

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PATÓGENOS EM FOLHAS DE LOURO (*LAURUS NOBILIS*) INDUSTRIALIZADAS NO PÓS-COLHEITA NO MUNICÍPIO DE CASTANHAL-PA

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF PATHOGENS IN POSTHARVEST INDUSTRIALIZED BAY LEAVES (*LAURUS NOBILIS*) IN THE MUNICIPALITY OF CASTANHAL, PARÁ, BRAZIL

Eduarda Castanheira Both da Silva¹
Kamilly Eshiley Fernandes de Oliveira²
Mayra Rafaela Neves Guimaraes³
Paulo Sérgio e Silva e Silva³

Área Temática: Meio ambiente, Mudanças climáticas e Sustentabilidade
Modalidade: Artigo Científico

Resumo

Este estudo teve como objetivo identificar e caracterizar fungos fitopatogênicos presentes nas folhas de louro (*Laurus nobilis*) após a colheita no município de Castanhal-PA. Foram realizados experimentos comparando métodos de assepsia e desinfestação, incluindo hipoclorito de sódio e tratamento térmico com micro-ondas, para avaliar sua eficácia na eliminação dos microrganismos. As análises revelaram a presença predominante dos gêneros *Fusarium spp.* e *Rhizopus spp.*, conhecidos por sua resistência a métodos convencionais de higienização e por sua capacidade de deterioração de produtos agrícolas. A identificação desses patógenos reforça a necessidade de estratégias

¹ IFPA – Campus Castanhal; dudaboth10@gmail.com

² IFPA – Campus Castanhal; kamillyeshiley652@gmail.com ³

IFPA – Campus Castanhal; mayrarafa2005@gmail.com

³ IFPA – Campus Castanhal; paulosergio160p@gmail.com

complementares para controle microbiológico, visando à segurança alimentar e à qualidade do produto final. Os resultados obtidos contribuem para a adoção de boas práticas de processamento e armazenamento, reduzindo riscos à saúde pública e perdas na cadeia produtiva do louro.

Palavras-chave: Fungos fitopatogênicos, *Fusarium spp.*, *Rhizopus ssp.*, Asepsia

Abstract

The bay leaf (*Laurus nobilis*), widely used in cooking and valued for its medicinal properties, can harbor phytopathogenic fungi that pose risks to human health. This study aimed to identify and characterize fungal pathogens present in bay leaves after harvest in Castanhal-PA, Brazil. Different treatments were tested, including asepsis, absence of asepsis, disinfestation with sodium hypochlorite, and microwave sterilization. The results revealed the presence of *Fusarium spp.* and *Rhizopus spp.*, even in aseptic treatments, highlighting their resistance to conventional cleaning methods. The findings emphasize the need for stricter quality control measures and the adoption of complementary sterilization techniques to ensure food safety.

Key words: Phytopathogenic fungi, *Fusarium spp.*, *Rhizopus ssp.*, Asepsis.

Introdução

A folha de louro, proveniente da planta *Laurus nobilis*, originária da região do Mediterrâneo, é amplamente reconhecida e utilizada na culinária para adicionar sabor e aroma a diversos pratos, como temperos e marinadas. No entanto, suas propriedades medicinais também são notáveis, oferecendo diversos benefícios para a saúde (ECICLE, 2011). Valorizado há séculos não só por seu sabor e aroma, mas também por sua rica história e múltiplos usos.

Originário das regiões de clima mediterrâneo, o louro é um exemplo perfeito de como uma planta pode ser incrivelmente versátil. Ele é famoso na culinária, onde suas folhas aromáticas são usadas para dar um toque especial a pratos, mas também é um aliado na medicina tradicional e até mesmo na indústria de cosméticos. Suas folhas, que soltam um perfume marcante quando esmagadas, são apreciadas não só como tempero, mas também na preparação de chás que ajudam na digestão, combatem inflamações e são ricos em antioxidantes (SANTOS et al., 2018).

Em países do Mediterrâneo, ele é uma cultura de grande importância, exportado em larga escala para alimentar mercados globais de alimentos e medicamentos. Para muitas

comunidades agrícolas, o cultivo do louro é uma fonte vital de renda, já que é uma planta relativamente fácil de cuidar e com uma demanda constante no mercado internacional (PEREIRA et al., 2019). Entretanto, a comercialização da cultura para uso alimentício muitas das vezes podem conter a presença de fungos fitopatogênicos que podem causar danos à saúde humana.

