

**FACULDADE DE AGRONOMIA**

**CURSO DE AGRONOMIA**

**AGR99006 - DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

Roseméri Tavares da Silva

**00287414**

*Diagnóstico fitossanitário de materiais vegetais no laboratório Agrônômica*

Porto Alegre, novembro de 2023.

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

**Diagnóstico fitossanitário de materiais vegetais no laboratório**  
**Agrônômica**

Roseméri Tavares da Silva

**00287414**

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

Supervisor de campo do Estágio: Biól. M.Sc Vinicius Alves Ferreira

Orientador Acadêmico do Estágio: Profa. Dra. Simone Mundstock Jahnke

**COMISSÃO DE AVALIAÇÃO**

Profa. Renata Pereira da Cruz	Depto. Plantas de Lavoura (Coordenadora)
Prof. Alexandre de Mello Kessler	Depto. de Zootecnia
Prof. Clesio Gianello	Depto de Solos
Prof. José Antônio Martinelli	Depto, de Fitossanidade
Profa. Lucia Brandão Franke	Depto de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia
Prof. Sérgio Luiz Valente Tomasini	Depto de Horticultura e Silvicultura

Porto Alegre, novembro de 2023.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder a oportunidade de chegar até aqui.

À minha família, pelo incentivo e apoio incondicional ao longo desta jornada. Vocês foram os pilares para que esse sonho fosse realizado.

Ao meu parceiro de vida, Izaquiel Vaz, que sempre esteve ao meu lado durante a trajetória acadêmica e que não mediu esforços para que este dia chegasse.

À professora Simone Mundstock Jahnke, pela orientação e suporte na elaboração deste trabalho.

E por estar ao meu lado desde o início da graduação até a conclusão desta etapa.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e aos professores, pelos conhecimentos compartilhados e ensino de qualidade.

Ao laboratório Agrônoma e a toda equipe, pela oportunidade de estágio, paciência e ensinamentos.

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

## **RESUMO**

O Brasil está inserido no mercado internacional de commodities e destaca-se como um país exportador de produtos vegetais, importando, também, diversos produtos. O trânsito intenso do mercado exige um aperfeiçoamento constante na análise fitossanitária. Neste sentido, este trabalho descreve o estágio curricular obrigatório realizado na empresa Agronômica – Laboratório de Diagnostico Fitossanitário e Consultoria, localizada em Porto Alegre/RS, de 29 de maio a 11 de agosto de 2023. O principal objetivo foi acompanhar e assistir as atividades envolvidas nas análises dos materiais vegetais e os testes e métodos para detecção e identificação de pragas. A experiência possibilitou adquirir conhecimento nos diversos campos de atuação da empresa, a importância das barreiras fitossanitárias e o papel dos engenheiros agrônomos na área de fitossanidade.

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Amostras <i>in natura</i> passando por peneiramento (A); inspeção em estereomicroscópio (B); amostras secas passando por inspeção em lupa de mesa (C); amostra seca de menor tamanho, visualização em estereomicroscópio (D). Porto Alegre, 2023.	15
2 Preparo de amostra utilizando o método de Coolen & D’Herde: separação das raízes e solo (A); trituração em liquidificador (B); amostra depositada nas peneiras de 60 e 500 mesh (C); material retido em peneira menor sendo recolhido e depositado em tubo Falcon (D); visualização de lâmina sob microscópio óptico (E). Porto Alegre, 2023.	17
3 Técnicas de semeadura de bactérias: método de repique em estrias (A); repique em tapete (B); técnica com alça de Drigalski (C). Porto Alegre, 2023.	18
4 Testes básicos: teste demonstrando reação de catalase positiva (A); teste com formação de fio, indicando bactéria de Gram negativa (B). Porto Alegre, 2023.	19
5 Reação de hipersensibilidade: planta controle (A); planta com reação positiva (B). Porto Alegre, 2023.	19
6 Teste de patogenicidade em batata indicando podridão. Porto Alegre, 2023.	20
7 Metabolismo oxidativo fermentativo da glicose (O/F): teste indicando atividade aeróbia (A); teste indicando respiração anaeróbia facultativa (B). Porto Alegre, 2023.	21
8 Virologia e biologia molecular: prensa hidráulica para maceração de amostras (A); sala dos termocicladores (B); amostras em gel de agarose (C).	22

Porto Alegre, 2023.

- 9 Placa de Petri com *Bradyrhizobium japonicum* na diluição  $10^{-7}$  para teste de pureza(A), Placa de Petri com *B. japonicum* na diluição  $10^{-5}$  para realização de teste de concentração(B). Porto Alegre, 2023. 23
- 10 Técnica de cultura pura (A); técnica de lavagem de sementes: copos em mesa agitadora (B); blotter test utilizando sementes pré-germinadas de dendê (C); iscas biológicas (D). Porto Alegre, 2023. 24
- 11 Materiais preparados para autoclavagem (A); reagentes em frascos Erlenmeyer (B); dissolução através de agitadores magnéticos (C); meios de cultura para autoclavagem (D); meios vertidos em câmara de fluxo laminar (E). Porto Alegre, 2023. 25

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2 CARACTERIZAÇÃO DA INSTITUIÇÃO DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO.....</b>	<b>9</b>
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Barreiras fitossanitárias.....</b>	<b>10</b>
<b>3.2 Pragas quarentenárias .....</b>	<b>11</b>
<b>4 ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO .....</b>	<b>13</b>
<b>4.1 Setor de operações .....</b>	<b>13</b>
<b>4.2 Setor de triagem.....</b>	<b>14</b>
<b>4.3 Setor de nematologia .....</b>	<b>15</b>
<b>4.4 Setor de bacteriologia.....</b>	<b>17</b>
<b>4.5 Setor de virologia e biologia molecular .....</b>	<b>22</b>
<b>4.6 Setor de controle biológico + SVG .....</b>	<b>23</b>
<b>4.7 Setor de micologia.....</b>	<b>24</b>
<b>4.8 Setor de preparo de materiais .....</b>	<b>26</b>
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>27</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>30</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>31</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento do fluxo internacional de produtos vegetais, exige que os países busquem medidas para evitar a entrada e dispersão de pragas em seus territórios. O Brasil está entre os países que mais exportam produtos, principalmente as commodities, mas para atender à demanda de produtos que não podem ser produzidos no mercado interno, o país também é responsável por grandes volumes de importações, o que pode causar riscos, como a entrada de pragas advindas de outros países e vice-versa.

Visando evitar a entrada de pragas no Brasil, os produtos são controlados por fiscalização de trânsito de vegetais, através de medidas fitossanitárias, em que as análises requeridas são feitas por estabelecimentos oficiais credenciados junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). A empresa Agronômica – Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria está entre as credenciadas para realização de análises e emissão de laudos fitossanitários.

A escolha do estágio teve como propósito aprofundar os conhecimentos obtidos no curso de agronomia na área de fitossanidade e entender a dinâmica do trânsito de vegetais no mercado nacional e internacional, bem como os testes e análises envolvidos. O estágio foi realizado na empresa Agronômica, localizada na avenida Ipiranga nº 7464/conjunto 1202 em Porto Alegre/RS, durante o período de 29 de maio a 11 de agosto de 2023, com carga horária de 30 horas semanais. O objetivo foi adquirir conhecimento e experiência prática, possibilitando a compreensão no âmbito do diagnóstico fitossanitário e do papel dos profissionais da área, através da aplicação de variadas técnicas para diferentes tipos de materiais vegetais e pragas, visando a obtenção de resultados precisos e confiáveis. Assim, as principais atividades desenvolvidas durante esse período, foram o preparo das amostras e posterior utilização de métodos morfológicos, bioquímicos e moleculares para correta identificação dos materiais e pragas presentes.

## 2 CARACTERIZAÇÃO DA INSTITUIÇÃO DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO

O laboratório Agronômica é uma empresa privada da área de diagnóstico fitossanitário, fundada em 2006 através da fusão de dois empreendimentos, o Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e do Agronômica - Consultoria e Clínica Vegetal, gerenciados pelos Engenheiros Agrônomos Valmir Duarte e Patrícia de Souza Teló. O negócio começou em uma estrutura de pequeno porte localizada na rua Ibanez André Pithan Souza, Porto Alegre e conforme as demandas foram aumentando, a empresa teve que se adequar, mudando para um local com maior espaço na Av. Ipiranga, onde está localizada atualmente. Hoje a empresa também possui uma filial em Foz do Iguaçu, Paraná.

O Agronômica possui credenciamento junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) desde o início dos trabalhos e está entre os poucos laboratórios a possuir escopo completo para o diagnóstico fitossanitário de produtos e subprodutos agrícolas. Realiza análises de identificação de fungos, oomicetos, procariotas, vírus, viróides, insetos, ácaros, nematoides, e semente de espécies invasoras e subprodutos vegetais.

O laboratório é creditado pela Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro na Norma NBR ISO/IEC 17025 que dispõe sobre os Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração (BRASIL, 2019a). Possui registro no Sistema Integrado de Produtos e Estabelecimentos Agropecuários (SIPEAGRO) para análises em inoculantes e substratos e no Registro Nacional de Sementes e Mudanças (RENASSEM), como Laboratório de Análise de Sementes (LAS), Laboratório de Análise de Mudanças e o Laboratório Oficial de Análise de Sementes (LASO) este último, voltado para parâmetros de qualidade e sanidade em batata semente.

