

DESENVOLVIMENTO DE NOVA CULTIVAR DE FUMO 'COMUM' RESISTENTE AO VÍRUS DO MOSAICO NO BRASIL¹

OSCAR F. SWENSON PONTES², EDSON S. ESPINDOLA, ERCELI M. CAVAGNOLLO³ e S. SUDO⁴

RESUMO - A cultivar CSC 300 é a mais recente variedade de fumo tipo "comum" disponível para plantio em áreas infestadas pelo TMV (Vírus do Mosaico do Fumo). A nova cultivar, imune ao TMV, foi obtida pelo método do retrocruzamento, utilizando-se, inicialmente, as cultivares CO-D (Palotina) como pai recorrente, e duas cultivares de fumo Burley (Ky-14 e Ky-12) como doadoras dos genes "NN", responsáveis pelo caráter imunidade (hipersensibilidade das células infectadas). A nova cultivar foi superior à comercial tanto em produtividade quanto em qualidade das folhas curadas, possuindo características fenotípicas bastante semelhantes à cultivar CO-D. Os testes envolvendo painéis de fumaça foram muito bons alcançando grande concordância com os padrões organolépticos esperados dentro do tipo de fumo "Galpão Comum". Esta nova cultivar foi entregue aos produtores de fumo para plantio já na safra-87, através do "Centro de Pesquisas e Melhoramento Genético do Fumo" da Souza Cruz.

Termos para indexação: *Nicotiana tabacum*, TMV, tipo comum.

DEVELOPMENT OF A NEW COMMON TOBACCO CULTIVAR RESISTANT TO MOSAIC VIRUS IN BRAZIL

ABSTRACT - A new "Galpão Comum" tobacco variety carrying resistance to the Tobacco Mosaic Virus - TMV, was developed through the backcross method. The initial crosses employed the most commercial CO-D (Palotina) variety and the donor parents Ky-14 and Ky-12 that are Burley varieties and also belong to the air cured group. These donor parents possess the hypersensitivity (HS) type of resistance to TMV. The resultant TMV immune variety, named CSC 300, was higher in yield and had more desirable cured leaves, according to the amount of tanish leaves (L) and quality grade 2 produced. The phenotypic characteristics of this new variety were considered quite similar to the recurrent parent (CO-D/Palotina). The smoking panels tests were very good and had a strong agreement with the normal characteristics for the "Galpão Comum" favorite type. This new variety was developed to be given to the formers, for the 1986/87 crop season, by the Genetic and Breeding Research Center of Souza Cruz.

Index terms: *Nicotiana tabacum*, new variety, backcross, TMV, common type.

¹ Aceito para publicação em 31 de janeiro de 1990.

² Eng.-Agr., M.Sc., Centro de Pesquisas Genéticas Souza Cruz - Banco de Germoplasma de Fumo/DF; Companhia de Cigarros Souza Cruz, Caixa Postal 133, CEP 83880 Rio Negro, PR.

³ Eng.-Agr., Dep. de Fumo, Companhia de Cigarros Souza Cruz, Caixa Postal D-118, CEP 88100 Florianópolis SC.

⁴ Eng.-Agr., M.Sc., Dep. de Pesquisas - CPD, Companhia de Cigarros Souza Cruz, Caixa Postal 1051, CEP 21050 Rio de Janeiro, RJ.

INTRODUÇÃO

O vírus do mosaico do fumo (TMV) é difícil de ser controlado em virtude, principalmente, da facilidade com que o vírus pode ser transmitido mecanicamente. Tem sido demonstrado que plantas de fumo inoculadas com o vírus do mosaico durante as atividades relacionadas ao transplante para o campo, so-

frem perdas significativas em qualidade e produtividade (Chaplin 1964).