O presente trabalho teve como objetivo identificar e caracterizar os patógenos fúngicos presentes nas folhas de louro (*Laurus nobilis*) após a colheita, no município de Castanhal-PA. Para isso, foram analisadas amostras do produto final, buscando determinar as principais espécies fúngicas associadas, os meios de desinfestação, com foco na segurança alimentar e na preservação da qualidade do louro industrializado.

Metodologia

Todo o trabalho foi realizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Estado do Pará - Campus Castanhal, com localização geográfica de latitude 1° 17' 26" S e longitude 47° 55' 28" W, região nordeste do estado do Pará, Brasil. Para todos os procedimentos foram utilizados diversos materiais.

2.1 Método isolamento indireto com e sem assepsia

O método indireto com assepsia e sem assepsia foi iniciado em 09 de novembro de 2024, com a seleção de folhas de louro, as quais foram cortadas em pequenas partes pra iniciar o processo de esterilização (Figura 01).

No tratamento com assepsia, as amostras foram inicialmente desinfetadas com hipoclorito de sódio durante 2 minutos para a eliminação de possíveis contaminantes microbianos. Após esse período, o excesso de hipoclorito foi removido por meio de enxágues sucessivos com água destilada, seguido de secagem cuidadosa com papel toalha estéril. As amostras, agora desinfetadas, foram então dispostas em placas contendo meio de cultivo ágar-água para o isolamento e crescimento de possíveis fungos presentes nas folhas.

Já no tratamento sem assepsia, as amostras foram dispostas diretamente sobre o meio de cultivo ágar-água, sem a aplicação de qualquer tratamento prévio de desinfecção. Esta abordagem permitiu a comparação entre a presença de contaminantes superficiais nas amostras não esterilizadas e as amostras tratadas.

Após 48 horas do procedimento inicial, as amostras foram transferidas (repicadas) para novos meios de cultivo BDA (Batata Dextrose Ágar), com o objetivo de promover o

crescimento de fungos de maneira mais robusta e facilitar a posterior identificação. As placas de Petri contendo as amostras foram então incubadas em câmara BOD (Biochemical Oxygen Demand) a 25°C, temperatura ideal para o crescimento de muitos fungos fitopatogênicos. Esse período de incubação foi mantido para garantir que as colônias fúngicas pudessem se desenvolver adequadamente, permitindo a observação de características morfológicas e facilitando o isolamento das espécies presentes nas folhas de louro.

Esses dois grupos experimentais, com e sem assepsia, foram monitorados durante o crescimento fúngico para a identificação de patógenos presentes nas folhas de louro.

Figura 01: Corte da folha de louro em pequenas partes



Fonte: Autores, 2024.

2.2 Microcultura e preparações microscópicas

Um fragmento do meio de cultura apropriado (BDA para fungos de crescimento mais lento ou ágar-água para fungos de crescimento mais rápido), com aproximadamente 1 cm² de área e 2 mm de espessura, foi colocado sobre uma lâmina de microscópio previamente limpa e esterilizada por flambagem.

Esporos do fungo foram transferidos para o centro de cada face lateral do bloco de meio de cultura. Imediatamente após a inoculação, o bloco foi coberto com uma lamínula esterilizada por flambagem. A lamínula foi fixada pressionando-a suavemente com a ponta do estilete.

O material foi suspenso sob um bastão de plástico em formato de V e colocado dentro de uma câmara úmida, composta por uma placa de Petri contendo papel-filtro umedecido no

fundo. A placa de Petri, o papel-filtro e a água utilizada foram previamente esterilizados para evitar contaminações.

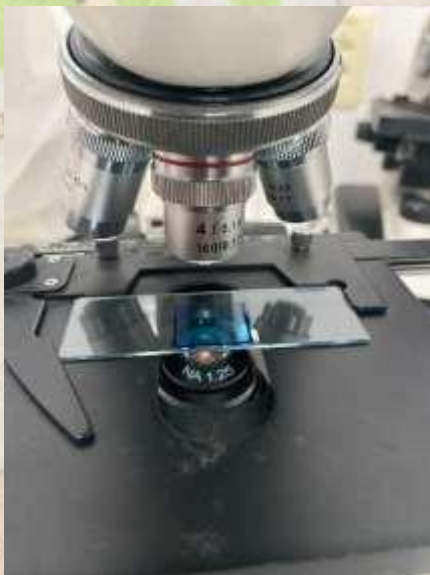
Para evitar a perda excessiva de água durante a incubação, as bordas da placa de Petri e sua tampa foram vedadas com filme de PVC ou similar.

A câmara úmida foi mantida em incubação por um período de 3 a 7 dias. Após esse período, a lâmina e a lamínula apresentaram vestígios de crescimento fúngico. A lâmina foi então retirada da câmara úmida, e a lamínula foi cuidadosamente removida com o auxílio de um estilete de ponta fina e depositada sobre outra lâmina previamente preparada (limpa e com o líquido de montagem).

