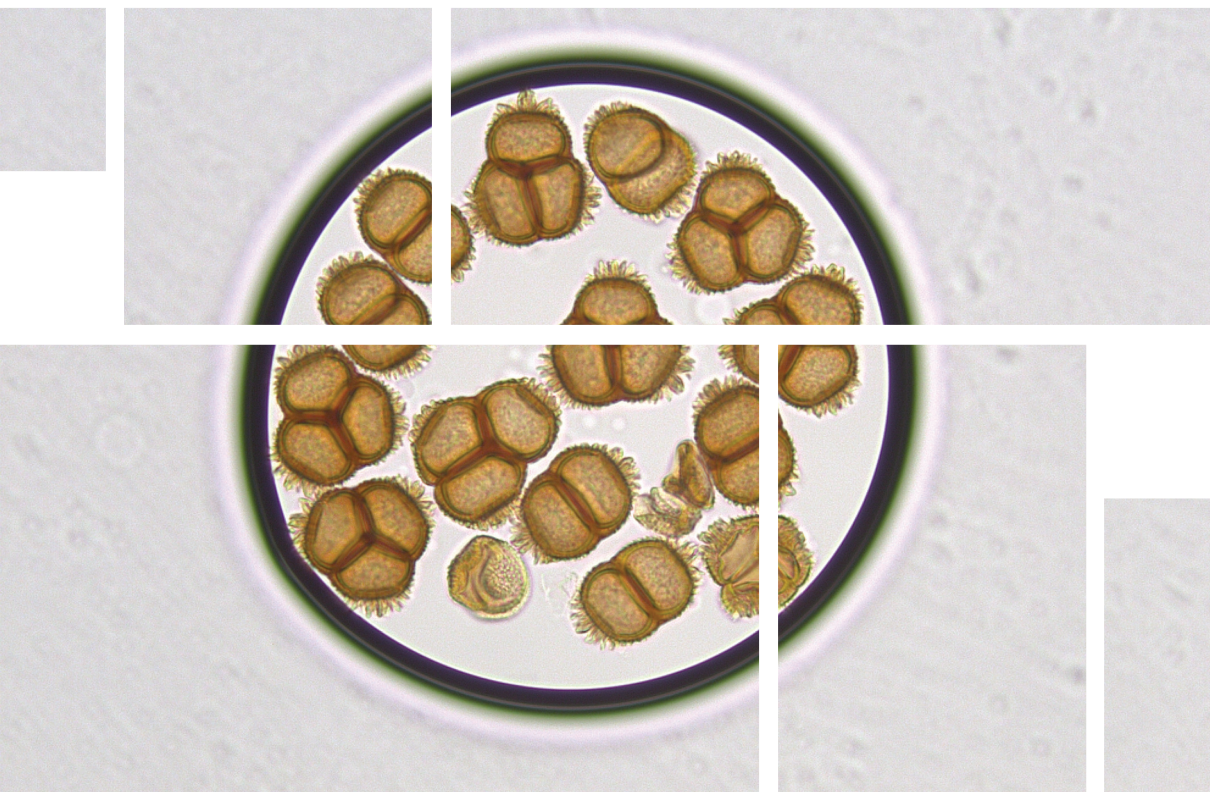


Guia prático para identificação do fungo *Thecaphora frezzii* em amendoim para fins de exportação



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Algodão
Ministério da Agricultura e Pecuária***

DOCUMENTOS 294

Guia prático para identificação do fungo *Thecaphora frezzii* em amendoim para fins de exportação

Dartanhã José Soares

***Embrapa Algodão
Campina Grande, PB
2023***

Embrapa Algodão
Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário
58428-095, Campina Grande, PB
Fone: (83) 3182 4300
www.embrapa.br/algodao
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente
Daniel da Silva Ferreira

Secretária-executiva
Magna Maria Macedo Nunes Costa

Membros
Francisco José Correia Farias, Geraldo Fernandes de Sousa Filho, Luiz Paulo de Carvalho, Nair Helena Castro Arriel, Rita de Cássia Cunha Saboya

Supervisão editorial
Geraldo Fernandes de Sousa Filho

Revisão de texto
Marcela Bravo Esteves

Normalização bibliográfica
Enyomara Lourenço Silva

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Geraldo Fernandes de Sousa Filho

Fotos da capa
Dartanhã José Soares

1ª edição

Publicação digital (2023): PDF

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Algodão

Soares, Dartanhã José.

Guia prático para identificação do fungo *Thecaphora frezzii* em amendoim para fins de exportação / Dartanhã José Soares. – CampinaGrande : Embrapa Algodão, 2023.

PDF (26 p.) : il. color. – (Documentos / Embrapa Algodão, e-ISSN 2966-0343 ; 294)

1. Amendoim. 2. Fungo. 3. Doença de planta. 4. Carvão. 5. Praga. 6. Patógeno.
7. *Thecaphora frezzii*. I. Embrapa Algodão. II. Título. III. Série.

CDD 579

Autor

Dartanhã José Soares

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Algodão, Campina Grande, PB

Apresentação

Esta publicação descreve detalhadamente como identificar a presença do fungo *Thecaphora frezzii* em amostras de amendoim para fins de exportação. Esse patógeno é o agente causal do carvão do amendoim e, desde 2017, é considerado uma praga quarentenária em alguns dos países que importam amendoim do Brasil.

Embora essa praga não tenha sido, até o momento, identificada em áreas de produção comercial de amendoim do Brasil, por se tratar de um fungo nativo – o qual foi originalmente descrito a partir de amostras coletadas no estado do Mato Grosso do Sul, ainda na década de 1960 –, alguns países importadores de amendoim do Brasil exigem a emissão do Certificado Fitossanitário atestando que as cargas tenham sido inspecionadas e encontram-se livres dessa praga.

Ainda que facilmente reconhecível, poucas são as informações disponíveis na literatura que permitem o rápido reconhecimento das estruturas desse fungo em amostras de amendoim. Ademais, não existe uma recomendação oficial quanto aos procedimentos a serem utilizados para análise das amostras.

Assim, a publicação traz uma síntese das principais características que permitem um rápido reconhecimento das estruturas de *T. frezzii*, bem como aborda possíveis situações que podem resultar em laudos falso-negativos ou falso-positivos.

Este documento apresenta aderência ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 2 (ODS 2), ao propor um protocolo otimizado para preparo e análise das amostras de amendoim para fins de exportação, visando à redução das restrições e distorções nos mercados agrícolas mundiais.

