

High dilution of *Belladonna* affect the mycelial growth of *Corynespora cassicola* *in vitro*

Romulo Vinícios Fagan, Bruno Reis, Kátia Regina Freitas Schawan-Estrada,
Carlos Moacir Bonato

State University of Maringá, Maringá, PR, Brazil

ABSTRACT

Introduction: The target spot is a disease caused by fungus *Corynespora cassicola* (Berk. & Curt.) Wei. This disease has occurred in several states of Brazil. It is a late season disease and causes economic losses in various crops such as soybeans [1]. Currently there is no adequate treatment for the control of *C. cassicola* in organic cultivation of soybeans, since the application of fungicides for the control and management of diseases is not allowed by Brazilian legislation [2]. Thus, the purpose of this experiment was to test the effectiveness of high dilutions of *Belladonna* *in vitro* on mycelial growth of *Corynespora cassicola*.

Materials and Methods: The preliminary tests were conducted at the Laboratory of Plant Pathology, State University of Maringá (UEM). The fungal isolate of *C. cassicola* was obtained from Embrapa Soja. The fungus was peaked and grown on PDA (potato dextrose agar) maintained at 25°C ± 2 and 12h photoperiod. *Belladonna* dilutions (6, 12, 18, 24 and 30dH) were obtained according to the Brazilian Homeopathic Pharmacopoeia [3]. PDA culture medium plus *Belladonna* dilutions (6, 12, 24 and 30dH) beyond the control containing distilled water were placed in petri dishes after filtration through a Millipore membrane (pore diameter of 0.45µm). After medium solidification, a disc of mycelium (4 mm diameter) of *C. cassicola* was peaked towards the center of each plate and sealed with plastic wrap and then incubated at 25°C with 12h photoperiod. The mycelial growth was measured daily for 8 days. The control consisted of distilled water. The data were analyzed by ANOVA and means were compared by Scott-Knott test ($P \leq 0.05$).

Results and Discussion: All dilutions of *Belladonna* (6, 12, 24, 30dH) were effective ($p < 0.05$) in reducing the mycelial growth of *C. cassicola* compared to control (Figure 1). *Belladonna* 30dH was higher in all periods and the difference increased with time. Dilutions 6, 12 and 24dH showed intermediate values but always higher than the control (Figure 1).

It is known that the target spot cause pods rotting (seeds) and intense stems spots. When it causes root rot, the symptoms are characterized by yellow leaves and roots of dark-brown color. Thus, productivity is compromised by the lower pod filling and seed. The alternatives currently used are based on the use of fungicides, which increase the cost of production and affect the environment. Thus, the use of ultra-high diluted *Belladonna* for target spot control may be able to mitigate the damage of this fungus in soybean. Based on these results, we suggest that ultra-high dilutions of belladonna may be able to reduce production costs and at the same time benefit the environment through reduced environmental impact.

Conclusion: The results obtained so far are encouraging. *Belladonna* presents as great potential in controlling the fungal disease caused by *C. cassicola*, *in vitro*.

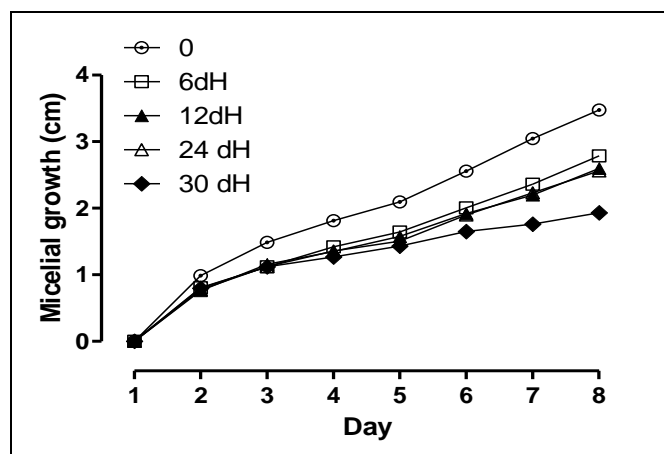


Figure 1 – Effect of different dilutions of Belladonna on mycelial growth in vitro of *Corynespora cassiicola* during eight days of treatment.

Keywords: homeopathy; *Corynespora cassiicola*; *Belladonna*; fungicide.

References

- [1] Phillips VD. Fungal Leaf Spots In: Colyer PD. *Soybean disease atlas*. 1989. 2° ed. Louisiana: Louisiana State University.
- [2] BRASIL. Instrução Normativa n° 64, de 18 de dezembro de 2008. Aprova o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal. *Diário Oficial da União* de 19 de dezembro de 2008. Seção 1. Pag 21. [Portuguese]
- [3] Brasil. Farmacopéia Homeopática Brasileira. 1997. 4° ed. São Paulo: Atheneu. [Portuguese]

Alta diluição da Belladonna afeta o crescimento micelial de *Corynespora cassiicola* in vitro

RESUMO

Introdução: A mancha-alvo é uma doença causada pelo fungo *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei. Esta doença tem ocorrido em vários estados do Brasil. É uma doença de final de ciclo e causa prejuízos econômicos em várias culturas inclusive na soja [1]. Atualmente não existe tratamento adequado para o controle de *C. cassiicola* em cultivo orgânico de soja, uma vez que a aplicação de fungicidas para o controle e manejo de doenças não é permitido pela legislação brasileira [2]. Assim, o objetivo deste experimento foi testar a eficácia de altas diluições de Belladonna *in vitro* sobre o crescimento micelial de *Corynespora cassiicola*.