O bloco de meio de cultura foi descartado, e uma gota do líquido de montagem foi depositada em seu lugar. Em seguida, uma lamínula foi colocada sobre as duas lâminas obtidas, preparando-as para observação microscópica.

Após a preparação das lâminas, foi aplicado um corante adequado para destacar as estruturas fúngicas, como núcleos, esporos ou hifas, as lâminas foram então lavadas e secas conforme o protocolo do corante utilizado. A observação foi realizada em microscópio óptico, com aumento adequado para visualização das estruturas de interesse (Figura 02).

Figura 02: Amostra sendo preparada para visualização microscópica



Fonte: Autores, 2024.

2.3 Repicagem para conservação dos fungos fitopatogênicos

A repicagem dos fungos fitopatogênicos foi realizada com o objetivo de transferir os microrganismos para um novo meio de cultura, visando o isolamento, manutenção e estudo das

culturas. O procedimento foi conduzido em condições assépticas para evitar contaminações. (Figura 03).

Inicialmente, o local de trabalho foi limpo e desinfetado, e utilizou-se luvas e jaleco para garantir a assepsia durante o procedimento. A lamparina ou bico de Bunsen foi aceso para criar uma zona estéril ao redor da chama.

A alça de inoculação foi esterilizada passando-a pela chama até que ficasse incandescente e, após esfriar por alguns segundos, foi utilizada para coletar uma pequena quantidade de micélio ou esporos da cultura do fungo fitopatogênico, que estava crescida previamente em meio de cultura. Cuidou-se para não coletar excesso de material, a fim de evitar sobrecarregar o novo meio de cultura.

A nova placa de Petri contendo o meio de cultura fresco foi aberta, e o material coletado foi transferido para o centro da nova placa utilizando a alça de inoculação. Realizou-se um leve esfregaço ou desenhou-se um "Z" na superfície do ágar para distribuir o fungo de forma homogênea. A placa de Petri foi fechada imediatamente após a inoculação para evitar contaminações e identificada com o nome do fungo, data.

Figura 03: Repicagem dos fungos fitopatogênicos para um novo meio de cultivo para conservação.



Fonte: Autores, 2025.

2.4 Método de desinfestação com hipoclorito e calor do micro-ondas.

O método de desinfestação com hipoclorito teve início em 31 de janeiro de 2025. Com isso, foi refeito o processo, começando com a seleção das folhas de louro, que foram cortadas em 18 pequenos quadrados para a realização dos testes. Foram utilizadas seis placas de Petri, divididas igualmente entre os dois tratamentos, sendo AEM (Ausência de Esterilização por

Micro-ondas) e EM (Esterilização por Micro-ondas). Para o controle, três amostras sem assepsia foram distribuídas em três placas de Petri contendo meio de cultura BDA e três com assepsia.

Para o processo de desinfestação superficial, com o auxílio da pinça anteriormente esterilizada com a chama da lamparina a álcool, as amostras foram inicialmente submersas em álcool 70% por 1 minuto, com o objetivo de reduzir a tensão superficial. Em seguida, foram tratadas com hipoclorito de sódio por 2 minutos para a desinfestação e posteriormente lavadas com água destilada esterilizada para remoção do excesso de hipoclorito.

Após a desinfestação foram distribuídas em três placas contendo meio de cultura BDA (Ágar Batata Dextrose). As amostras submetidas à desinfestação foram condicionadas em placas de Petri estéreis e submetidas ao tratamento térmico em forno de micro-ondas por 20 segundos, com potência de 700 watts e frequência de 2.450 MHz. Após o tratamento térmico, essas amostras foram transferidas para três novas placas contendo meio BDA e incubadas em estufa BOD, sob temperatura controlada de 25°C.

Depois de cinco dias de incubação, foi observado crescimento fúngico em três amostras, sendo duas sem esterilização por micro-ondas e uma submetida ao tratamento térmico. Para a continuidade da análise, foi realizado o repique das colônias fúngicas para novas placas de Petri contendo meio BDA. As amostras foram incubadas novamente em estufa BOD, sob temperatura controlada de 25°C, para dar continuidade na análise do desenvolvimento fúngico. Ao passar de 7 dias, foi realizada a microscopia para identificação do fungo.