Nair Helena Castro Arriel

Chefe-Geral da Embrapa Algodão

Sumário

Introdução.....	9
Preparo da amostra.....	11
Identificação	14
O gênero <i>Thecaphora</i>	14
Ocorrências Falso-Negativas	19
Ocorrências Falso-Positivas.....	21
Referências	24

Introdução

Desde 2017, com a divulgação de que o carvão-do-amendoim, causado pelo fungo *Thecaphora frezzii* J. M. Carranza & J. C. Lindquist (Vanky, 2012), deixou de ser uma doença emergente e passou a ser considerada a maior ameaça à produção de amendoim na Argentina, alguns países passaram a regular a referida praga, impondo barreiras fitossanitárias à importação de amendoim oriundo da Argentina, Bolívia e Brasil, países estes em que a ocorrência do fungo já havia sido relatada (Notification..., 2017; Rago et al., 2017; USA, 2017).

No Brasil, as implicações dessas barreiras fitossanitárias tiveram pouco impacto, pois a praga não tem sido observada em lavouras comerciais de amendoim (Soares, 2019), fazendo com que haja apenas a necessidade de emissão de certificado fitossanitário com declaração adicional de que o lote a ser exportado tenha sido inspecionado e encontra-se livre da praga em questão (Brasil, 2023a), sem, porém, restringir as exportações.

Entretanto, para a emissão do Certificado Fitossanitário, amostras do lote a ser exportado são encaminhadas para laboratórios de Diagnóstico Fitossanitário, credenciados pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (Brasil, 2023b), que analisam a amostra e elaboram um laudo que, por sua vez, servirá para que a Organização Nacional de Proteção Fitossanitária (ONPF), no caso do Brasil o Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas (DSV) da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), emita o referido certificado, conforme regras internacionais preestabelecidas (Fao, 2016a; Brasil, 2018).

Até recentemente, apenas Austrália e Estados Unidos regulavam essa praga. Porém, devido ao fato de estes não serem mercados importantes para as exportações brasileiras de amendoim, e de a principal modalidade de importação desses países ser na forma de amendoim blanchado, praticamente não havia demanda pela emissão de laudos fitossanitários, uma vez que tanto os EUA quanto a Austrália consideram que o processo de blanchamento é capaz de inativar o fungo.

Contudo, esse contexto mudou em dezembro de 2021, quando a África do Sul — atualmente o quinto maior importador de amendoim do Brasil — também passou a regular a referida praga e exigir a emissão dos certificados fitossanitários, mesmo para a modalidade de amendoim blanchado (Brasil,

2023a), levando a um aumento na demanda pela emissão dos laudos fitossanitários pelos laboratórios da rede credenciada.

De acordo com normas internacionais, os protocolos que contêm métodos e diretrizes necessárias para o diagnóstico de pragas regulamentadas devem ser selecionados com base na sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade. Além disso, a disponibilidade de equipamento, o conhecimento especializado necessário para esses métodos e sua exequibilidade — por exemplo, facilidade de uso, rapidez e custo — também devem ser considerados na definição dos métodos a serem incluídos nos protocolos de detecção (FAO, 2016b).

Embora não exista um método oficialmente estabelecido para análise de *Thecaphora frezzii*, considerando-se a natureza do patógeno, convencionou-se que a análise da presença de *T. frezzii* em amostras de amendoim pode ser feita utilizando-se a técnica de exame de suspensão de lavagem das sementes (Marraro-Acuña, 2012). Esta é uma técnica simples, de baixíssimo custo e bastante confiável, porém altamente dependente da expertise do responsável pelo exame da amostra no reconhecimento e identificação das estruturas da praga regulamentada.

Prevendo demanda para análise da presença de *T. frezzii* amendoim, em 2019 a Embrapa ofereceu um curso de treinamento para identificação e quantificação dessa praga em amostras de amendoim tanto para fins de exportação quanto para fins de monitoramento de focos iniciais no Brasil (Embrapa Algodão, 2019).

Entretanto, devido a limitações físicas, foi ofertado um número limitado de vagas e, por consequência, poucos profissionais foram habilitados na identificação dessa praga. A falta de profissionais habilitados para o reconhecimento dessa praga para fins de emissão de laudos fitossanitários tem diversas implicações, que vão desde a possível emissão de laudos falso-positivos ou falso-negativos a uma possível paralisação das exportações caso a ONPF entenda não ser possível cumprir os requerimentos do país importador.

A emissão de laudos falso-positivos quanto à presença de pragas quarentenárias, tem grande potencial de impacto sobre a competitividade do agronegócio brasileiro. A emissão de laudos falso-positivos pode resultar em custos adicionais de *demurrage*, uma vez que pode demandar tempo adicional para

solicitação de exame de contraprova, ou até mesmo a necessidade de redirecionamento da carga para outro mercado que não regule a praga, acarretando além das implicações financeiras, perda de reputação das empresas exportadoras devido, por exemplo, ao não cumprimento de prazos acordados.

Já laudos falso-negativos, além de poderem resultar em elevados prejuízos financeiros quando da constatação da praga no ponto de entrada devido a necessidade de destruição da carga ou de seu redirecionamento para outro mercado, apresentam ainda o risco de introdução da praga no país importador, com posteriores consequências imprevisíveis.

Dessa forma, visando contribuir para a mitigação do risco de emissão de laudos falso-positivos ou falso-negativos quanto à presença de *T. frezzii* em lotes de amendoim para exportação e, por consequência, aumentar a competitividade do amendoim brasileiro, eliminando eventuais custos adicionais, o presente trabalho tem por objetivo prover subsídios para a correta identificação de *T. frezzii* em amostras de amendoim.

Preparo da amostra

O preparo da amostra usando a técnica de exame de suspensão de lavagem das sementes pode apresentar variações em função do tamanho das sementes e da praga-alvo. A sensibilidade dessa técnica está diretamente relacionada ao tamanho da amostra e à densidade de inóculo presente.

Para amostras com alta densidade de inóculo, pode-se utilizar amostras de trabalho menores; para amostras com baixa densidade de inóculo, deve-se aumentar a representatividade, utilizando-se amostras de trabalho maiores ou aumentando o número de observações. No entanto, independentemente deste fato, a padronização da quantidade de sementes, quantidade de água, tempo de agitação e tempo de centrifugação são essenciais para fins de diagnóstico (Sinclair; Dhingra, 1995).