Muitas variedades de *Nicotiana tabacum* L. são susceptíveis ao mosaico do fumo, sendo que nestes casos, o vírus espalha-se pelas plantas durante o processo infeccioso, de maneira sistêmica, e de forma que flores e folhas apresentam listras cloróticas. E como resultado, a qualidade e produtividade da lavoura ficam bastante comprometidas (Gerstel 1943). De acordo com Lucas (1975), plantas de fumo infectadas com o vírus do mosaico ainda nos primeiros estágios de desenvolvimento apresentam marcadas distorções e irregularidades no crescimento, ocasionando, por vezes, uma supressão na formação das folhas, deixando-as estreitas e com formatos irregulares.

Dentre as medidas recomendadas para o controle desta virose pode-se relacionar: 1) erradicação de plantas daninhas hospedeiras, as quais permitem a sobrevivência do vírus durante o inverno e promove a reinoculação do mesmo, a partir de raízes vivas ou já mortas no solo, ou através dos restos da vegetação (Gooding Junior 1969); 2) rotação de culturas, uma vez que os solos de campos que tiveram culturas de fumo infectadas por TMV também representam uma fonte de inoculação (Lucas 1975); 3) emprego de cuidados fitossanitários durante o manuseio das mudas nos canteiros, tais como evitar de fumar ou manusear cigarros de palha; e, 4) principalmente, a utilização de cultivares ou variedades resistentes (Gooding Junior 1981, Fortnun & Kravsz 1982).

No sul do Brasil os principais problemas decorrentes desta doença localizam-se, basicamente, nas áreas destinadas ao plantio do fumo tipo 'Comum'. Trata-se de um tipo especial de fumo curado ao ar, o qual é destinado à confecção de cigarros para o mercado doméstico em virtude de possuir características físicas e de fumaça bem aceitas por este mercado.

O termo 'Galpão Comum' vem sendo amplamente utilizado pelos pesquisadores ligados à área fumageira internacional, separando-o dos demais tipos de fumo curado ao ar existentes no mercado. Considerando-se a importância deste tipo de fumo para a fumicultura

nacional, bem como as elevadas perdas causadas pela incidência desta virose, a Companhia de Cigarros Souza Cruz iniciou um extenso programa de melhoramento genético visando a obtenção de novas cultivares de fumo Comum resistentes ao TMV e que satisfaçam qualitativa e quantitativamente as exigências atuais do mercado.

MATERIAL E MÉTODOS

Atualmente existem muitas variedades de fumo "Burley" (outro tipo de fumo curado ao ar) que são resistentes ao TMV. Este germoplasma resistente foi originado a partir de uma transferência intespecífica de genes da espécie *Nicotiana glutinosa* para cultivares comerciais de *N. tabacum* (Holmes 1938).

Esta resistência é controlada por um único par de genes dominantes e, de acordo com o autor, podem ser distinguidas três formas: 1) hipersensibilidade (HS), 2) tolerância, e 3) resistência à infecção pelo vírus. O material utilizado como doador da resistência é do tipo 1, o hipersensível, conferindo uma completa imunidade às plantas quanto ao ataque do vírus do mosaico do fumo. A resistência se dá através da rápida morte das células inicialmente infectadas, que, associada à lenta taxa de multiplicação do TMV nas mesmas, resulta numa localização das partículas viróticas em pequenas áreas necróticas, impedindo sua disseminação pelo resto da planta (Lucas 1975).

Considerando-se as características inerentes ao método de retrocruzamentos no melhoramento de plantas, optou-se pelo seu emprego neste projeto, uma vez que a necessidade de se ter uma variedade comercial resistente ao TMV era urgente e, ainda, dispunha-se de um pai recorrente de elevadas qualidades. Além disso, o caráter a ser transferido possuía herança genética simples. De um modo geral, o método dos retrocruzamentos tem dado excelentes resultados em casos semelhantes a este (Harlan & Pope 1922, Briggs & Allard 1933, Allard 1960).

Os cruzamentos iniciais do programa de melhoramento genético do fumo Comum, envolveram as cultivares de fumo Burley Ky-14 e Ky-12 como doadoras dos genes resistentes, e a cultivar comercial CO-D (Palotina), representativa do germoplasma de fumo Comum, mais plantado no sul do País.

