2011.

RUIZ-VEGA, G., PEREZ-ORDAZ, L., PROA-FLORES, P., & AGUILAR-DIAZ, Y. Thermoluminescence of ultra-high dilutions of lithium chloride and sodium chloride. **Physica A: Statistical mechanics and its applications**, v. 323, p. 67-74, 2003.

SAAVEDRA, T.M., FIGUEROA, G.A., CABALLERO, V.P. Pfeiffer chromatography in soil analysis of production systems. **Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas**. 9, 665–673, 2018.

SAHA, S. K.; ROY, S.; KHUDA-BUKHSH, A. R. Ultrahighly diluted plant extracts of *Hydrastis canadensis* and *Marsdenia condurango* induce epigenetic modifications and alter gene expression profiles in HeLa cells in vitro. **Journal of Integrative Medicine**. Oxford, v. 13, n. 6, p. 400-411, Nov. 2015.

SCHINNER, F., ÖHLINGER, R., KANDELER, E., & MARGESIN, R. (Ed.). **Methods in soil biology**. Springer Science & Business Media, 2012.

SCHRODINGER, Erwin. **What is life? The physical aspect of the living cell**. At the University Press, 1944.

SCHULTE, J; ENDLER, C. Fundamental Research in Ultra High Dilution and Homoeopathy. In: **Fundamental Research in Ultra High Dilution and Homoeopathy**. Springer, Dordrecht, p. 3-7. 1998.

SHEPPERD, J. *et al.* Chaos theory: implications for homeopathy. **J Am Inst Homeopathy**, v. 87, n. 4, p. 22, 1994.

SHINBROT, T., GREBOGI, C., YORKE, J. A., & OTT, E. Using small perturbations to control chaos. **Nature**, v. 363, n. 6428, p. 411-417, 1993.

SILVA, W. R. G., PINTO, S. C., & CARVALHO, C. T. The ultra high dilutions and its virtual structures. **Arztezeitschrift fur Naturheilverfahren**, v. 46, n. 10, p. 614-618, 2005.

ŠKARJA, M; BERDEN, M.; JERMAN, I. Influence of ionic composition of water on the corona discharge around water drops. **Journal of Applied Physics**, v. 84, n. 5, p. 2436-2442, 1998.

SMITH, Cyril W. Quanta and coherence effects in water and living systems. **The Journal of Alternative & Complementary Medicine**, v. 10, n. 1, p. 69-78, 2004.

SSA (Secretaría de Salud). **Farmacopea homeopática de los Estados Unidos Mexicanos**. FEUM-SSA. Biblioteca Nacional de México 615.532-scdd21. ISBN: 978-607-460-509-9. 2015.

STÖCKER, C.M. *et al.* Bioindicadores da qualidade do solo em sistemas agroflorestais. In: Jornada de pós-graduação e pesquisa - congrega, 14, 2017, Bagé. **Anais Eletrônicos**. Bagé, URCAMP. 2017.

SUBOUCHI, S., UCHIDA, H., YAMAMOTO, A., & SHIMIZU, N. Fluctuations in Human Bioenergy during the Day as Observed from the Evoked Photon. **Health**, v. 10, n. 10, p. 1309, 2018.

SUKUL A, SARKAR P, SINHABABU S.P, SUKUL N.C. Altered solution structure of alcoholic medium of potentized *Nux vomica* underlies its antialcoholic effect. **Br Homoeopathy J**; 89:73–77; 2000.

SUKUL, N. C., SARKAR, P., SUKUL, A., & SINHABABU, S. P. Antifilarial effect of *Artemisia nilagirica* extract and its ultra-high dilutions against canine dirofilariasis. **Japanese Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 27, n. 4, p. 477-481, 1999.

SUKUL, N. C.; SUKUL, A. **High dilution effects: physical and biochemical basis**. Springer Science & Business Media, 2006.

TEIXEIRA, M. Z. Homeopatia: ciência, filosofia e arte de curar. **Revista de Medicina**, v. 85, n. 2, p. 30-43, 2006.

TEIXEIRA, M. Z. Homeopatia nas doenças epidêmicas: conceitos, evidências e propostas. **Revista de Homeopatia**, v. 73, n. 1/2, p. 36-56, 2010.

TEIXEIRA, M. Z. O efeito placebo na pesquisa e na prática clínica homeopática. **Revista de Homeopatia**, v. 77, n. 3/4, p. 1-4, 2014.

TEIXEIRA, M. Z; CARNEIRO, S. M. Efeito de ultradiluições homeopáticas em plantas: revisão da literatura. **Revista de Homeopatia**, v. 80, n. 1/2, p. 113-132, 2017.

TOLEDO, M.; STANGARLIN, J.; BONATO, C. Homeopathy for the control of plant pathogens. **physiology**, v. 19, n. 20, p. 21, 2011.

TOURNIER, A., WÜRTENBERGER, S., KLEIN, S. D., & BAUMGARTNER, S. Physicochemical Investigations of Homeopathic Preparations: A Systematic Review and Bibliometric Analysis—Part 3. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, 2020.

TREBBI, G., NIPOTI, P., BREGOLA, V., BRIZZI, M., DINELLI, G., & BETTI, L. Ultra-high diluted arsenic reduces spore germination of *Alternaria brassicicola* and dark leaf spot in cauliflower. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 318-325, 2016.

TURING, A. M. A theory of morphogenesis. **Phil. Trans. B**, v. 12, 1952.

UPADHYAY, R. P. The possible mechanism of memory through nanoparticles and exclusion zones. *Water*, v. 7, p. 158-176, 2017.

VALLÉE, P., LAFAIT, J., LEGRAND, L., MENTRÉ, P., MONOD, M. O., & THOMAS, Y. Effects of pulsed low-frequency electromagnetic fields on water characterized by light scattering techniques: role of bubbles. *Langmuir*, v. 21, n. 6, p. 2293-2299, 2005.

VAN WASSENHOVEN, M., GOYENS, M., CAPIEAUX, E., DEVOS, P., & DORFMAN, P. Nanoparticle characterization of traditional homeopathically manufactured *Cuprum metallicum* and *Gelsemium sempervirens* medicines and controls. *Homeopathy*, v. 107, n. 04, p. 244-263, 2018.

VARELA, F. G.; MATURANA, H. R.; URIBE, R. Autopoiesis: The organization of living systems, its characterization and a model. *Biosystems*, v. 5, n. 4, p. 187-196, 1974.

VARGAS, L. K.; SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de C-CO₂ e N mineral de um podzólico vermelho-escuro submetido a diferentes sistemas de manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 24, p. 35-42. 2000.

VASCONCELLOS, Á. R.; RODRIGUES, C. G.; LUZZI, R. Complexidade, auto-organização e informação em sistemas dinâmicos. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, v. 37, n. 2, p. 2314-1-2314-30, 2015.

VERDI, R., NUNES, A., WERNER, S. S., & BOFF, P. Viabilidade e vigor de sementes de arroz de cultivo manejado com preparados homeopáticos. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 8, p. 55135-55143, 2020.

VIEILLEDENT, G., HERREN, R., HENRY, M., MORARD, V., & TRINH-KRAMER, Q. N. X. New applications of Corona discharges for photonics characterization of inert or living matter. BioEM2014, Cape Town, 2014.

VITHOULKAS, G. Erros graves da metanálise na pesquisa homeopática. *Journal of Medicine and Life*, v. 10, n. 1, 2017.

WALDROP, M. M. **Complexity: The emerging science at the edge of order and chaos**. London, UK: Penguin Books, 1994 (Also, Ho M-W. *The Rainbow and the Worm: The Physics of Organisms*, 2nd Ed. London, UK: World Scientific, 2003.

WEBER, E.H. De pulsu, resorptione, auditu et tactu. *Annotationes anatomicae et physiologicae*. Lipsiae: Koehler.1834.

WEIBEL, F. P; SAIKOV, A; BIGLER, C. First results with the Gas Discharge Visualization (GDV) method (Kirlian photography) to assess the inner quality of apples. In: **Organic Food Quality and Health Association (FQH) (2005): Where we achieved-where we will go. Proceedings of the First Scientific FQH Conference held in Frick, Switzerland**. Kassel. p. 77. 2005.

WIESENFELD, Kurt; MOSS, Frank. Stochastic resonance and the benefits of noise: from ice ages to crayfish and SQUIDS. *Nature*, v. 373, n. 6509, p. 33-36, 1995.

YINNON, T. A.; ELIA, V. Dynamics in perturbed very dilute aqueous solutions: theory and experimental evidence. **International Journal of Modern Physics B**, v. 27, n. 05, p. 1350005, 2013.

YU, H., WANG, J., LIU, C., DENG, B., & WEI, X. Stochastic resonance on a modular neuronal network of small-world subnetworks with a subthreshold pacemaker. **Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science**, v. 21, n. 4, p. 047502, 2011.

ZANCO, J.J. **Biofotônica na caracterização de sementes submetidas à altas diluições dinamizadas**. 2016. 238p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, 2016. Disponível em: http://www.cav.udesc.br/arquivos/id_submenu/728/zanco__j._j._biofotonica_na_caracterizacao_de_sementes...2016.pdf. Acesso em 11/09/2020.

ZANCO, J. J; BOFF, P; MINKIN, V. A. Análise de sinais bioeletrográficos em sementes de feijão-branco tratadas com altas diluições. 2013. Disponível em: https://www.vibraimage.it/Bibliography/Engl/2013/resumo_expandido_2013.pdf

ZIBETTI, A. P. **Desenvolvimento de técnica GDV (Gas Discharge Visualization) para estudo da homeopatia**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Maringá. 2016.

WELLS, J.D., TAKADA, S., KIMURA, N. AND PIETROWICZ, S. Old and new views on the structure of matter and the special case of living matter. In **Journal of Physics: Conference Series**. Vol. 67, p. 6-12, 2007.

ZDUNEK, A; ADAMIAK, A; PIECZYWEK, P M.; KURENDA, A. The biospeckle method for the investigation of agricultural crops: A review Review. **Optics and Lasers in Engineering**. Cambridge, v. 52, p. 276-285, January 2014.

ZHOU, F. *et al*. Plant communities are more sensitive than soil microbial communities to multiple environmental changes in the Eurasian steppe. **Global Ecology and Conservation**, v. 21, n. e00779, p.1-5, mar. 2020.

ZUAZAGOITIA, D., & VILLARROEL, J. D. Studying the importance of soil organic matter: An educational proposal for secondary education. **Educación Química**, v. 27, n. 1, p. 37-42, 2016.