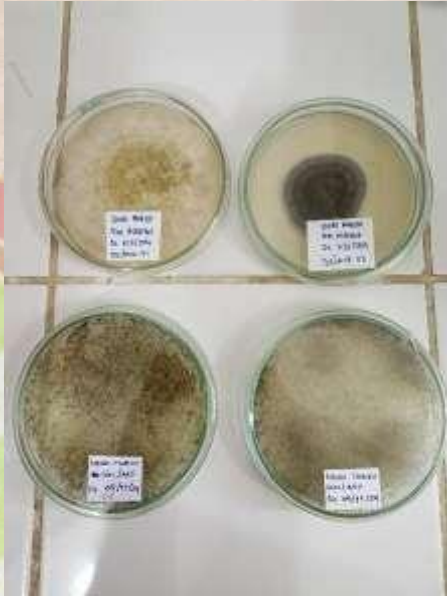
Resultados e Discussão

Neste estudo, foram realizados quatro tipos de tratamentos para verificar o desenvolvimento dos fungos fitopatógenos em amostras de folhas de louro. Os tratamentos incluíram assepsia, ausência de assepsia, esterilização com hipoclorito e por micro-ondas e sem micro-ondas. Os resultados revelaram diferenças significativas no comportamento desses fungos frente às condições testadas.

No primeiro experimento, que comparou a assepsia e a ausência de assepsia, observouse o crescimento de fungos em ambos os tratamentos, os fungos dos gêneros *rhizopus* spp. (Figura 04) e *Rhizopus* spp. (Figura 05) mostraram-se resistentes aos tratamentos assépticos com álcool e hipoclorito de sódio. Isso indica que a limpeza superficial, por si só, não é suficiente para eliminar o patógeno. O resultado sugere que a assepsia tradicional pode não ser

eficaz para eliminar esporos ou microrganismos presentes em superfícies ou materiais vegetais, reforçando a necessidade de métodos complementares de controle.

Figura 04: Diferentes tratamentos com seus respectivos fungos resistentes.



Fonte: Autores, 2025.

Figura 05: *Fusarium* spp.



Fonte: Autores, 2025.

Figura 06: *Rhizopus* spp.



Fonte: Autores, 2025.

As culturas identificadas como pertencentes ao gênero *Fusarium* foram classificadas taxonomicamente dentro do Reino *Fungi*, Filo *Ascomycota*, Classe *Sordariomycetes*, Ordem *Hypocreales* e Família *Nectriaceae*. Esse gênero é amplamente distribuído em ambientes agrícolas e frequentemente associado a doenças vasculares e radiculares em diversas culturas de interesse econômico. No presente estudo, as colônias de *Fusarium* apresentaram crescimento rápido, com coloração variando de branca a rosada, além da presença de macroconídios fusiformes e microconídios hialinos, características morfológicas típicas desse grupo. A formação de clamidósporos também foi observada, reforçando a capacidade de sobrevivência do patógeno em condições ambientais adversas.

Já as culturas pertencentes ao gênero *Rhizopus* foram classificadas no Reino *Fungi*, Filo *Mucoromycota*, Classe *Mucoromycetes*, Ordem *Mucorales* e Família *Rhizopodaceae*. O desenvolvimento das colônias foi acelerado, com hifas cenocíticas bem desenvolvidas e estruturas reprodutivas características, como esporângios contendo esporângiosporos. Em algumas amostras, foram observados zigósporos, indicando a ocorrência de reprodução sexuada. Fungos desse gênero são reconhecidos por seu papel na decomposição de matéria orgânica, mas algumas espécies podem atuar como patógenos oportunistas em plantas e em produtos agrícolas armazenados, causando deterioração pós-colheita.

A presença desses fungos nas amostras analisadas destaca sua relevância no contexto agrícola, especialmente no que diz respeito à sanidade vegetal e à qualidade dos produtos pós-colheita. A identificação precisa dos microrganismos é essencial para a adoção de estratégias de manejo adequadas, visando a mitigação de impactos negativos na produtividade agrícola e na qualidade dos produtos comercializados. Dessa forma, medidas preventivas, como o controle da umidade, adequada ventilação durante o armazenamento e uso de fungicidas quando necessário, podem contribuir para a redução da incidência desses patógenos.

Sobre o tratamento envolvendo hipoclorito de sódio e calor de micro-ondas, todas as placas de Petri foram incubadas em estufa a uma temperatura adequada para o crescimento dos fungos (geralmente entre 25-28°C). O crescimento fúngico foi monitorado diariamente, e as observações foram registradas para análise posterior. Até o momento, não foi observado crescimento visível de fungos nas amostras tratadas com hipoclorito de sódio ou calor de microondas.