A partir destes cruzamentos iniciais, desenvolveu-se em extenso programa de retrocruzamentos,

sempre precedidos pela seleção de material imune ao TMV. As seleções foram realizadas no campo, em áreas sabidamente infectadas pela doença (com plantas daninhas e culturas anteriores com sintomas típicos do TMV). As plantas consideradas fenotipicamente adequadas aos objetivos do programa de melhoramento foram ainda individualmente inoculadas com o vírus do mosaico do fumo. A preparação do inóculo foi feita no próprio local, a partir de plantas de fumo já infectadas, através de uma maceração em água, das folhas jovens portadoras do vírus. O vírus do mosaico do fumo é, notadamente, de grande estabilidade (Lucas 1975), não requerendo o uso de soluções tamponadas no preparo de inoculações. As inoculações foram feitas pelo método do esfregasso de folhas jovens e sadias das plantas previamente selecionadas no campo, utilizando-se uma escova dental de cerdas macias. As inoculações foram realizadas sempre no final das tardes, buscando-se as horas mais frescas do dia. A fim de assegurar-se os resultados das inoculações, tomou-se o cuidado de inocular, também, plantas testemunhas pertencentes à cultivar recorrente susceptível ao TMV (CO-D/Palotina). Cerca de 48 horas após as inoculações já foi possível identificar-se as plantas hipersensíveis (HS), através da análise visual das folhas inoculadas: as folhas com pequenas áreas necrosadas foram consideradas resistentes (HS), ao passo que as plantas com folhas sem estas necroses foram consideradas susceptíveis. Estes resultados foram confirmados por uma segunda inoculação das plantas resistentes, e também, pela completa manifestação dos sintomas do mosaico nas plantas susceptíveis.

As linhagens obtidas mostraram-se bastante semelhantes à cultivar comercial, o que possibilita o início dos testes experimentais no campo, para se determinarem as características agrônomicas das linhagens mais promissoras.

A área experimental escolhida para alocação deste projeto possui um histórico da ocorrência de TMV em lavouras de fumo. Neste local, as perdas causadas por esta virose tornam o uso de cultivares resistentes, condição essencial para o sucesso das mesmas.

Os experimentos, realizados em dois locais diferentes, tiveram como tratamento-testemunha a cultivar comercial CO-D (Palotina). Utilizaram-se 500 plantas de cada tratamento, perfazendo um total de 1.500 plantas por local. Os tratamentos foram:

Tratamento	Linhagem/ cultivar	Inocula- ções*	Nº de plantas
1	CO-D (P.E. nº 2)	Sim	500
2	F3RC4	Sim	500
3	CO-D (P.E. nº 2)	Não	500

* Realizou-se em todas as plantas da macro-parcela inoculações artificiais do vírus do mosaico do fumo, através de esfregasso das folhas ponteiras. Nesta operação usou-se uma escova dental comum, embebida em solução aquosa contendo o vírus.

A inoculação no tratamento 2 teve como objetivo, além do controle da eficácia do método de inoculação utilizado, servir como indicativo do progresso obtido com o advento da cultivar resistente. O tratamento 3, CO-D não inoculado, será utilizado nas comparações qualitativas e quantitativas do fumo produzido pela linhagem em teste.

O emprego de 500 plantas por parcela (macro-parcela), deve-se à necessidade de confecção de cigarros-testes, a partir do fumo produzido nos tratamentos 2 e 3. Os testes organolépticos, indicativos da qualidade da fumação de cada tratamento, foram realizados conforme metodologia internacional para avaliação de cigarros, pelo Centro de Pesquisas e Desenvolvimento-DP da Companhia de Cigarros Souza Cruz, RJ.

Os tratamentos fitossanitários aplicados durante as fases de canteiro e lavoura, foram os normalmente recomendados para a cultura do fumo no sul do Brasil. Um manejo especial foi dado às adubações realizadas, o qual utilizou 550 kg/ha da fórmula 10.18.20, aplicados na base (pré-plantio), completados com 250 kg/ha da fórmula 45.0.0 em cobertura. A cobertura foi parcelada em três vezes (40% + 40% + 20%), sendo que a última adubação não excedeu os 55 dias após plantio.

