

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA**

AGR00996 – DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Katiéli Simmi

274441

“O diagnóstico fitossanitário no comércio de produtos vegetais”

Porto Alegre, fevereiro de 2022.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA**

AGR00996 – DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Katiéli Simmi

274441

O diagnóstico fitossanitário no comércio de produtos vegetais

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do Grau de Engenheira Agrônoma, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Supervisor de campo do estágio: Biól. M.Sc Marisa Dalbosco

Orientador acadêmico do estágio: Prof. Dr. Eng. Agr. Marcelo Gravina de Moraes

COMISSÃO DE AVALIAÇÃO

Profa. Maite de Moraes Vieira	Departamento de Zootecnia
Prof. José Antônio Martinelli	Departamento de Fitossanidade
Prof. Sergio Tomasini	Departamento de Horticultura e Silvicultura
Prof. Clesio Gianello	Departamento de Solos
Prof. Pedro Selbach	Departamento de Solos
Profa. Renata Pereira da Cruz	Departamento de Plantas de Lavoura
Prof. Roberto Luis Weiler	Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia

Porto Alegre, fevereiro de 2022.

AGRADECIMENTOS

À minha família que sempre esteve ao meu lado, me apoiando e dando todo o suporte necessário ao longo desta trajetória, pela motivação e por todo o esforço empenhado na realização do meu sonho. Vocês tornaram a minha caminhada mais leve.

Às minhas amigas e colegas de curso Alana Nunes Garcia e Liliane Sugimoto, especialmente à Maria Alice Cruz, que sempre esteve ao meu lado nos momentos difíceis com uma palavra de incentivo. Agradeço a vocês pelo companheirismo, amizade, por serem tão prestativas e por toda a cooperação nos estudos.

Aos professores do curso de Agronomia pelos conhecimentos compartilhados e à Universidade pela qualidade de ensino oferecida.

Ao meu orientador de estágio Prof. Marcelo Gravina de Moraes, por aceitar o convite e pelo suporte na elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Roberto Luis Weiler, que foi meu orientador na iniciação científica, pela experiência e parceria ao longo desses anos.

Aos diretores Valmir Duarte e Patrícia Teló pela oportunidade de estágio no laboratório.

À minha supervisora de estágio Marisa Dalbosco e toda a equipe do Agrônômica pela paciência e pelos ensinamentos durante esses meses.

E a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a minha formação.

Minha gratidão a todos!

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo discorrer sobre as atividades realizadas durante o estágio curricular obrigatório do curso de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O estágio foi realizado no Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria – Agronômica, situado na cidade de Porto Alegre, RS, no período de abril a junho de 2021. O acompanhamento e a execução das atividades de diagnóstico fitossanitário nos setores técnicos da empresa estão descritas neste relatório, bem como técnicas laboratoriais de detecção e identificação de pragas em produtos e subprodutos de origem vegetal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação da estrutura recursiva que mostra o relacionamento entre os organismos internacionais (CIPV, ORPFs) o DSV/Mapa, como ONPF brasileira e os OEDSVs em cada unidade da federação brasileira.	13
Figura 2. Percurso de uma amostra submetida ao diagnóstico fitossanitário.....	17
Figura 3. Sementes de plantas invasoras sob microscopia encontradas em amostra de soja para exportação, com destaque para o <i>Sorghum</i> sp., uma praga quarentenária.	18
Figura 4. Triagem manual de amostra de sementes de melancia, sob bandeja plástica branca	18
Figura 5. Presença de cochonilha em amostra de caqui	19
Figura 6. Sistema de distribuição de alíquotas para análises dos setores.....	19
Figura 7. Etapas do método de Jenkins. Amostra de solo sendo homogeneizada (A), passada pela peneira (B) e recolhida para tubo Falcon (C).....	20
Figura 8. Método de Coolen & D’Herde. Amostra de orquídea (muda com raiz) triturada em liquidificador (A) e transferida para peneiras de 60 e 500 mesh (B)	21
Figura 9. <i>Pratylenchus zeae</i> encontrado em solo cultivado com soja (A) e <i>Helicotylenchus dihystra</i> em amostra de soja (B)	21
Figura 10. Amostra em mesa agitadora pelo método da suspensão de lavagem.....	22
Figura 11. Distribuição de sementes de milho em caixa Gerbox pelo método Blotter test ...	23
Figura 12. Iscas biológicas. Cenoura (A); Maçã verde (B); Braquiária (C); Maçã vermelha (D); Rabanete (E).....	24
Figura 13. Detecção de <i>Bipolaris spicifera</i> . Observam-se as estruturas do fungo de forma macroscópica, os conidióforos (A) e microscópica, os conídios (B) em sementes de grama bermuda (<i>Cynodon dactylon</i>), importadas dos Estados Unidos.....	24
Figura 14. Etapas do método de isolamento em meio de cultura em folha de milho. Remoção dos fragmentos do tecido infectado (A); processo de desinfestação (B); maceração do tecido em água (C); e semeadura em meio de cultura (D)	25
Figura 15. Identificação de bactéria Gram-negativa devido a formação da viscosidade na reação de KOH	26
Figura 16. Procedimento do teste da podridão-mole em tubérculo de batata	27
Figura 17. Etapa de coleta do material vegetal por meio da maceração pela prensa hidráulica (A), pistilo (B) e nitrogênio líquido (C)	27

Figura 18. Etapas de extração de ácidos nucleicos (A), preparo do mix (B) preparo da amostra (C).....	28
Figura 19. Amostra de folha de mamão com sintomas de mosaico, com origem do Espírito Santo	29
Figura 20. Distribuição das amostras analisadas por categoria nos meses de abril, maio e junho de 2021.	30

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	CARACTERIZAÇÃO DA EMPRESA AGRONÔMICA.....	9
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
3.1	Ameaças fitossanitárias.....	11
3.2	Sanidade vegetal brasileira	12
3.3	Diagnostico fitossanitário	14
4	ATIVIDADES REALIZADAS	17
4.1	Setor de triagem	17
4.2	Setor de nematologia	20
4.3	Setor de micologia	22
4.4	Setor de bacteriologia	24
4.5	Setor de virologia.....	27
4.6	Setor de preparo de materiais.....	29
5	DISCUSSÃO.....	29
5.1	Diagnóstico fitossanitário	29
5.2	Defesa sanitária vegetal no Brasil.....	31
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1 INTRODUÇÃO

Após o Período Entre Guerras, os países recrudesceram fortemente as práticas protecionistas para proteger a economia de seus países. De modo a combater a nova onda protecionista, os países assinaram um acordo internacional a fim de reduzir as tarifas aduaneiras incidentes nas importações e, assim, passaram a negociar acerca de questões não tarifárias como forma de proteção aos mercados nacionais. Entre os tipos de barreiras não tarifárias, encontram-se as medidas fitossanitárias, que visam proteger a sanidade vegetal.

Com a modernização da agricultura brasileira nos últimos anos, houve um crescimento da produção e incremento da produtividade agrícola, e o Brasil se tornou um dos principais atores no comércio mundial de produtos vegetais.

No entanto, a produção vegetal se torna vulnerável à disseminação de novas pragas que podem causar prejuízos econômicos, comprometer a sanidade vegetal e influenciar a produtividade das lavouras, que está associada ao aumento do intercâmbio de material vegetal.

Diante desse crescente fluxo no mercado doméstico e internacional de produtos do setor agrícola e suas implicações, a atuação do Engenheiro Agrônomo é de suma importância na execução de atividades relacionadas à prevenção da introdução e dispersão de pragas, especialmente pragas quarentenárias, e na preservação da integridade dos recursos naturais.

Em decorrência disso, o interesse em adquirir experiência a partir dos conhecimentos obtidos na área da Fitossanidade no decorrer do curso de Agronomia, e obter melhor entendimento acerca dos processos envolvidos no comércio de produtos vegetais, foi o que norteou a escolha da temática do estágio.

O presente trabalho discorre sobre o estágio curricular obrigatório do curso de Agronomia na empresa Agronômica – Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria, localizada em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Realizado no período de 05 de abril a 10 de junho de 2021, sob a supervisão da bióloga M. Sc. Marisa Dalbosco, totalizando 300 horas de prática.

Dessa forma, as atividades realizadas nos setores técnicos da empresa estão descritas neste relatório, bem como técnicas de detecção e identificação de pragas. O principal objetivo do trabalho é demonstrar a importância do diagnóstico fitossanitário na defesa da sanidade vegetal e, com isso, a manutenção das transações comerciais entre os países.