Os serviços oferecidos pelo laboratório são: diagnóstico fitossanitário, caracterização de pragas, sanidade e avaliação de teste de sementes, análise de inoculantes e produtos de controle biológico, testes de eficácia de produtos químicos e biológicos, análise físico-química e microbiológica de açúcar, cursos e treinamentos (online/presencial). Também conta com o depósito e comercialização de agente biológicos, através da coleção SVG (Santa Veronica Giuliani), uma estrutura para preservação de bactérias e fungos fitopatogênicos, insetos, nematoides, sementes de plantas invasoras e microrganismos de controle biológico.

No ano de 2022, o laboratório Agronômica foi adquirido pelo grupo Cotecna, uma empresa Suíça, fundada no ano de 1974, referência em serviços de teste, inspeção e certificação. Essa empresa possui mais de 100 escritórios em aproximadamente 50 países e vem buscando expansão das atividades no mercado de agronegócio brasileiro e serviços de trânsito

internacional de produtos agrícolas e mercadorias.

### **3 REFERENCIAL TEÓRICO**

#### **3.1 Barreiras fitossanitárias**

As medidas sanitárias e fitossanitárias têm por objetivo proteger a sanidade vegetal por meio de normas e procedimentos aplicados ao comércio internacional de produtos agrícolas, a fim de assegurar a qualidade dos alimentos consumidos no mercado interno e exportados, visando a proteção do território nacional contra pragas e doenças (SUGAYAMA et al., 2015). Assim, para evitar problemas no comércio internacional, no âmbito da Organização Mundial do Comércio (OMC) negociou-se o Acordo sobre Aplicação de Medidas Sanitárias e Fitossanitárias (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures – SPS), que define que as medidas adotadas pelos países tenham como referência os padrões estabelecidos pelas Organizações Internacionais mencionadas no acordo SPS entre elas: a comissão do Codex Alimentarius, a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e a Convenção Internacional de Proteção dos Vegetais (CIPV) (BRASIL, 2017).

No Brasil, cerca de 80% dos alimentos consumidos pela população é de origem exótica. Com isso, os riscos de entrada, contaminação e disseminação de pragas e doenças no território nacional são elevados. Por esses motivos, a adoção de métodos de controle e fiscalização baseados em normas internacionais tornam-se necessárias para garantir a comercialização segura dos produtos vegetais (EMBRAPA, 2023).

A regulamentação e classificação dos produtos vegetais de trânsito internacional comercializados no Brasil é feita pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e ocorre nos portos, aeroportos e postos de fronteiras (BRASIL, 2022a). O departamento responsável pela classificação de produtos de origem vegetal do MAPA é coordenado e fiscalizado pelo Departamento de Inspeção de Origem Vegetal (DIPOV) que classifica e certifica os produtos importados. Já a fiscalização de instituições responsáveis pelo preparo, embalagens e comercialização de produtos vegetais de consumo, é realizada pela Coordenação-Geral de Qualidade Vegetal (CGQV) do DIPOV (BRASIL, 2023b).

Para a exportação de produtos brasileiros de origem vegetal a Instrução Normativa nº 71, de 13 de novembro de 2018, exige a emissão do certificado fitossanitário (CF) e/ou certificado fitossanitário de reexportação (CFR). O CF atesta o cumprimento das exigências fitossanitárias do país importador, e o CFR possui a mesma finalidade do CF, aplicando-se em produtos vegetais não produzidos no Brasil e que são exportados para outro país. Os

procedimentos para emissão dos certificados, são baseados em diretrizes internacionais designadas pela Convenção Internacional de Proteção dos Vegetais (CIPV) e supervisionada pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) (BRASIL, 2019b). No Brasil, são os Auditores Fiscais Federais Agropecuários (AFFAs) que através da Vigilância Agropecuária Internacional (VIGIAGRO) realizam os procedimentos de fiscalização, avaliando a entrada e saída de produtos agropecuários no país. Essas autorizações são decididas com base em uma análise de risco, na qual leva-se em consideração o tipo de produto, ocorrências de patógenos associados com base no país de origem e a sua existência no país de destino (ANFFA SINDICAL, 2021).

Para garantir que os produtos comercializados estejam em conformidade com as regulamentações nacionais e internacionais, os laboratórios credenciados pelo MAPA realizam as análises fitossanitárias, a fim de assegurar a qualidade e segurança dos alimentos. Atualmente, existem nove laboratórios credenciados, dentre eles: Instituto Mineiro de Agropecuária (MG), Centro de Indexação de Vírus de MG (MG), Centro de Diagnóstico “Marcos Enrietii” (PR), Intecso (PR), Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário – UFRRJ (RJ), Agrônômica – Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria (RS), UNISC – Central Analítica (RS), Instituto Biológico de São Paulo (SP) e Laboratório Agrobiol (SP) (BRASIL, 2023a)

### **3.2 Pragas quarentenárias**

O conceito de praga é aplicável a qualquer espécie, raça ou biótipo de planta, animal ou agente patogênico que danifique plantas ou produtos vegetais e resulte em perdas econômicas ao produtor (EMBRAPA, 2023; MEDEIROS et al., 2011).

As culturas agrícolas são afetadas por diversas pragas, que geram danos e prejuízos na produção e biodiversidade. Por esses motivos, os governos e organizações internacionais possuem regulamentações e restrições para controlar a sua disseminação (CHINELATO, 2023).

O Brasil, como membro da Organização Nacional de Proteção Fitossanitária (ONPF), possui lista de pragas quarentenárias do país, a qual deve ser constantemente atualizada. A lista é subdividida em pragas quarentenárias ausentes (PQAs), que não tem ocorrência no Brasil e pragas quarentenárias presentes (PQPs), as quais já se encontram no país, mas não distribuídas em todos os estados e regiões, estando sob controle oficial (ANFFA SINDICAL, 2021). A lista de pragas quarentenárias regulamentadas é disponibilizada pelo MAPA e conta com mais de 700 organismos, incluindo insetos, ácaros, fungos, bactérias, vírus, nematoides e plantas

invasoras (ANFFA SINDICAL, 2021). Tendo em vista que as ameaças provocadas por cada praga são diferentes, conforme as características de sobrevivência, dispersão e potencial de disseminação, os estudos e medidas para defesa fitossanitária são elaborados individualmente. A inclusão de novas pragas à lista oficial de PQAs é feita por meio de uma Análise de Risco de Praga (ARP), processo sob responsabilidade do Departamento de Sanidade Vegetal (DSV) (FIDELIS et al., 2018). A Embrapa, juntamente com o MAPA, elaborou uma lista de priorização, com 20 pragas quarentenárias ausentes, que são prioritárias para ações de vigilância e pesquisa, e que apresentam maior risco para a agropecuária brasileira neste momento. Para a priorização, foi utilizada a metodologia Analytic Hierarchy Process (AHP), com o ranqueamento das pragas de maior risco, levando em consideração os critérios de entrada, estabelecimento e dispersão e impacto estimado (EMBRAPA, 2023).

A introdução de pragas quarentenárias tem aumentado no Brasil nas últimas décadas, sendo que até 1960 eram detectadas por ano em torno de uma praga, já nos anos 90 esse número subiu para duas e na última década são detectadas cerca de quatro novas pragas por ano. Fatores que estão associados ao aumento de áreas cultivadas e trânsito internacional de pessoas, animais e materiais vegetais. A introdução de pragas quarentenárias no país representa um desafio significativo para a agricultura e trânsito de produtos. Um exemplo de alto impacto econômico foi *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Hymenoptera: Noctuidae), que entrou no país causando danos expressivos nas safras de soja, algodão e milho entre 2011 e 2013 (EMBRAPA, 2023).

Outro caso é *Candidatus Liberibacter* spp., causador do HLB ou greening dos citros, detectado em 2004. Essa doença impacta severamente a produção de citros, e já se encontra distribuída em várias regiões do país, representando uma ameaça significativa para a indústria citrícola brasileira. No Rio Grande do Sul, existe o Plano de Exclusão e Contingência ao HLB, que visa impedir o ingresso e garantir uma rápida resposta em caso de detecção do *Candidatus Liberibacter* spp. no estado, contemplando as diretrizes estabelecidas pela Portaria MAPA nº 317/2021 (BRASIL, 2022b).

A ferrugem-asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow) é outra praga introduzida, que no ano 2001 ocasionou perdas de até 70% na safra de soja e ainda repercute na produção nacional. Além dos impactos econômicos, as pragas quarentenárias também geram implicações sociais. É o caso do bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis* Boheman) (Coleoptera: Curculionidae), originário do México, que entrou no Brasil em 1983, resultando em perdas significativas e tornando inviável a permanência de pequenos agricultores na atividade devido aos altos custos de controle. Isso levou a uma reconfiguração substancial na produção de algodão no país (EMBRAPA, 2023). Com a introdução da vassoura-de-bruxa

(*Moniliophthora perniciosa* (Stahel)) a partir de 1989 nas plantações de cacau na Bahia, ocorreram perdas da produção de até 90%, o que gerou impactos sociais, desencadeando uma crise na região e levando o Brasil a perder sua posição proeminente no cultivo de cacau. Essa doença ainda persiste, representando um desafio contínuo para os produtores e pesquisadores (EMBRAPA, 2023; SODRÉ, 2017).

