



AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DOS EXTRATOS DE *Lessingianthus glabratus* CONTRA O FITOPATÓGENO *Colletotrichum truncatum*

Deysiane L. Salvador¹; Heloísa G. dos Santos²; Stefany do C. de Oliveira³; Francielli A. P. Valezze⁴; Giovanna A. Nascimento⁴; Taís R. Kohler¹; Marta R. B. do Carmo⁵; Débora C. Baldoqui⁴.

¹ Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE

² Centro Técnico-Educacional Superior do Oeste Paranaense – CTESOP

³ Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

⁴ Universidade Estadual de Maringá – UEM

⁵ Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG

deysiane_salvador@outlook.com

Palavras-Chave: Asteraceae, Controle, Fungos Fitopatogênicos.

Introdução

Os extratos obtidos de fontes naturais contêm substâncias de ampla diversidade química denominadas metabólitos especializados, provenientes principalmente de plantas, animais, organismos marinhos e microrganismos (MUSHTAQ *et al.*, 2018). Entre essas fontes, o reino vegetal destaca-se pela produção de metabólitos de elevado valor agregado, amplamente empregados nas indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e agrícola (PINTO *et al.*, 2002). O uso de plantas para fins medicinais representa uma das práticas mais antigas da humanidade e permanece amplamente difundido em diferentes populações (VIEGAS JR.; BOLZANI; BARREIRO, 2006; YAO *et al.*, 2017).

Além da importância para a saúde humana, os produtos naturais têm se mostrado promissores no controle de doenças causadas por fungos fitopatogênicos, responsáveis por expressivas perdas agrícolas. Embora fungicidas sintéticos sejam amplamente utilizados, seu uso contínuo favorece impactos ambientais, riscos à saúde humana e o surgimento de populações resistentes (POPP; PETŐ; NAGY, 2013). Considerando a necessidade de ampliar a produção mundial de alimentos até 2050 e a crescente incidência de doenças fitopatogênicas, torna-se indispensável o desenvolvimento de alternativas sustentáveis para o seu controle (CHÁVEZ-RAMIREZ *et al.*, 2020). Nesse contexto, os extratos vegetais apresentam baixa toxicidade e potencial para reduzir a dependência de fungicidas sintéticos (EL-SAMAWATY *et al.*, 2021).

Entre os metabólitos associados à atividade antifúngica destacam-se os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides (MEKAM *et al.*, 2019), além das lactonas sesquiterpênicas (FREIRE *et al.*, 1996). Estudos demonstram que extratos vegetais podem apresentar elevada eficiência frente a fungos fitopatogênicos. Oliveira, Viana e Martins (2016) observaram inibição de 100% de *Colletotrichum musae* utilizando extratos de capim limão e tomilho de folha grossa, enquanto Persaud *et al.* (2019) relataram redução de até 94,44% no crescimento de *Rhizoctonia solani*. Da mesma forma, extratos de *Impatiens walleriana* promoveram inibição total de *Alternaria* spp. (DOMINGUES *et al.*, 2021), e o



extrato de *Pterodon emarginatus* apresentou 70% de inibição frente a *Alternaria brassicae*, evidenciando seu potencial como alternativa aos fungicidas convencionais (SILVA *et al.*, 2005).

O interesse no controle de *Colletotrichum truncatum* deve-se ao elevado impacto econômico dessa espécie. As espécies de *Colletotrichum*, podem atacar e causar doenças em mais de 30 gêneros de plantas, e por estar amplamente dizimado pelo planeta, foi considerado um dos 10 fungos fitopatogênicos mais importantes do mundo, infectando diversas culturas agrícolas, sendo *C. truncatum* o principal agente causal da antracnose da soja no Brasil (DEAN *et al.*, 2012; DAMM *et al.*, 2012a,b; COSTA *et al.*, 2009).

O gênero *Lessingianthus*, pertencente à família Asteraceae, foi segregado de *Vernonia* e reúne espécies reconhecidas pela produção de flavonoides e lactonas sesquiterpênicas. Essa espécie permanece praticamente inexplorada quanto à sua composição fitoquímica e potencial biológico, reforçando a necessidade de investigar sua atividade frente a fungos fitopatogênicos.

Diante da relevância do desenvolvimento de alternativas sustentáveis para o controle de fungos fitopatogênicos e da escassez de estudos envolvendo *Lessingianthus glabratus*, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica dos extratos e frações dessa espécie frente ao fungo *Colletotrichum truncatum*, bem como investigar seu potencial como fonte de metabólitos bioativos para aplicação no manejo de doenças de interesse agrícola.