Com base na metodologia recomendada para exame de *Tilletia indica* em sementes de trigo, Marraro-Acuña (2012) propôs que para *T. frezzii* fossem utilizadas amostras de 50 sementes e 50 mL de água acrescidas de duas gotas de Tween 20, seguido de agitação manual por um minuto, e centrifugação do sobrenadante por 15 minutos a 3.000 rpm.

Considerando a literatura disponível (Diagnostic..., 2018) e após testes conduzidos visando a validação da metodologia proposta, por meio do uso de um grupo de amostras-controle preparadas para verificar a sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade (Fao, 2006) da técnica sugerida, observou-se a necessidade de pequenos ajustes na metodologia proposta por Marraro-Acuña (2012) de modo a obter uma maior reprodutibilidade. Assim, foi definido o seguinte protocolo para preparo das amostras para exame da presença/ausência de *T. frezzii* em lotes de amendoim cru em pele ou blancheados/branqueados para fins de exportação.

Procedimento:

1. Dividir a amostra recebida em quatro porções de igual tamanho (subamostras).
2. Separar 50 g de sementes de cada uma das subamostras (amostras de trabalho).
3. Transferir as sementes para erlenmeyers de 250 mL e adicionar 50 mL de solução aquosa de Tween 20% a 0,05%.
4. Agitar em mesa agitadora orbital por 3 minutos a 200 rpm.
5. Recolher a suspensão em um béquer, utilizando uma camada dupla de gaze ou peneira fina para reter os grãos e impurezas maiores.
6. Transferir a suspensão (~40 mL) para tubos Falcon de 50 mL (obs.: equilibrar o peso dos tubos em uma balança).
7. Colocar os tubos na centrífuga e centrifugar por 15 minutos a 950 g (aguardar cerca de 1 minuto para atingir a força g desejada).
8. Descartar cuidadosamente o sobrenadante.
9. Adicionar 0,5 mL da mesma solução usada na lavagem para ressuspender o pellet.
10. Com uma pipeta ou ponteira descartável, transferir alíquotas de 25 µL da suspensão para lâminas de microscopia e cobrir com lamínula.
11. Fazer a varredura total do campo de cobertura da lamínula em microscópio ótico com aumento de 100x.
12. Computar a presença/ausência de esporos do patógeno na amostra.

Observações:

- Usar somente tubos de polipropileno, pois em tubos de policarbonato os esporos podem ficar aderidos às paredes, ocasionando falso-negativos.
- A lavagem dos grãos/sementes deve sempre ser feita usando solução aquosa com agente dispersante (ex.: Tween), visando facilitar a remoção dos esporos aderidos à superfície dos grãos.
- Considerando o equipamento utilizado (centrífuga Sigma 3-30KS com rotor nº 12156 de ângulo fixo e tubos de 50 mL), o raio de centrifugação foi de 94 mm. A equivalência rcf/rpm pode ser obtida pelas fórmulas " $RCF (g) = (RPM)^2 \times 1,118 \times 10^{-5} \times r$ " ou " $RPM = \sqrt{[RCF/(r \times 1,118)] \times 1 \times 10^5}$ ", em que r = raio de centrifugação em centímetros.
- Não se recomenda a utilização de corantes devido à melanização da parede do esporo e à presença de oleosidade e impurezas da amostra que podem absorver o corante e atrapalhar a visualização.
- Recomenda-se a realização de pelo menos quatro leituras independentes para cada subamostra, embora o ideal seja examinar todo o pellet ressuspensionado. Nesse caso, a ressuspensão do pellet pode ser feita usando uma quantidade menor da solução. Isso irá depender do tamanho do pellet, pois a ressuspensão em volumes muito pequenos de suspensão pode impedir a visualização das estruturas do fungo devido à grande quantidade de impurezas, principalmente no caso de amendoim em pele.
- Estruturas suspeitas devem ser cuidadosamente verificadas em aumento de 400X ou 630X para corroborar a identidade conforme descrito abaixo no item "Identificação", visando evitar falsos-positivos ou falsos-negativos.
- Uma vez constada a presença de esporos em uma das leituras, não se faz necessário proceder o exame do restante das subamostras, pois a análise é qualitativa. Nesse caso, recomenda-se, no entanto, fazer o registro fotográfico detalhado das estruturas (esporos) visualizadas.
- Recomenda-se guardar o restante da amostra não usada para possíveis fins de contestação do resultado.

Identificação

O gênero *Thecaphora*

O gênero *Thecaphora* compreende aproximadamente 60 espécies, as quais formam galhas compostas por uma massa enegrecida de “bolas de esporos” recobertas por tecido do hospedeiro que se rompem na maturidade liberando os esporos semelhantemente a uma “poeira”. As “bolas de esporos” são compostas de número variável de esporos, os quais, em geral, estão firmemente aglutinados.

Os teliósporos que compõem as bolas de esporos são subpoliédricos a cuneiformes, de coloração amarelada a marrom-avermelhada ou marrom-escura, mas nunca negros. As paredes são geralmente lisas e finas nas áreas internas de contato entre os teliósporos e grossas e ornamentadas na superfície externa. As ornamentações são geralmente verrucosas, podendo ser irregularmente reticuladas ou não (Fisher, 1953; Vanky, 1994, 2002, 2012; Piepenbring, 2003; Vanky et al., 2008; Vanky; Shivas, 2008).

A distinção entre as espécies do gênero *Thecaphora* é feita principalmente com base no hospedeiro e nas características de cor, formato, número de células, tipo de ornamentação e tamanho dos esporos (Vanky, 2012). Apenas 13 espécies do gênero são relatadas na América do Sul, e somente duas têm relato de ocorrência no Brasil, sendo elas *T. spilanthis* e *T. frezzii* (Piepenbring, 2003; Vanky, 2012).