ANEXO A - EXEMPLO DOS RELATÓRIOS CRIADOS, PRIMEIRA AMOSTRA DE ÁLCOOL ETÍLICO 30%

Detailed report of processing GDV images in the GDV Scientific Laboratory program

*The following GDV parameters of GDV images were calculated during
processing:*

Area

Number of fragments

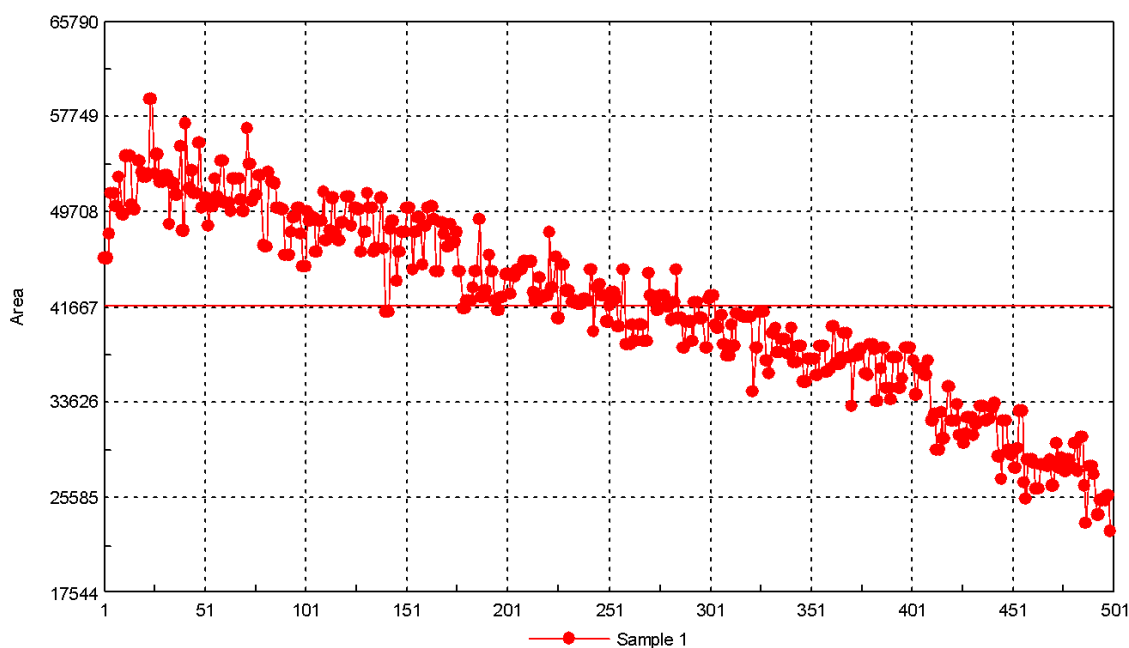
Form coefficient

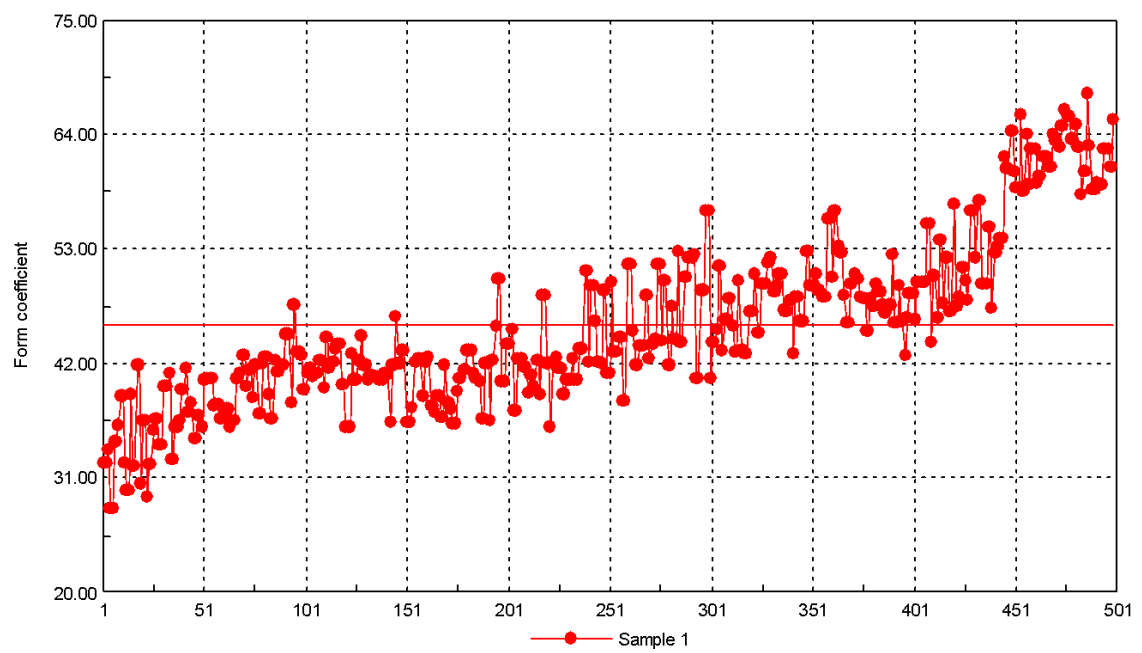
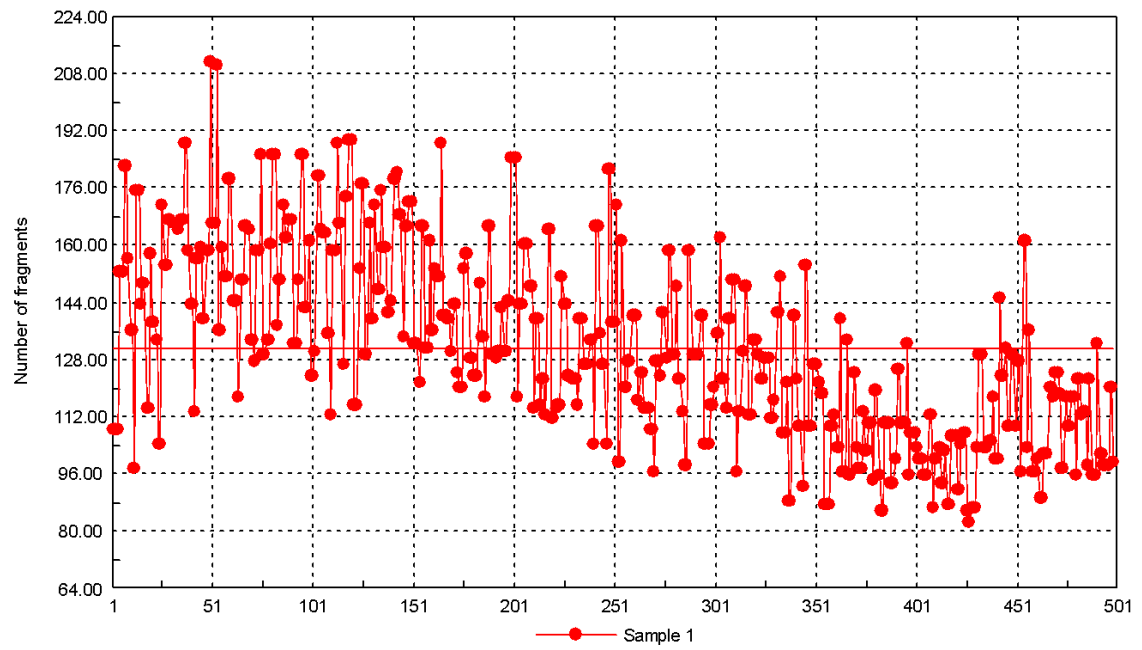
Entropy by isoline

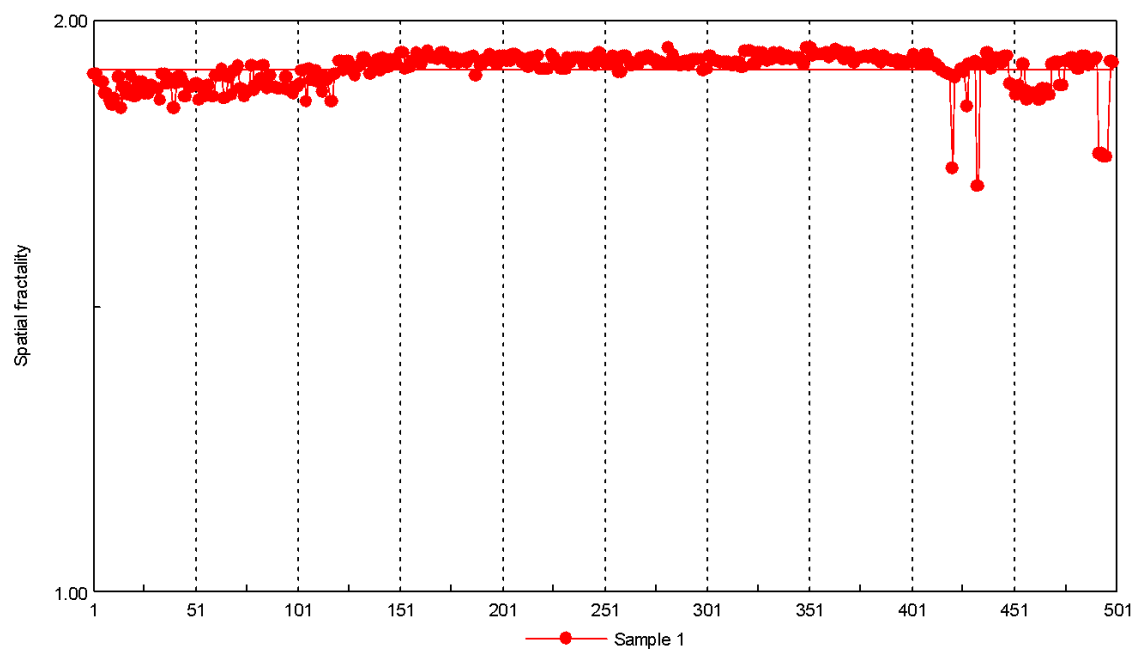
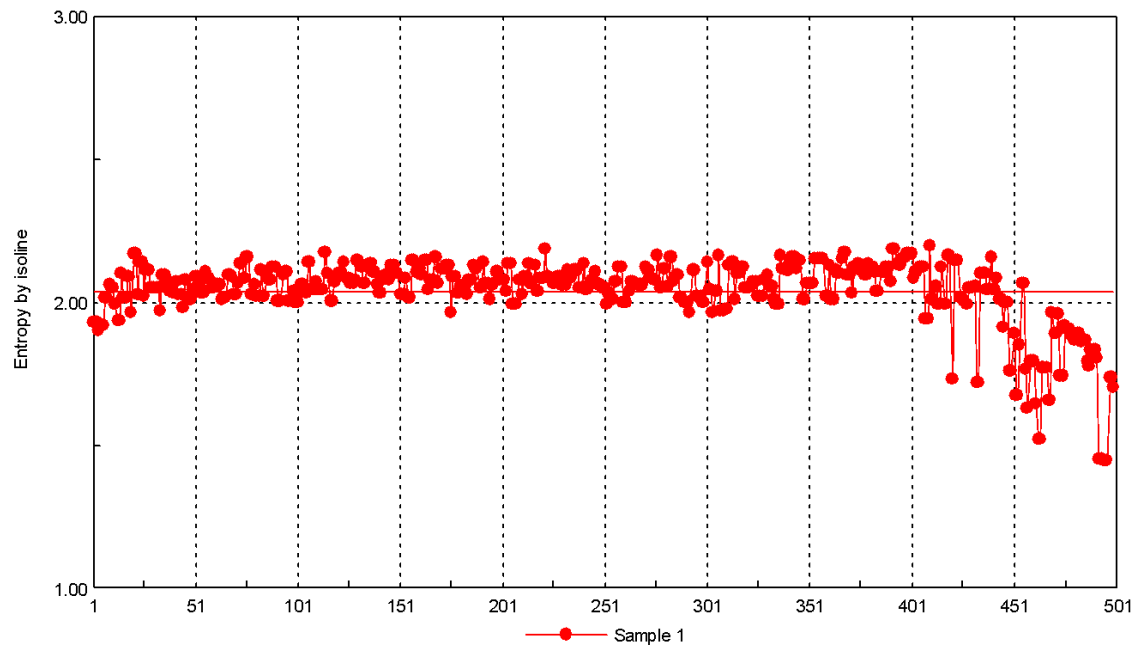
Spatial fractality