Estes eventos destacam a vulnerabilidade da agricultura brasileira diante das pragas, ressaltando a importância da vigilância fitossanitária e medidas preventivas.

#### **4 ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO**

Para o acompanhamento e execução das atividades, o estágio foi conduzido conforme cronograma elaborado por cada um dos setores da empresa, permanecendo por 5 dias em cada setor da área técnica do laboratório. A área técnica do laboratório é dividida em setores: setor de triagem, nematologia, bacteriologia, micologia, virologia e biologia molecular, controle biológico + SVG e o setor de preparo de materiais, que presta suporte aos demais. Ao final houve um período maior, no setor de micologia.

As amostras de materiais recebidos na empresa passam pelos diferentes setores. Na chegada no laboratório, os pacotes são recebidos pelo setor de operações, onde é feita a conferência dos materiais e cadastro no sistema. Após os procedimentos, as amostras são liberadas para os setores de controle biológico + SVG, devido as condições controladas (temperatura e umidade) e para o setor de triagem para análises de herbologia, entomologia, acarologia e posterior separação das alíquotas para os demais setores da área técnica.

##### **4.1 Setor de operações**

O setor de operações é considerado um setor intermediário dentro da empresa, pois atua tanto na área técnica quanto na administrativa. É responsável pelo atendimento aos clientes juntamente com o setor comercial, recebimento dos pacotes/materiais, registro no SGA (Sistema de Gerenciamento do Agrônômica), conferência de documentação, identificação (protocolo e amostra) e liberação para o setor de triagem.

Nesse setor, os processos iniciam e terminam, pois além de todo o cadastramento dos materiais, ocorre também o controle de prazos, conferência de resultados e liberação dos laudos finais.

## 4.2 Setor de triagem

Após a liberação das amostras pelo setor de operações, o setor de triagem efetua a consulta via plataforma sistema de gestão do agrônômica (SGA), e confere quais materiais já estão disponíveis para análise.

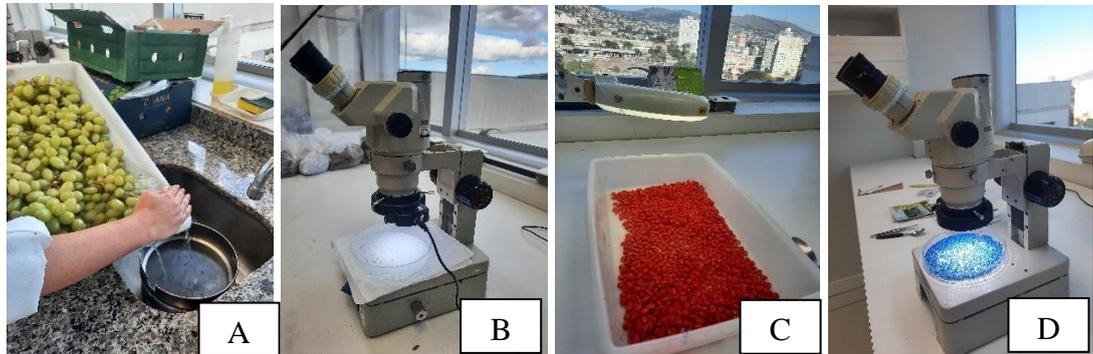
As amostras são classificadas em amostras secas e amostras *in natura*. As amostras secas são: sementes, grãos, farelo, açúcar, folhas de tabaco seco, etc. Dentre as amostras *in natura* estão as frutas, bulbos, tubérculos e outros. As análises são feitas conforme os prazos e grau de prioridade. Os métodos de detecção utilizados são através do peneiramento, uso de lupas de mesa, inspeção em estereomicroscópio e inspeção visual (Figura 1).

Para as amostras secas, as inspeções são feitas com auxílio de lupas de mesa e estereomicroscópio e, após a conclusão da triagem, as amostras são homogeneizadas e separadas as subamostras e contraprovas. As subamostras são etiquetadas contendo protocolo, número da amostra, setor de destino (micologia, bacteriologia, nematologia e virologia) e depositadas no armário de distribuição (colmeia). Após a separação, é sinalizado via SGA o término da análise e a liberação, para que os demais setores sejam avisados e possam dar sequência.

Para amostras *in natura* como frutos pequenos, é recomendada a técnica de peneiramento para detecção de ácaros e insetos de menor porte. Nessa, é feita a lavagem com água abundante sobre o fruto e despejada sobre as peneiras granulométricas. Após isso, se faz a inspeção em estereomicroscópio e qualquer material estranho deve ser acondicionado em frascos ou feita a montagem de lâminas e, posteriormente, encaminhado para o especialista responsável da área (entomologista, acarologista ou herbologista) para a identificação.

Durante o processo, tanto para as amostras secas como as *in natura*, são separadas e armazenadas as contraprovas, que são subamostras retiradas dos materiais e utilizadas em casos de necessidade de repetição de algum ensaio, auditorias, solicitação do cliente e demandas internas do laboratório. O setor possui duas câmaras para o armazenamento das contraprovas, a câmara seca e a câmara fria, onde as mesmas permanecem guardadas por um determinado período a depender do tipo de material.

Figura 1 - Amostras *in natura* passando por peneiramento (A); inspeção em estereomicroscópio (B); amostras secas passando por inspeção em lupa de mesa (C); amostra seca de menor tamanho, visualização em estereomicroscópio (D). Porto Alegre, 2023.



Fonte: A autora, 2023.

### 4.3 Setor de nematologia

Após a separação das alíquotas pela triagem, os materiais que necessitam de análise de nematoides são disponibilizados no armário de distribuição (colmeia) e também sinalizados quanto à disponibilidade do protocolo via sistema SGA.

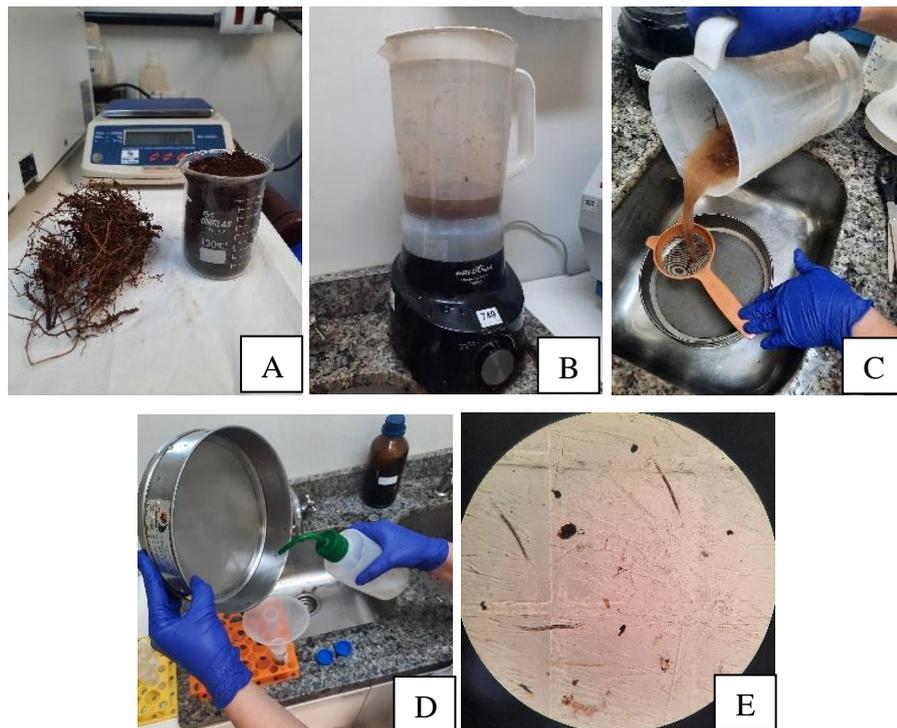
No setor de nematologia as amostras são conferidas, armazenadas e feita a sua extração conforme o grau de urgência de cada material. Para a escolha dos métodos de extração, deve-se levar em consideração as espécies de nematoides, suas características, natureza e a condição da amostra. Os principais ensaios utilizados pelo setor são inspeção visual, observação morfológica (microscópio), método de Coolen & D'Herde, método de Jenkins e técnicas de biologia molecular (PCR, e sequenciamento).

Para a extração, são utilizados tubos do tipo Falcon, identificados com o número de protocolo e número de amostra, ficando sobre raques de cores diferentes para sinalizar as etapas do processo. A raque de cor laranja indica que o processo está em andamento e a de cor amarela, que já foi finalizado.