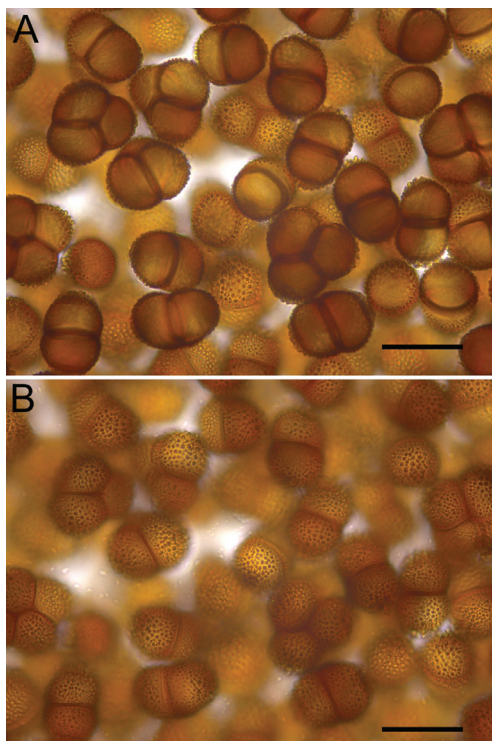
Thecaphora frezzii causa infecções localizadas restritas às vagens e aos grãos. Os grãos podem ser completamente substituídos por uma massa de esporos do fungo, e as vagens podem ficar deformadas (Soares, 2019). A massa de esporos varia de marrom-avermelhada a marrom-escura, é pulverulenta, e se assemelha à “borra de café”. As bolas de esporos são subglobosas, irregularmente globoide, ou ovoide quando vistas superficialmente; sob vista mediana apresentam formato subtriangular ou subquadrangular, dependendo no número de esporos, sendo as paredes externas sempre arredondadas e ornamentadas, nunca lisas.

O tamanho é variável, medindo de $(20\text{--}25\text{--}37 \times 25\text{--}50 \mu\text{m})$, em função do número de células (esporos), que pode variar de 1 a 8, mas normalmente possui 2 a 3, as quais são firmemente unidas. Os teliósporos são poliédricos, globosos a subglobosos ou cuneiforme, medindo de $15\text{--}22\text{--}(24) \times 16\text{--}25\text{--}(30) \mu\text{m}$

na vista superficial, radialmente medindo de 13–22.5(–24) μm . As paredes internas, na região de contato entre as células, são lisas, com cerca de 1 μm de espessura (Figura 1A); as paredes externas são ornamentadas, espessas e verrucosas (Figura 1B), com projeções que podem atingir 2,5–5,5 μm de comprimento na parte distal da célula do esporo, sendo normalmente mais curtas na área de junção entre os esporos (Piepenbring, 2003; Vanky, 2012).

Dessa forma, como características diagnósticas de *T. frezzii* podem-se destacar:

Esporos compostos por 1 a 8 células, com predominância de esporos com 2 a 3 células, coloração marrom-clara a marrom-escura, podendo apresentar também coloração castanho-alaranjada, porém nunca hialinas. Essas diferentes nuances podem ser observadas em função da qualidade do equipamento e da luz transmitida. Os esporos, quando agrupados em “bolas de esporos”, apresentam formato poliédrico, geralmente subglobosos, variando entre 20–36 \times 25–50 μm , com as partes em contato entre si achatadas e lisas, as extremidades distais arredondadas e ornamentadas. Ornamentação na forma de verrugas, as quais são menos proeminentes à medida que se aproximam das áreas próximas à junção entre os teliosporos. Nas extremidades distais, a ornamentação é mais pronunciada, podendo atingir até 5,5 μm (Figuras 2 e 3).



Fotos: Dartanã José Soares

Figura 1. Aspecto geral de “bolas de esporos” (teliosporos) de *Thecaphora frezzii* sob vista mediana (A) e superficial (B). Observar a predominância de agregações de 2 a 3 teliosporos, a coloração castanha e a ornamentação (verrucosa) das paredes externas. Barra = 25 μm .

Embora sejam conhecidas mais de 60 espécies no gênero *Thecaphora*, no Brasil são relatadas apenas *T. frezzii*, que ocorre em amendoim e foi descrita a partir de material selvagem (*Arachis* sp.) coletado no estado do Mato Grosso do Sul em 1959, e *T. spilanthis*, que ocorre em *Spilanthus oleracea* e foi descrita a partir de material coletado no estado do Pará em 1996 (Vanky, 2012; Mendes et al., 2019). *Thecaphora seminis-convolvuli* e *T. solani*, que são morfologicamente similares a *T. frezzii* (Tabela 1), não ocorrem no território nacional. Dessa forma, a identificação visual de *T. frezzii*, com base nas características morfométricas dos esporos, é considerada confiável. Contudo, essa confiabilidade depende da familiaridade e expertise de quem estiver realizando as análises.

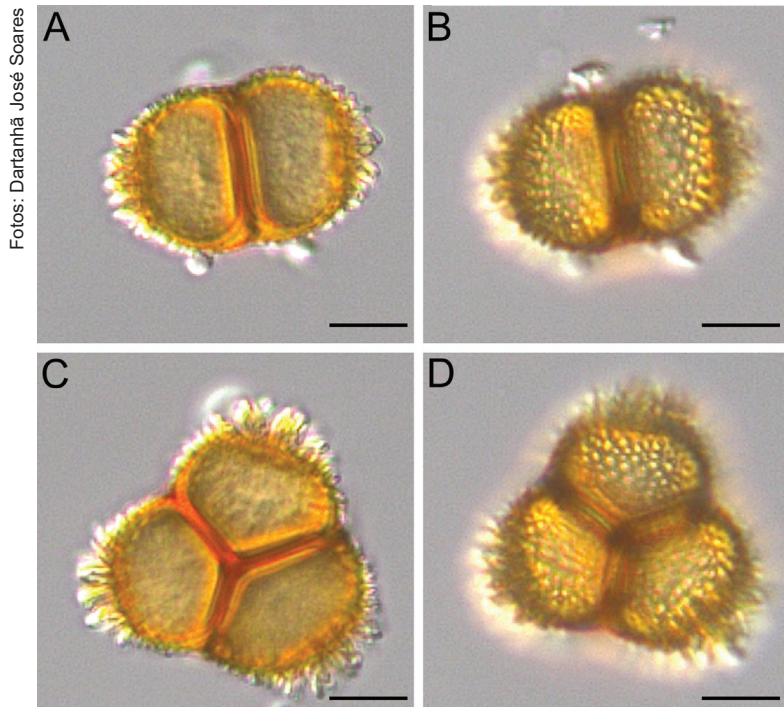
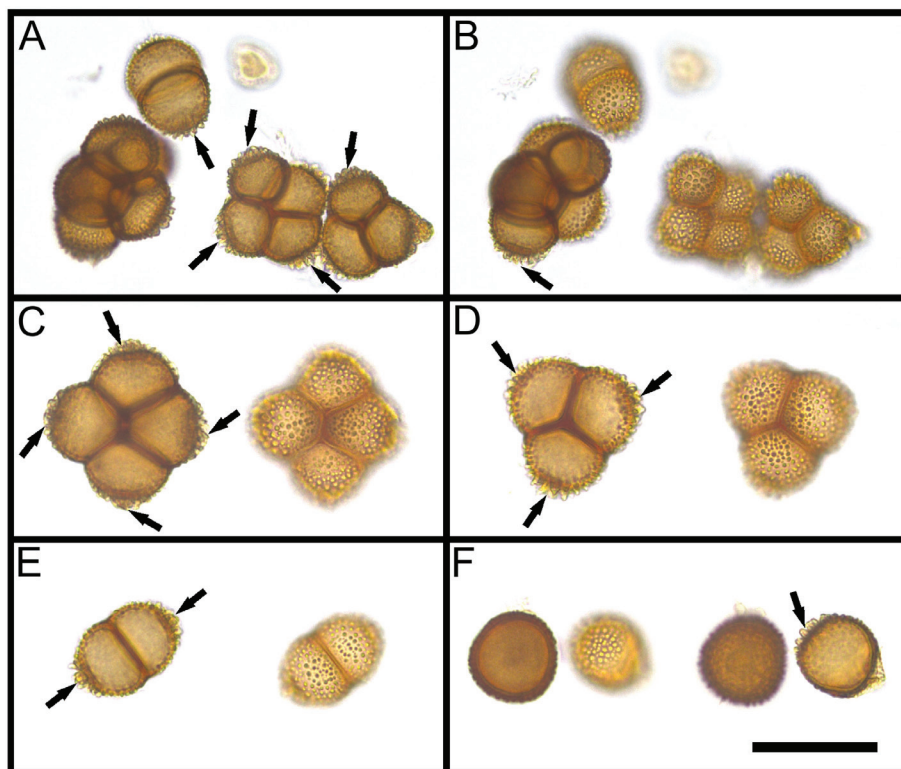