Materiais e Métodos: Os testes preliminares foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Maringá (UEM). O fungo isolado de *C. cassicola* foi obtido da Embrapa Soja. O fungo foi repicado e cultivado em PDA (ágar batata dextrose) mantida a $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ e fotoperíodo de 12h. Diluições de Belladonna (6, 12, 18, 24 e 30dH) foram obtidos de acordo com a Farmacopéia Homeopática Brasileira [3]. O meio de cultura BDA acrescido das diluições *Belladonna* (6, 12, 24 e 30dH) foram colocados em placas de petri após filtração através de uma membrana Millipore (diâmetro dos poros de $0,45 \mu\text{m}$). Após a solidificação do meio, um disco de micélio (4 mm de diâmetro) de *C. cassicola* foi colocado no centro de cada placa e selada com filme plástico e, em seguida, incubados a 25°C com fotoperíodo de 12h. O crescimento micelial foi medido diariamente por 8 dias. O controle consistiu de água destilada. Os dados foram analisados pela ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

Resultados e Discussão: Todas as diluições de *Belladonna* (6, 12, 24, 30dH) foram eficazes ($p < 0,05$) na redução do crescimento micelial de *C. cassicola* em relação ao controle (Figura 1). *Belladonna* 30dH foi maior em todos os períodos e a diferença aumentou com o tempo. As diluições 6, 12 e 24dH mostraram valores intermediários, mas sempre superiores ao controle (Figura 1).

Sabe-se que a mancha-alvo pode causar podridões em vagens (sementes) e manchas no caule. Quando ela causa a podridão da raiz, os sintomas são caracterizados por folhas amarelas e raízes com coloração castanho-escuro. Assim a produtividade é comprometida pelo menor enchimento do grão. As alternativas atualmente utilizadas são baseadas no uso de fungicidas, o que aumenta o custo de produção e afeta o ambiente. Assim, o uso de *Belladonna* altamente diluída pode ser capaz de reduzir os danos causados por este fungo na soja. Com base nesses resultados, sugerimos que altas diluições da *Belladonna* podem ser capaz de reduzir os custos de produção e, ao mesmo tempo, beneficiar o ambiente pelo menor impacto ambiental.

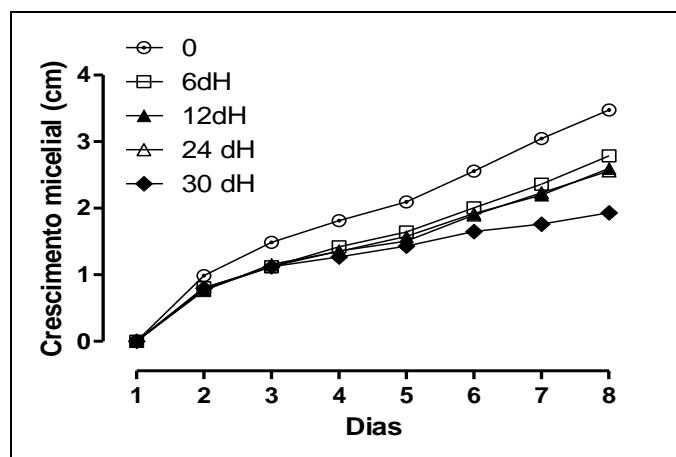


Figura 1 - Efeito de diferentes diluições de Belladonna sobre o crescimento micelial in vitro de *Corynespora cassicola* durante oito dias de tratamento.

Conclusão: Os resultados obtidos até agora são animadores. Belladonna apresenta grande potencial no controle da doença causada pelo fungo *C. cassicola*, in vitro.

Palavra-chave: homeopatia; *Corynespora cassicola*; *Belladonna*. Fungicida.



Licensed to [GIRI](#)

Support: authors declare that this study received no funding

Conflict of interest: authors declare there is no conflict of interest

Correspondence author: Carlos Moacir Bonato, cmbonato@uem.br or cmbonato@hotmail.com

How to cite this article: Fagan RV, Reis B, Schawan-Estrada KRF, Bonato CM. High dilution of Belladonna affect the mycelial growth of *Corynespora cassiicola* in vitro. *Int J High Dilution Res* [online]. 2011 [cited YYYY Month dd]; 10(36): 245-248. Proceedings of the XXV GIRI Symposium and VIII CBFH; 2011 Sep 04-07; Foz do Iguaçu (Brazil). GIRI and ABFH; 2011; Available from: <http://www.feg.unesp.br/~ojs/index.php/ijhdr/article/view/510/524>