O método de Coolen & D'Herde é empregado para extração de nematoides (Figura 2), no qual é feita a trituração em liquidificador. O preparo da amostra depende do tipo de material. Para sementes e grãos, o processo é mais simples, adicionando água e levando a trituração. Já no caso de raízes, é feita separação, pesagem, lavagem, corte em tamanhos menores (aproximadamente 2 cm), deposição de água e posterior trituração. As amostras são trituradas por cerca de 15 segundos e, após, o material passa pelo peneiramento com a utilização de peneiras de 60 mesh sobre 500 mesh. O material que fica retido na peneira de menor granulometria é recolhido com auxílio de água corrente e uma pisseta e transferido para os tubos

Falcon. É adicionado junto ao tubo, o caulim. Feita a pesagem e balanceamento, os tubos são levados para a centrífuga por 5 minutos. Após a centrifugação, é retirado o líquido do tubo e colocada a sacarose junto ao material que ficou retido ao fundo. Nesse caso também são necessários o balanceamento e a centrifugação por 1 minuto. Por diferença de densidade, os nematoides são separados dos materiais e ficam em suspensão junto à sacarose. Ao adicionar a sacarose deve-se ter o cuidado quanto ao tempo, visto que essa pode deformar os nematoides. Ao fim da centrifugação, o líquido deve ser peneirado em peneiras de 500 mesh, lavado em água corrente (retirar a sacarose) e, com auxílio de uma pisseta, despejar o líquido nos tubos Falcon para posterior avaliação da amostra.

Figura 2 - Preparo de amostra utilizando o método de Coolen & D'Herde: separação das raízes e solo (A); trituração em liquidificador (B); amostra depositada nas peneiras de 60 e 500 mesh (C); material retido em peneira menor sendo recolhido e depositado em tubo Falcon (D); visualização de lâmina sob microscópio óptico (E). Porto Alegre, 2023.



Fonte: A autora, 2023.

O método de Jenkins é utilizado para o processamento de solo. Primeiramente é separada a quantidade de solo que será necessária, no geral entre 100 e 300 ml, o material é colocado em um Becker de vidro, adicionada água e feita a homogeneização, a fim de que os nematoides fiquem na suspensão. Após essa etapa, deve-se aguardar 30 segundos para que ocorra a separação, sendo que a parte mais pesada (terra, areia) ficará depositada ao fundo do

recipiente. Em seguida deve-se escorrer o líquido em suspensão em peneira de 60 mesh sobre a de 500 mesh para reter o material orgânico, recolher com um auxílio de uma pisseta o material retido e depositar em um tubo Falcon. Os próximos passos do processo seguem conforme o método de Coolen & D'Herde.

No momento da avaliação é transferido o líquido contido no tubo Falcon para uma lâmina e analisada em microscópio a presença de nematoides. Para materiais que necessitam de análise complementar e identificação de espécie, são preparados pelo setor de nematologia soluções tampão de extração (WLB) e gelatina 1% (pescagem, corte) e enviados para o setor de biologia molecular.

Após a análise da amostra, o resultado final é liberado no sistema SGA e as informações são inseridas em formulários de controle, onde é sinalizada a ausência ou a presença de nematoides, sua identificação e quantificação.

#### **4.4 Setor de bacteriologia**

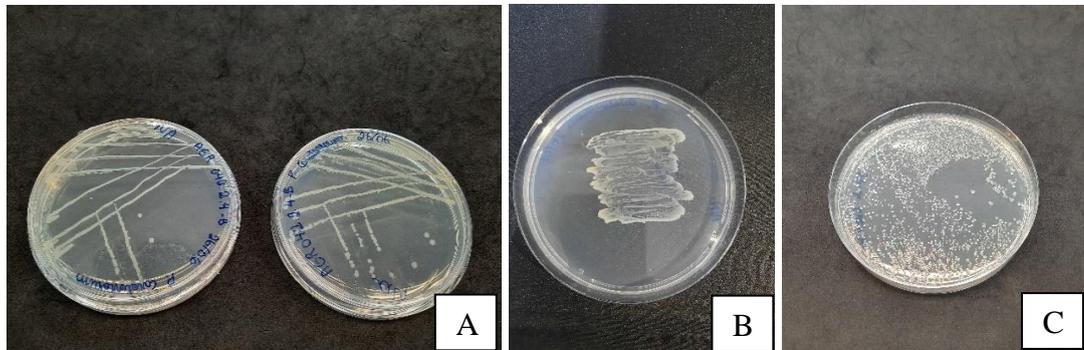
O setor de Bacteriologia é responsável pelo estudo da morfologia, identificação e quantificação de bactérias, define os melhores procedimentos de análise de acordo com o material da amostra e a bactéria em questão, podendo ser utilizados métodos morfológicos biológicos, bioquímicos, complementares e moleculares para correta identificação.

Dentre os principais testes realizados pelo setor, estão as técnicas de semeadura e isolamento de bactérias, pelo método de repique em estrias e por diluição seriada e espalhamento com alça de Drigalski. Também é feito o repique de tapetes para posterior uso em outros testes. Para o método de estrias, os plaqueamentos se dão em câmara de fluxo laminar esterilizada, utilizando alça de repicagem, lamparina para flambagem e placas de Petri com meio de cultura NA. Posteriormente é feita a incubação das placas por um período de 2 - 7 dias (varia conforme a bactéria). Podem ser realizadas estrias simples e compostas (Figura 3A), o objetivo é de possibilitar o crescimento de colônias isoladas, para posterior avaliação de características morfológicas e realização dos testes seguintes. Para a técnica de tapetes (Figura 3B), segue-se os mesmos procedimentos citados anteriormente, mas a disposição e o crescimento nas placas diferem.

A técnica com alça de Drigalski (Figura 3C), é utilizada nos casos onde se quer fazer a quantificação das colônias e também para alguns materiais como solo e substratos. É conduzida em câmara de fluxo laminar e é necessária a diluição em série da amostra em tubos de ensaio esterilizados. Após a diluição, utilizando um pipetador, transfere-se as últimas diluições para a placa de Petri com meio de cultura e com o auxílio de alça de Drigalski já flambada, espalha-

se a suspensão e após as placas vão para incubação.

Figura 3 - Técnicas de semeadura de bactérias: método de repique em estrias (A); repique em tapete (B); técnica com alça de Drigalski (C). Porto Alegre, 2023.



Fonte: A autora, 2023.

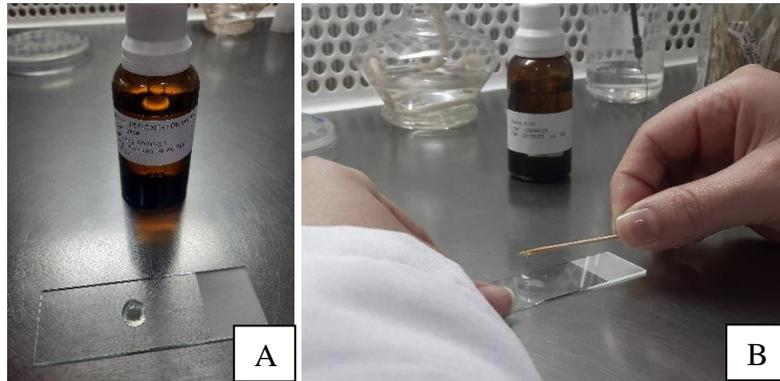
Dentre os métodos bioquímicos, os testes mais utilizados são os básicos, assim chamados pelo setor, como teste de oxidase, catalase, reação KOH ou teste de Gram, que são realizados a partir das colônias formadas nos plaqueamentos executados anteriormente.

Para o teste de oxidase, são utilizadas tiras de oxidase as quais são acondicionadas em fluxo laminar para entrar em temperatura ambiente. Essas possuem uma região específica na base para a reação. Com o auxílio de palito de madeira transfere-se parte da colônia de bactérias para a região da base da fita e, se o resultado for positivo, a região onde foi depositada a bactéria ficará com uma coloração violeta. No caso de negativo, não mudará a cor.

Para a catalase (Figura 4A), coloca-se uma gota de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) sobre o centro de uma lâmina de microscopia e com o uso de um palito de madeira (esterilizado) transfere-se uma parte da cultura bacteriana das placas e adiciona-se na gota. Nesse teste, se ocorrer a formação de bolhas afere-se que a bactéria possui catalase positiva, se não formar, indica catalase negativa.

No teste de reação KOH ou teste de Gram (Figura 4B), busca-se identificar se a bactéria é Gram negativa ou Gram positiva. Para esse, é depositado uma gota de KOH 3% sobre a lâmina, e com um auxílio de um palito (esterilizado) é transferido parte do crescimento bacteriano para a lâmina, e feita a homogeneização do material. Se a mistura ficar viscosa e o material aderir ao palito (formar fio), considera-se uma bactéria Gram negativa. Caso a mesma permaneça aquosa e não aderir ao palito, é uma Gram positiva.

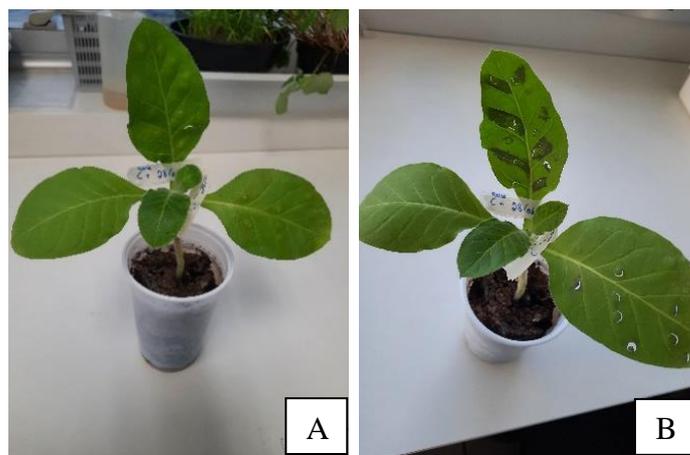
Figura 4 - Testes básicos: teste demonstrando reação de catalase positiva (A); teste com formação de fio, indicando bactéria de Gram negativa (B). Porto Alegre, 2023.