Figura 2. Esporos de *Thecaphora frezzii* visto sob microscópio de luz evidenciando as principais características diagnósticas da espécie. Bolas de esporos com 2 teliósporos sob vista mediana (A) e superficial (B). Bolas com 3 teliósporos sob vista mediana (C) e superficial (D). Observar a ornamentação verrucosa das paredes externas, com projeções mais proeminentes nas extremidades distais, em comparação com as áreas próximas à junção das células. Notar que internamente, nas áreas de contato entre as células, as paredes são lisas. Barra = 10 μ m.



Fotos: Dartanã José Soares

Figura 3. Esporos de *Thecaphora frezzii* visualizados sob microscópio de luz. A) Vista mediana de esporos com 2, 3, 4 e 6 células. B) Vista superficial dos esporos com 2, 3, 4 e 6 células. C) Vista mediana (esquerda) e superficial (direita) de um esporo de 4 células. D) Vista mediana (esquerda) e superficial (direita) de um esporo de 3 células. E) Vista mediana (esquerda) e superficial (direita) de um esporo de 2 células. F) Vista mediana (esquerda) e superficial (direita) de esporos de 1 célula. As setas negras destacam a ornamentação proeminente nas partes distais dos esporos. Barra: a - b = 25 μ m; c-f = 30 μ m.

Apesar de os esporos de *T. frezzii* serem facilmente reconhecíveis, a presença de impurezas e anomalias pode impedir a correta visualização das estruturas (esporos do fungo) e assim induzir interpretações equivocadas, resultando tanto em laudos falso-positivos quanto falso-negativos.

Tabela 1. Características morfológicas⁽¹⁾ dos teliosporos de *Thecaphora frezzii*, *T. seminis-convolvuli*, *T. solani* e *T. spilanthis*, e hospedeiros associados a cada espécie.

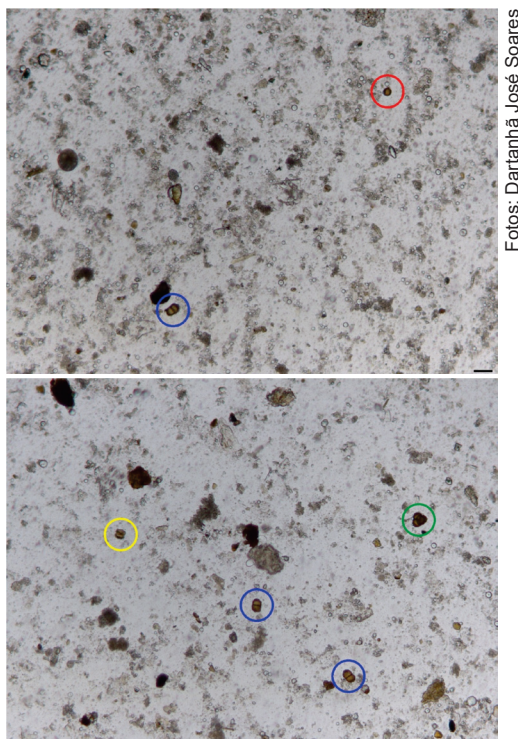
Espécie	Tamanho das bolas de esporos (µm)	Tamanho dos esporos (µm)	Nº de esporos por bola	Cor dos esporos	Formato das bolas de esporos	Ornamentação	Hospedeiro
<i>T. frezzii</i>	20–36×25–50	15–22×16–25	1–8(–10)	Laranja-amarelada a marrom-avermelhada	Subgloboso a irregularmente globoide, ovoide	Verrucosa (até 5,5 µm comp.)	<i>Arachis</i> sp.
<i>T. seminis-convolvuli</i>	20–55	11–16×(13–)15–24(–35)	2–10(–18)	Marrom-avermelhada clara	Globoso, ovoides a irregular	Verrucosa (até 2,5 µm)	<i>Convolvulus</i> sp.
<i>T. solani</i>	12–40×15–50	12–20(–23)	(1–)2–8 ou mais	Amarelada a marrom-avermelhada clara	Subgloboso a irregular	Verrucosa (até 2,5 µm)	<i>Lycopersicon</i> sp.; <i>Solanum</i> sp.
<i>T. spilanthis</i>	15–35×20–45	10–16×11–20(–25)	2–15(–20)	Amarelo-pálida a marrom-amarelada pálida	Subgloboso, ovoides a elipsoide	Verrucosa (0,5–1 µm)	<i>Acmeilla</i> (<i>Spilanthes</i>) sp.

⁽¹⁾Características morfológicas compiladas de Vanky (2012).