A inoculação do vírus do mosaico do fumo foi realizada em mudas transplantadas, após atingirem, no "pique" de crescimento, altura entre 35 e 45 cm. O método empregado foi o do esfregasso das folhas superiores de cada planta, utilizando-se para isso uma escova dental (com cerdas macias) embebida em solução aquosa contendo o vírus. A solução foi previamente preparada, através da maceração de folhas de fumo infectadas com TMV, seguida da diluição em água. Inocularam-se todas as plantas pertencentes aos tratamentos 1 e 2. Para assegurar a presença

do vírus nas plantas, repetiu-se todo o processo de inoculação, cerca de 20 dias após a primeira vez.

A identificação das plantas resistentes ao mosaico do fumo foi feita através da observação dos sintomas característicos da hipersensibilidade nas folhas inoculadas. As plantas que não apresentaram tais sintomas, foram, a posteriori, identificadas pela presença de TMV (infectadas).

A caracterização físico-química dos solos das duas áreas experimentais, encontra-se apresentada na Tabela 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A eficácia deste projeto deveu-se, basicamente, ao sistema de hibridações recorrentes proporcionadas pelo método de melhoramento empregado. As plantas selecionadas, apresentaram-se fenotipicamente semelhantes à cultivar comercial mais plantada na região, e tiveram um superior desenvolvimento na lavoura.

Uma das características do método dos retrocruzamentos é que os extensivos testes de avaliação das linhagens resultantes não são necessários se as principais características do pai recorrente forem satisfatoriamente recuperadas (Poehlman 1979).

Neste caso, após o quarto retrocruzamento, as linhagens apresentam-se, teoricamente, com 96,875% dos genes pertencentes à cultivar comercial CO-D, e os restantes 3,125% oriundos das cultivares de fumo 'Burley', doadoras dos genes para resistência ao TMV. Nesta etapa, já não foi possível separar-se pelo fenótipo, as linhagens das plantas recorrentes, indicando uma completa recuperação das princi-

pais características da cultivar comercial. Por outro lado, a presença de uma certa quantidade de genes de fumo 'Burley' no genótipo das novas cultivares de fumo Comum é até desejável.

A rapidez com que a nova cultivar de fumo Comum foi obtida deveu-se, também, às fortes pressões de seleção e inoculações, praticadas no campo. Mesmo durante os trabalhos de testes de progênie resistentes e homozigotas, realizadas em condições de casa de vegetação, pôde-se selecionar plantas fenotipicamente semelhantes ao CO-D comercial.

Durante a condução dos trabalhos de campo, constatou-se o aparecimento de murcha bacteriana, causada por *Pseudomonas solanacearum* no campo da repetição II. Apesar de as plantas estarem bem desenvolvidas, a presença desta bactéria na área experimental levou ao cancelamento desta repetição, não sendo considerados seus dados para fins de análises estatísticas.

Na Tabela 2 estão apresentados os percentuais da ocorrência de doenças viróticas, para os três tratamentos, nas repetições I e II. Nota-se que mesmo após as inoculações artificiais não houve presença de TMV nas plantas da linhagem em teste, nos dois locais. Por outro lado, a cultivar testemunha CO-D, inoculada artificialmente, apresentou 100% desta virose nas duas áreas experimentais. No tratamento 3, onde CO-D não foi inoculado, registrou-se o ataque do vírus em 5 e 30% das plantas, nas repetições II e I, respectivamente. Isto deveu-se à transmissão mecânica aleatória, ocorrida durante a condução dos trabalhos de campo.

TABELA 1. Resultado das análises físicas e químicas dos solos das áreas experimentais. Companhia de Cigarros Souza Cruz - Dep. de Fumo, 1987.