Fonte: A autora, 2023.

A Reação de Hipersensibilidade (RH) é um teste no qual é possível verificar se a bactéria tem ação fitopatogênica (Figura 5). Para essa reação, é utilizada como planta teste o tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). Em fluxo laminar é preparada uma suspensão de inóculo da bactéria e, em seguida, com um auxílio de uma seringa, é infiltrada a suspensão na folha do tabaco (face abaxial). Quando já iniciada a penetração é possível verificar os tecidos mudando de cor e ocorrendo o encharcamento dos espaços intercelulares. Os resultados podem ser avaliados em até 24h, e, em caso positivo, a planta apresentará sintomas de tecidos mais escuros, com murcha e necrose.

Figura 5 – Reação de hipersensibilidade: planta controle (A); planta com reação positiva (B). Porto Alegre, 2023.



Fonte: A autora, 2023.

Outro teste muito utilizado é o de patogenicidade em batata ou podridão-mole, no qual é possível avaliar se a bactéria possui atividade pectolítica. Para esse, são utilizados tubérculos de batata que inicialmente são lavados com água corrente e detergente. Em capela de fluxo laminar é feita a flambagem do tubérculo com o uso de álcool e lamparina, após seccionado em fatias dispostas em placa com papel filtro esterilizado e água deionizada e esterilizada. Em seguida, com o auxílio de um palito, é feita a retirada de parte de uma colônia de bactéria e inoculada na batata. Após esses procedimentos, o material irá para câmara úmida por um período de 12 a 24h e, se houver aparecimento de podridões, indica reação positiva, significando que a bactéria tem atividade pectolítica (Figura 6).

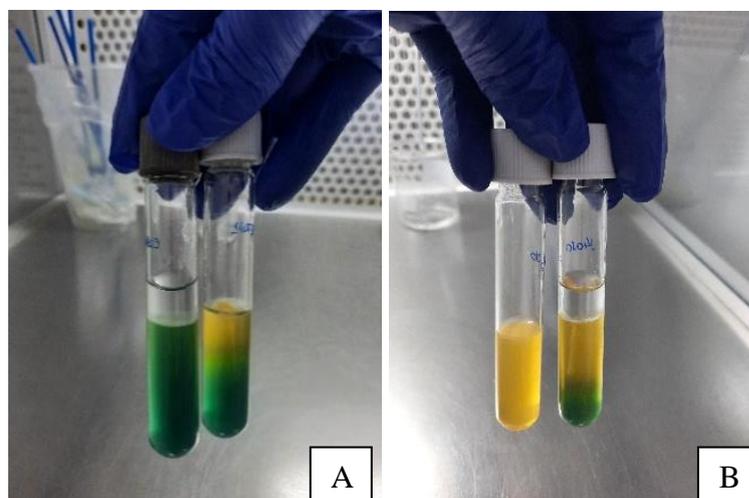
Figura 6 – Teste de patogenicidade em batata, indicando podridão. Porto Alegre, 2023.



Fonte: A autora, 2023.

Também no setor de bacteriologia, é realizado o teste de Metabolismo Oxidativo Fermentativo da Glicose (O/F), que se dá em câmara de fluxo laminar. Com uma agulha de repique, transfere-se parte da colônia de bactéria e essa é inoculada em dois tubos contendo meio de cultura Hugh-Leifson com glicose. Em um dos tubos é feita a vedação com o uso de óleo mineral estéril e fechamento com tampa e o outro permanece aberto, sendo ambos posteriormente incubados em estufa por um tempo de 24 a 48h. Após esse período, se o meio com vedação apresentar coloração amarela, indica que a bactéria apresenta atividade anaeróbia. Caso o meio sem o óleo apresentar cor amarela, indica que a bactéria possui atividade aeróbia (Figura 7A). Se ambos os meios apresentarem coloração amarela, é possível aferir que a bactéria possui respiração anaeróbia facultativa (Figura 7B).

Figura 7 - Metabolismo oxidativo fermentativo da glicose (O/F): teste indicando atividade aeróbia (A); teste indicando respiração anaeróbia facultativa (B). Porto Alegre, 2023.



Fonte: A autora, 2023.

Essa série de testes é de grande importância para analisar as colônias de bactérias e suas características, bem como na tomada de decisão, a fim de garantir a precisão das análises e sua identificação final. Muitas amostras são encaminhadas para biologia molecular para confirmação e liberação de resultados a nível de espécie. Ao final dos testes, os pareceres são liberados via formulários e sistema SGA. No caso de positivos, é feito o armazenamento das contraprovas, a depender do método e da bactéria encontrada, visando armazenar de maneira adequada para preservação.

#### 4.5 Setor de virologia e biologia molecular

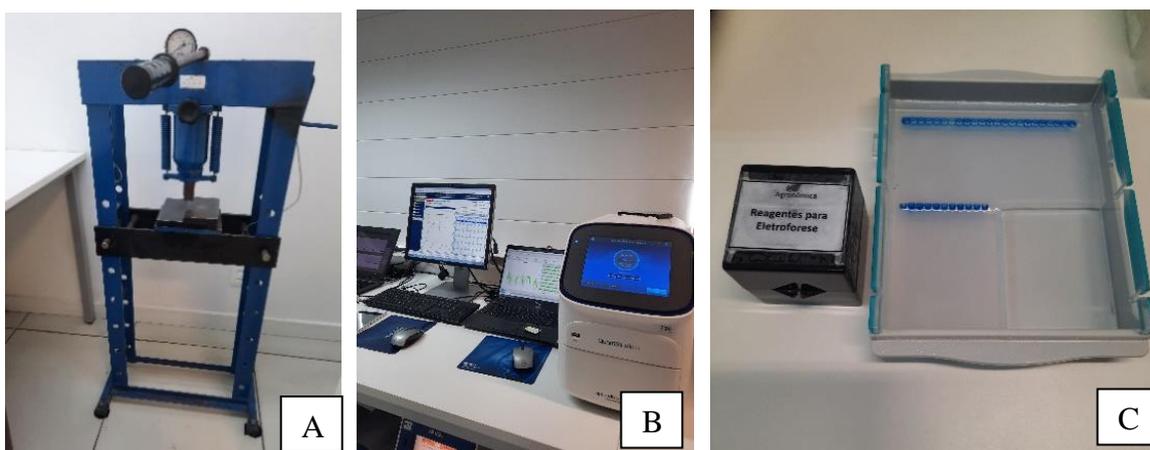
O setor é responsável pela demanda das amostras de virologia, visando seu preparo, avaliação e detecção de vírus e viróides nos diferentes materiais. Atende também as análises moleculares dos demais setores em casos onde as amostras exigem métodos mais rápidos, precisos e confirmação de resultados.

O preparo das amostras de virologia irá depender do tipo de material. No geral, os grãos e sementes são macerados em prensa hidráulica (Figura 8A), é adicionado o tampão de extração e coletado em microtubo cerca de 1ml do extrato vegetal. Posteriormente, é acondicionado em geladeira até o momento de seu uso. As amostras recebidas de outros setores já vêm preparadas para extração.

Após a maceração das amostras, é realizada a extração de ácidos nucleicos, RNA ou DNA, para prosseguir com as análises laboratoriais. O processo se dá em câmara de fluxo laminar e pode ser efetuado com o uso de kits adquiridos através de empresas fornecedoras (Qiagen® e Promega®) ou através de métodos validados e retirados de artigos, cujos reagentes são produzidos pelo setor de preparo do laboratório como o CTAB 3-. Para o monitoramento do ambiente e dos processos envolvidos, todos os dias é feito o teste do branco, para observar se não há contaminação do fluxo de trabalho e/ou dos reagentes utilizados.

Após a extração, em uma sala isolada, ocorre a preparação do Mix/coquetel para PCR, que será utilizado juntamente com as amostras para a amplificação da reação e detecção dos patógenos com primer específicos. As amostras e os controles são pipetados no Mix e posteriormente colocadas nos termocicladores (Figura 8B). O setor possui equipamentos de leitura em tempo real (qPCR/RT-qPCR), em que os resultados são imediatos e apresentam curva de amplificação por fluorescência, e também equipamentos convencionais, com a aplicação da técnica de eletroforese em gel de agarose (PCR/RT-PCR). Nesse último, as amostras são aplicadas em “poços” juntamente com corantes e marcadores moleculares, e levadas para as cubas de eletroforese (Figura 8C). Posteriormente, através da luz ultravioleta, é possível visualizar as bandas de DNA. Após as leituras é realizada a liberação dos resultados.

Figura 8 – Virologia e biologia molecular: prensa hidráulica para maceração de amostras (A); sala dos termocicladores (B); amostras em gel de agarose (C). Porto Alegre, 2023.



Fonte: A autora, 2023.