2 CARACTERIZAÇÃO DA EMPRESA AGRONÔMICA

O Laboratório Agronômica é uma empresa privada que teve sua fundação efetivada no ano de 2006 pela Eng. Agr. M. Sc. Patrícia de Souza Teló e pelo Eng. Agr. PhD Valmir Duarte através da fusão dos seus respectivos empreendimentos – Consultoria e Clínica Vegetal e Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário da UFRGS. Desde o início da sua atuação, a empresa é credenciada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e está incluída na Rede Nacional de Laboratórios de Diagnóstico Fitossanitário.

Para que o laboratório obtenha o credenciamento, o MAPA exige a acreditação pelo CGCRE (Coordenação Geral de Acreditação)/INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia), o qual avalia a conformidade aos requisitos da ABNT NBR (Associação Brasileira de Normas Técnicas) ISO (Organização Internacional de Normalização)/IEC (Comissão Eletrotécnica Internacional) 17025 (Requisitos gerais para a competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração), utilizada no sistema de gestão da qualidade. Essa norma garante a competência técnica do laboratório, promove a confiabilidade nos seus resultados e confere reconhecimento em nível internacional.

A empresa dispõe de uma filial em Foz do Iguaçu, no Estado do Paraná, instalada em 2008 após a autorização do MAPA e realiza o diagnóstico fitossanitário em frutos importados. Além disso, o laboratório possui credenciamento junto ao Registro Nacional de Sementes e Mudanças (RENASSEM), solicitado no ano de 2019, para habilitação da atividade de qualidade de sementes.

Durante o período de estágio, a empresa passou por uma reestruturação, a qual expandiu seu espaço, ocupando não só o 12º andar como também o 13º andar do edifício Rossi Business Park, situado na Avenida Ipiranga, 7464, Bairro Jardim Botânico, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

O Laboratório Agronômica presta diversos serviços, os quais incluem análise de inoculantes e produtos de controle biológico; caracterização de pragas; análise de sementes; análise físico-química e microbiológica de açúcar; depósito e comercialização de agentes biológicos e cursos e treinamentos. O diagnóstico fitossanitário é a principal atividade econômica do laboratório e segue Instruções Normativas, específicas para cada tipo de mercadoria.

No que tange o comércio internacional de produtos e subprodutos agrícolas, os processos de importação e exportação correspondem a 90% das amostras encaminhadas ao laboratório para o diagnóstico fitossanitário. Além disso, a empresa atende o mercado

doméstico e recebe amostras para análise dos vinte e seis Estados do país, as quais envolvem os processos de análise clínica, levantamento oficial, trânsito interno e controle de qualidade.

O laboratório Agronômica tem como seu principal cliente o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que detém de Auditores Fiscais Federais Agropecuários responsáveis pela inspeção das cargas nos pontos de ingresso do país. São recolhidas amostras e lacradas para envio ao laboratório credenciado a fim de serem submetidas à análise para emissão do certificado fitossanitário.

Dessa forma, para o desenvolvimento operacional do laboratório são demandados profissionais qualificados e treinados. Atualmente, quarenta e cinco colaboradores compõem a equipe da empresa, cujas formações abrangem as áreas da agronomia, biologia, administração, ciências contábeis, química e gestão de T.I (Tecnologia da Informação). Os profissionais desempenham suas funções conforme as atribuições dos seguintes cargos: diretor, gerente, coordenador, analista, assistente, auxiliar e estagiário.

A estrutura interna da empresa é dividida em três grandes áreas – direção, administrativa e técnica. Esta é subdividida nos setores de triagem, herbologia, entomologia, acarologia, nematologia, micologia, virologia/biologia molecular, bacteriologia, análise de sementes e preparo de materiais, que presta apoio aos demais setores.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Ameaças fitossanitárias

A evolução do setor agrícola foi tão importante que o país deixou de ser importador de alimentos, na década de 70, para se tornar um dos maiores produtores e exportadores do mundo (BRASIL, 2018). O agronegócio no Brasil representa um dos principais setores que contribuem com o Produto Interno Bruto – PIB (VAZ & BALTAZAR, 2019). De acordo com cálculos do Cepea (Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada), em 2020 o agronegócio brasileiro participou em 26,6% no Produto Interno Bruto do Brasil, contra 20,5% em 2019. Enquanto em 1970 a participação do agro na soma dos bens e serviços do país era de 7,5% (UNIFAN, 2021).

Com o fluxo de exportação e aumento expressivo do trânsito de produtos vegetais, e ainda de pessoas, aumentam-se consideravelmente os riscos de entrada, estabelecimento e disseminação de novas pragas agrícolas em território brasileiro. Essas introduções representam um grande risco à produtividade, as quais podem provocar grandes prejuízos e colocar em risco toda cadeia produtiva de uma cultura ou produto (ARAÚJO, 2019). De acordo com a FAO, em definição aprovada pela Convenção Internacional para a Proteção dos Vegetais (CIPV), praga é qualquer espécie, raça ou biótipo de planta, animal ou agente patogênico, nocivo a plantas ou produtos vegetais (FAO, 2007; SILVA, 2013).

As pragas podem ser classificadas em pragas regulamentadas e pragas não regulamentadas. As pragas regulamentadas se dividem em pragas quarentenárias ausentes, pragas quarentenárias presentes e pragas não quarentenárias regulamentadas (PNQR) (FAO, 1997; SILVA, 2013). Pragmas quarentenárias são aquelas de importância econômica potencial para uma área em perigo, onde ainda não está presente, ou, quando presente, não se encontra amplamente distribuída e está sob controle oficial. Já o conceito de PNQR dado pela FAO é “uma praga não quarentenária cuja presença em plantas para plantio afeta o uso proposto dessas plantas, com um impacto econômico inaceitável e que esteja regulamentada dentro do território da parte contratante importadora” (FAO, 2007; SILVA, 2013).

Como resultado da grande diversidade de climas e solos, a agricultura brasileira é muito diversificada e, para cada planta cultivada, há um conjunto de pragas já presentes a ela associadas e um conjunto ainda maior de pragas que nunca foram detectadas, mas que podem vir a entrar no país (SILVA *et al.*, 2015).

São inúmeras as ameaças fitossanitárias que podem afetar o Brasil. Atualmente, segundo estudo do Ministério da Agricultura e do Abastecimento e Embrapa, existem mais de 500 espécies ou gêneros oficialmente regulamentados como pragas quarentenárias ausentes. Dentre essas foram priorizadas 20, das quais 5 possuem risco Muito Alto e 15 risco Alto de introdução (ARAÚJO, 2019).

Desde as décadas de 1980 e 1990, pragas emblemáticas têm causado prejuízos avassaladores à agricultura brasileira. Uma das mais relevantes foi o bicudo do algodoeiro *Anthonomus grandis* (Boheman), praga exótica - originária do México - que atravessou fronteiras, chegou ao Brasil em 1983, e se disseminou rapidamente pelas áreas produtoras de algodão, e causou grandes perdas à produção dessa cultura (PRAÇA, 2007; MARTIN NETO, 2016).

A broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), foi detectada em 1913 no Brasil, sendo considerada a pior praga da cafeicultura mundial. Pode-se considerar a primeira grande emergência fitossanitária para a agricultura brasileira, resultando no primeiro plano de contingência elaborado no Brasil, e que resultou na fundação do primeiro centro de referência em defesa sanitária vegetal, o Instituto Biológico, no estado de São Paulo (SILVA, 2006; BRASIL, 2018).

Nos anos 2000, a agricultura foi impactada com o surgimento da ferrugem da soja, causada pelo organismo quarentenário *Phakopsora pachyrhizi* (Sidow) e considerada atualmente uma das doenças mais severas da cultura da soja. Relatos indicam perdas de produtividade de até 90%, em diferentes regiões do mundo (HARTMAN *et al.*, 2005; MARTIN NETO *et al.*, 2016).

O caso mais recente de introdução de uma praga quarentenária de alto impacto no Brasil foi o da *Helicoverpa armigera* (Hübner), que causou perdas expressivas a cultura da soja, algodão e milho nas safras 2011/2012 e 2012/2013 (EMBRAPA, 2018).

3.2 Sanidade vegetal brasileira

Em decorrência do impacto causado por pragas sobre aspectos ambientais, sociais e econômicos, percebeu-se a necessidade de regular algumas atividades na agricultura, de modo a restringir ações que podem se tornar prejudiciais para a cadeia produtiva como um todo. Neste ponto que se faz necessário o estabelecimento de regras que balizem as ações dos envolvidos no agronegócio e a aplicação de medidas de cunho fitossanitário (SILVA *et al.*, 2015).

Em 1934, foi aprovado o regulamento da Defesa Sanitária Vegetal, que no primeiro artigo se refere ao controle do ingresso de vegetais considerados riscos, proíbe a importação, o comércio, o trânsito e a exportação de determinadas espécies; estabelece os controles nas fronteiras e outras providências de controle de pragas e doenças vegetais (BRASIL, 2018).