Material e Métodos

Coleta do Material Vegetal

A espécie *Lessingianthus glabratus* foi coletada em maio de 2022, na região de Campos Gerais do município de Ponta Grossa no Paraná. Uma exsicata encontra-se depositada no herbário da UEPG. Cadastrado no SISGEN: A5DD3AB.

As partes aéreas (caules e folhas) de *L. glabratus* foram secas em estufa com circulação de ar a 35 °C, durante 48 horas, e posteriormente trituradas com o auxílio de um moinho de facas.

Preparação e Fracionamento do Extrato Bruto

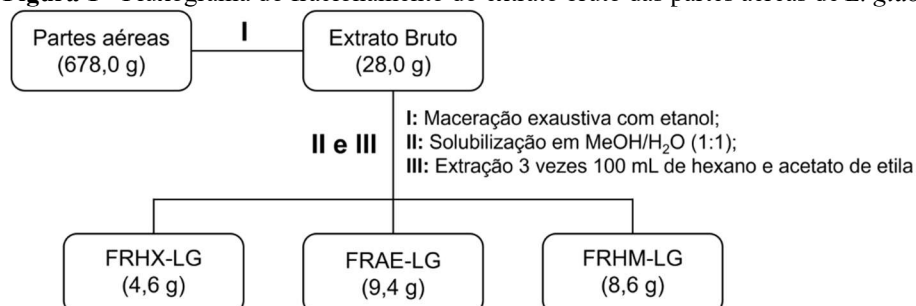
O material vegetal seco e moído (678,0 g) foi submetido à extração com etanol P.A, por maceração exaustiva, sob temperatura ambiente em frasco de vidro de 5,0 L.

O extrato foi filtrado e o solvente foi removido com o auxílio de um evaporador rotativo com pressão reduzida à temperatura de 35°C, obtendo-se aproximadamente 32 g do extrato etanólico bruto das partes aéreas da planta. Após, uma parte do extrato bruto (28 g), foi utilizada para o fracionamento e outra parte (4 g), foi reservada para os testes biológicos.

O extrato bruto (EB-LG) foi solubilizado em uma mistura de MeOH/H₂O 1:1 (400mL), e em seguida foi submetido à partição com 3 vezes de 100 mL de cada um dos solventes orgânicos em gradiente crescente de polaridade (hexano e acetato de etila). Após a remoção dos solventes com auxílio de um evaporador rotativo à pressão reduzida, foram obtidas as frações, hexânica (FRHEX-LG), acetato de etila (FRAE-LG), e fração remanescente hidrometanólica (FRHM-LG), conforme apresentado na **Figura 1**. Uma parte de cada fração foi separada para os testes biológicos.



Figura 1 - Fluxograma do fracionamento do extrato bruto das partes aéreas de *L. glabratus*.



Estudo de Desreplicação por UPLC-HRMS/MS

As análises de desreplicação dos extratos obtidos foram realizadas com auxílio da técnica de cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massa de alta resolução em tandem (UPLC-HRMS/MS).

Atividade *in vitro* contra o Fungo *Colletotrichum truncatum*

Os ensaios *in vitro* para avaliar o efeito dos extratos de *L. glabratus*, sobre o crescimento micelial e porcentagem de inibição foram realizados adicionando alíquotas dos extratos ao meio BDA (Batata Dextrose Ágar) antes da autoclavagem e vertidos em placas de Petri (Ø 9 cm) para as concentrações finais de 500, 1000, 2000, 4000 µg mL⁻¹. No tratamento testemunha foi utilizado apenas meio BDA sem adição dos extratos. Cada placa de Petri recebeu um disco de 0,5 cm de diâmetro do micélio, retirado da borda das colônias do fungo e depositado no centro da placa. As placas de Petri foram vedadas com filme plástico e incubadas em câmara BOD a uma temperatura de 25°C. As leituras foram realizadas a cada 24 horas, perdurando até o 10º dia (CELOTO *et al.*, 2011; STANGARLIN *et al.*, 1999).

A porcentagem de inibição do crescimento (PIC) dos fitopatógenos foi obtida por meio da fórmula: PIC = [(diâmetro da testemunha – diâmetro do tratamento)/diâmetro da testemunha] x 100, para cada extrato em relação à testemunha.