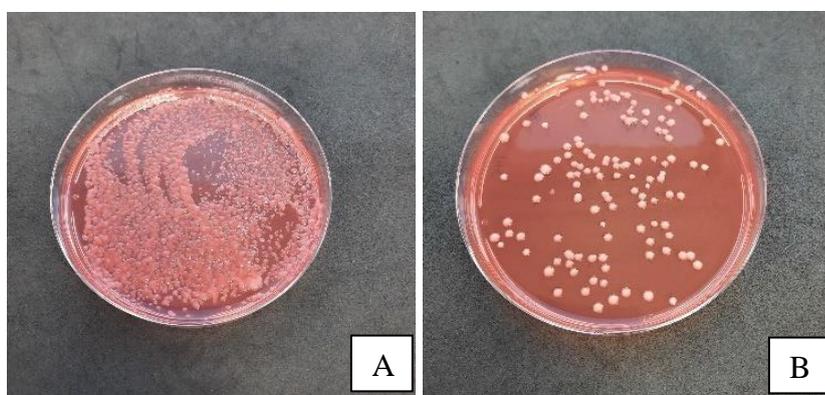
#### 4.6 Setor de controle biológico + SVG

O setor de controle biológico é responsável por análises de produtos biológicos, inoculantes, caracterização de agentes biológicos e testes de produtos que serão registrados para fins de venda no mercado. Além disso, o setor também trabalha com a coleção de agentes biológicos Santa Veronica Giuliani (SVG), onde são preservadas bactérias, fungos fitopatogênicos, insetos, nematoides, sementes de plantas invasoras e microrganismos de controle biológico.

De maneira geral, grande parte das amostras recebidas pelo setor passam pelo processo de diluição seriada e posterior plaqueamento em meio de cultura e incubação para que o microrganismo se desenvolva.

Dentre os testes executados pelo setor estão: identidade, pureza, concentração, vida de prateleira de produtos e tratamento de sementes. Estes testes podem ser feitos de forma única ou conjunta, conforme a demanda do órgão ou empresa contratante. Para demandas que exigem a caracterização de identidade do microrganismo, as amostras são encaminhadas para análise molecular e realizadas pelo setor de biologia molecular. Para análises de pureza (Figura 9A), são avaliadas a morfologia das colônias que se desenvolveram na placa de Petri após as diluições e também é possível aferir se há presença de microrganismos contaminantes. Nos testes de concentração, são feitas as contagens de colônias, as quais existe um intervalo para cada diluição, com base em descrição de bula do produto e instruções de empresa contratante (Figura 9B).

Figura 9 - Placa de Petri com *Bradyrhizobium japonicum* na diluição  $10^{-7}$  para teste de pureza (A), Placa de Petri com *B. japonicum* na diluição  $10^{-5}$  para realização de teste de concentração (B). Porto Alegre, 2023.



Fonte: A autora, 2023.

#### 4.7 Setor de micologia

O setor de micologia tem como objetivo a análise e identificação de fungos presentes em materiais vegetais, definindo o melhor procedimento para o preparo das amostras e o tipo de teste a partir da solicitação do cliente e sintomas do material. Dentre as técnicas mais utilizadas no setor estão: cultura pura, lavagem de sementes, blotter test e iscas biológicas.

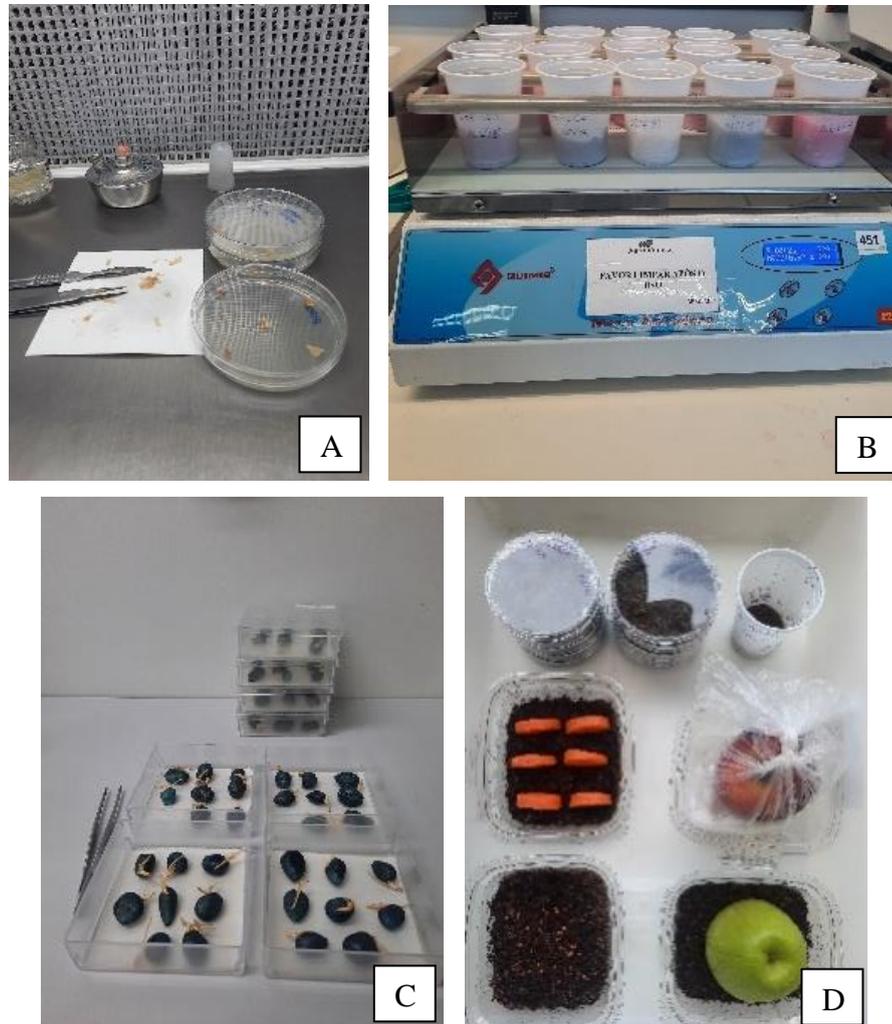
Na técnica de cultura pura (Figura 10A) é possível o isolamento dos fungos em placas de Petri com meios de cultura que favoreçam seu crescimento. Os mesmos são incubados em temperaturas adequadas para seu desenvolvimento por um período de 5 a 7 dias e posteriormente é feita a avaliação.

A lavagem de sementes/grãos (Figura 10B) é um método utilizado para fungos que se desenvolvem na parte externa dos materiais. As sementes são dispostas em copos plásticos sendo adicionada água deionizada e esterilizada até cobrir as sementes. Os copos vão para a mesa agitadora por 10 min. Após, o líquido é transferido para tubos do tipo Falcon, pesado em balança e encaminhado para centrífuga por 15 min. Em seguida, é descartado o sobrenadante e o material já está pronto para o preparo de lâminas e leitura em microscópio.

O blotter test (Figura 10C), busca proporcionar um meio ideal para o patógeno, disponibilizando temperaturas e umidade adequadas para que os fungos se desenvolvam em caixa gerbox. Para essa técnica é necessário, basicamente, caixa gerbox, papel filtro esterilizado e umedecido. As sementes são dispostas sobre o papel já úmido, em seguida acondicionados em câmara de crescimento à temperatura de 20°C por aproximadamente 7 dias. No caso de sementes de gramíneas, faz-se o uso do blotter test modificado, que consiste no mesmo procedimento no método padrão, porém a amostra passa por congelamento e segue para a câmara de crescimento, a fim de reduzir o processo de germinação.

Na técnica de iscas biológicas (Figura 10D), são utilizados os tecidos vegetais para detecção e identificação de fungos e oomicetos de solo, substrato, turfas e raízes vegetais. Tem como objetivo atrair os patógenos presentes no material, para a isca. São utilizados como iscas: maçã vermelha, maçã verde, cenoura, rabanete, folha de citros, braquiária, hastes de feijoeiro ou outro, a depender do fungo/oomicetos de interesse. Após o preparo da isca, a mesma vai para a câmara de incubação, onde permanece por 7 dias e a partir disso é possível observar as estruturas dos fungos/oomicetos e proceder com a avaliação e identificação.

Figura 10 – Técnica de cultura pura (A); técnica de lavagem de sementes: copos em mesa agitadora (B); blotter test utilizando sementes pré-germinadas de dendê (C); iscas biológicas (D). Porto Alegre, 2023.



Fonte: A autora, 2023.

#### 4.8 Setor de preparo de materiais

O setor de preparo de materiais é responsável por atender e dar suporte aos demais setores, através da preparação de meios de cultura, soluções, esterilização de materiais e outros.

No laboratório são muitos os meios de cultura demandados para as atividades diárias, e as solicitações de produção são realizadas através de um software chamado Odin, o qual é utilizado tanto como sistema de produção, quanto para controle de estoque de produtos.