Durante a 6ª Conferência da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), em Roma, foi estabelecida a Convenção Internacional para Proteção dos Vegetais (CIPV), hoje com 184 membros. A Convenção tem como propósito assegurar ações para impedir a introdução e disseminação de pragas de vegetais e suas partes, além de promover medidas apropriadas para o seu controle (BRASIL, 2018).

No âmbito federal tem-se a Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), vinculada diretamente ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), como entidade responsável por conduzir a defesa agropecuária (BRASIL, 2018).

Considerando que cada país possui uma Organização Nacional de Proteção Fitossanitária, a ONPF do Brasil é representada pelo Departamento de Sanidade Vegetal (DSV) (Figura 1). A ONPF é o serviço oficial responsável pela operação e/ou supervisão (organização e gestão) do sistema de regulamentação de importação (FAO, 2004).

Por sua vez, o Departamento de Sanidade Vegetal, subordinado à SDA e vinculado ao MAPA (BRASIL, 2018), tem como responsabilidades a regulamentação de pragas, certificação fitossanitária, caracterização de áreas, capacitação e habilitação de profissionais e efetuar o estudo de Análise de Risco de Pragas (BRASIL, 2005).

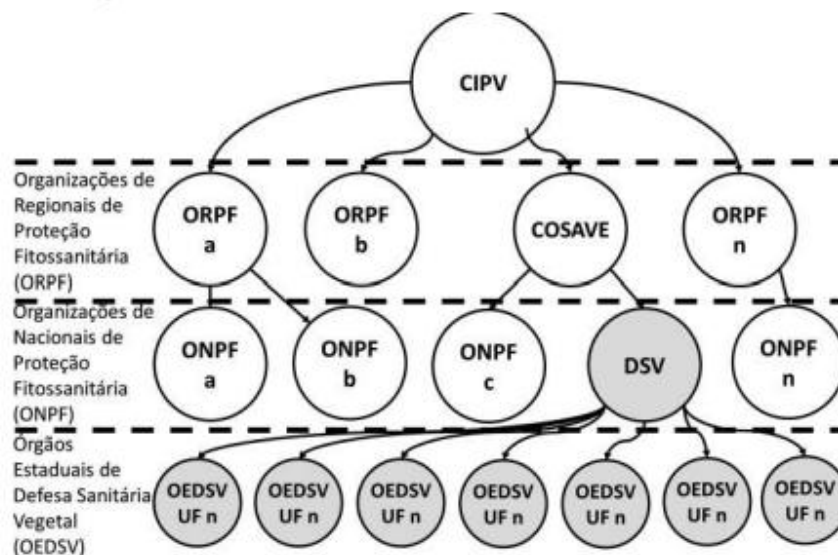
A Análise de Risco de Pragas - ARP é o processo de avaliação de evidências biológicas, científicas e econômicas para determinar se um organismo é considerado praga e quais as medidas fitossanitárias que devem ser adotadas para combatê-la (SDA, 2020).

Além disso, o MAPA instituiu o sistema de Vigilância Agropecuária Internacional (Vigiagro), subordinado à SDA, com o objetivo de regulamentar a fiscalização do trânsito internacional de vegetais, seus produtos e subprodutos (DUARTE & TELÓ, 2015).

Na instância intermediária, os Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal (OEDSV) desempenham as atividades de defesa agropecuária de cada Estado e do Distrito Federal (BRASIL, 2018).

Figura 1: Representação da estrutura recursiva que mostra o relacionamento entre os organismos internacionais (Convenção Internacional para Proteção dos Vegetais – CIPV, Organizações Regionais de Proteção Fitossanitária – ORPFs) o Departamento de Sanidade

Vegetal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (DSV/Mapa), como a Organização Nacional de Proteção Fitossanitária (ONPF) brasileira e os Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Vegetal (OEDSV)s em cada unidade da federação brasileira.



Fonte: Silva et al., 2015.

Dessa forma, no contexto de acesso a mercados, a Sanidade Vegetal é uma área de extrema importância junto a questões de abertura comercial, diversificação de pauta, estando relacionada ao Acordo de Medidas Sanitárias e Fitossanitárias no âmbito da Organização Mundial do Comércio (Acordo SPS/OMC), representada no MAPA, pelo Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas (DSV), da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) (SILVA *et al.*, 2015).

3.3 Diagnostico fitossanitário

A fim de contribuir para a transparência do comércio internacional são definidos Requisitos Fitossanitários após um processo de Análise de Risco de Pragas e dependem da categoria de risco do vegetal (SDA, 2020). Os requisitos fitossanitários comumente exigidos são a apresentação de laudos laboratoriais; declarações de origem (relacionados à área de produção); apresentação de certificados de tratamento fitossanitário; restrições de uso (SDA, 2020).

A verificação de conformidade de cargas importadas ou exportadas às normas estabelecidas pelo DSV é feita pelos fiscais federais agropecuários do Vigiagro. Essa verificação pode compreender, entre outras ações, a coleta de amostras para análise laboratorial. Nesse caso, as amostras coletadas pelos fiscais federais agropecuários devem ser

enviadas a um laboratório credenciado pelo MAPA para essa finalidade (DUARTE & TELÓ, 2015).

Dessa forma, os Laboratórios de Diagnósticos Fitossanitários (LDFs) credenciados pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (públicos ou privados) servem de apoio ao sistema de defesa sanitária vegetal. Os LDFs são os responsáveis pelo diagnóstico de pragas vegetais e emissão de laudo laboratorial (DUARTE & TELÓ, 2015). As solicitações de análises encaminhadas a esses laboratórios compreendem os processos de importação, exportação, trânsito interno, qualidade e clínica.

Em relação à detecção e identificação fitossanitária no processo de exportação, devem ser consideradas as exigências fitossanitárias de acordo com a Organização Nacional de Proteção Fitossanitária (ONPF) do país de destino do produto. A informação pode ser obtida no DSV. Esse processo depende da emissão de um certificado fitossanitário expedido pelo MAPA, para que se obtenha a licença de exportação, o “Import Permit”, documento em que constam as exigências do país que está importando, sendo intermediado por um Fiscal Federal Agropecuário (FFA). Caso haja restrição de pragas que precisem de análises laboratoriais, o FFA deverá coletar a amostra, lacrar e identificar para que seja enviado a um LDF (DUARTE & TELÓ, 2015).

A importação de vegetais, seus produtos e subprodutos pode ser condicionada ao cumprimento de diversos requisitos fitossanitários, de acordo com a categoria de risco fitossanitária (TELÓ, 2017). No Brasil, a fiscalização e o controle são executados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento por meio do Sistema de Vigilância Agropecuária Internacional (Vigiagro) nos pontos de ingresso (MAPA, 2020). A fase de verificação da conformidade dos requisitos fitossanitários estabelecidos entre os países é realizada por Auditores Fiscais Federais Agropecuários do MAPA, os quais recolhem as amostras e enviam para um dos laboratórios de diagnóstico fitossanitário credenciados à Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do MAPA, para a detecção e identificação de pragas regulamentadas (TELÓ, 2017).

O processo de trânsito interno de produtos vegetais é regulamentado de acordo com as normas de sanidade vegetal do MAPA. O Certificado Fitossanitário de Reexportação (CFR), Certificado Fitossanitário de Origem (CFO), Certificado Fitossanitário de Origem Consolidado (CFOC) e a Permissão de Trânsito de Vegetais (PTV) são os documentos exigidos no mercado interno para o trânsito de vegetais com restrição fitossanitária. Esses

materiais vegetais são enviados a um LDF para fundamentar esses certificados (DUARTE & TELÓ, 2015).

A qualidade sanitária de sementes e mudas faz parte do Sistema Nacional de Sementes e Mudas, obtida pela sua certificação. A certificação assegura a conformidade do processo de produção e controle de qualidade em todas as etapas do seu ciclo, o que inclui o conhecimento da origem genética e acompanhamento de gerações. O processo de certificação pode ser realizado pelo próprio MAPA ou por entidades credenciadas. O LDF está na relação de entidades certificadoras credenciadas pelo MAPA através do RENASEM - Registro Nacional de Sementes e Mudas (DUARTE & TELÓ, 2015).