Ocorrências Falso-Negativas

A ocorrência de falsos-negativos está associada à presença de impurezas na amostra e deformações dos esporos que impedem o correto reconhecimento das estruturas de *T. frezzii* por parte de quem estiver analisando as amostras, podendo levar à conclusão errônea de que a amostra está livre do patógeno (Figuras 4 a 7). Por outro lado, é importante ressaltar também que todo e qualquer método de diagnóstico apresenta incertezas relativas à própria metodologia, que podem levar a diagnósticos falso-negativos.

Em relação à técnica de exame de suspensão de lavagem das sementes, deve-se dar especial atenção quanto à representatividade da amostra e exame minucioso da ressuspensão do pellet.



Fotos: Dartanã José Soares

Figura 4. Esporos de *Thecaphora frezzii* em uma amostra de sementes de amendoim importada da Argentina, após procedimento de lavagem, centrifugação e observação de sedimentos, vistos sob microscópio de luz (100x). Os círculos indicam teliosporos: unicelular (vermelho), bicelulares (azul) e tricelular (verde), com estrutura intacta e facilmente reconhecíveis. O círculo amarelo indica esporo bicelular deformado, com rompimento parcial das paredes. Barra = 25 µm.

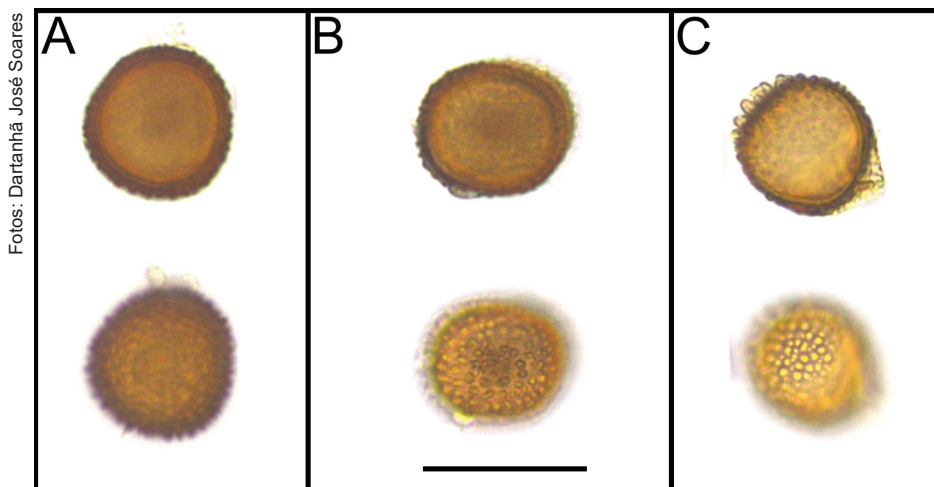


Figura 5. Esporos “solitários” de *Thecaphora frezzii*. Vista mediana (linha superior) e vista superficial (linha inferior). Notar em “A” que o esporo possui forma esférica com as verrugas distribuídas sob toda a superfície. Essa situação é atípica e rara de ser observada. Em “B”, devido à orientação do esporo em relação ao plano de visão, não é possível observar as projeções mais proeminentes, típicas da espécie. Em “C” observam-se facilmente as projeções mais acentuadas na extremidade distal do esporo. Situações análogas às ilustradas em “A” e “B” podem levar a um parecer falso-negativo. Observar também as diferenças na coloração dos esporos. Barra = 25 μ m.

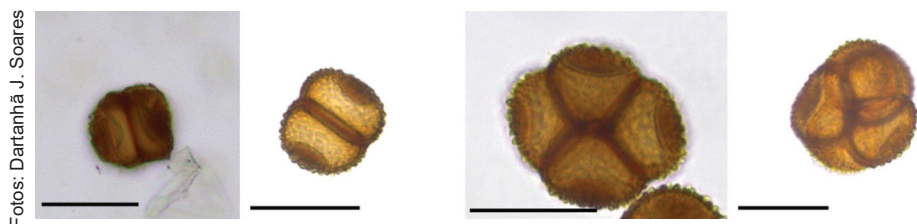
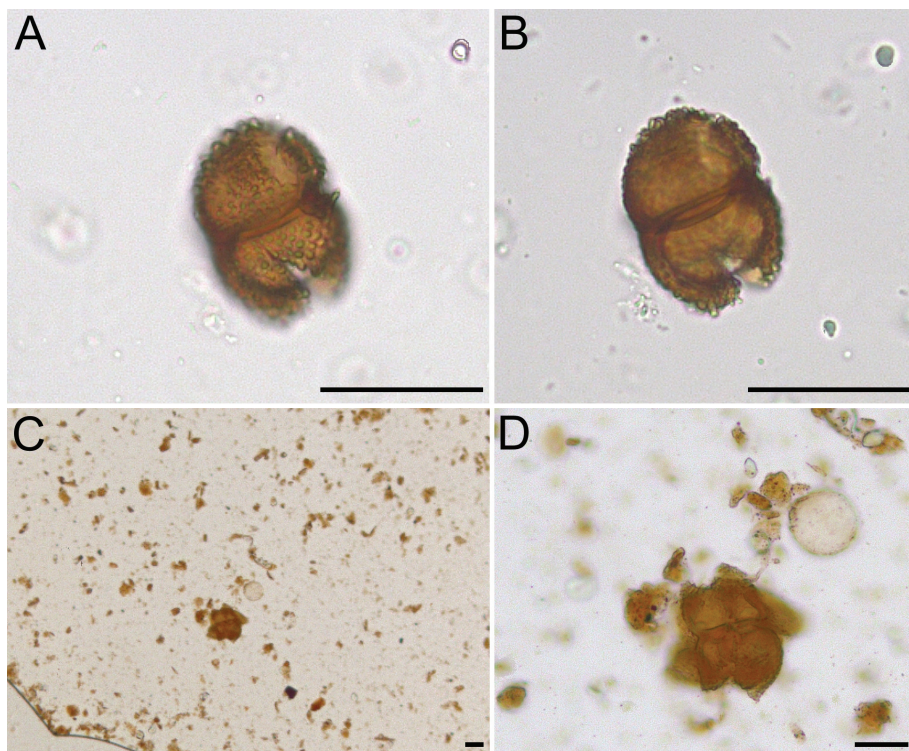


Figura 6. Esporos de *Thecaphora frezzii* levemente deformados (desidratados), com retração das paredes impedindo a correta observação do formato dos esporos e dos prolongamentos distais, típicos da espécie. Barras = 25 μ m.