De maneira geral, no setor de preparo tudo se inicia com a identificação dos frascos e posicionamento da fita termogênica. Essa fita, quando submetida a altas temperaturas, muda sua coloração, sendo ideal para indicar se o objeto passou por autoclave, ou seja, pelo processo de esterilização (Figura 11A). Os reagentes utilizados para confecção dos meios são pesados

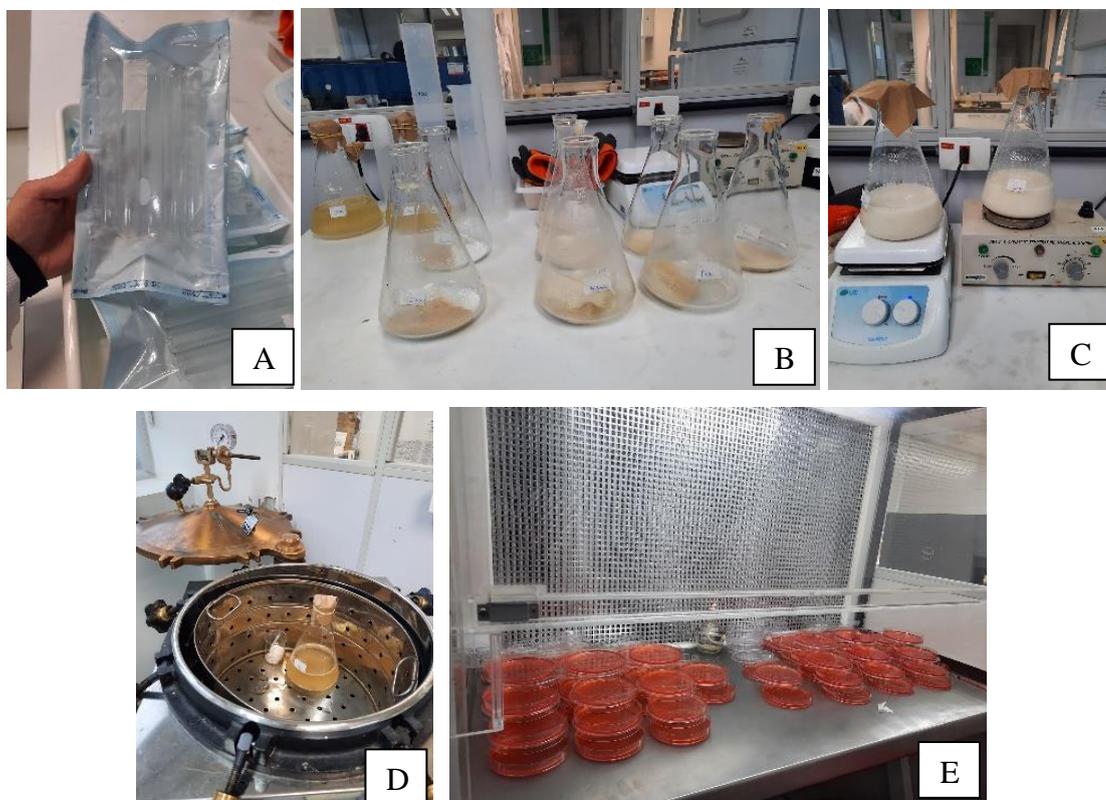
em balança, adicionados nos frascos juntamente com água deionizada e para dissolvê-los faz-se o uso de agitadores magnéticos com aquecimento (Figura 11B e C). Após, é essencial a verificação do pH com o uso de pHmetro e, caso necessário, realizar a correção com HCL e NaOH.

Os frascos são fechados com tampão de algodão, folha de papel pardo e elástico para a fixação, em seguida, os meios de cultura são levados para a autoclave (15 - 30 min), onde o tempo de autoclavagem irá depender do meio e de sua respectiva formulação (Figura 11D).

Após a esterilização, os meios são movimentados para misturar e vertidos em câmara de fluxo laminar para as placas de Petri (Figura 11E). A partir do momento que se torna sólido, as placas são embaladas e identificadas com etiquetas contendo o nome do meio de cultura, número de lote, data de fabricação e data de validade, sendo posteriormente entregues aos setores que efetuaram a solicitação.

Todos os materiais produzidos pelo preparo possuem rastreabilidade, o que permite o resgate caso ocorra contaminação, mantendo assim os padrões de controle.

Figura 11 - Materiais preparados para autoclavagem (A); reagentes em frascos Erlenmeyer (B); dissolução através de agitadores magnéticos (C); meios de cultura para autoclavagem (D); meios vertidos em câmara de fluxo laminar (E). Porto Alegre, 2023.



Fonte: A autora, 2023.

## 5 DISCUSSÃO

O tempo de permanência e trabalho realizado no laboratório Agronômica, evidenciou a importância da avaliação fitossanitária dos produtos assim como a importância de suas análises minuciosas e detalhadas. O laboratório Agronômica, sendo credenciado junto ao MAPA, desempenha um papel importante na defesa fitossanitária e no diagnóstico fitossanitário. Suas atividades, que incluem as análises de pragas e emissão de certificados fitossanitários, são fundamentais para impedir a entrada e dispersão de pragas. Desse modo, a busca constante por melhorias, tecnologias e profissionais qualificados visando a garantia de resultados rápidos e precisos é fundamental dentro deste âmbito (GINDRI et al., 2020). Esse aspecto torna-se essencial, considerando que dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), mostram que o Brasil abrange uma extensão de fronteiras de 25.000 km, dos quais 15.000 km são fronteiras terrestres e 10.000 km são fronteiras marítimas. Essa vasta extensão estabelece diversos pontos de entrada para possíveis pragas quarentenárias. Diante disso, é imprescindível o monitoramento constante e controle rigoroso das fronteiras, visto que, as pragas podem ser introduzidas através do tráfego de pessoas, animais e mercadorias e também pelo transporte de plantas, frutas ou sementes contaminadas. Logo, a atuação dos fiscais ainda é pouco abrangente nas fronteiras, o que aumenta os riscos de entrada, a qual pode ocorrer também pelo trânsito ilegal de produtos (ANFFA SINDICAL, 2021).

O laboratório Agronômica, assim como outros Laboratórios de Diagnóstico Fitossanitário (LDFs), desempenham um papel fundamental no suporte ao sistema de defesa sanitária vegetal. Atualmente, apenas nove laboratórios são credenciados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), como já citado. E dentre as barreiras para a obtenção desse credenciamento está a necessidade de acreditação pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). A carência de LDFs credenciados tem implicações diretas no monitoramento do trânsito de materiais vegetais. O aumento do número de LDFs é vital para fortalecer a estratégia de defesa sanitária vegetal no Brasil. Desta forma, são necessárias políticas de expansão para o credenciamento de maior número de laboratórios e obtenção da acreditação pelo INMETRO.

Todos os setores do Agronômica cumprem as normas ABNT NBR ISO/IEC 17025, demonstrando que operam com competência e disponibilizam resultados válidos, assim, assegurando a confiança no trabalho. Cada setor possui documentos detalhados das atividades, como por exemplo o Procedimento Operacional de Preparo (POP) e Instruções Técnicas de Trabalho (ITT) atualizados e validados, que visam garantir o padrão nos procedimentos e

normatizações.

A gestão de qualidade desempenha o papel crucial na manutenção dos padrões operacionais. Incluindo uma série de práticas, como a realização periódica de calibrações e a substituição de equipamentos, garantindo que todos os instrumentos atendam a normas. Além disso, são realizadas atualizações e verificações minuciosas em documentos, registros, formulários, POP e ITTs. Procedimentos esses, essenciais para garantir a rastreabilidade de todos os processos que envolvem as análises. Durante as atividades diárias, cada setor assume a responsabilidade pela verificação da temperatura e umidade dos equipamentos e ambientes, conferência das balanças (para garantir precisão) e o controle microbiológico. Estas práticas refletem o compromisso com a qualidade dos trabalhos, evitando contaminações e resultados falhos.

Conforme descrito nas atividades realizadas durante o estágio (item 4), em muitas técnicas a liberação de resultados é morosa, devido ao tempo de incubação dos testes. Porém, dentre os materiais recebidos para análises estão os perecíveis, que exigem maior agilidade nas avaliações. Para isso, é importante a utilização de meios mais rápidos e precisos. Isso pode ser alcançado pela adoção da técnica de PCR em tempo real, que possibilita a obtenção dos resultados de maneira rápida, mantendo a sensibilidade e confiabilidade comparáveis ao PCR convencional. Desta forma, torna-se possível realizar diagnósticos de patógenos de forma mais eficiente, facilitando a tomada de decisões no contexto da qualidade e segurança dos produtos sujeitos a liberação (CHAVES et al., 2023).

Ao analisar as metodologias empregadas nas análises acompanhadas em comparação com a literatura, observa-se que a maioria dos procedimentos estão em conformidade. Entretanto, alguns métodos apresentam maneiras mais eficazes de seguimento, como é o caso da técnica de blotter test, que, quando realizada a assepsia prévia das sementes com hipoclorito de sódio a 1,5% por cinco minutos, ocorre a redução da contaminação fúngica, assim facilitando a análise (OLIVEIRA et al., 2012).

Além das atividades descritas, a empresa oferece cursos e treinamentos para funcionários e o público em geral. Durante o período de estágio foi possível acompanhar a realização de treinamento de diagnose das principais doenças da cultura da soja, incluindo apresentação teórica e prática. Além disso, também são realizados ensaios interlaboratoriais e intralaboratoriais, para a validação externa e interna de competência técnica e dos métodos de análise.