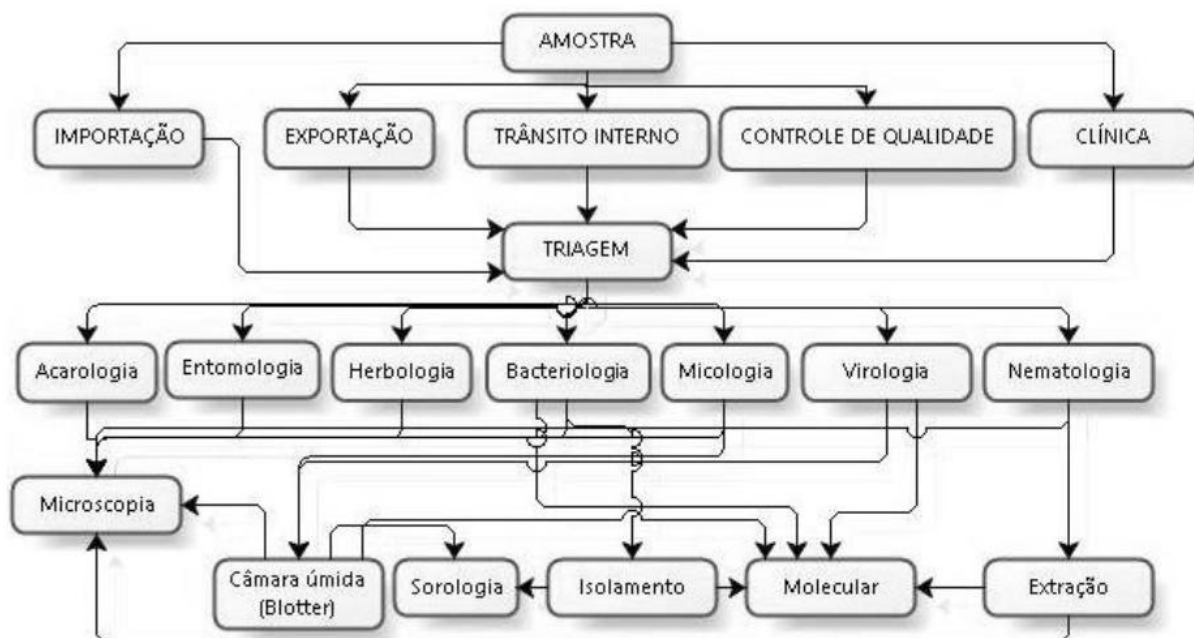
Por fim, materiais vegetais enviados ao laboratório por agricultores e demais interessados para determinar a causa de um problema em plantas, podendo ser doença ou injúria, são destinados ao serviço de análise clínica.

4 ATIVIDADES REALIZADAS

Para o desenvolvimento e acompanhamento das atividades práticas no período de estágio, foi estabelecido o tempo de permanência, em média, de duas semanas em cada setor técnico da empresa.

A execução das atividades de estágio nos diversos setores da empresa foi embasada no percurso da amostra (Figura 2), que inicia no setor de operações, responsável pelo recebimento da amostra, análise crítica, registro no sistema e encaminhamento da amostra para o setor de triagem, que a distribui para os seus respectivos setores técnicos – nematologia, micologia, bacteriologia e virologia, até a expedição do laudo.

Figura 2. Percurso de uma amostra submetida ao diagnóstico fitossanitário.



Fonte: Duarte e Teló, 2015.

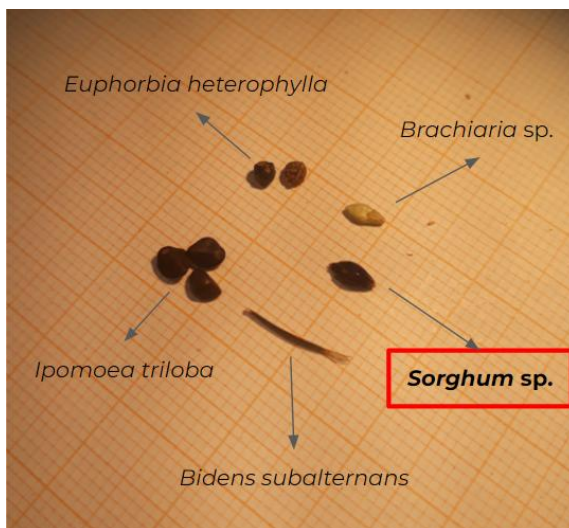
4.1 Setor de triagem

Após os procedimentos iniciais de recebimento, análise crítica e processamento do registro, a amostra é encaminhada ao setor de triagem para o preparo, separação e distribuição de alíquotas e deve ser observada pelo profissional a integridade de amostra, bem como seu registro no Sistema de Gestão do Agrônômica (SGA). Enquanto, as amostras fiscais, pertencentes ao processo de importação, são triadas para detectar sementes de plantas invasoras, insetos, ácaros e escleródios de fungos, as amostras não fiscais (no caso de exportações) são triadas para detecção das pragas de restrição do país importador. Já as

amostras de análise clínica, são encaminhadas aos profissionais treinados para realização da diagnose.

O setor é dividido em triagem I e II. Na triagem I é realizada a triagem de material seco como grãos, sementes, farelos. Busca-se identificar a presença de sementes de plantas invasoras (Figura 3), insetos e escleródios de fungos. Para isso, pode ser utilizada lupa de mesa e peneira. A amostra deve ser transferida para uma bandeja branca a fim de facilitar o exame visual (Figura 4).

Figura 3. Sementes de plantas invasoras sob microscopia encontradas em amostra de soja para exportação, com destaque para o *Sorghum* sp., uma praga quarentenária.



Fonte: Autora, 2021.

Figura 4. Triagem manual de amostra de sementes de melancia, sobre bandeja plástica branca.



Fonte: Autora, 2021.

Para a triagem II, são destinadas as amostras *in natura*, como: frutas, tubérculos, mudas, raízes, bulbos, substrato. O objetivo da triagem é a detecção de ácaros e insetos (Figura 5). Os insetos e ácaros detectados na amostra são acondicionados em frascos entomológicos com álcool 70% ou por meio da montagem de lâminas para determinação com base em análises morfológicas e utilização de chaves taxonômicas, sob o auxílio de microscópio óptico e lupa de mesa.

Figura 5. Presença de cochonilha em amostra de caqui.



Fonte: Autora, 2021.

Ao final do processo de triagem a amostra é separada em alíquota de trabalho e retirada uma alíquota de contraprova, a qual é armazenada na câmara úmida de 15 a 30 dias (no caso de amostra *in natura*) ou na câmara seca pelo período de seis meses, se for material seco, e são identificadas de acordo com o protocolo e número da amostra. Para a distribuição das alíquotas de trabalho, a empresa utiliza um “sistema de colmeia” em que essas ficam dispostas nos compartimentos pertencentes a cada setor para coleta e análise (Figura 6).

Durante os meses de abril, maio e junho (período de estágio) as amostras de maior recorrência foram de sementes, representando em média 60%, seguido de grãos e folhas. Nesse mesmo período, entre os produtos e subprodutos analisados, o milho e a soja lideraram as primeiras posições.

Figura 6. Sistema de distribuição de alíquotas para análises dos setores.



Fonte: Autora, 2021.

4.2 Setor de nematologia

A detecção de nematoides fitopatogénos nas amostras é realizada com base em dois métodos de extração – de Jenkins, 1964 e de Coolen & D’Herde, 1972.

O método de extração por Jenkins é utilizado em amostras de solo e substrato. O procedimento consiste em separar uma alíquota da amostra, colocá-la em um Becker e homogeneizar de forma a desagregar os torrões (Figura 7A), completar com água até a metade do recipiente e manter em repouso por aproximadamente 30 segundos. Após isso, o Becker com a suspensão é vertido sobre uma peneira de 500 mesh (Figura 7B). A suspensão de nematoide retida na peneira é recolhida para um tubo Falcon (Figura 7C).

Figura 7. Etapas do método de Jenkins. Amostra de solo sendo homogeneizada (A), passada pela peneira (B) e recolhida para tubo Falcon (C).



Fonte: Autora, 2021.

O método de Coolen & D'Herde é utilizado para extração de diferentes materiais vegetais, como sementes, raízes, grãos, folhas, mudas, tubérculos. O que difere esse método do primeiro é o processo de trituração da amostra. A amostra é triturada em liquidificador durante 10 a 20 segundos após a adição de água (Figura 8A). Todo o conteúdo é passado pela peneira de 60 mesh que está sobre outra peneira de 500 mesh (Figura 8B). A suspensão retida nesta última peneira é transferida para um tubo Falcon.