Repetição	pH (água)	MO %	Al Meq.%	P ppm	Ca Meq.%	Mg Meq.%	K	Areia	Silte %	Argila	Tipo de solo
I	6,3	3,2	-	6,0	10,0	1,8	1,2	20	44	36	LR
II	6,3	3,1	-	8,0	10,4	1,8	1,0	8	40	52	LR

TABELA 2. Percentual de ocorrência de viroses nas áreas experimentais. Companhia de Cigarros Souza Cruz - Dep. de Fumo, 1987.

Tratamentos	TMV		Broto Crespo		Vira Cabeça	
	I ¹	II	I	II	I	II
1	100	100	-	1,2	-	0,2
2	0	0	-	1,0	-	0,2
3	30	5	-	1,0	-	0,2

¹ Repetições.

Na repetição II a infestação por TMV foi menor em virtude da morte das plantas pelo ataque da murcha bacteriana.

As outras viroses, apresentadas na Tabela 2, foram identificadas através de seus sintomas característicos. A presença das viroses, "broto crespo" e "vira cabeça", é endêmica nesta região fumageira e seus danos dependem grandemente das condições ambientais. A infestação observada pode ser considerada normal.

A Tabela 3 apresenta os rendimentos quantitativos (kg/ha), qualitativos (US\$/kg) e econômicos (US\$/ha) do fumo. Maior atenção será dada aos resultados dos tratamentos 2 e 3, visto que o tratamento 1 (CO-D inoculado) é sabidamente inferior aos demais.

Em termos de produtividade (kg/ha), a linhagem em teste superou a cultivar comercial (não inoculada) em 988 kg/ha, demonstrando

TABELA 3. Resultados experimentais obtidos das macro-parcelas (500 plantas) para os rendimentos quantitativo (k/ha), qualitativo (US\$/kg) e econômico (US\$/ha) do fumo (*Nicotiana tabacum* L.). Companhia de Cigarros Souza Cruz - Dep. de Fumo, 1987.

Tratamento	kg/ha	US\$/kg	US\$/ha
1	3.168,3	0,39	1.226,74
2	4.566,9	0,41	1.859,18
3	3.578,8	0,38	1.371,19

um potencial produtivo, mesmo quando inoculada com TMV, superior ao do fumo tradicionalmente plantado na área. Da mesma forma, do ponto de vista da remuneração recebida pelo produtor, a linhagem em teste foi superior à comercial, apresentando um acréscimo de US\$ 487,99 no rendimento bruto por ha.

A Tabela 4 apresenta as percentagens de fumo por posição, cor e fumos tipo (2 e 3). Estes parâmetros auxiliam na identificação da qualidade do produto final e são avaliados durante o processo de comercialização.

De um modo geral, houve paridade na distribuição de fumo por posição entre os tratamentos 2 e 3, havendo predominância de fu-

TABELA 4. Distribuição percentual do fumo produzido por ocasião, cor e qualidade, para os três tratamentos avaliados. Companhia de Cigarros Souza Cruz - Dep. de Fumo, 1987.

%	Tratamentos		
	1	2	3
X	3,0	5,48	3,94
C	52,70	57,91	56,49
B	42,67	28,78	30,83
T	1,62	7,86	8,72
L	8,19	34,97	8,95
N	9,62	6,61	3,02
K	82,19	58,42	88,03
2	-	5,17	3,01
3	17,41	36,41	8,95

mos do meio-pé (posição C) e alto-meio-pé (posição B). A linhagem teste destacou-se pelo maior volume de fumo castanho-claro (L) produzido, e também pelas baixas percentagens de fumos K (indesejáveis).

A Tabela 5 relaciona os estilos de enfiamento do fumo produzido. Nota-se que os dois tratamentos em discussão tiveram praticamente os mesmos estilos de fumo, sem grandes diferenças entre si.

As análises organolépticas, referentes à qualidade da fumaça produzida pelas duas alternativas testadas (Tabela 6) não revelaram diferenças perceptíveis no painel de fumantes. Isto indica que o fumo produzido pela nova cultivar poderá entrar diretamente na fabricação de cigarros domésticos, sem necessidade de se alterarem os atuais "blends" comerciais.