Fotos: Dartanã José Soares

Figura 7. Esporos de *Thecaphora frezzii* apresentando ruptura parcial (“A” e “B”) e acentuada (“C” e “D”) das paredes. Em “A” e “B”, embora a parede esteja rompida, ainda é possível reconhecer a morfologia geral do esporo. Em “C” e “D” quase não é possível reconhecer o esporo, situação que facilmente poderia resultar em um parecer falso-negativo. Barras = 25 µm.

Ocorrências Falso-Positivas

A ocorrência de falsos-positivos está associada à presença de estruturas com morfologia similar aos esporos de *T. frezzii* e que, se não observadas detalhadamente, podem levar a interpretações equivocadas (Figuras 8 e 9). Ocorrências falso-positivas são exclusivamente definidas pela falta de familiaridade do técnico ou analista em relação ao correto reconhecimento da praga.

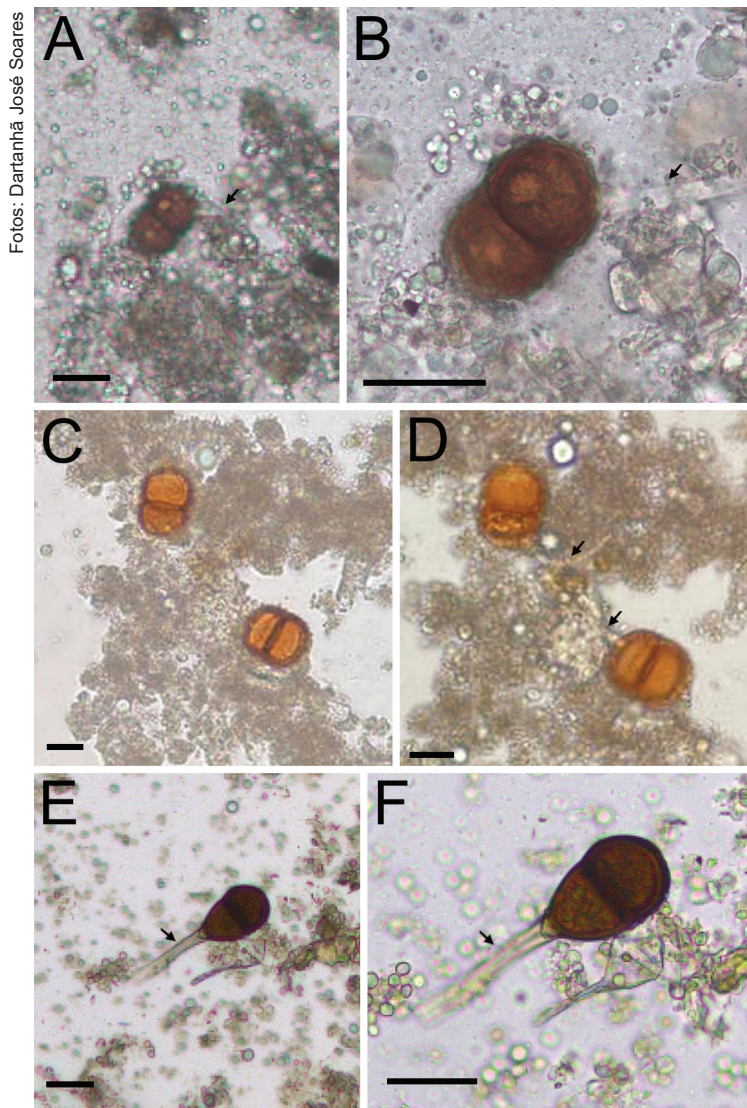
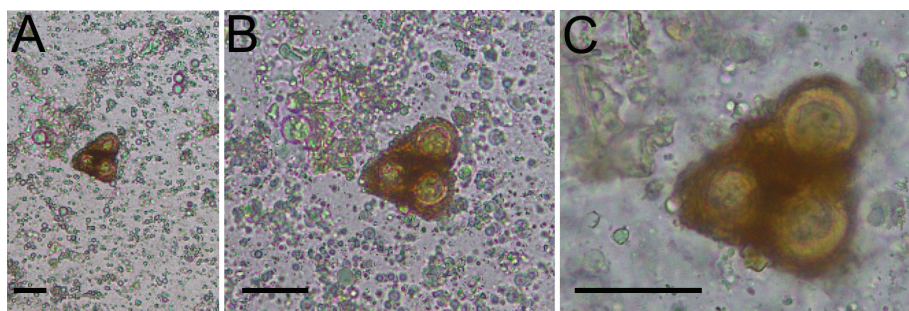


Figura 8. Esporos de ferrugens *Prospodium* sp. (A e B) e *Puccinia* sp. (C a F) presentes em amostras de grãos de amendoim, que podem levar a um diagnóstico falso-positivo. Notar em “C” que o aspecto geral do esporo (*Puccinia* sp.), pelo ângulo observado é muito similar ao de *Thecaphora* (cor e ornamentação), no entanto, ao se mudar o plano de visão (D), apesar da interferência das impurezas, fica evidente a presença do pedicelo (setas) e que as paredes não são verrucosas. Em “E” e “F”, a presença do pedicelo é evidente (*Puccinia* sp.), além da parede externa ser lisa e o esporo possuir uma coloração mais escura que aquela comumente observada em *T. frezzii*.

Dentre as estruturas que poderiam levar a um laudo falso-positivo merecem destaque os esporos de outras espécies de *Thecaphora*. Porém, como mencionado anteriormente, no Brasil, além de *T. frezzii*, só se tem registro de uma outra espécie desse gênero, a qual é distinguível por meio de tamanho, cor, número de células, e ornamentação da parede (Tabela 1). Por outro lado, esporos de outros fungos como algumas ferrugens (Figura 8) e mesmo grãos de pólen, como por exemplo de *Coutoubea spicata* Aubl. (Matos et al., 2014) ou tríades e tétrades de *Typha* sp. (Marburger, 2013), podem, às vezes, ser confundidos com esporos de *T. frezzii*, mas isso apenas em termos morfológicos grosseiros, pois, em geral, essas estruturas possuem características que as distinguem facilmente dos esporos de *T. frezzii*.



Fotos: Dartanhã José Soares

Figura 9. Agrupamento de estruturas em formato de tríade assemelhando-se a esporos de *Thecaphora frezzii* quando observadas em aumento de 100x (A). Notar que, ao se usar magnificações de 200 e 400x (“B” e “C”), fica claro que não se trata de *T. frezzii*, pois as paredes externas são lisas, as áreas de contato entre as “células” não apresentam “ângulos retos”, e elas parecem estar frouxamente aderidas por uma massa disforme (C).