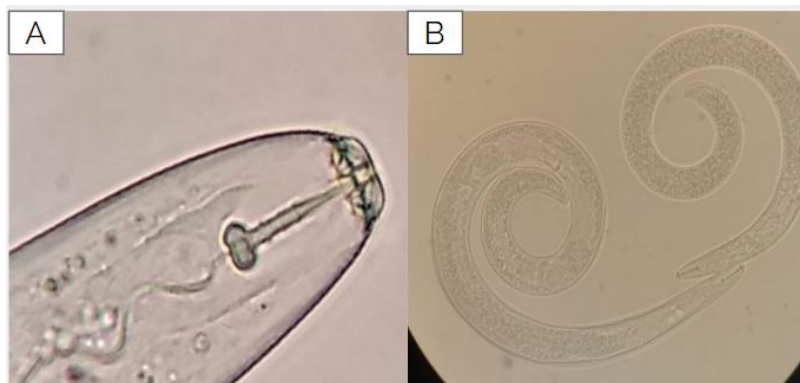
Figura 8. Método de Coolen & D'Herde. Amostra de orquídea (muda com raiz) triturada em liquidificador (A) e transferida para peneiras de 60 e 500 mesh (B).



Fonte: Autora, 2021.

Após a transferência da suspensão para tubo Falcon, os dois métodos seguem igualmente as etapas seguintes. Adiciona-se caulim (tem como função limpar a solução) no tubo Falcon que contém a suspensão e o submete à centrifugação de 1800 rpm por 5 minutos. O tubo é retirado da centrifuga e descartado o líquido sobrenadante. Em seguida, adiciona-se no tubo uma solução de sacarose, para separar por diferença de densidade específica os nematoides e o material vegetal, sendo levado para centrifugação de 1800 rpm novamente por 1 minuto. Posterior a isso, o líquido sobrenadante é vertido sobre peneira de 500 mesh e o que ficou retido deve ser recolhido para outro tubo para análise em microscópio óptico (Figura 9).

Figura 9. *Pratylenchus zae* (Graham) encontrado em solo cultivado com soja (A) e *Helicotylenchus dihystrera* (Cobb) em amostra de soja (B).



Fonte: Raul Coutinho.

4.3 Setor de micologia

Os principais métodos utilizados para detecção de fungos e oomicetos nos diferentes materiais vegetais são: suspensão de lavagem, *blotter test* e iscas biológicas.

O primeiro método consiste no exame da suspensão de lavagem das sementes (Figura 10), utilizados para identificar fungos que estão presentes na parte externa de sementes ou grãos. Para isso, é separada uma alíquota de 100 sementes/grãos da amostra e distribuída em quatro copos plásticos descartável de 200 ml. Adiciona-se água deionizada estéril até cobrir todo o material, que será levado para agitação mecânica em mesa agitadora a 200 rpm por 10 minutos. Após isso, a suspensão é vertida em tubos Falcon e levados para centrifuga por 15 minutos, a velocidade de 3000 rpm. Com isso, forma-se um pellet devido à deposição de sedimentos no fundo do tubo, o qual deve ser armazenado em geladeira até o momento da análise.

Figura 10. Amostra em mesa agitadora pelo método da suspensão de lavagem.

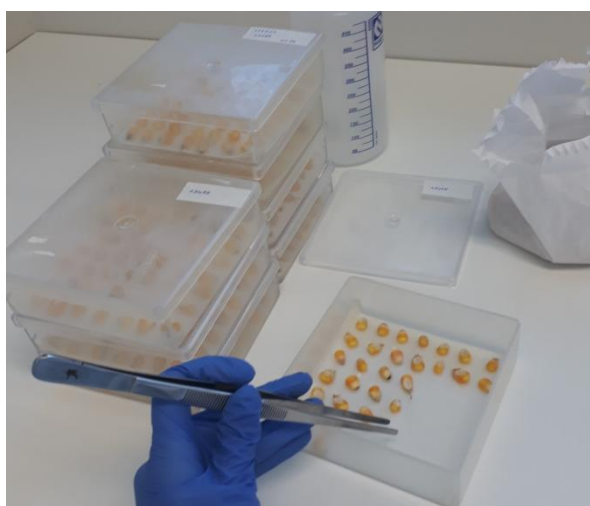


Fonte: Autora, 2021.

O *blotter test* é utilizado para detectar a presença de fungos patogênicos em diversos tipos de sementes e grãos (Figura 11). O método consiste em distribuir sementes/grãos sobre papel filtro esterilizado e umedecido com água deionizada em caixa Gerbox, de quatro a oito repetições por amostra (dependendo da cultura analisada), totalizando 400 sementes. As caixas são levadas para a câmara úmida e mantidas em incubação durante sete dias sob condições de iluminação com luz fluorescente branca, acondicionados à distância de 30 à 40 cm, com fotoperíodo de 12 h de luz/12 h de escuro, sob temperatura de 20 ± 2 °C.

No caso de sementes de gramíneas é utilizado o *blotter test* modificado, que consiste no congelamento dessas sementes a fim de reduzir o processo de germinação. O material é incubado sob as mesmas condições citadas anteriormente, no entanto pelo período de 24 horas. Após isso, as caixas são transportadas para o freezer e mantidas de 8 a 24 horas à temperatura de -15°C à -25°C .

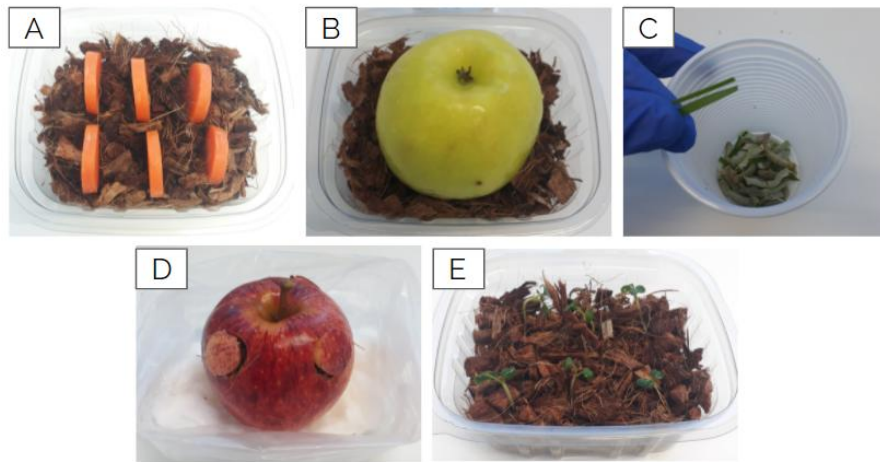
Figura 11. Distribuição de sementes de milho em caixa Gerbox pelo método Blotter test.



Fonte: Autora, 2021.

O método de iscas biológicas (Figura 12) é empregado para detecção de fungos e oomicetos de solo, substrato, turfas e raízes vegetais. O objetivo é atrair o patógeno para a isca. Para detecção de fungos e oomicetos são utilizadas diferentes espécies vegetais como isca. Para detecção de *Fusarium* sp. é utilizada a cenoura; para detecção dos gêneros *Phytophthora*, *Pythium* e *Fusarium*, a maçã verde; para *Phytophthora*, utiliza-se a braquiária; para o gênero *Fusarium*, maçã vermelha; e para o gênero *Rhizoctonia*, utiliza-se o rabanete. As armadilhas com maçã verde e braquiária, para detecção de *Phytophthora*, são seletivas para determinadas espécies desse gênero.

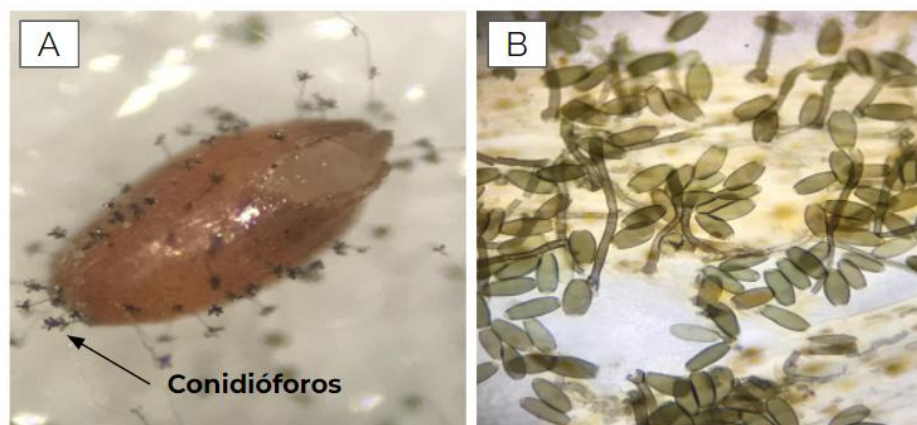
Figura 12. Iscas biológicas. Cenoura (A); Maçã verde (B); Braquiária (C); Maçã vermelha (D); Rabanete (E).



Fonte: Autora, 2021.

