



**REBERTH RENATO DA SILVA**

**SELEÇÃO RECORRENTE VISANDO À TOLERÂNCIA PARA  
A MURCHA BACTERIANA EM TABACO**

**LAVRAS – MG**

**2019**

**REBERTH RENATO DA SILVA**

**SELEÇÃO RECORRENTE VISANDO À TOLERÂNCIA PARA A MURCHA  
BACTERIANA EM TABACO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção de título de Mestre.

Prof. Dr. Magno Antonio Patto Ramalho  
Orientador

Dr. José Maria Villela Pádua  
Coorientador

**LAVRAS - MG**

**2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Silva, Reberth Renato da.

Seleção recorrente visando à tolerância para a murcha  
bacteriana em tabaco / Reberth Renato da Silva. - 2019.

55 p.

Orientador (a): Magno Antonio Patto Ramalho.

Coorientador (a): José Maria Villela Pádua.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Melhoramento de plantas. 2. *Nicotiana tabacum* L. 3.  
Tolerância à *Ralstonia solanacearum*. I. Ramalho, Magno Antonio  
Patto. II. Pádua, José Maria Villela. III. Título.

**REBERTH RENATO DA SILVA**

**SELEÇÃO RECORRENTE VISANDO À TOLERÂNCIA PARA A MURCHA  
BACTERIANA EM TABACO**

**RECURRENT SELECTION AIMING BACTERIAL WILT TOLERANCE IN  
TOBACCO.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de plantas, para obtenção de título de Mestre.

APROVADA em 24 de Julho de 2019.

Dr. José Maria Villela Pádua (BAT)

Prof. Dr. Adriano Teodoro Bruzi (UFLA)

Prof. Dr. Magno Antonio Patto Ramalho  
Orientador

**LAVRAS - MG**

**2019**

*“A Deus, o que seria de mim sem a fé que eu tenho nele.”*

Dedico

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade que me foi dada, por guiar meu caminho e por fazer com que essa conquista fosse possível.

Aos meus pais José e Ana por toda dedicação, ensinamentos, por não medirem esforços para que os meus sonhos sejam realizados e por serem exemplos de pais e pessoas.

Às minhas irmãs Thaís e Marcela, suporte, ensinamentos e amizade.

Aos meus sobrinhos Rafael e Pedro, pela alegria contagiante. A todos meus familiares, pelo apoio e ajuda durante todas as etapas da minha formação.

A Souza Cruz S/A - BAT, por fornecer recursos para realização dessa pesquisa. Agradeço aos colaboradores que participaram da elaboração desse trabalho, em especial ao Dr. José Maria de Villela Pádua, pelo envolvimento e por abrir as portas para a interação entre a universidade e a empresa. Agradeço a toda equipe do Centro de Melhoramento de Tabaco (CMT) pela participação e condução do projeto.

Agradeço a Universidade Federal de Lavras e ao programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade da realização de um sonho. Ao meu orientador, professor Magno A. P. Ramalho, agradeço por cada minuto dispendido comigo, por toda atenção, ajuda e ensinamentos. Você é exemplo de dedicação e entusiasmo.

Aos professores do programa por todo conhecimento e experiência transmitidos.

À pesquisadora Dra. Ângela F. B. Abreu, por toda ajuda, apoio e amizade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

A todos os amigos do GEN, do Grupo de Pesquisa em feijoeiro, pela convivência, amizade, companheirismo, ensinamentos e ajuda.

Aos todos meus amigos do “Terceiraço”, “Mentirocids”, “Agronomia” pela amizade que vou levar comigo para sempre, em todas as etapas da minha vida.

A todos que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal.