Diante do exposto, com base na descrição e imagens de *T. frezzii*, aqui fornecidas, espera-se que técnicos e analistas responsáveis pela realização das análises de lotes de amendoim a serem exportados para países que regulam essa praga, tenham, com esta publicação, subsídios para realização de análises mais assertivas quanto à presença de esporos do fungo, de modo a evitar prejuízos financeiros e não financeiros para as empresas brasileiras exportadoras de amendoim.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **T-Rex**: Requisitos fitossanitários para exportação. 2023a. Disponível em: <https://sistemasweb.agricultura.gov.br/siarp/consultarTRex!consultarTRexPaginado.action>. Acesso em: 24 abr. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diagnóstico Fitossanitário**. 2023b. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfda/laboratorios-credenciados/laboratorios-credenciados/diagnostico-fitossanitario/diagnostico-fitossanitario>. Acesso em: 27 abr. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa MAPA Nº 71, de 13 de novembro de 2018**. 2018. Disponível em: https://www.infoconsult.com.br/legislacao/instrucao_normativa_mapa/2018/in_mapa_71_2018.htm#art33. Acesso em: 27 abr. 2023.

DIAGNOSTIC PROTOCOLS FOR REGULATED PESTS - PM 7/29 (3) *Tilletia indica*. **OEPP/EPPO Bulletin**, v. 48, n. 1, p. 7-31, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/epp.12452>. DOI: 10.1111/epp.12452. Acesso em: 24 abr. 2023.

EMBRAPA ALGODÃO. **News**: curso da Embrapa vai ajudar na identificação do fungo que causa o carvão do amendoim. Campina Grande, 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/45741181/curso-da-embrapa-vai-ajudar-na-identificacao-do-fungo-que-causa-o-carvao-do-amendoim>. Acesso em: 24 abr. 2023.

FAO. International Plant Protection Convention. **International Standard for Phytosanitary Measures 7**: Phytosanitary certification system. [Rome], 2016a. Disponível em: <https://www.fao.org/3/k5001e/k5001e.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2023.

FAO. International Plant Protection Convention. International Plant Protection Convention. **International Standard for Phytosanitary Measures 27**: Diagnostic protocols for regulated pests. [Rome], 2016b. Disponível em: https://www.ippc.int/static/media/files/publication/en/2016/01/ISPM_27_2006_WithoutApp2_En_2015-12-22_PostCPM10_InkAmReformatted.pdf. Acesso em: 25 abr. 2023.

FISHER, G. W. **Manual of the North American Smut Fungi**. New York: The Roland Press Company, 1953. 342 p.

MARBURGER, J. E. Use of pollen to identify cattail (*Typha* spp. Typhaceae) taxa in Indiana. **Plant Science Bulletin**, v. 59, n. 4, p. 173-177, 2013.

MARRARO ACUÑA, F. Detección de esporas de *Thecaphora frezzii* en semillas de maní asintomáticas. In: JORNADA NACIONAL DEL MANÍ, 27., 2012, Córdoba. [Anais...]. Córdoba: Centro Ingenieros Agrónomos General Cabrera e Zona / INTA, 2012. p. 50-51.

MATOS, M. N. F.; MADURO, C. B.; COSTA, C. S.; SILVA, S. J. R. Caracterização polínica das plantas lenhosas do Bosque dos Papagaios, Boa Vista, Roraima, Norte do Brasil. **Boletim do Museu Integrado de Roraima**, v. 8, n. 1, p. 19-41, 2014.

MENDES, M. A. S.; URBEN, A. F.; DIANESE, J. C. **Fungos em Plantas no Brasil**. 2. ed. ampl. e rev. Brasília, DF: Escola Nacional de Gestão Agropecuária, 2019. 970 p.

NOTIFICATION OF EMERGENCY MEASURES G/SPS/N/AUS/426. 2017. Disponível em: https://docs.wto.org/dol2fe/Pages/FE_Search/FE_S_S009-DP.aspx?language=E&CatalogueIdList=236962&CurrentCatalogueIdIndex=0&FullTextHash=1&HasEnglishRecord=True&HasFrenchRecord=True&HasSpanishRecord=True#. Acesso em: 24 abr. 2023.

PIEPENBRING, M. **Smut Fungi (Ustilaginomycetes P. P. and Microbotryales, Basidiomycota)**. New York: Flora Neotropica, 2003. 291 p. (Monograph 86).

RAGO, A. M.; CAZÓN, L. M.; PAREDES, J. A.; MOLINA, J. P. E.; CONFORTO, E. C.; BISONARD, E. M.; ODDINO, C. Peanut smut: from an emerging disease to an actual threat to Argentine peanut production. **Plant Disease**, v. 101, n. 3, p. 400-408, 2017.

SINCLAIR, J. B.; DHINGRA, O. D. **Basic Plant Pathology Methods**. 2nd ed. [S. l.]: Routledge and CRC Press, 1995. 448 p.

SOARES, D. J. Carvão do amendoim: uma ameaça no ar e nas sementes. In: SILVA, R. P. da; SANTOS, A. F. dos; CARREGA, W. C. **Avanços na produção de amendoim**. Jaboticabal: Funep, 2019. 214 p.

USA. United States Department of Agriculture. **APHIS - Importation of Peanuts (*Arachis hypogaea*) from Argentina and Brazil - DA-2017-35**. 2017. Disponível em: https://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/plant_imports/federal_order/downloads/2017/DA-2017-35.pdf. Acesso em: 24 abr. 2023.

VANKY, K. **Smut fungi of the world**. Minnesota: APS Press, 2012. 1458 p.

VANKY, K. **Illustrated Genera of Smut Fungi**. Minnesota: APS Press, 2002. 238 p.

VANKY, K.; SHIVAS, R. G. **Fungi of Australia. The Smut Fungi**. Melbourne: CSIRO Publishing, 2008. 267 p.

VANKY, K. **European Smut Fungi**. Stuttgart: Gustav Fisher Verlag, 1994. 570 p.

VANKY, K; LUTZ, M.; BAUER, R. About the genus *Thecaphora* (Glomosporiaceae) and its new synonyms. **Mycological Progress**, v. 7, p. 31-39, 2008.

Embrapa

Algodão

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA E
PECUÁRIA

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
UNIÃO E RECONSTRUÇÃO

CGPE 018470