Resultados e Discussão

A avaliação da atividade antifúngica das frações obtidas de *Lessingianthus glabratus* frente a *Colletotrichum truncatum* revelou diferenças significativas na inibição do crescimento micelial em função da concentração e do tipo de fração testada (**Tabela 1**).

Tabela 1 - Crescimento micelial (mm) de *C. truncatum* em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA e extrato vegetal nas concentrações de 500, 1000, 2000 e 4000 µg mL⁻¹.

Frações	<i>Colletotrichum truncatum</i>							
	500 µg mL ⁻¹		1000 µg mL ⁻¹		2000 µg mL ⁻¹		4000 µg mL ⁻¹	
	Ø (mm)	Inibição (%)	Ø (mm)	Inibição (%)	Ø (mm)	Inibição (%)	Ø (mm)	Inibição (%)
EB-LG	41,4	20,8	38,5	26,4	31,7	39,4	27,6	47,2
FRHX-LG	50,1	4,2	42,6	18,6	50,1	4,2	42,6	18,5
FRAE-LG	34,7	33,6	30,8	41,1	26,7	50,0	22,8	56,4
FRHM-LG	47,4	9,4	44,4	15,1	43,9	16,0	44,7	14,5
BDA	52,3	-	52,3	-	52,3	-	52,3	-



O extrato bruto (EB-LG) e as frações de *Lessingianthus glabratus* apresentaram comportamentos distintos frente ao crescimento micelial de *Colletotrichum truncatum*. Observou-se resposta dependente da concentração para o extrato bruto e, principalmente, para a fração acetato de etila (FRAE-LG), enquanto as frações hexânica (FRHX-LG) e hidrometanólica (FRHM-LG) apresentaram baixa atividade antifúngica.

Entre as amostras avaliadas, a FRAE-LG foi a mais promissora, reduzindo progressivamente o crescimento do fungo à medida que a concentração aumentou. A inibição passou de 33,6% (500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) para 41,1% (1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$), 50,0% (2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e atingiu 56,4% na concentração de 4000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com redução do diâmetro médio das colônias de 34,7 para 22,8 mm. Em comparação, o extrato bruto apresentou efeito crescente, alcançando 47,2% de inibição, enquanto as frações FRHX-LG e FRHM-LG apresentaram valores inferiores a 19% e 16%, respectivamente, indicando que os metabólitos bioativos estão concentrados na fração de polaridade intermediária.

Essa atividade pode ser atribuída à presença de compostos fenólicos e lactonas sesquiterpênicas, metabólitos reconhecidos por alterar a permeabilidade da membrana celular, comprometer a integridade da parede celular, inibir enzimas essenciais e induzir estresse oxidativo em fungos (MEKAM *et al.*, 2019; FREIRE *et al.*, 1996). Essa hipótese foi reforçada pela caracterização química da FRAE-LG por UHPLC-HR-MS/MS associada às Redes Moleculares (Molecular Networking) na plataforma GNPS2, que permitiu identificar o ácido 3,5-dicafeoilquínico e anotar metabólitos relacionados, incluindo os ácidos clorogênico e cumaroilquínico, todos pertencentes à classe dos compostos fenólicos.

Outro aspecto relevante é que as concentrações avaliadas (500–4000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) correspondem a menos de 1% de extrato, sendo a maior concentração equivalente a apenas 0,4%. Mesmo nessa baixa proporção, a FRAE-LG promoveu 56,4% de inibição de *C. truncatum* evidenciando o elevado potencial biológico da espécie e a eficiência de seus metabólitos mesmo em pequenas quantidades.

Os resultados obtidos são consistentes com estudos envolvendo espécies da tribo Vernonieae (Asteraceae). Silva *et al.* (2014) observaram inibição de 100% do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Phoma tarda* e *Rhizoctonia solani* utilizando extrato aquoso de *Vernonia polysphaera*, enquanto Fadina (2010) demonstrou inibição total de *Colletotrichum lindemuthianum* com extrato etanólico de *Vernonia amygdalina*. Em conjunto, esses resultados reforçam que espécies desse grupo constituem fontes promissoras de metabólitos antifúngicos, especialmente compostos fenólicos e lactonas sesquiterpênicas, com potencial para o desenvolvimento de alternativas naturais aos fungicidas sintéticos.