**MUITO OBRIGADO!**

## RESUMO

A murcha bacteriana cujo agente causal é a *Ralstonia solanacearum* é uma das doenças de maior importância econômica para a cultura do tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) em todo o mundo. Ela provoca o atrofiamento e amarelecimento dos tecidos foliares que partem das folhas mais novas e pode evoluir para toda a planta. Como o controle químico é de eficiência reduzida a única alternativa viável é a seleção de linhagens/híbridos resistentes. Como o controle genético do patógeno ao que tudo indica é poligênico a principal estratégia para se ter sucesso é o emprego da seleção recorrente (SR). Para atingir esse objetivo foi utilizada a população de SR da empresa Souza Cruz, do grupo varietal Virginia para verificar a viabilidade do emprego dessa estratégia de melhoramento visando a resistência/tolerância à *R. solanacearum*. Adicionalmente, verificar qual o tipo de progênie é mais viável para a condução da SR e estimar uma possível associação entre o número de plantas com sintoma (NPCS) e a performance agrônômica do tabaco. Para isso foram conduzidos alguns experimentos sob condições de campo. Na safra de 2017/18 foram avaliadas 100 progênies S<sub>1:2</sub> da população original (C0) e 108 progênies de meios-irmãos do ciclo I (CI). Na safra seguinte avaliou-se 196 progênies S<sub>0:1</sub> do CI e 176 progênies de MI do CII. Os experimentos foram conduzidos em uma área com histórico de ocorrência do patógeno no município de Canoinhas (SC). Para garantir a ocorrência do patógeno, aos 40 a 45 dias após o transplante das mudas foi efetuada a inoculação do patógeno. Avaliou-se a incidência do patógeno por meio do número de plantas com sintomas. No ano agrícola de 2017/18 foi também avaliada visualmente, o potencial produtivo das plantas. Constatou-se que a heterogeneidade da distribuição do patógeno na área contribuiu para a baixa precisão experimental. Nessa condição a variação genética foi, independente do tipo de progênie utilizado, de pequena magnitude. Contudo, mesmo nesse cenário a diferença na tolerância entre as progênies foi associada com a performance agrônômica e a seleção recorrente mostrou que foi ligeiramente eficiente na acumulação de alelos favoráveis visando a maior tolerância ao patógeno. Novas estratégias de fenotipagem das progênies devem ser procuradas para se obter informações mais seguras a respeito da tolerância ou não à *R. solanacearum*.

**Palavras chave:** Melhoramento de plantas, *Nicotiana tabacum* L., Resistência de plantas à doença, Tolerância à *Ralstonia solanacearum*.

## ABSTRACT

Bacterial wilt whose causal agent is *Ralstonia solanacearum* is one of the most economically important diseases for tobacco cultivation (*Nicotiana tabacum* L.) worldwide. It causes the atrophy and yellowing of the leaf tissues from the youngest leaves and can evolve throughout the plant. As chemical control is of reduced efficiency the only viable alternative is the selection of resistant lines/hybrids. As the genetic control of the pathogen is apparently polygenic, the main strategy for success is the use of recurrent selection (RS). To achieve this objective, the RS population of the Souza Cruz company, of the Virginia varietal group, was used to verify the viability of use this breeding strategy aiming at tolerance to *R. solanacearum*. Additionally, to verify which type of progeny is most viable for the conduction of RS and to estimate a possible association between the number of plants with symptoms (NPWS) and the agronomic performance of tobacco. For this, some experiments were conducted under field conditions. In the 2017/18 season, 100 S<sub>1:2</sub> progenies from the original population (C0) and 108 of the cycle I (CI) half sib progenies were evaluated. In the following season, 196 S<sub>0:1</sub> progenies of the CI and 176 progenies of the CII were evaluated. The experiments were conducted in an area with a historic of pathogen occurrence in Canoinhas (SC). To ensure the occurrence of the pathogen, at 40 to 45 days after transplanting of the seedlings were inoculated the bacteria. The incidence of the pathogen was evaluated by the number of plants with symptoms. In the 2017/18 season, the productive potential of the plants was also visually evaluated. It was found that the heterogeneity of pathogen distribution in the area contributed to the low experimental accuracy. In this condition the genetic variation was, regardless of the type of progeny used, of small magnitude. However, even in this scenario the difference in tolerance between progenies was associated with agronomic performance and recurrent selection showed that it was slightly efficient in the accumulation of favorable alleles aiming at greater tolerance to the pathogen. New phenotyping strategies of the progenies should be sought to obtain safer information in relation to tolerance to *R. solanacearum*.

**Keywords:** Plant breeding, *Nicotiana tabacum* L., Plant resistance to disease, Tolerance to *Ralstonia solanacearum*.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1	A cultura do tabaco no Brasil e no mundo .....	11
2.2	Origem e Caracterização da planta de <i>Nicotiana tabacum</i> L.....	12
2.3	Murcha bacteriana no tabaco.....	13
2.4	Estratégias para a resistência duradoura aos patógenos.....	18
2.5	Seleção Recorrente .....	19
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1	Local .....	21
3.2	Obtenção e avaliação da população base (ciclo 0) e populações do ciclo I do programa de seleção recorrente .....	21
3.3	Análise dos dados .....	25
4	Resultados .....	27
5	Discussão.....	41
6	Conclusões .....	45
	REFERÊNCIAS .....	46

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura do tabaco é de extrema importância no cenário do agronegócio brasileiro. Em todo o Brasil foram produzidas na safra 2018/19 cerca de 686 mil toneladas sendo a maioria exportada arrecadando 2,0 bilhões de dólares. O País é o maior exportador mundial desde 1993. Adicionalmente a cultura do tabaco proporciona o emprego direto e indireto de cerca de 2,1 milhões de pessoas na sua cadeia produtiva. Estima-se que 146 mil famílias participam da produção (AFUBRA, 2019; IBGE, 2018; SINDITABACO, 2018).