Os resultados apresentados permitem concluir, ainda que com algumas ressalvas do ponto de vista experimental, que esta nova linhagem atenderá as necessidades dos produtores de fumo das áreas com problemas de produção decorrentes da incidência do TMV nas lavouras. Portanto, o emprego deste método de melhoramento genético de plantas, poderá, futuramente, ser utilizado novamente na obtenção de outras cultivares de fumo, particularmente, no caso da incorporação de características de herança genética simples.

A nova cultivar obtida, constituiu-se na primeira variedade de fumo Comum geneticamente melhorada no Brasil, e será distribuída

TABELA 5. Estilos de enfiamento do fumo produzido, conforme a Portaria 875 do Ministério da Agricultura. Companhia de Cigarros Souza Cruz - Dep. de Fumo, 1987.

Classes de enfiamento	Tratamentos		
	1	2	3
FN	55,70	63,39	60,43
FFN	44,29	36,61	39,55

TABELA 6. Composição das classes de enfiamento do fumo debulhado e ressecado, para confecção de cigarros-testes. Companhia de Cigarros Souza Cruz - Dep. de Fumo, 1987.

Classes de enfiamento	Quantidade (kg)
XK	2,0
C3L	3,0
CK	5,0
B3L	22,0
B3	1,0
T2	2,0

aos produtores com o nome de CSC 300. A distribuição de sementes para plantio de fumo, feita pela Companhia de Cigarros Souza Cruz, é inteiramente gratuita, sendo que desta forma, o uso desta nova cultivar de fumo Comum não representará acréscimo nos custos de produção deste tipo de fumo.

CONCLUSÕES

1. A cultivar CSC 300 apresentou-se altamente resistente ao TMV, resultando em aumento da produtividade em relação às cultivares tradicionais;

2. A utilização desta nova cultivar pelos fumicultores no sul do Brasil contribuirá para o controle do TMV nesta região, além de representar um acréscimo na rentabilidade obtida com a cultura do fumo;

3. O emprego do método de retrocruzamento mostrou-se bastante eficiente no desenvolvimento de cultivares de fumo resistentes ao mosaico do fumo (TMV).

REFERÊNCIAS

- ALLARD, R.W. *Principles of plant breeding*. New York, John Wiley & Sons, 1960. 485p.
- BRIGGS, F.N. & ALLARD, R.W. The current status of the backcross method of plant breeding. *Agron. J.*, 45(4):131-8, 1933.

- CHAPLIN, J.F. **Effects of tobacco mosaic on flued-cured tobacco.** s.l., S.C. Agric. Exp. Sta., 1964, 7p. Bull., S13.
- FORTNUM, B.A. & KRAVSZ, J.P. Alternative control for tobacco mosaic virus. **Tob. Sci.**, **26**:124-5, 1982.
- GERSTEL, D.U. Inheritance in *Nicotiana tabacum*. XVII Cytogenetical analysis of Glutinosa-type resistance to mosaic disease. **Genetics**, **28**:533-6, 1943.
- GOODING JUNIOR, G.V. **Epidemiology of tobacco mosaic on flued-cured tobacco in North Carolina.** s.l., North Caroline Agric. Exp. St., 1969. 25p. (Tech. Bull., 195)
- GOODING JUNIOR, G.V. Control of tobacco mosaic virus on flued-cured tobacco by cross protection. **Tob. Sci.**, **25**:40-1, 1981.
- HARLAN, H.V. & POPE, M.N. The use and value of backcrosses in small breeding. **J. Hered.**, **13**:319-22, 1922.
- HOLMES, F.O. Inheritance of resistance to tobacco mosaic in tobacco. **Phytopat.**, **28**:553-61, 1938.
- LUCAS, G.B. **Diseases of tobacco.** 3. ed. s.l., Harold E. Parker & Sons, 1975. 621p.
- POEHLMAN, J.M. **Breeding field crops.** 2.ed. s.l., AVI Publis. Comp. INC, 1979. 486p.