Conclusão

A resistência desses patógenos a adaptação em diferentes condições ambientais são fatores que contribuem para a persistência e disseminação, tornando seu controle um desafio,

podendo causar problemas para a saúde humana ao serem consumidos sem higienização correta do condimento industrializado. Em síntese, os resultados deste estudo destacam a importância de se adotar práticas mais rigorosas no controle de qualidade de produtos vegetais, especialmente no que diz respeito à contaminação por fungos. A resistência do *Fusarium* spp. e a rápida proliferação do *Rhizopus* spp. indicam que métodos convencionais de assepsia e esterilização podem não ser suficientes e sobre o método utilizando hipoclorito de sódio e o calor do micro-ondas ainda estão sob análise.

Portanto, sugere-se a investigação de técnicas complementares, como o uso de agentes antifúngicos naturais ou a combinação de diferentes métodos de esterilização, para garantir a segurança e a qualidade desses produtos. Esses achados contribuem para a discussão sobre boas práticas de manuseio e processamento de alimentos, visando à redução de riscos à saúde pública.

Referências Bibliográficas

SANTOS, A. L.; SILVA, T. M.; SOUSA, P. F. Fungos saprófitas e seu papel na decomposição de materiais orgânicos em plantas ornamentais. *Revista Brasileira de Fitopatologia*, v. 42, n. 3, p. 365-372, 2019.

SILVA, R. G.; MORAES, C. S.; LIMA, F. A. Prevalência de *Fusarium* sp. em cultivos de plantas condimentares. *Revista de Fitopatologia Tropical*, v. 18, n. 4, p. 512-518, 2018.

SOUZA, J. P.; ALMEIDA, D. F.; PEREIRA, J. L. Resistência de *Fusarium* a tratamentos de desinfecção em folhas de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Microbiologia*, v. 48, n. 2, p. 250-258, 2017.

AGRIOS, G. N. *Plant Pathology*. 5th ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. *The Fusarium Laboratory Manual*. Ames: Blackwell Publishing, 2006.

GARCÍA, D. et al. *Fusarium* species associated with diseases of major tropical fruit crops. *Fungal Diversity*, v. 50, n. 1, p. 145-167, 2011.

MUNKVOLD, G. P. *Fusarium* species and their associated mycotoxins. In: MORETTI, A.; SUSCA, A. (Eds.). *Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols*. New York: Humana Press, 2017. p. 51-106.

ALVES-SANTOS, F. M. et al. Pathogenicity and race characterization of *Fusarium oxysporum* sp. phaseoli isolates from Spain and Greece. *Plant Pathology*, v. 51, n. 5, p. 605611, 2002.

DEACON, J. W. *Fungal Biology*. 4th ed. Malden: Blackwell Publishing, 2006.

PAL, K. K.; GARDENER, B. M. Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor*, 2006. DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018. v. 1.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOPES, C. A. Controle biológico de doenças de plantas. Brasília: Embrapa, 2014.

DIANESE, J. C.; BLUM, L. E. B.; SANTOS, F. A. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. v. 2.

EMBRAPA. Manual de métodos fitopatológicos. Brasília: Embrapa, 2015.

GALLI, F.; CARVALHO, L. R.; SOUZA, N. L. Fungos fitopatogênicos: identificação e controle. 2. ed. São Paulo: Editora UFV, 2017.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. v. 1.

LOPES, C. A.; SANTOS, J. R. M.; CARVALHO, S. I. C. Doenças do tomateiro. Brasília: Embrapa, 2012.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife: UFRPE, 2010.

PEREIRA, J. C. R.; NECHET, K. L.; AZEVEDO, J. L. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. v. 2.

SANTOS, A. F.; ALVES, E.; CARVALHO, C. M. Fungos fitopatogênicos: biologia e controle. Viçosa: Editora UFV, 2018.

SILVA, J. B. C.; GIORDANO, L. B.; AMORIM, L. Tomate para processamento industrial. Brasília: Embrapa, 2013.

TAVARES, S. C. C. H.; SOARES, A. C. F.; SOUZA, J. T. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. Jaboticabal: FUNEP, 2015.

VIEIRA, B. S.; BARBOSA, F. R.; SOUZA, E. A. Doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília: Embrapa, 2017.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. Controle de doenças de plantas: fruteiras. Viçosa: Editora UFV, 2014.

AMICI, H.J. MARÇAL; ARTIMONTE, A. P. VAZ. Série plantas medicinais, condimentares e aromáticas. Infoteca EMBRAPA. Corumbá MS, Nov 2007. Brasil. Ministério da Saúde. Mucormicose (Fungo Negro). Brasília: Ministério da Saúde, [s.d.].

Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/mucormicose>. Acesso em: 18 fev. 2025.