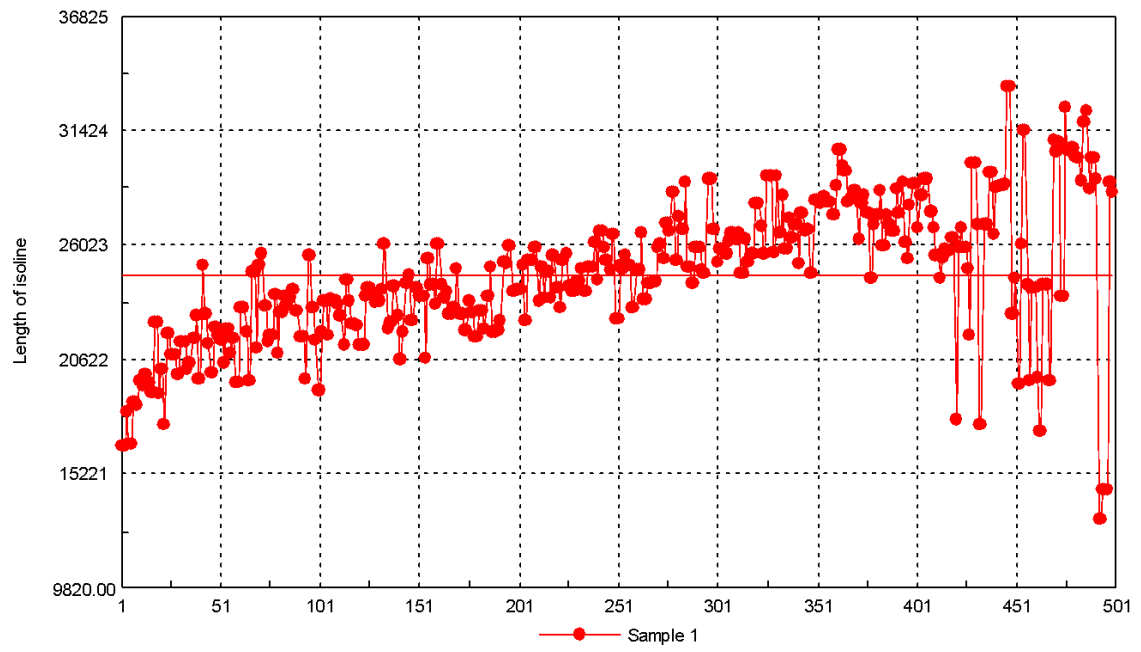
Length of isoline

Samples of GDV parameters:









The tables of data statistics

	Area	Average intensity	Number of fragments	Form coefficient	Entropy by isoline
Count	500	500	500	500	500
Sum	2.08e+007	4.976e+004	6.54e+004	2.283e+004	1017
Min	2.256e+004	96.3	82	27.91	1.443
Max	5.911e+004	107.5	211	67.85	2.193
Mean	4.161e+004	99.51	130.8	45.65	2.034
RMS	7772	1.58	26.06	7.952	0.1193
Median	4.204e+004	99.37	129	43.73	2.06
25 percentile	3.702e+004	98.37	110	40.42	2.011
75 percentile	4.839e+004	100.5	150	49.74	2.104
Skewness	-0.2754	0.9476	0.3821	0.6605	-2.419
Excess	-0.6941	3.052	-0.5443	0.03278	7.413
Confidence interval	681.4	0.1385	2.285	0.6972	0.01046
Entropy	2.112	1.71	2.04	1.977	1.531
Fractality	1.484	1.959	1.842	1.688	1.903
Fractality RMS	0.1914	0.1119	0.1028	0.1204	0.05756
	Spatial fractality	Fractality RMS error	Mean radius of isoline	Normalized RMS of isoline radius	Length of isoline
Count	500	500	500	500	500
Sum	956	58.55	4.348e+004	359.2	1.228e+007
Min	1.709	0.05671	35.01	0.4357	1.298e+004
Max	1.95	0.2143	108	1.575	3.344e+004
Mean	1.912	0.1171	86.96	0.7183	2.456e+004

RMS	0.03192	0.02314	11.16	0.1666	3309
Median	1.922	0.1145	89.26	0.6788	2.466e+004
25 percentile	1.9	0.1021	83.38	0.6259	2.268e+004
75 percentile	1.932	0.1293	94.24	0.7431	2.664e+004
Skewness	-2.699	0.7321	-1.981	2.468	-0.2976
Excess	11.25	1.521	5.484	7.899	0.4939
Confidence interval	0.002799	0.002029	0.9782	0.01461	290.1
Entropy	1.35	1.769	1.612	1.48	1.874
Fractality	1.822	1.954	1.919	1.809	1.776
Fractality RMS	0.07217	0.04929	0.05311	0.07904	0.1319
	Length of isoline	Fractality RMS error	Mean radius of isoline	Normalized RMS of isoline radius	Length of isoline
Count	500	500	500	500	500
Sum	1.228e+007	58.55	4.348e+004	359.2	1.228e+007
Min	1.298e+004	0.05671	35.01	0.4357	1.298e+004
Max	3.344e+004	0.2143	108	1.575	3.344e+004
Mean	2.456e+004	0.1171	86.96	0.7183	2.456e+004
RMS	3309	0.02314	11.16	0.1666	3309
Median	2.466e+004	0.1145	89.26	0.6788	2.466e+004
25 percentile	2.268e+004	0.1021	83.38	0.6259	2.268e+004
75 percentile	2.664e+004	0.1293	94.24	0.7431	2.664e+004
Skewness	-0.2976	0.7321	-1.981	2.468	-0.2976
Excess	0.4939	1.521	5.484	7.899	0.4939

Confidence interval	290.1	0.002029	0.9782	0.01461	290.1
Entropy	1.874	1.769	1.612	1.48	1.874
Fractality	1.776	1.954	1.919	1.809	1.776
Fractality RMS	0.1319	0.04929	0.05311	0.07904	0.1319

ANEXO B - PARÂMETROS DO IMAGEJ UTILIZADOS NAS MEDIÇÕES DOS CROMATOGRAMAS

Área Área de seleção em pixels quadrados ou em unidades quadradas calibradas (por exemplo, mm², μ m², etc.) se ANALISAR > DEFINIR ESCALA... ↓ foi usado para calibrar espacialmente a imagem.

Valor de cinza modal **Valor de cinza de** ocorrência mais frequente na seleção. Corresponde ao pico mais alto do histograma.

Nível de cinza mínimo e máximo Valores de cinza mínimo e máximo dentro da seleção.

Centroid O ponto central da seleção. Esta é a média das coordenadas xey de todos os pixels na imagem ou seleção. Usa os cabeçalhos **X** e **Y**.

Centro de massa Esta é a média ponderada de brilho das coordenadas xey de todos os pixels na imagem ou seleção. Usa os títulos **XM** e **YM**. Essas coordenadas são os momentos espaciais de primeira ordem.

Perímetro O comprimento do limite externo da seleção. Usa o título **Perim.**. Com IJ 1.44f e posterior, o perímetro de uma seleção composta é calculado decompondo-o em seleções individuais. Observe que o perímetro composto e a soma dos perímetros individuais podem ser diferentes devido ao uso de métodos de cálculo diferentes.

Retângulo delimitador O menor retângulo que envolve a seleção. Usa os títulos **BX**, **BY**, **Width** e **Height**, onde **BX** e **BY** são as coordenadas do canto superior esquerdo do retângulo.

Diâmetro de Feret A distância mais longa entre dois pontos quaisquer ao longo do limite de seleção, também conhecido como calibre máximo. Usa o título **Feret**. O ângulo (0--180 graus) do diâmetro do Feret é exibido como **FeretAngle**, bem como o diâmetro mínimo do calibre (**MinFeret**). As coordenadas iniciais do diâmetro de Feret (**FeretX** e **FeretY**) também são exibidas.

Densidade integrada A soma dos valores dos pixels na imagem ou seleção. Isso é equivalente ao produto da **área** e do valor **médio de cinza**. Com IJ 1.44c e posterior, a **densidade integrada** bruta (soma dos valores de pixel) é exibida sob o título **RawIntDen** quando a **densidade integrada** está habilitada.

Mediana O valor mediano dos pixels na imagem ou seleção.

Curtose O momento de quarta ordem sobre a média. Usa o título **Kurt**

REFERENCIAS

RASBAND, Wayne S. *et al.* ImageJ. 1997.

ANEXO C – VALORES DAS OBTIDOS NAS COMPARAÇÕES POR MÉTODO DE PAR, PARA AMOSTRAS DE RESPIRAÇÃO

Tabelas complementares as disponibilizadas no Capítulo 3

Tabela 9 - Medidas de respiração, comparadas por método pairwise. Lages, SC, 2020.

Tratamentos		Diferença média (I-J)								
		09/04/2020	10/04/2020	11/04/2020	12/04/2020	13/04/2020	14/04/2020	15/04/2020	16/04/2020	17/04/2020
Água	Álcool etílico 30%	-23,819*	1,562*	1,569*	-3,081*	-1,122*	-4,482*	1,046	0,346	-0,036
	<i>Calcareia c.</i> 30CH	-33,871*	0,828	0,887*	-3,087*	-1,574*	-4,605*	,849	-1,134	-1,829*
	<i>Silicea t.</i> 30CH	-38,670*	0,623	0,974*	-1,031	-,147	-1,347	1,176	-,459	-1,576*
Álcool etílico 30%	Água	23,819*	-1,562*	-1,569*	3,081*	1,122*	4,482*	-1,046	-,346	,036
	<i>Calcareia c.</i> 30CH	-10,052*	-0,735	-0,682	-0,006	-,452	-,124	-,197	-1,481	-1,794*
	<i>Silicea t.</i> 30CH	-14,852*	-0,940	-0,594	2,049*	,976*	3,134*	,130	-,805	-1,540*
Calcareia c. 30CH	Água	33,871*	-0,828	-0,887*	3,087*	1,574*	4,605*	-,849	1,134	1,829*
	Álcool etílico 30%	10,052*	0,735	0,682	0,006	,452	,124	,197	1,481	1,794*
	<i>Silicea t.</i> 30CH	-4,800*	-0,205	0,088	2,056*	1,427*	3,258*	,327	,676	0,254
Silicea t. 30CH	Água	38,670*	-0,623	-0,974*	1,031	,147	1,347	-1,176	,459	1,576*
	Álcool etílico 30%	14,852*	0,940	0,594	-2,049*	-,976*	-3,134*	-,130	,805	1,540*
	<i>Calcareia c.</i> 30CH	4,800*	0,205	-0,088	-2,056*	-1,427*	-3,258*	-,327	-,676	-,254

*A diferença média é significativa no nível 0,05. Ajustamento para diversas comparações: Bonferroni.

Tabela 10 - Medidas de respiração, comparadas por método pairwise. Lages, SC, 2020

		Diferença média (I-J)								
Tratamentos		28/04/2020	29/04/2020	30/04/2020	01/05/2020	02/05/2020	03/05/2020	04/05/2020	05/05/2020	06/05/2020
Água destilada	Álcool etílico 30%	-31,610*	-1,058*	0,679	-2,784*	0,422	-1,276*	-0,153	-0,067	-2,073
	<i>Calcareo c.</i> 30CH	-42,543*	-1,954*	0,076	-1,190*	-2,503*	-1,593*	-0,384	-0,198	-2,955*
	<i>Silicea t.</i> 30CH	-40,812*	-3,241*	0,546	-,516	1,335*	-0,286	-1,507*	-0,523	-4,470*
Álcool etílico 30%	Água destilada	31,610*	1,058*	-0,679	2,784*	-0,422	1,276*	0,153	0,067	2,073
	<i>Calcareo c.</i> 30CH	-10,933*	-,896*	-0,603	1,594*	-2,925*	-0,317	-0,231	-0,130	-,882
	<i>Silicea t.</i> 30CH	-9,201*	-2,183*	-0,133	2,268*	0,912	0,990*	-1,353*	-0,456	-2,397*
<i>Calcareo c.</i> 30CH	Água destilada	42,543*	1,954*	-0,076	1,190*	2,503*	1,593*	0,384	0,198	2,955*
	Álcool etílico 30%	10,933*	0,896*	0,603	-1,594*	2,925*	0,317	0,231	0,130	,882
	<i>Silicea t.</i> 30CH	1,731	-1,286*	0,470	0,674	3,837*	1,307*	-1,123*	-0,326	-1,515
<i>Silicea t.</i> 30CH	Água destilada	40,812*	3,241*	-0,546	0,516	-1,335*	0,286	1,507*	0,523	4,470*
	Álcool etílico 30%	9,201*	2,183*	0,133	-2,268*	-,912	-0,990*	1,353*	0,456	2,397*
	<i>Calcareo c.</i> 30CH	-1,731	1,286*	-0,470	-0,674	-3,837*	-1,307*	1,123*	0,326	1,515

*A diferença média é significativa no nível 0,05. Ajustamento para diversas comparações: Bonferroni.