A avaliação das amostras pode ser realizada tanto de forma macroscópica, quanto microscópica (Figura 13). Na lupa são identificadas as estruturas do patógeno de forma macroscópica e para a identificação da espécie utiliza-se a microscopia. No entanto, para determinação de algumas espécies é necessário o uso de técnicas moleculares.

Figura 13. Detecção de *Bipolaris spicifera* (Bainier). Observam-se as estruturas do fungo de forma macroscópica, os conidióforos (A) e microscópica, os conídios (B) em sementes de grama bermuda (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.), importadas dos Estados Unidos.



Fonte: Larissa Gomes.

4.4 Setor de bacteriologia

Entre os diversos métodos empregados na detecção de bactérias fitopatogênicas, destacam-se: o isolamento em meio de cultura, os métodos bioquímicos, os métodos biológicos e os métodos complementares.

As etapas do método por isolamento em meio de cultura variam conforme as diferentes partes da planta. Por exemplo, para análise de folhas é utilizado o isolamento indireto. O órgão deve ser lavado com água e detergente neutro e, em seguida, secado com papel toalha. O tecido vegetal infectado é destacado a partir das bordas da lesão, onde a probabilidade da presença do patógeno é maior. Com o auxílio de um estilete flambado são retirados fragmentos do tecido afetado, não maiores que 5 mm x 5mm (Figura 14A). Os fragmentos são passados pelo álcool 70% por 20 a 30 segundos.

Após isso, esses são transferidos para uma solução de hipoclorito de sódio a 1%, para desinfestação, e realizada a lavagem com água deionizada para retirar o excesso de desinfetante (Figura 14B). Em seguida, os fragmentos são macerados dentro da água (Figura 14C), a fim de formar uma suspensão, mantendo-se em repouso de 20 a 30 minutos para que ocorra a passagem da bactéria do tecido infectado para a água. Por fim, com o auxílio de uma alça de platina, realiza-se a sementeira em meio de cultura em uma placa de Petri a partir da suspensão em forma de estrias para que ocorra a formação de colônias isoladas (Figura 14D). As placas devem ser vedadas e incubadas invertidamente a temperatura de $28 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 a 7 dias.

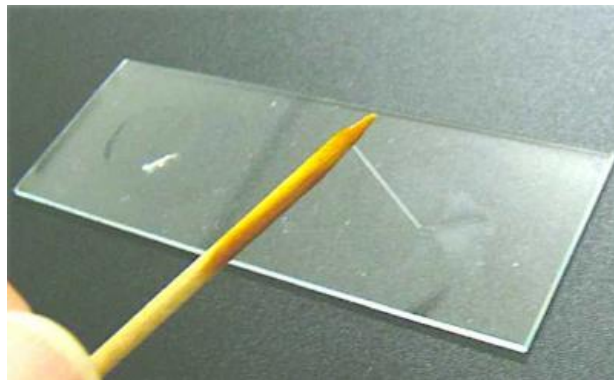
Figura 14. Etapas do método de isolamento em meio de cultura em folha de milho. Remoção dos fragmentos do tecido infectado (A); processo de desinfestação (B); maceração do tecido em água (C); e sementeira em meio de cultura (D).



Fonte: Autora, 2021.

A reação de KOH é um dos métodos bioquímicos utilizados para a confirmação de colônias suspeitas. As bactérias que se desenvolveram, por exemplo, a partir do isolamento em meio de cultura, são transferidas para uma lâmina com KOH 3% e homogeneizadas com um palito durante 5 a 15 segundos. Caso a preparação apresente viscosidade, isso indica a presença de bactéria Gram-negativa (Figura 15). Em contrapartida, manter aquosa e não aderir ao palito considera-se a bactéria Gram-positiva.

Figura 15. Identificação de bactéria Gram-negativa devido a formação da viscosidade na reação de KOH.

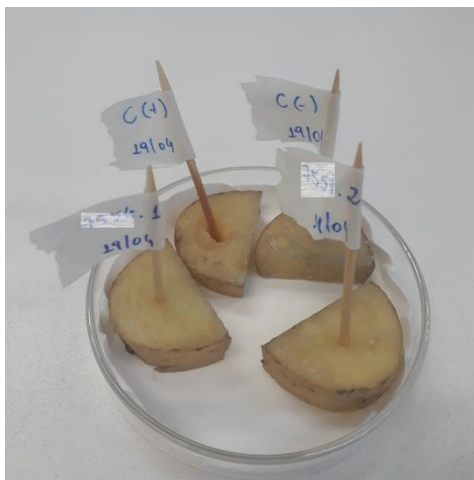


Fonte: Agronômica.

Entre os métodos biológicos, a reação de hipersensibilidade (HR) é utilizada para detecção de bactérias através do uso de plantas-teste, que podem ser: tabaco, tomate, pimentão e feijão. Por meio de uma seringa a suspensão bacteriana é injetada na planta-teste. Transcorrido o tempo de 24 horas, a reação é avaliada. Caso a planta apresente perda de turgidez seguida por necrose e dessecamento do tecido na região em que foi injetada a suspensão bacteriana, o resultado para bactéria fitopatogênica será positivo.

Quanto aos métodos complementares, o teste da podridão-mole (Figura 16) está entre os principais. É utilizado com maior frequência em órgãos de reserva, como rizomas, tubérculos, bulbos, frutos, os quais devem estar sadios e sem lesões de patógenos. Colônias de bactérias são introduzidas nos tecidos desses órgãos, sendo estes incubados em câmara úmida por 12 à 24 horas, à temperatura de 25-28 °C. O aparecimento da podridão mole indica reação positiva para bactéria fitopatogênica.

Figura 16. Procedimento do teste da podridão-mole em tubérculo de batata.



Fonte: Autora, 2021.

4.5 Setor de virologia

A maior parte das amostras direcionadas para o setor de virologia é submetida à análise por meio de técnicas moleculares. A biologia molecular é a principal ferramenta utilizada na detecção de vírus dos materiais vegetais, e também na detecção dos demais patógenos, quando necessário.

A primeira etapa do procedimento consiste na coleta mediante maceração da amostra, a qual pode ser efetuada pela prensa hidráulica (Figura 17A); com o uso de pistilo (Figura 17B), indicado para sementes muito pequenas; e com nitrogênio líquido, utilizado em amostras de tecidos vegetais como folhas, ramos e raízes (Figura 17C).

Figura 17. Etapa de coleta do material vegetal por meio da maceração pela prensa hidráulica (A), pistilo (B) e nitrogênio líquido (C).



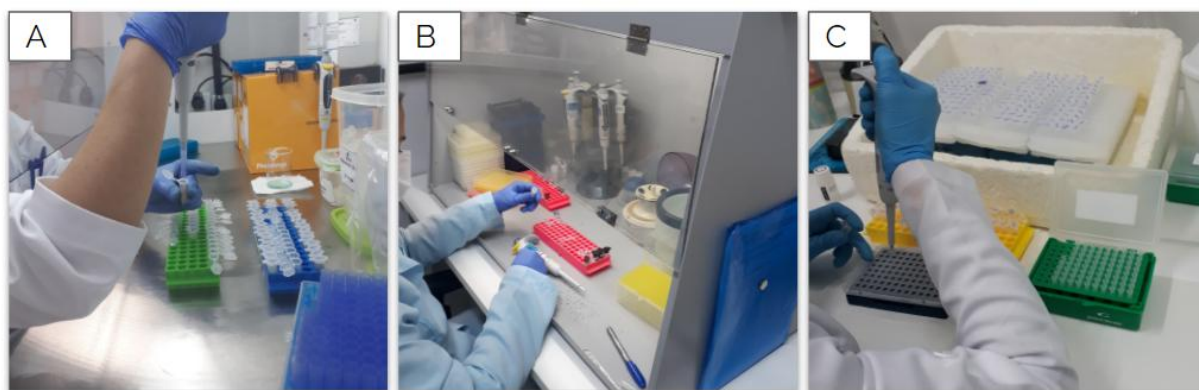
Fonte: Autora, 2021.

Posteriormente, realiza-se a extração de ácidos nucleicos das amostras com o uso dos kits comerciais como o Promega® e o Qiagen®, para extração de DNA e RNA, respectivamente, em cabine de fluxo laminar (Figura 18A). Após isso, é misturado ao material genético extraído o mix (Figura 18B), o qual é composto por enzimas, primer, sonda, MgCl₂ e tampão.

Então a amostra é disposta em um termociclador e submetida à análise através das técnicas moleculares – PCR (Reação da Polimerase em Cadeia), qPCR (Reação em cadeia da Polimerase quantitativa) e LAMP (Amplificação Isotérmica Mediada por Loop). No PCR convencional, realiza-se a leitura da amostra em eletroforese em gel de agarose; enquanto o qPCR permite que as etapas de amplificação e detecção ocorram simultaneamente, ou seja, o resultado é visualizado em tempo real durante o processo e, ainda, com maior precisão. Já o LAMP realiza todo o processo de amplificação de ácido nucleico em uma única faixa de temperatura, ao contrário das demais técnicas cuja reação ocorre em temperaturas diferentes.