Os cursos e treinamentos oferecidos são importantes, pois, apesar das demandas do MAPA serem o “carro chefe”, o laboratório também atende aos produtores e empresas, os quais

enviam suas amostras com sintomas e descrições das áreas. Também estas amostras são avaliadas e é identificado o melhor teste a ser realizado. Com o fluxo elevado de amostras, em alguns casos, essas chegam danificadas ou em quantidades inadequadas para realização das análises. Sendo imprescindível a orientação aos responsáveis pelos envios e/ou aplicação de cursos para a correta coleta e envio dos materiais.

No Agronômica durante o período de janeiro a outubro de 2023, ocorreram 350 intercepções de pragas. Dentre essas, 69 foram pragas quarentenárias ausentes, 58 pragas quarentenárias presentes, 159 pragas de restrição e 64 pragas vivas (insetos e ácaros). Estes eventos destacam a importância de implementação de estratégias de monitoramento, controle e medidas de biossegurança eficazes, para prevenir a entrada e a propagação de pragas quarentenárias. A colaboração entre as autoridades reguladoras, pesquisadores e a indústria é fundamental para reduzir os impactos econômicos causados por essas ameaças.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O laboratório Agronômica está entre as poucas empresas que possuem escopo completo para diagnóstico fitossanitário no Brasil, demonstrando competência e seriedade na área em que atua, e desempenhando um papel fundamental na proteção das fronteiras agrícolas. É notável o compromisso contínuo com a melhoria da gestão de qualidade, evidenciado pela certificação da empresa na ISO/IEC 17025, a qual proporciona aos clientes a garantia de resultados precisos e confiáveis.

A rapidez nos serviços oferecidos é um de seus pontos positivos e o laboratório ainda conta com a opção de análise Express, a qual utiliza a técnica de PCR para a detecção de pragas. O resultado dessa análise é emitido em um prazo de 24 horas após a entrada da amostra. Além disso, possui uma equipe de profissionais especializados, os quais passam por um programa inicial de qualificação e, ao longo do tempo, são submetidos a treinamentos contínuos. Esse programa inicial, fornece uma compreensão ampla das operações do laboratório, motivando os colaboradores a acompanhar atividades realizadas em diferentes setores, o que permite que cada funcionário adquira conhecimento e compreensão das diversas atividades realizadas na empresa, mesmo aquelas fora de sua área específica. Por meio dessa interação promove-se uma equipe capacitada, interconectada e contribui para a eficiência e compreensão ampla do funcionamento da empresa. É evidente o compromisso do Agronômica com a inovação e a melhoria constante dos processos. A empresa investe em tecnologia e dispõe de equipamentos de última geração para a realização dos testes. Conta com equipe capacitada e treinada,

garantindo o seu correto manuseio.

Sendo assim, o estágio proporcionou a interação com uma gama de materiais vegetais de diferentes localidades do mundo, ampliando o conhecimento das diversas culturas. Além disso, contribuiu para a experiência prática na área da defesa fitossanitária e no mercado internacional de produtos vegetais. Os ensaios e análises acompanhados no laboratório, não apenas reforçaram os conceitos teóricos adquiridos durante a graduação em sala de aula, mas também preencheram lacunas práticas e vivências laboratoriais, que por vezes foram menos abordadas durante o curso. Essa vivência enriqueceu a compreensão da aplicação das barreiras fitossanitárias, possibilitou uma visão abrangente das demandas e desafios no campo da fitossanidade em uma perspectiva global e das diversas possibilidades de atuação dos engenheiros agrônomos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANFFA SINDICAL. **Estudo sobre os Impactos da atuação dos auditores fiscais federais agropecuários sobre a produção agropecuária brasileira**. Brasília, DF: ANFFA - Sindicato Nacional dos Auditores Fiscais Federais Agropecuários, 2021. 131 p. Disponível em: [https://anffasindical.org.br/images/comunicacao/Cartilhas/Anffa\\_Sindical\\_relatorio\\_F\\_GV-compactado.pdf](https://anffasindical.org.br/images/comunicacao/Cartilhas/Anffa_Sindical_relatorio_F_GV-compactado.pdf). Acesso em: 06 nov. 2023.

BRASIL. **Atividades de Ensaios de Proficiência do Inmetro**. INMETRO, 2019a. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/metcientifica/ensaio-proficiencia/ensaioProficiencia.asp>. Acesso em: 10 nov. 2023.

BRASIL. **Barreiras Sanitárias e Fitossanitárias**. In: Barreiras ao Comércio. Ministério das Relações Exteriores. Brasília, DF. 2017. 47 p. Disponível em: <https://www.gov.br/mre/pt-br/assuntos/politica-externa-comercial-e-economica/barreiras-ao-comercio/barreiras-sanitarias-e-fitossanitarias>. Acesso em: 06 nov. 2023.

BRASIL. **Certificação de exportação**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, DF: MAPA, 2019b. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/arquivos/certificacao-fitossanitaria-guia-para-emissao-de-lpco.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2023.

BRASIL. **Diagnóstico Fitossanitário**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2023a. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfda/laboratorios-credenciados/laboratorios-credenciados/diagnostico-fitossanitario/diagnostico-fitossanitario>. Acesso em: 10 nov. 2023.

BRASIL. **Importação de Produtos Vegetais**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2023b. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/importacao-dipov/importacao-de-produtos-vegetais>. Acesso em: 10 nov. 2023.

BRASIL. Instrução Normativa nº 71, de 13 de novembro de 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Emissão do Certificado Fitossanitário. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 27 nov. 2018. Seção 1, p. 5-8.

BRASIL. **Mapa estabelece novas regras para a classificação de produtos vegetais importados**. Siscomex, 2022a. Disponível em: <https://www.gov.br/siscomex/pt-br/informacoes/demais-noticias-de-comercio-externo/agricultura/mapa-estabelece-novas-regras-para-a-classificacao-de-produtos-vegetais-importados>. Acesso em: 10 nov. 2023.

BRASIL. Portaria nº 317, de 21 de maio de 2021. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Institui o Programa Nacional de Prevenção e Controle à doença denominada Huanglongbing (HLB) – PNCHLB. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 25 maio. 2021. Seção 1, p. 17.

BRASIL. **Secretaria da Agricultura encaminha para o Mapa o Plano de Exclusão e Contingência ao HLB no RS**. Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação. RS, SEAPI, 2022b. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/secretaria-da-agricultura-encaminha-para-o-mapa-o-plano-de-exclusao-e-contingencia-ao-hlb-no-rs>. Acesso

em: 10 nov. 2023.

BRASIL. **Tecnologias geoespaciais aprimoram fronteira do Brasil com América do Sul.** Agência IBGE, 2020. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/28011-tecnologias-geoespaciais-aprimoram-fronteira-do-brasil-com-america-do-sul>. Acesso em: 13 nov. 2023.

CHAVES, M.Q.G.; MORÁN, F.; BARBÉ, S.; BERTOLINI, E.; ROSA, F.S.; NOALES, E. M. A new and accurate qPCR protocol to detect plant pathogenic bacteria of the genus 'Candidatus Liberibacter' in plants and insects. **Scientific Reports** n 13, 3338 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30345-0>

CHINELATO G. **Pragas quarentenárias: entenda os tipos e o que fazer para impedir a sua presença.** AEGRO, 2023. Disponível em: <https://blog.aegro.com.br/pragas-quarentenarias/>. Acesso em: 14 nov. 2023.

EMBRAPA. **Pragas quarentenárias.** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/tema-pragas-quarentenarias/sobre-o-tema>. Acesso em: 15 nov. 2023.

FIDELIS, E. G.; LOHMANN, T. R.; SILVA, M. L.; PARIZZI, P.; BARBOSA, F. F. L. (ed.). **Priorização de pragas quarentenárias ausentes no Brasil.** Brasília, DF: Embrapa, 2018. 510 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1108710/priorizacao-de-pragas-quarentenarias-ausentes-no-brasil>. Acesso em: 15 novembro 2023.

GINDRI, D. M.; MOREIRA, P. A. B.; VERISSIMO, M. A. A. Sanidade vegetal: uma estratégia global para eliminar a fome, reduzir a pobreza, proteger o meio ambiente e estimular o desenvolvimento econômico sustentável. 1. ed. Florianópolis: CIDASC, 2020. 486 p.: il.; color.

MEDEIROS, M. A.; SOUZA, E. S. H.; TOGNI, P. H. B.; MILANE, P. V. G. N.; PIRES, C. S. S.; CARNEIRO, R. G.; SUJII, E. R. **Princípios e práticas ecológicas para manejo de insetos-pragas na agricultura.** 1ªed. Brasília, DF: Emater-DF, Embrapa 2011. 44 p. Disponível em: <https://www.emater.df.gov.br/wp-content/uploads/2018/06/praticas-insetos-praga.pdf>. Acesso em: 11 novembro 2023.

OLIVEIRA, J. D. et al. Métodos para detecção de fungos e assepsia de sementes de *Schizolobium amazonicum* (Caesalpinioideae). **Revista Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 6, p. 945-953, 2012.

SODRÉ, G. A. **Cultivo do cacaueteiro no estado da Bahia.** ed. 2017. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ilhéus, BA, MAPA/Ceplac/Cepec. 126 p.

SUGAYAMA, R.L. et al. **Defesa vegetal: fundamentos, ferramentas, políticas e perspectivas.** Ed. SBDA, Belo Horizonte, 2015. 544p.