Conclusões

Os resultados obtidos demonstram que *Lessingianthus glabratus* apresenta expressivo potencial antifúngico frente a *Colletotrichum truncatum*, especialmente na fração



acetato de etila (FRAE-LG), que se destacou pela elevada inibição micelial mesmo em baixas concentrações (0,4% equivalente a $4000\mu\text{g mL}^{-1}$). Esse desempenho pode estar relacionado à presença de compostos fenólicos, já descritos como eficientes no controle de fungos fitopatogênicos, e possivelmente associado a outros metabólitos secundários característicos da família Asteraceae, como as lactonas sesquiterpênicas.

A comparação com estudos prévios envolvendo espécies da tribo Vernonieae reforça a relevância deste gênero como fonte promissora de compostos bioativos para o desenvolvimento de alternativas sustentáveis ao uso de fungicidas sintéticos. Assim, *L. glabratus* mostra-se como um candidato promissor para a formulação de produtos naturais voltados ao manejo integrado de doenças agrícolas, contribuindo para a redução do impacto ambiental e riscos à saúde humana.

Agradecimentos

À Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná, pelo apoio financeiro concedido por meio da bolsa de Iniciação Científica (PIBIC 2024-2025, PIB2024141000023). E ao Instituto de Pesquisa em Saúde e Educação UNIMEO - IPSEU, pelo suporte acadêmico e laboratorial prestado ao desenvolvimento deste trabalho.

Referências

- CELOTO, M. I. B. *et al.* Atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia* L. sobre *Colletotrichum musae*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, 13(3), 337-341, 2011.
- CHÁVEZ-RAMÍREZ, B. *et al.* Inhibition of *Rhizoctonia solani* RhCh-14 and *Pythium ultimum* PyFr-14 by *Paenibacillus polymyxa* NMA1017 and *Burkholderia cenocepacia* CACua-24: A proposal for biocontrol of phytopathogenic fungi. **Microbiological research**, 230, 1-10, 2020.
- COSTA, I. F. D. da *et al.* Reação de germoplasma comercial de soja a *Colletotrichum truncatum*. **Tropical Plant Pathology**, 34, 47-50, 2009.
- DEAN, R. *et al.* The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, 13(4), 414-430, 2012.
- DAMM, U. *et al.* The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies in Mycology**, 73, 1-36, 2012a.
- DAMM, U. *et al.* The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, 73, 37-113, 2012b.
- DOMINGUES, R. J. *et al.* Ação “in vitro” de extratos vegetais sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, 76, 643-649, 2021.
- EL-SAMAWATY, A. E. R. M. *et al.* Potency of plant extracts against *Penicillium* species isolated from different seeds and fruits in Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 28(6), 3294-3302, 2021.
- FADINA, O. O. The Antifungal and Nematicidal Potentials of *Vernonia amygdalina* (DAL). **Acta Horticulturae**, 853, 357-362, 2010.
- FREIRE, M. de F. I. *et al.* Antibiose e toxidez de extratos de caule de *Vernonia scorpioides* (Lam.) Pers. (Asteraceae). **Floresta e Ambiente**, 3, 67-73, 1996.
- MEKAM, P. N. *et al.* Phenolic compounds profile of water and ethanol extracts of *Euphorbia hirta* L. leaves showing antioxidant and antifungal properties. **South African Journal of Botany**, 127, 319-332, 2019.
- MUSHTAQ, S. *et al.* Natural products as reservoirs of novel therapeutic agents. **EXCLI Journal**, 17, 420-451, 2018.



OLIVEIRA, E. S.; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V. Alternativas a fungicidas sintéticos no controle da antracnose da banana. **Summa Phytopathologica**, 42, 340-350, 2016.

PERSAUD, R. *et al.* Plant extracts, bioagents and new generation fungicides in the control of rice sheath blight in Guyana. **Crop Protection**, 119, 30-37, 2019.

PINTO, A. C. *et al.* Produtos naturais: Atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, 25, 45-61, 2002.

POPP, J.; PETŐ, K.; NAGY, J. Pesticide productivity and food security. A review. **Agronomy for sustainable development**, 33(1), 243-255, 2013.

SILVA, I. D. *et al.* Efeito do extrato de sucupira (*Pterodon emarginatus*) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 35(2), 109-115, 2005.

SILVA, J. L. *et al.* Antifungal activity using medicinal plant extracts against pathogens of coffee tree. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 16(3), 539-544, 2014.

STANGARLIN, J. R. *et al.* Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, 2(11), 16-21, 1999.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. da S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, 29(2), 326-337, 2006.

YAO, H. *et al.* The structural modification of natural products for novel drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, 12(2), 121-140, 2017.