Tabela 11 - Medidas de respiração, comparadas por método pairwise. Lages, SC, 2020

Tratamentos		Diferença média (I-J)								
		16/05/2020	17/05/2020	18/05/2020	19/05/2020	20/05/2020	21/05/2020	22/05/2020	23/05/2020	24/05/2020
Água destilada	Álcool etílico 30%	-24,776*	0,102	1,550*	-,775	-,396	-2,234	-1,626	-,101	-,812
	Calcarea c. 30CH	-34,976*	-0,899*	0,291	-,888	-,291	-3,710*	-2,290*	,177	-,039
	Silicea t. 30CH	-36,028*	-1,364*	0,618	-,016	-,085	-1,877	-,558	-1,332*	-1,076
Álcool etílico 30%	Água destilada	24,776*	-,102	-1,550*	,775	,396	2,234	1,626	,101	,812
	Calcarea c. 30CH	-10,201*	-1,001*	-1,259*	-,112	,105	-1,476	-,664	,279	,774
	Silicea t. 30CH	-11,253*	-1,466*	-,932*	,760	,311	,358	1,068	-1,231*	-,264
Calcarea c. 30CH	Água destilada	34,976*	,899*	-0,291	,888	,291	3,710*	2,290*	-,177	,039
	Álcool etílico 30%	10,201*	1,001*	1,259*	,112	-,105	1,476	,664	-,279	-,774
	Silicea t. 30CH	-1,052	-,465	0,327	,872	,205	1,833	1,732	-1,510*	-1,037
Silicea t. 30CH	Água destilada	36,028*	1,364*	-0,618	,016	,085	1,877	,558	1,332*	1,076
	Álcool etílico 30%	11,253*	1,466*	0,932*	-,760	-,311	-,358	-1,068	1,231*	,264
	Calcarea c. 30CH	1,052	,465	-0,327	-0,872	-,205	-1,833	-1,732	1,510*	1,037

*A diferença média é significativa no nível 0,05. Ajustamento para diversas comparações: Bonferroni.

**ANEXO D - EXEMPLO DOS RELATÓRIOS CRIADOS DAS ANÁLISES DE FOLHAS
DE FEIJOEIRO COMUM**

**Detailed report of processing GDV images in the
GDV Scientific Laboratory program**

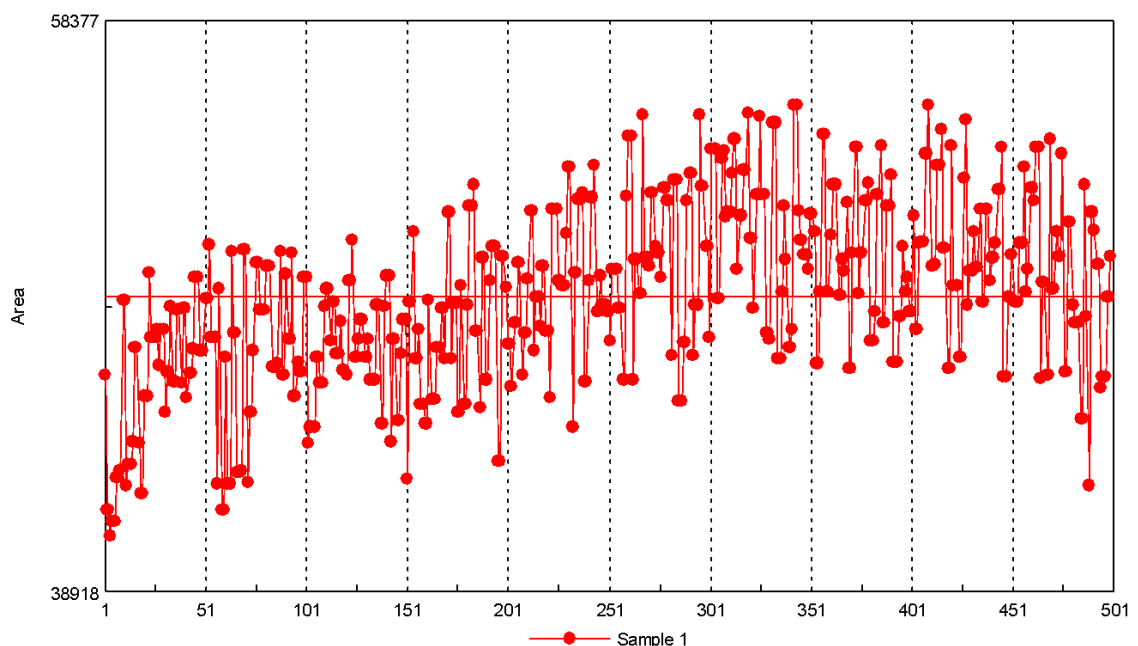
*The following GDV parameters of GDV images were calculated
during processing:*

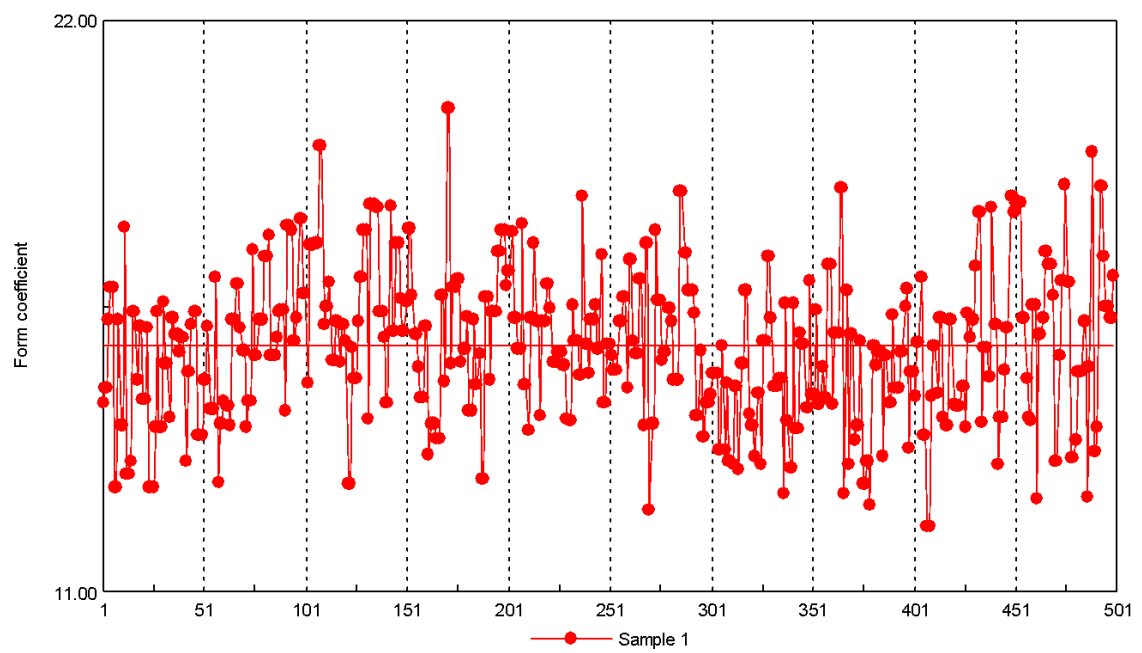
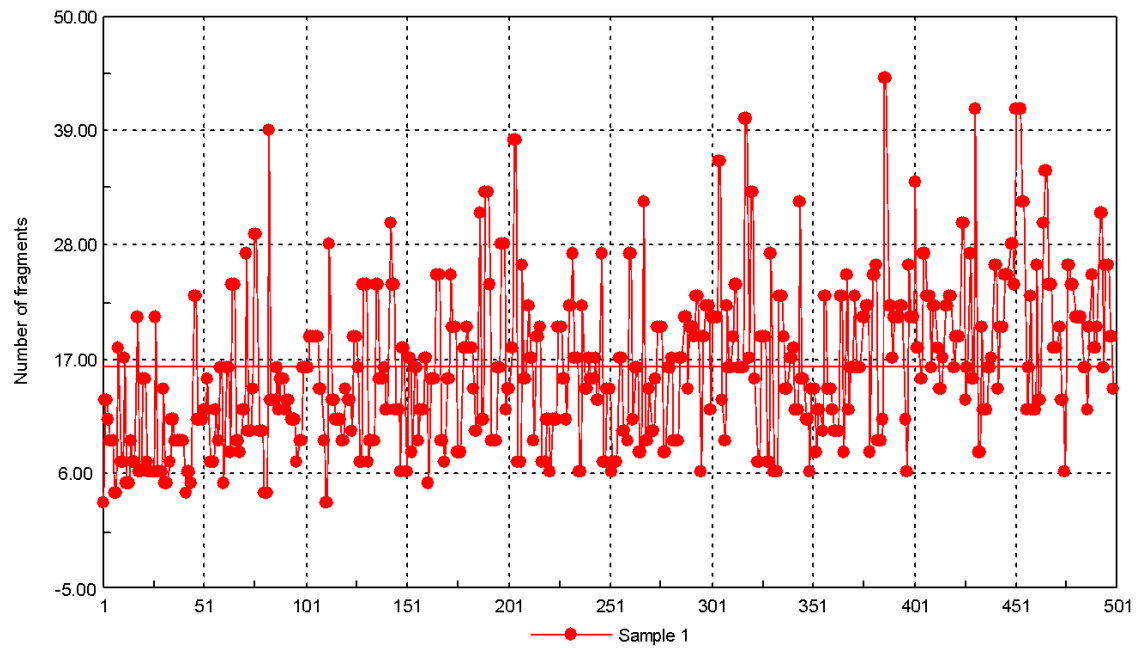
Area

Number of fragments

Form coefficient

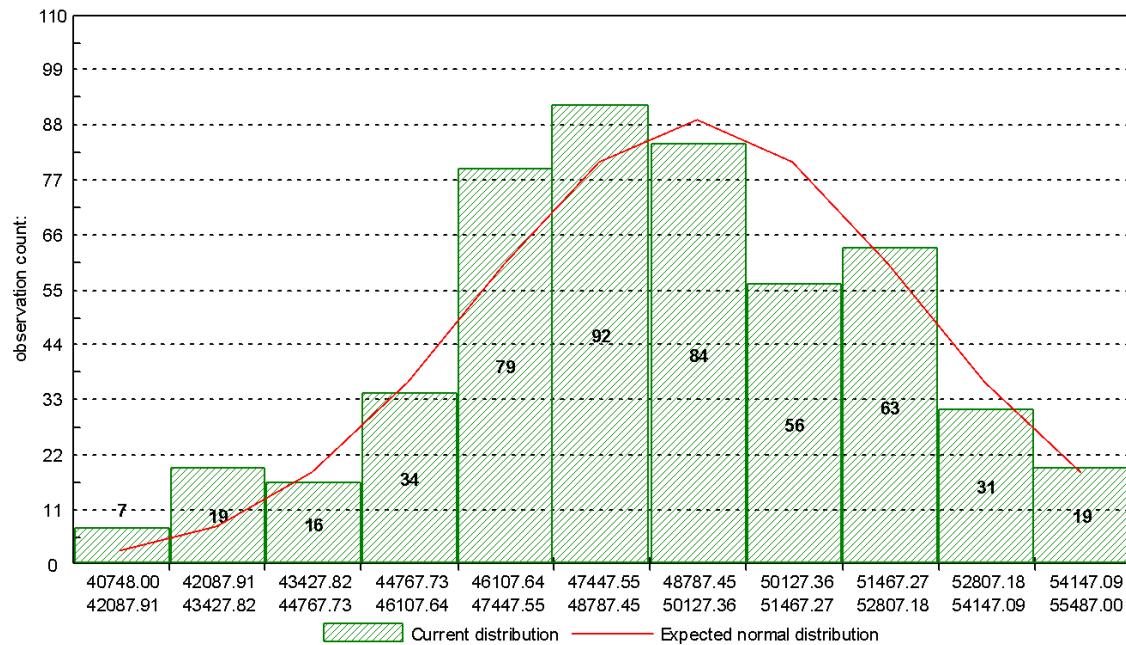
Samples of GDV parameters:





Distributions of GDV parameters:

Area

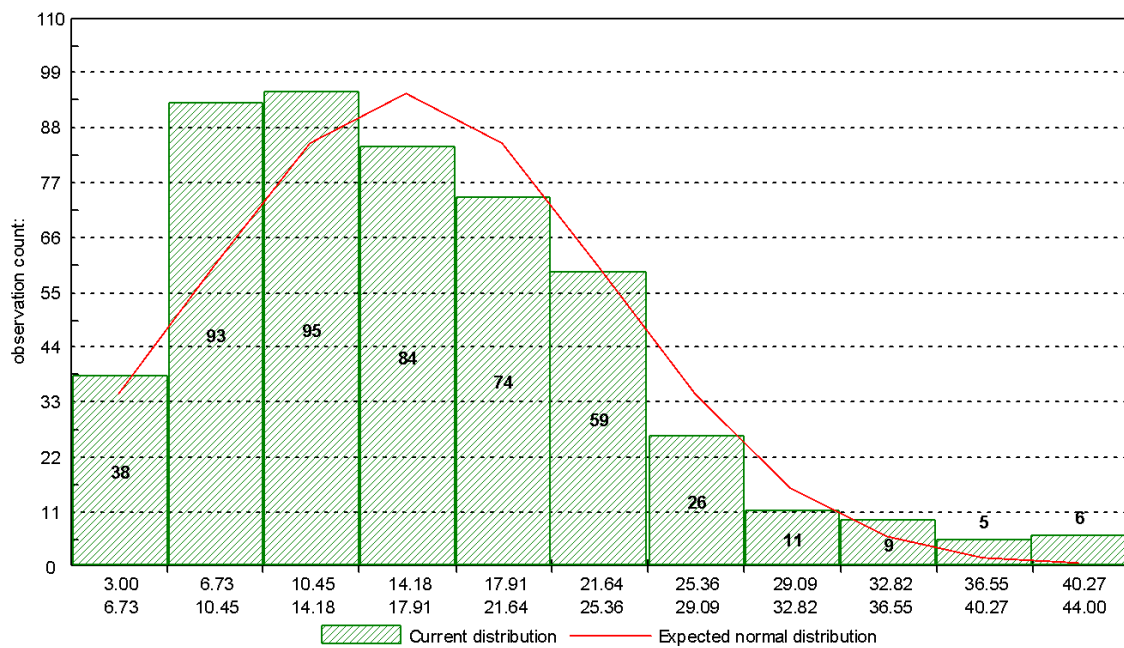


Skewness: -0.117181

Excess: -0.272182

Kolmogorov-Smirnov test: $d = 0.0490548$, $p = 0.180151$

Number of fragments

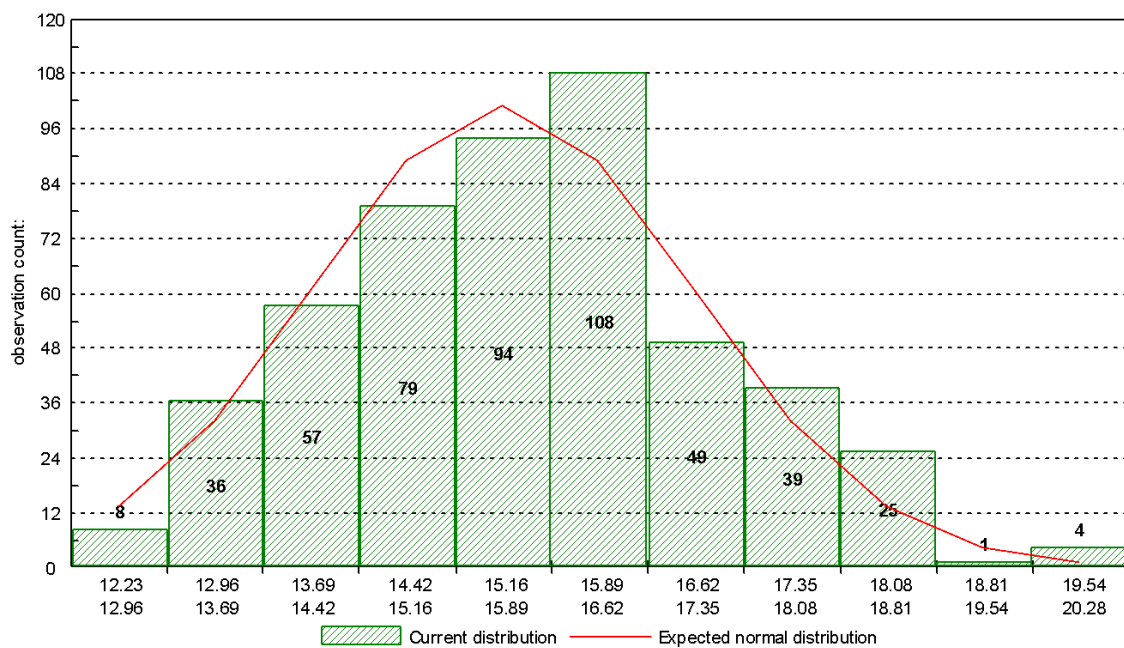


Skewness: 0.854481

Excess: 0.764444

Kolmogorov-Smirnov test: $d = 0.0653208$, $p = 0.0280529$

Form coefficient



Skewness: 0.215885

Excess: -0.0983781

Kolmogorov-Smirnov test: d = 0.0383198, p = 0.454962

The tables of data statistics

	Area	Number of fragments	Form coefficient
Count	500	500	500
Sum	2.446e+007	8124	7851
Min	4.075e+004	3	12.23
Max	5.549e+004	44	20.28
Mean	4.893e+004	16.25	15.7
RMS	3005	7.846	1.445
Median	4.887e+004	15	15.71
25 percentile	4.688e+004	10	14.63
75 percentile	5.083e+004	21	16.51
Skewness	-0.1172	0.8545	0.2159
Excess	-0.2722	0.7644	-0.09838
Confidence interval	263.4	0.6879	0.1267
Entropy	2.102	1.995	1.983
Fractality	1.891	1.959	1.958
Fractality RMS	0.0842	0.04942	0.04198

The following GDV parameters of GDV images were calculated during processing:

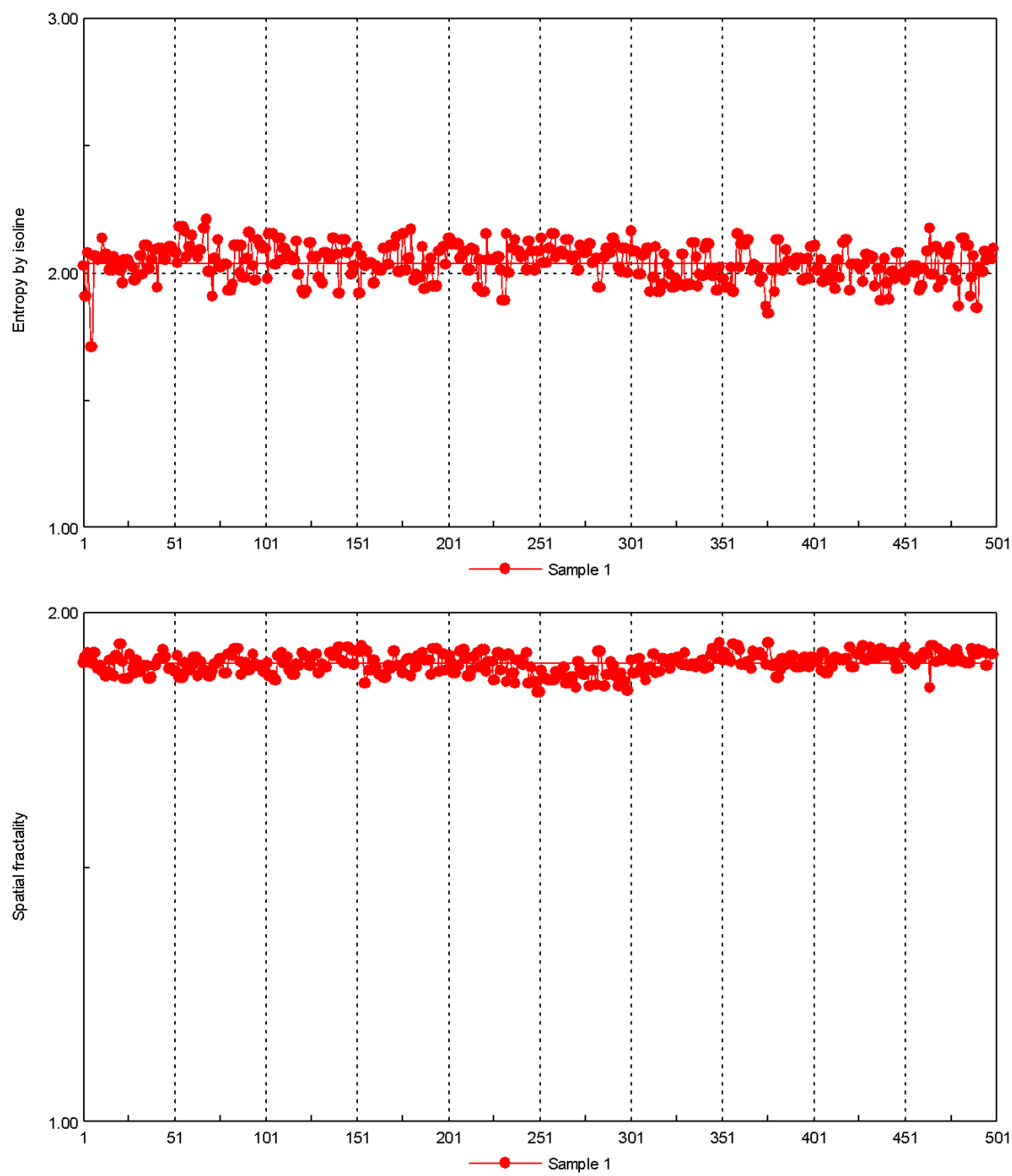
Entropy by isoline

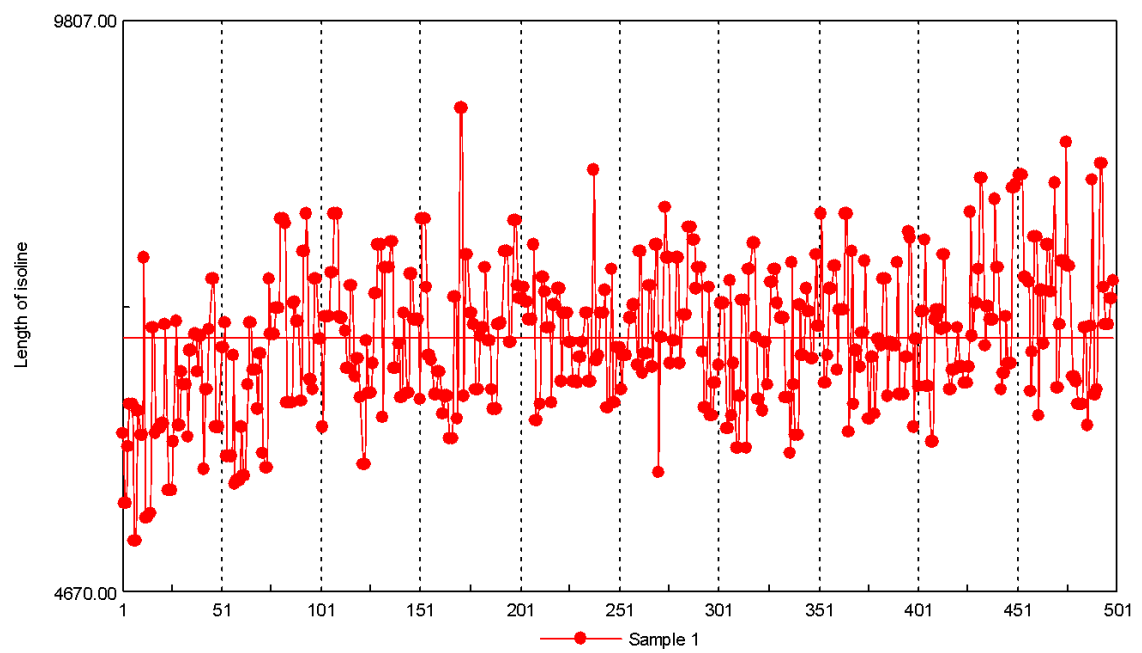
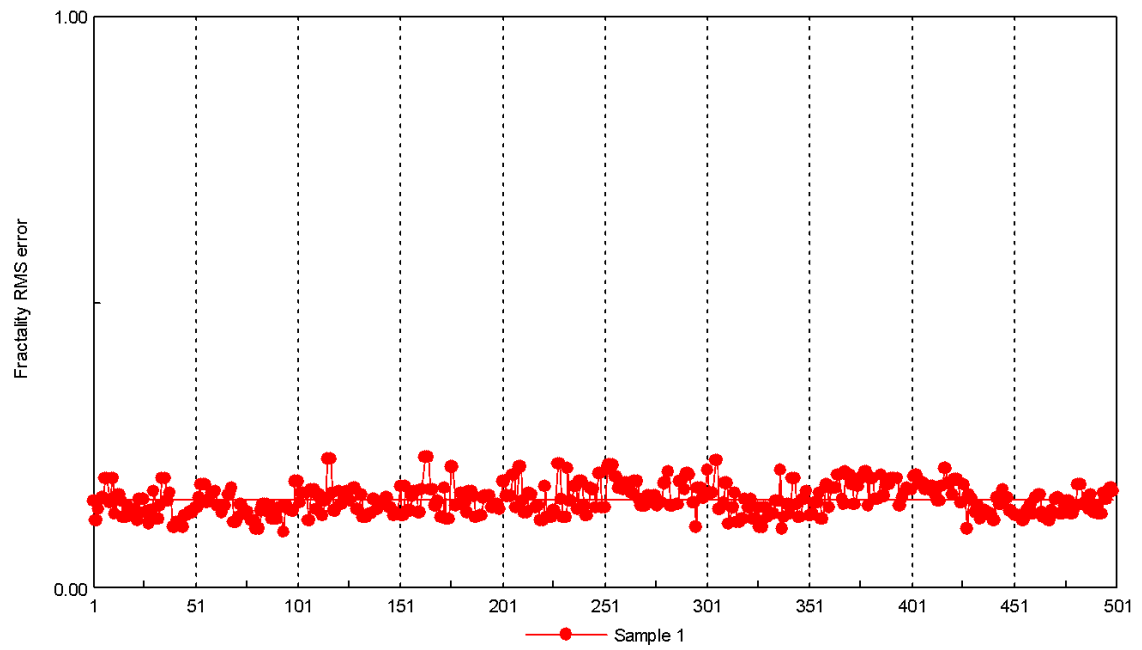
Spatial fractality

Fractality RMS error

Length of isoline

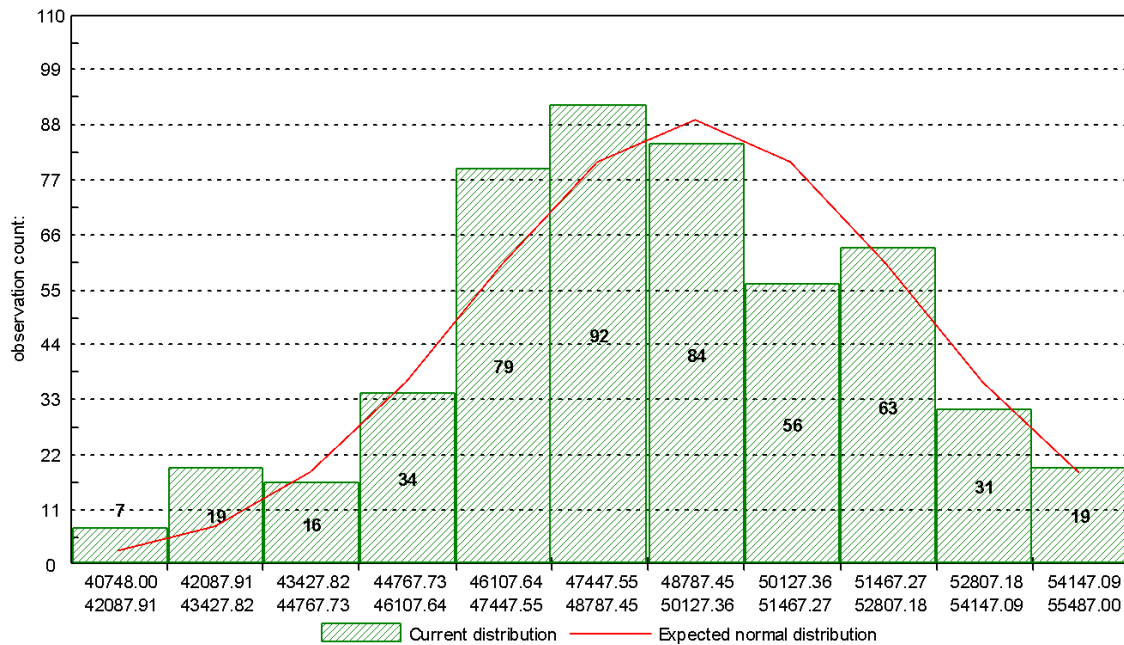
Samples of GDV parameters:





Distributions of GDV parameters:

Entropy by isoline

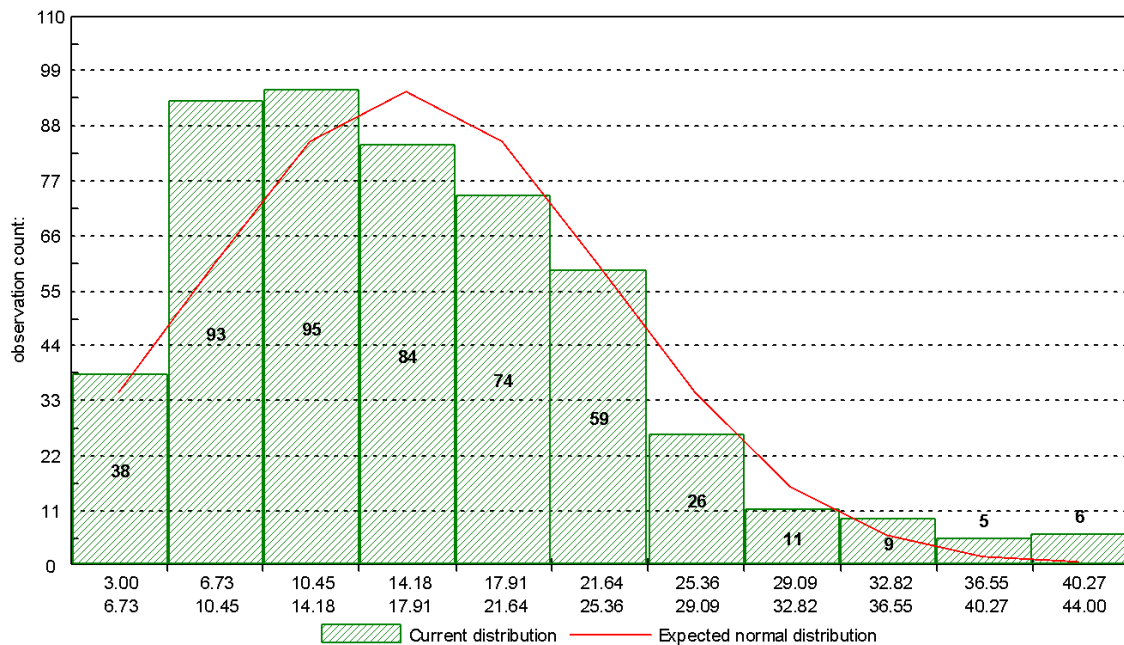


Skewness: -0.117181

Excess: -0.272182

Kolmogorov-Smirnov test: $d = 0.0490548$, $p = 0.180151$

Spatial fractality

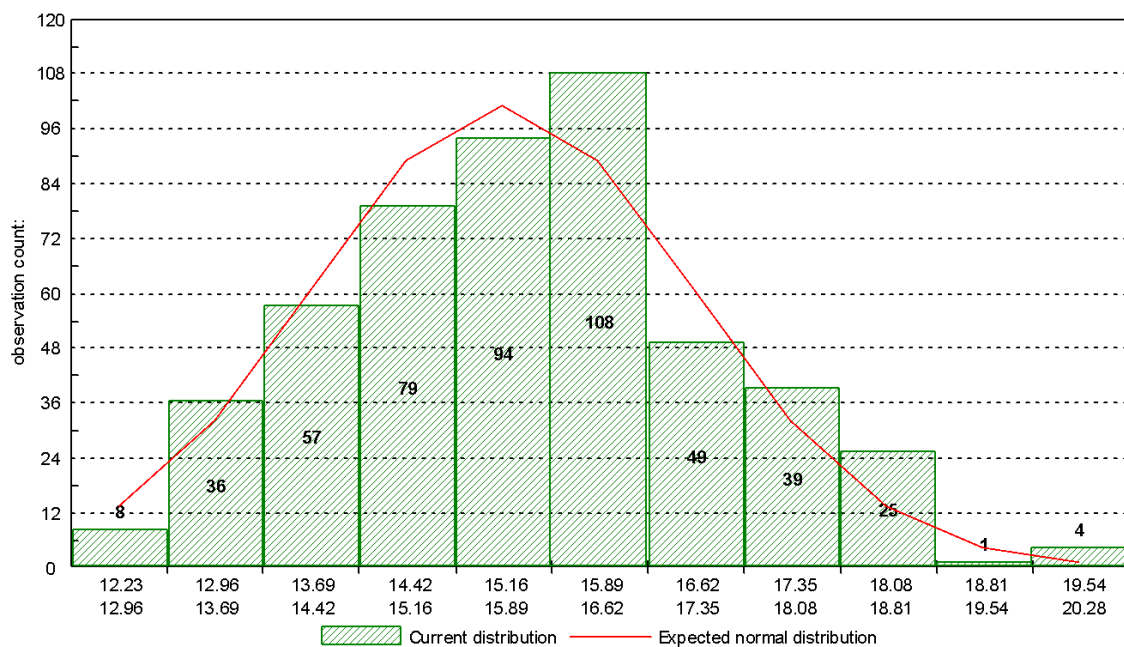


Skewness: 0.854481

Excess: 0.764444

Kolmogorov-Smirnov test: $d = 0.0653208$, $p = 0.0280529$

Fractality RMS error

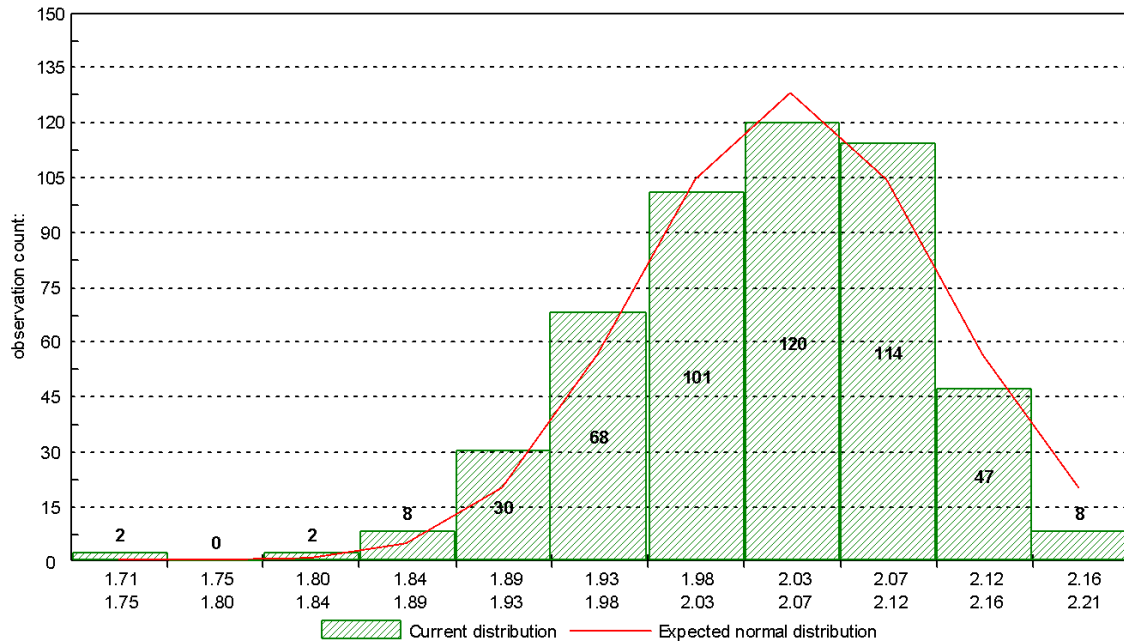


Skewness: 0.215885

Excess: -0.0983781

Kolmogorov-Smirnov test: $d = 0.0383198$, $p = 0.454962$

Length of isoline



Skewness: -0.603968

Excess: 1.04229

Kolmogorov-Smirnov test: d = 0.0240587, p = 0.934383

The tables of data statistics

	Entropy isoline	by Spatial fractality	Fractality RMS error	Length of isoline
Count	500	500	500	500
Sum	1017	949	75.79	3.473e+006
Min	1.706	1.841	0.09484	5121
Max	2.208	1.94	0.2254	9012
Mean	2.034	1.898	0.1516	6946
RMS	0.07099	0.01956	0.02678	650.4
Median	2.044	1.9	0.1479	6935
25 percentile	1.99	1.884	0.13	6478
75 percentile	2.088	1.913	0.1699	7385

Skewness	-0.604	-0.3575	0.4835	0.1061
Excess	1.042	-0.3315	-0.3176	0.08798
Confidence interval	0.006224	0.001715	0.002348	57.03
Entropy	1.728	2.072	2.092	1.925
Fractality	1.976	1.933	1.956	1.973
Fractality RMS	0.04575	0.06462	0.05704	0.03955

ANEXO E – DADOS PRELIMINARES DE ENTROPIA APROXIMADA E ENTROPIA DA AMOSTRA

O objetivo da entropia aproximada (ApEn) e da entropia da amostra (SampEn) é estimar a aleatoriedade de uma série de dados sem qualquer conhecimento prévio sobre a fonte geradora do conjunto de dados (DELGADO-BONAL & MARSHAK, 2019). A Entropia Aproximada foi derivada da entropia de Kolmogorov-Sinai (K-S) que permite estimar a taxa de geração de informação de um sistema. A entropia K-S, foi modificada por diversos autores, até que Pincus (1991) fez adaptações para análise das propriedades de sinais com pequeno número de amostras, fornecendo informação sobre o nível de complexidade dos mesmos (BURIOKA *et al.*, 2005). A Entropia Aproximada pertence a um grupo de metodologias estatísticas que permite investigar o nível de regularidade de um sinal (PINCUS & KEEFE, 1992; PINCUS & GOLDBERG, 1994).

Na prática, o viés da ApEn tem duas implicações importantes. A primeira é que, conforme mencionado anteriormente, a consistência relativa não é garantida, e dependendo do valor de r os resultados podem ser diferentes. A segunda é que o valor de ApEn depende do comprimento da série de dados. Para evitar esses dois problemas, Richman e Moorman (2000) definiram o SampEn, uma estatística que não possui autocontagem. SampEn (m , r , N) é o valor negativo do logaritmo da probabilidade condicional de que duas sequências semelhantes de m pontos permaneçam semelhantes no próximo ponto $m+1$, contando cada vetor sobre todos os outros vetores, exceto sobre si mesmo. Isso implica que SampEn mantém a consistência relativa e também é principalmente independente do comprimento da série.

Como estes dados deveriam ser analisados em conjunto, esses foram colocados como Anexo.

Metodologia

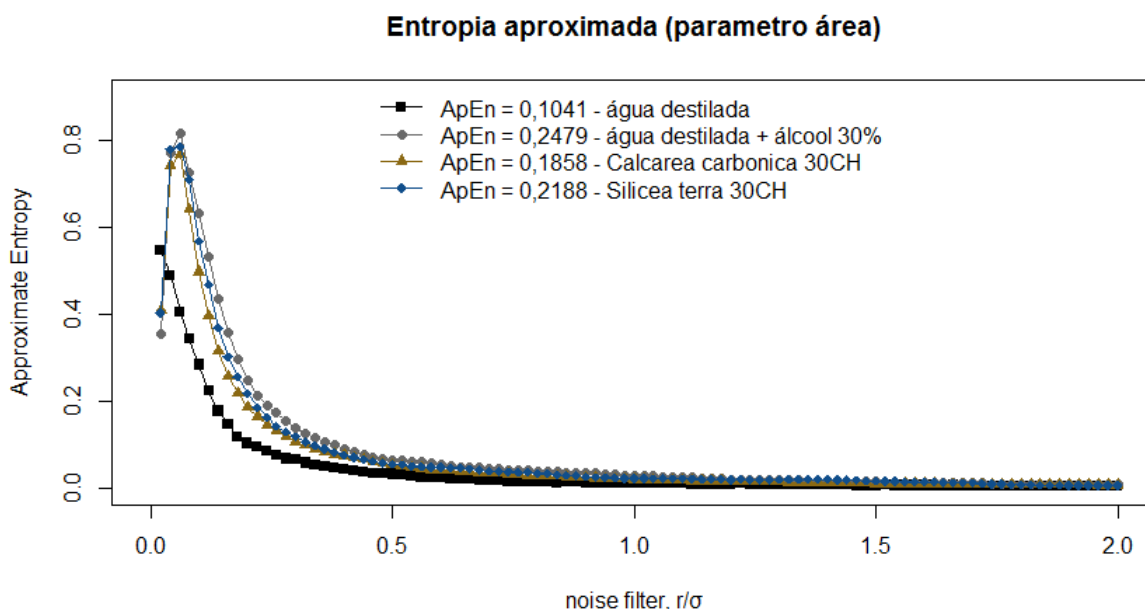
Os dados analisados foram obtidos das observações da área do GDV, já citados nos capítulos 2 e 5, foram usados os dados de área porque é um parâmetro

não processado, apenas mensurado. As análises foram feitas com auxílio do software R Core Team (2020), com o pacote PRACMA instalado.

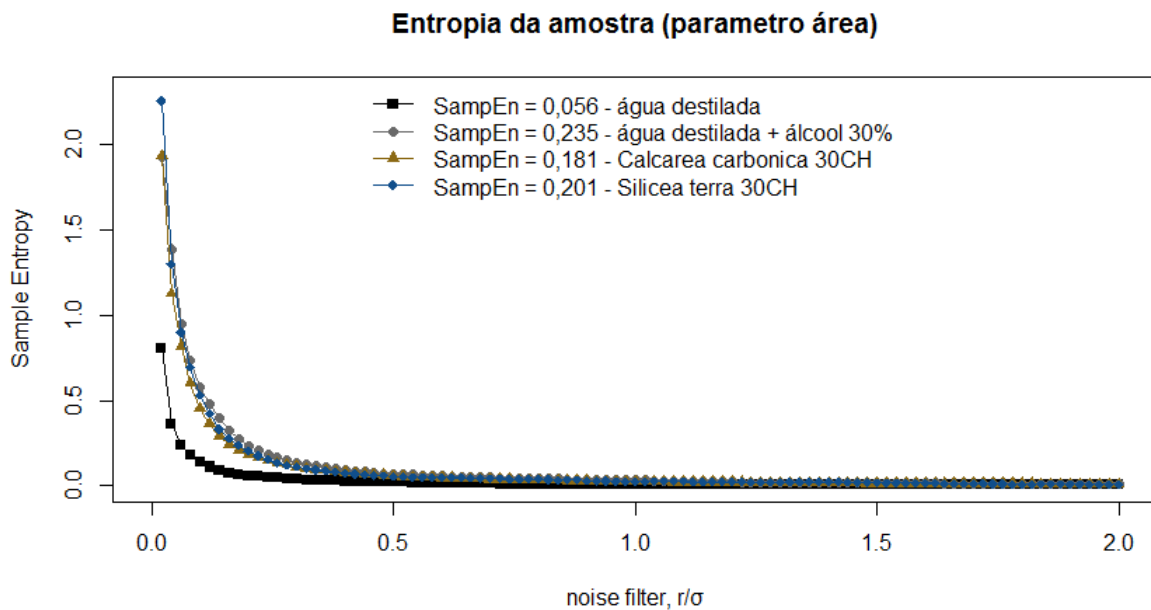
Resultados preliminares

A entropia aproximada das amostras das altas diluições submetidas ao GDV, mostrou que o comportamento que a área da água destilada exibiu, foi menor que os demais tratamentos, *Calcareo carbonica* 30CH e *Silicea terra* 30CH, obtiveram valores intermediários, enquanto que o tratamento composto por álcool etílico 30%, foi o que mais apresentou diferenças.

Para as comparações que não dependem do tamanho da amostra, o SampEn, os valores obtidos foram extremamente baixos, onde mesmo a água destilada que obteve o maior valor, SampEn = 0,235, não pode ser considerado alto, pois a grosso modo, valores próximos a zero, mostram séries com pouco grau de aleatoriedade. Esse tipo de observação nos remete a ideia de normalidade, em termos estatísticos, não é uma medida totalmente adequada ao GDV, e assim como muitos fenômenos físicos e biológicos, carecem de metodologias adequadas às condições que apresentam.



Elaborado pelo autor (2021).



Elaborado pelo autor (2021).