Além das técnicas moleculares, também são utilizadas as técnicas sorológicas, contudo em menor proporção. Entre as técnicas de detecção sorológica, encontram-se o método ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática) e o ImmunoStrip.

Figura 18. Etapas de extração de ácidos nucleicos (A), preparo do mix (B) preparo da amostra (C).



Fonte: Autora, 2021.

Uma amostra de folhas de mamoeiro do Estado do Espírito Santo, pertencente ao processo de levantamento oficial, foi encaminhada ao laboratório com suspeita de meleira (Papaya meleira virus, PMeV) e mosaico (Papaya ringspot virus, PRSV) (Figura 19). O resultado da análise foi considerado positivo para a doença do mosaico.

Figura 19. Amostra de folha de mamão com sintomas de mosaico, com origem do Espírito Santo.



Fonte: Autora, 2021.

4.6 Setor de preparo de materiais

Este setor fornece apoio aos demais setores, uma vez que é responsável pela preparação de materiais utilizados nos ensaios laboratoriais, executando as atividades em constante aderência às normas do sistema de gestão da qualidade – ISO 17025. As ordens de produção pelos setores são realizadas através do Odin (um software), o qual é utilizado tanto como sistema de produção, quanto de controle de estoque de produtos e reagentes.

O setor realiza a produção de meio de cultura, solução, tampão, água deionizada, bem como a autoclavagem desses produtos e instrumentos de trabalho, como ponteira, tubo Falcon, tubo de ensaio, papel filtro, vidraria, a fim de manter sua esterilidade, garantindo a qualidade dos resultados. Além disso, todos os materiais recebidos, como primers, sondas, kits, reagentes e materiais de referência, devem ser validados pelo setor. Os materiais de referência servem tanto para controle positivo e negativo utilizado em testes, quanto para equipamentos certificados – PHmetro e condutivímetro, por exemplo. Todos os materiais produzidos possuem rastreabilidade, o que permite o resgate de algum material que acabe por contaminar, mantendo, assim, os padrões de controle de qualidade.

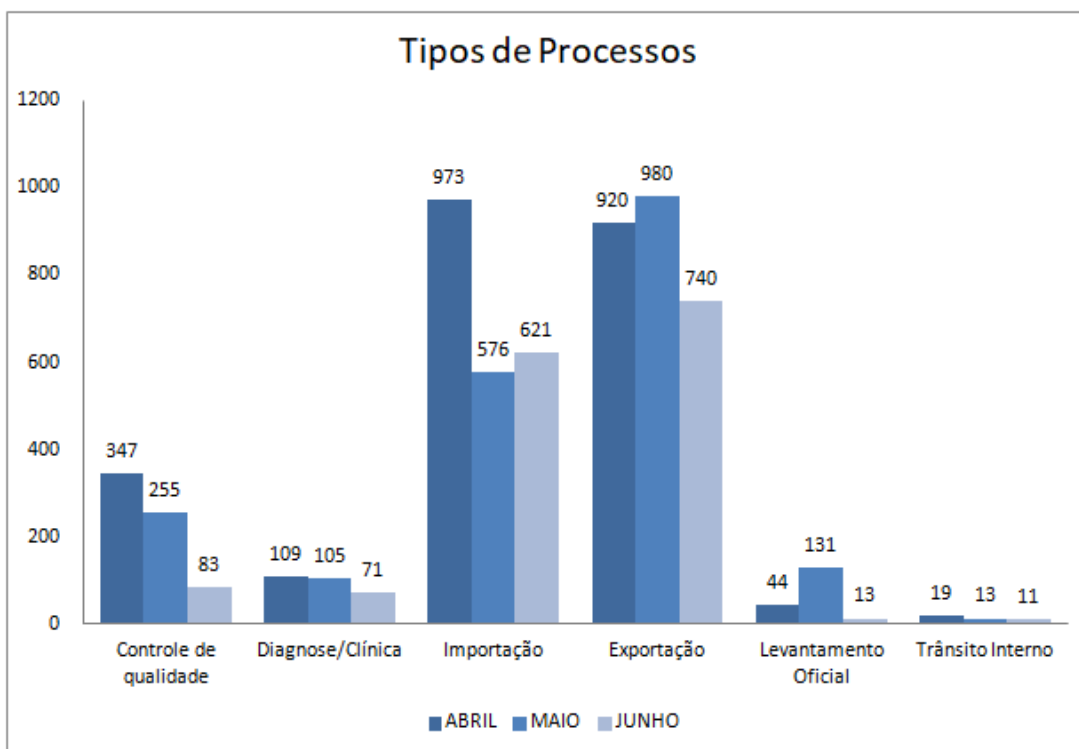
5 DISCUSSÃO

5.1 Diagnóstico fitossanitário

Considerando as amostras encaminhadas ao laboratório para diagnóstico fitossanitário, 99% são para diagnóstico laboratorial em comparação com o diagnóstico clínico. Para se ter uma demanda do mercado nacional para diagnóstico clínico é preciso que os agricultores e extensionistas utilizem esse serviço, pois geralmente os profissionais não recomendam o envio do material vegetal para um laboratório, limitando-se apenas a enunciar o nome da praga presente. Contudo, esse tipo de serviço necessita de interpretação e, tendo em vista sua importância, a empresa dispõe de profissionais treinados e que conhecem a realidade do campo que esse tipo de análise exige.

A diagnose correta é importante para orientar a implementação de medidas adequadas de controle, no tempo e magnitude oportunos, colaborando para uma agricultura sustentável, pois reduzem custos, impactos ambientais e protege o usuário evitando o manuseio desnecessário de defensivos químicos (REZENDE *et al.*, 2018; CANALE *et al.*, 2020). No entanto, é necessário destacar a importância do diagnóstico laboratorial para um resultado preciso e, com isso, definir medidas de controle adequadas e medidas preventivas em cultivos subsequentes.

Figura 20. Distribuição das amostras analisadas por categoria nos meses de abril, maio e junho de 2021.



Fonte: adaptado de Agrônômica, 2021.

De acordo com a Figura 20, os processos de importação e exportação tiveram a maior representatividade no período analisado. As solicitações de diagnóstico de pragas vegetais são menores no mercado interno. Ainda que os Fiscais Federais Agropecuários sejam os principais clientes do serviço prestado pelo Agrônômica, todo o processo de produção agrícola deveria ter e utilizar este suporte. Segundo DUARTE & TELÓ (2015), isto poderia propiciar um monitoramento de pragas e facilitar o manejo antes que elas começassem a se disseminar no território nacional.

5.2 Defesa sanitária vegetal no Brasil

A preocupação quanto ao ingresso de pragas exóticas no Brasil continua sendo um assunto extremamente atual, uma vez que o Brasil se apresenta como um país de dimensões continentais. Possui aproximadamente 7.500 Km de fronteira marítima, 15.000 Km de fronteira terrestre. A fronteira marítima é o oceano Atlântico, a terrestre faz divisa com dez países da América do Sul, cujos limites terrestres constituem-se de vazios, zonas pouco povoadas, de faixas estreitas e de fronteiras em linhas naturais e artificiais (CURTI, 2005).

O aumento do trânsito de produtos vegetais tem deixado os países e suas fronteiras vulneráveis ao ingresso de novas pragas. Ainda que exista no Brasil um sistema de Defesa Sanitária Vegetal que remonta a década de trinta, isso não tem sido suficiente para evitar a entrada de novas pragas no país.

Um programa de defesa vegetal é imprescindível para organizar ações que reduzam a possibilidade de entrada ou diminuam os impactos negativos causados por esses organismos. Esse tipo de prevenção pode significar economia de bilhões de dólares em medidas de controle, na manutenção de empregos no campo e na agroindústria e na minimização de impactos ambientais (EMBRAPA, 2016).

Como já mencionado, é de competência regimental do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) fiscalizar e inspecionar todos os produtos vegetais importados para garantir que não ofereçam risco sanitário ao país, enquanto em nível Estadual, este exercício é de responsabilidade das Agências Estaduais.

De acordo com a Embrapa Gestão Territorial (2015), foi desenvolvido um trabalho em que cruzou-se informações como a localização das principais culturas-alvo das pragas, das vias de ingresso internacionais, como portos, aeroportos e fronteira seca e dos postos de controle da Vigilância Agropecuária Internacional do Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento (Vigiagro/Mapa). O resultado foi um mapa no qual podem ser identificadas as áreas críticas para o ingresso de pragas e que exigirão mais atenção dos órgãos de defesa federal, estaduais e municipais (EMBRAPA, 2015).