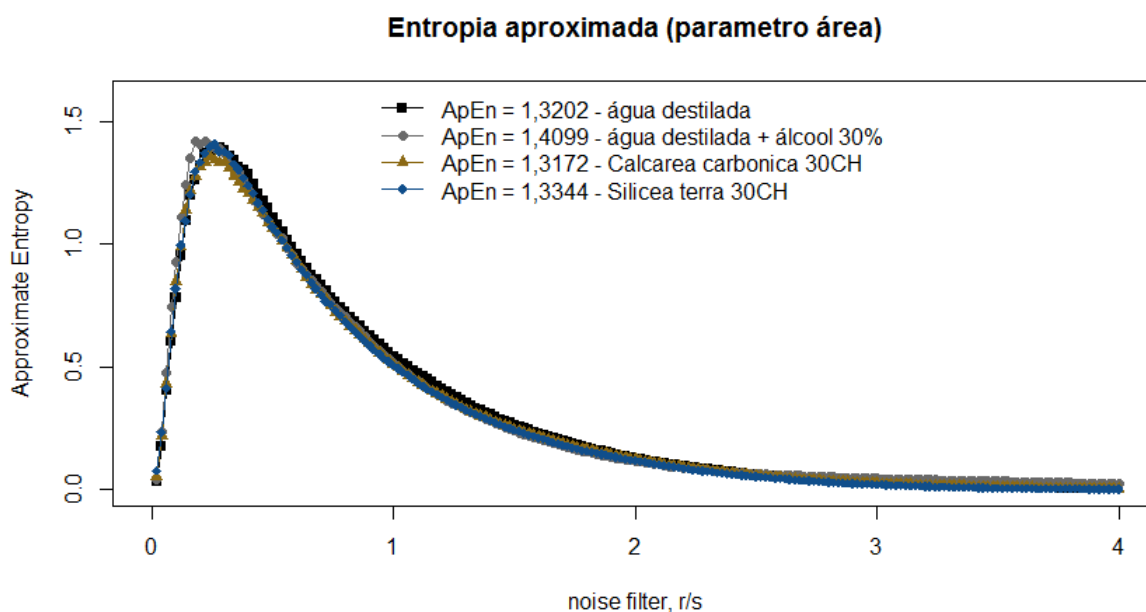
Valores obtidos para medições da área do GDV das folhas

Os valores obtidos da Entropia aproximada para folhas demonstram que água destilada apresentou os maiores valores, $ApEn = 1,4099$, isso significa que houve maior aleatoriedade nos dados da série temporal, o menor valor de $ApEn$ foi obtido na avaliação da série de dados da *Calcareo carbonica* 30CH.

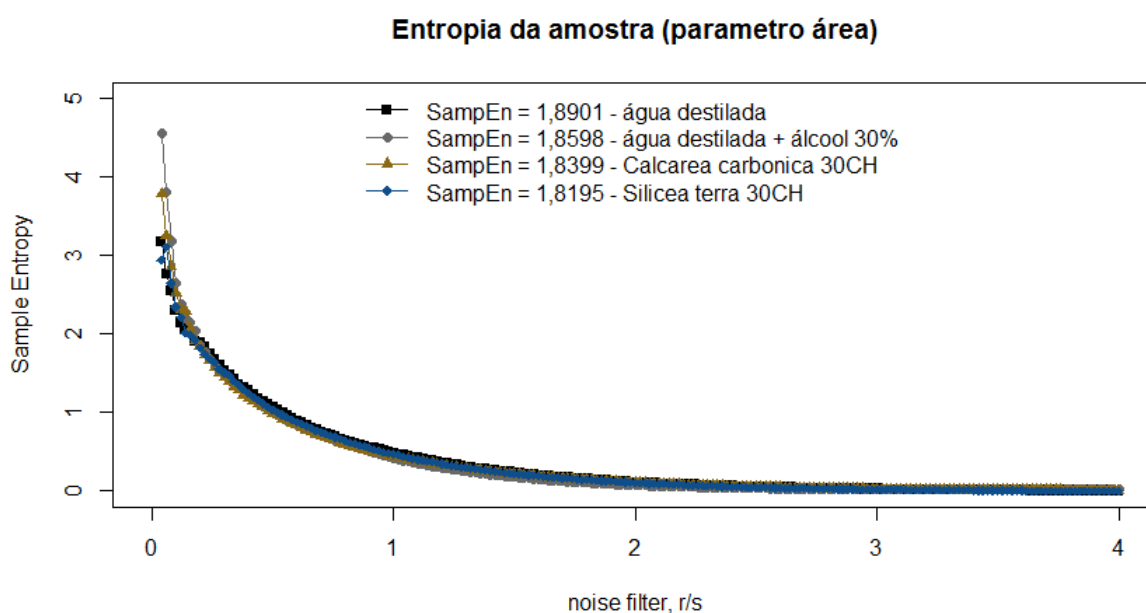
Para os valores de entropia da amostra, que independe do N amostral, *Silicea terra* 30CH obteve menor valor com $SampEn = 1,8195$, desta vez o maior valor de entropia ficou com o tratamento com água destilada.

Nos dois casos, as altas diluições apresentaram maior regularidade, ou seja, comparados pelo N amostral, $ApEn$, e por uma estimativa que não leva em consideração o número de amostras, o $SampEn$.

Ressalta-se que esse tipo de avaliação, comum em séries temporais não lineares, pode contribuir para dar mais clareza a dados obtidos pelo GDV, que por sua natureza elétrica, produzem sinais ruidosos que por vezes passam a impressão de serem aleatórios.



Elaborado pelo autor (2021).



Elaborado pelo autor (2021).

Conclusões preliminares

O GDV produz séries temporais não lineares, o estudo da entropia da amostra e da entropia aproximada, pode caracterizar diferentes matérias. Pela natureza elétrica, a interação entre o sinal gerado e a amostra produzira padrões únicos, que

tratados de forma adequada podem contribuir com a interpretação dos dados obtidos das imagens de GDV.

REFERÊNCIAS

BURIOKA, N., MIYATA, M., CORNÉLISSEN, G., HALBERG, F., TAKESHIMA, T., KAPLAN, D. T., ... & SHIMIZU, E. Approximate entropy in the electroencephalogram during wake and sleep. **Clinical EEG and neuroscience**, v. 36, n. 1, p. 21-24, 2005.

DELGADO-BONAL, A., MARSHAK, A. Approximate entropy and sample entropy: A comprehensive tutorial. **Entropy**, v. 21, n. 6, p. 541, 2019.

PINCUS, S. M. Approximate entropy as a measure of system complexity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 88, n. 6, p. 2297-2301, 1991.

PINCUS, S. M., KEEFE, D. L. Quantification of hormone pulsatility via an approximate entropy algorithm. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 262, n. 5, p. E741-E754, 1992.

PINCUS, S. M., GOLDBERGER, A. Physiological time-series analysis: what does regularity quantify?. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 266, n. 4, p. H1643-H1656, 1994.

RICHMAN, J. S., MOORMAN, J. R. Physiological time-series analysis using approximate entropy and sample entropy. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, 2000.

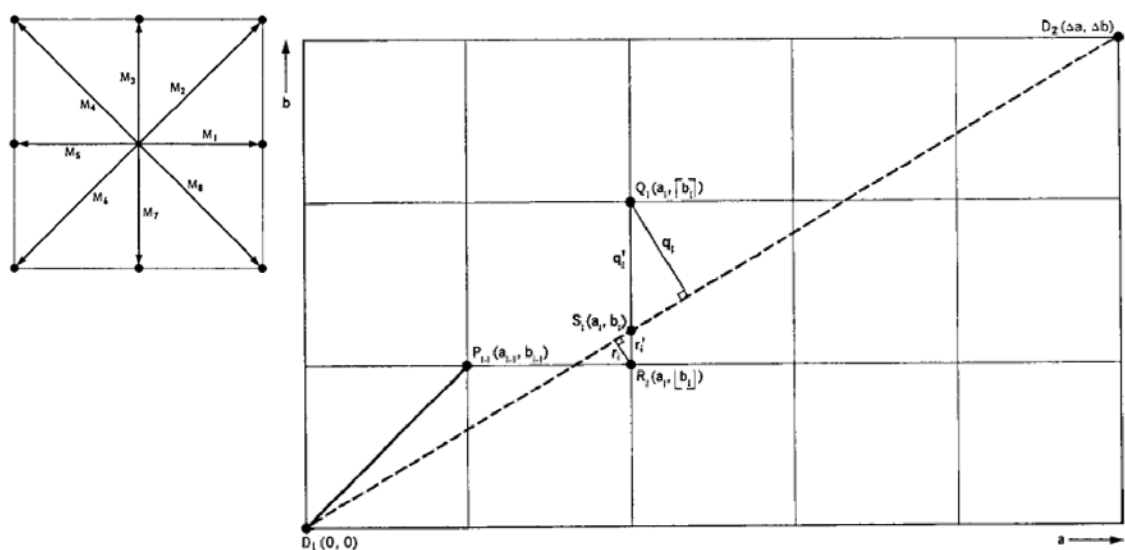
ANEXO F – ISOLINHAS E ALGORITMOS USADOS

A descrição matemática das imagens de descarga de gás de gotas de soluções inorgânicas é menos complicada em comparação com objetos biológicos, uma vez que podemos assumir que a queda rotacional é simétrica. Portanto, todos os desvios da rotação simetria observada na imagem de descarga de gás são devidas a processos aleatórios de descarga de gás em si. Isso permite um para diminuir radicalmente o número de parâmetros numéricos suficiente para caracterização da imagem.

Para processar a imagem numericamente, primeiro encontramos a posição de seu centroide (com a luminosidade desempenhando o papel de densidade da imagem). Em seguida, construímos curvas de luminosidade constante (isolinhas), que são curvas fechadas em torno do centroide. Em princípio, é suficiente nos restringirmos a qualquer uma das isolinhas para extrair informações matemáticas relevantes. No entanto, para obter a melhor combinação de estabilidade e sensibilidade dos parâmetros, é conveniente para tirar a isolinha correspondente à média luminosidade da imagem.

O software Scientific laboratory®, utiliza o centro de massa e posteriormente o algoritmo desenvolvido por Bresenham (1965) para obter as isolinhas (Figura a).

Figura a - Captação das imagens pelo software.



À esquerda, como os raios são dispersos a partir do centro de massa, à direita a seleção do pixel em ângulo, metodologia criada por Bresenham (1965).

Esta curva pode ser descrita numericamente como um conjunto de números f_n , onde $n=1, \dots, N$ é um “ângulo discreto” (as imagens tem resolução suficiente para dividir todo o ângulo 2π em 1028 peças, ou seja, tomamos $N=1028$). Número f_n medidas (em pixels) a distância do centroide à isolinha.

Adaptado de:

BRESENHAM, J.E. Algorithm for Computer Control of a Digital Plotter, **IBM Systems Journal**, Vol. 4, No.1, pp. 25–30. January. 1965.

KOROTKOV, K.G. KOROTKIN, D.A. Concentration Dependence of Gas Discharge Around Drops of Inorganic Electrolytes. **Journal of Applied Physics**. St Petersburg, v. 9, p. 4732-4726, 2001.

ANEXO G – ESPECIFICAÇÕES GDV USADO NOS EXPERIMENTOS

KELSY system consists of the following mainframes:

The high-voltage television scanner. It transforms a Kirlian picture to analogue television signal.

Specifications:

Diagonal of picture, mm 100

Resolution, TVL 400

Maximum impulse voltage, kV 25

Regulation range of power of voltage impulses, % 10 - 100

Maximum impulses frequency, Hz 1000

Digitizer transforms an analogue television signal to a digital code. For standard PC integration it is possible to use a device with the following ports and buses:

USB (maximum frequency is 5 frames per second);

LPT (maximum frequency is 5 frames per second);

ISA; PCI and other internal buses of a computer (maximum frequency is up to 50 frames per second);

CD with software allows handling and systematizing captured Kirlian images.