O laboratório Agronômica, bem como os demais LDFs (Laboratórios de Diagnóstico Fitossanitário), servem de apoio ao sistema de defesa sanitária vegetal. Atualmente, existem apenas nove laboratórios credenciados pelo MAPA. Uma das dificuldades dos laboratórios serem credenciados pelo MAPA é devido à exigência de acreditação pelo INMETRO. Dessa forma, evidencia-se a necessidade de mais LDFs para suprir a demanda de produtos agrícolas que transitam nas fronteiras do país e também no território nacional, os quais são cruciais na estratégia da defesa sanitária vegetal brasileira.

Diante do exposto, ainda há muitas ações e medidas de proteção fitossanitárias que devem ser constantemente ajustadas que resulte em um nível de segurança adequado, como, por exemplo, maior fiscalização das fronteiras e maior número de fiscais agropecuários (considerando as dimensões do território nacional) e laboratórios credenciados.

Segundo CURTI (2005), para o exercício das funções de fiscalização é fundamental o trabalho de profissionais capacitados, com amplo conhecimento de normas, de regras e do teor dos acordos internacionais dos quais o país é signatário, bem como conhecimento prático e operacional.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O laboratório Agronômica, além de ser um dos únicos laboratórios privados que possui escopo integral para o diagnóstico de pragas vegetais e atende a demanda dos processos de todas as culturas, oferece um serviço ágil, rápido e eficiente na detecção de determinação de pragas em produtos vegetais que atravessam as fronteiras nacionais e no território nacional.

Considerando sua importante atividade de diagnóstico fitossanitário e a aderência aos requisitos da norma ISO 17025, a empresa conta com uma equipe de profissionais qualificada, os quais inicialmente passam por um programa de qualificação e ao longo do tempo são submetidos a treinamentos de forma constante, e continuamente buscando inovação, melhoria dos processos, investindo em tecnologia de ponta, com equipamentos de última geração para a realização dos testes. É perceptível o comprometimento e a seriedade empenhados no ofício.

Além disso, as amostras encaminhadas ao laboratório seguem um procedimento documentado, desde o seu recebimento até a emissão do laudo. A empresa ainda apresenta

como opção de serviço a análise Express, em que o resultado é emitido 24 horas após a entrada da amostra no laboratório por meio da técnica de PCR. Outro serviço oferecido pelo laboratório é a análise de sementes, uma atividade mais recente no laboratório e ainda com pouca demanda, e por esse motivo não foi contemplado neste trabalho.

Os ensaios realizados no laboratório seguem os embasados no POP – Procedimento Operacional Padrão, desenvolvido para cada setor pelos seus respectivos analistas. Todos os métodos conduzidos são respaldados por artigos, periódicos, livros. Por fim, o estágio curricular como oportunidade de vivenciar na prática os conhecimentos acadêmicos abordados durante a graduação, propiciou melhor entendimento dos processos envolvidos na detecção de pragas vegetais, acerca dos trâmites legais compreendidos no comércio de produtos agrícolas, dentro de um ambiente que dispõe de equipamentos de última geração.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, Marçílio Martins. Ações e relevância do sistema paranaense de proteção vegetal. In: **Anais do Congresso Brasileiro de Fitossanidade**. 2019.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Defesa agropecuária : histórico, ações e perspectivas**. / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : MAPA, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N°9, de março de 2005. Atribui ao Departamento de Sanidade Vegetal – DSV as responsabilidades e funções à Organização Nacional de Proteção Fitossanitária – ONPF do Brasil, conforme estabelecido no Art. IV da Convenção Internacional de Proteção dos Vegetais. **Diário Oficial da União**, Seção 1, Página 30. Brasília, DF, 2005.

CANALE, Maria Cristina; SABIAO, Rafael Roveri; WORDELL FILHO, João Américo. Clínica de diagnose de doenças de plantas do Cepaf: problemas mais comuns em 2018 e 2019. **Agropecuária Catarinense**, v. 33, n. 3, p. 22-24, 2020.

CURTI, J.B. 2005. **Defesa nacional e o agrobioterrorismo**. Rio de Janeiro, Escola Superior de Guerra, 2005. Trabalho Individual (Tema Proposto). Disponível em:<<http://defesavegetal.blogspot.com/2007/07/defesa-nacional-e-o-agrobioterrorismo.html>>. Acesso em: 22 de fevereiro de 2022.

DUARTE, V & TELÓ, P. S. Diagnóstico Fitossanitário no Contexto da Defesa Sanitária Vegetal. In: **Defesa Vegetal – Fundamentos, Ferramentas, Políticas e Perspectiva**. Belo Horizonte: Sugayama, Lopes-da-Silva, Ribeiro & Rangel. 2015. p 127- 135.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agrícola. **Pragas Quarentenárias: potenciais invasoras que ameaçam nossas lavouras**. 2016. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/11264643/pragas-quarentenarias-potenciais-invasoras-que-ameacam-nossas-lavouras>>. Acesso em: 22 de fevereiro de 2022.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agrícola. **Pragas quarentenárias é tema de nova página temática da Embrapa**. 2018. Disponível em:< <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/39645320/pragas-quarentenarias-e-tema-de-nova-pagina-tematica-da-embrapa>> Acesso em: 10 de fevereiro 2022.

FAO. Glossary on phytosanitary terms. International Standards for Phytosanitary Measures, 5. Rome, 2007.

FAO. International Plant Protection Convention. Rome, 1997.

FAO. NIMF nº 20 - Diretrizes para um sistema de regulamentação fitossanitária de importação. Roma, Itália: **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2004. Disponível em: < https://www.ippc.int/largefiles/NIMF_20_2004_PTFINAL_0.pdf>. Acesso em: 10 de fevereiro 2022.

FERREIRA, M. E. et al. Defesa Vegetal: Fundamentos, Ferramentas, Políticas E Perspectivas. 2015.

IEDE, EDSON TADEU; PENTEADO, SUSETE DO ROCIO CHIARELLO; WILSON, REIS FILHO. Pragas quarentenárias florestais: riscos e prevenção. **Floresta**, v. 30, n. 1/2, 2000.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sanidade vegetal. **Importações**. 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/sanidade-vegetal/importacao>>. Acesso em: 24 de janeiro 2022.

MARTIN NETO, Ladislau; GALERANI, Paulo Roberto; COSTA, Jefferson Luis da Silva. Pesquisa, desenvolvimento e inovações em face de ameaças sanitárias para a agropecuária brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. i-viii, 2016.

PRAÇA, L.B. *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae). Brasília: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. 2007. 23p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 206).

REZENDE; J.A.M.; MASSOLA JÚNIOR, N.S.; BEDENDO, I.P. Conceito de doença, sintomatologia e diagnose. In: **Manual de fitopatologia**. Amorim, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. 5 ed. Ouro Fino – MG – Agronômica Ceres, 2018. p. 27 - 43.

ROCHA, Daniel Gustavo Braz. Identificação de perfis de risco associados a envios importados com probabilidade de abrigar pragas quarentenárias. 2013.

SDA – Secretaria da Defesa Agropecuária. **Portfólio da defesa agropecuária brasileira**. Ações oficiais. 2020. Disponível em: <http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/03/Portif%C3%B3lio-SDA-consulta-interna.pdf>. Acesso em: 22 de janeiro 2022.

SILVA, André Felipe Carrapatoso Peralta da. A fiscalização do comércio de sementes e mudas como ferramenta de prevenção e controle de pragas dos vegetais. 2013.

SILVA, M. L. et al. Defesa vegetal: conceitos, escopo e importância estratégica. **Defesa vegetal: fundamentos, ferramentas, políticas e perspectivas. Sociedade Brasileira de Defesa Agropecuária, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil**, p. 46-88, 2015.

TELÓ, Patrícia de Souza. Arcabouço fitossanitário do Brasil versus escopo de laboratórios de diagnóstico fitossanitário. 2017.

UNIFAN – Centro Universitário Nobre de Feira de Santana. **A participação do agronegócio no PIB e nas exportações brasileiras.** 2021. Disponível em: <
<https://www.fan.com.br/site/2021/10/a-participacao-do-agronegocio-no-pib-e-nas-exportacoes-brasileiras>. Acesso em: 05 de fevereiro 2022.

VAZ, Ana Maria Rodrigues; BALTAZAR, Nathalia Cristina. O PROCESSO DE OCUPAÇÃO DO TERRITÓRIO BRASILEIRO: do período colonial à revolução verde. **Anais do IV Simpósio Regional de Geografia (2019)**, p. 115.