Com a intensificação do cultivo, principalmente na região sul do Brasil os patógenos incrementaram sua importância. Dentre eles a murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* se destaca. A bactéria promove a perda da turgescência, atrofiamento e amarelecimento dos tecidos foliares e das partes mais suculentas dos ramos da planta. Os danos na produção de tabaco causados por essa moléstia ainda não foram mensurados no Brasil. Contudo, na Carolina do Norte eles estimam perda da ordem de alguns milhões de dólares (MILA, RADCLIFF, 2015). Em outras espécies as perdas devido a essa bactéria são também muito expressivas como em tomate, batata, banana e amendoim (ELPHINSTONE, 2005).

Como é causada por um patógeno de solo, que sobrevive em associação com diferentes plantas hospedeiros, com ampla adaptação às condições climáticas, torna-se difícil encontrar métodos adequados de controle. O controle químico, por exemplo, é de eficiência reduzida. Deve-se então procurar outras alternativas. Uma das mais eficientes é o emprego de linhagens/híbridos resistentes (LIU et al., 2016; LOPES, 1994; TAKATSU e LOPES, 1997).

Alguns trabalhos apresentam a tolerância à *Ralstonia solanacearum* em batata (CHEN et al., 2013); tomate (CARMEILLE et al., 2006; GEETHANJALI et al., 2010; KIM et al., 2016; WANG et al., 2013), berinjela (LEBEAU et al., 2013). No tabaco já foram publicados vários artigos a esse respeito (COSTA et al., 2019; DRAK-ESTOWE et al., 2017; GAI; ZHANG; WANG, 2003; GAO; WANG; ZHANG, 2010; KIBA et al., 2007; LAN et al., 2014; NISHI et al., 2003; QIAN et al., 2013; QIAN et al., 2016; SOUZA et al., 2018). Em todas essas publicações a menção é que o controle genético é poligênico e provavelmente aditivo e o caráter é muito influenciado pelo ambiente.

Como o controle genético deve ser poligênico o acúmulo dos alelos favoráveis a tolerância dos diferentes genes deve ser realizado por etapas. Nessa condição, a seleção recorrente (SR) é o procedimento mais apropriado. A SR é um processo cíclico de melhoramento em que os alelos favoráveis vão sendo acumulados gradativamente (HALLAUER, 1992; RAMALHO et al., 2012). A seleção recorrente foi recomendada

inicialmente para as plantas alógamas, porém nas últimas décadas tem se intensificado o seu emprego em plantas autógamas visando o melhoramento de vários caracteres entre eles a resistência à patógenos (COSTA et al., 2019; AMARO et al., 2007; MORAIS JUNIOR, 2015; REZENDE et al., 2014). Não foi encontrado nenhum relato do emprego da SR visando a tolerância a *Ralstonia solanacearum*.

Para se avaliar o potencial da seleção recorrente no melhoramento de um dado caráter é importante verificar, por meio de estimativas de parâmetros genéticos se a população utilizada tem variabilidade genética suficiente para se obter progresso com a seleção. Também, verificar qual o tipo de progênie é mais adequado e como e quando deve ser realizada a recombinação. Como essas informações não estão disponíveis para esse caráter na cultura do tabaco a sua obtenção é de primordial importância.

Do exposto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de: Utilizando a população de SR da empresa Souza Cruz, do grupo varietal Virginia verificar a viabilidade do emprego dessa estratégia de melhoramento visando a tolerância à *Ralstonia solanacearum* utilizando uma área de histórico conhecido de ocorrência do patógeno. Adicionalmente, verificar qual o tipo de progênie é mais viável para a condução da SR e estimar uma possível associação entre o número de plantas com sintoma (NPCS) e a performance agrônômica do tabaco.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 A cultura do tabaco no Brasil e no mundo**

No Brasil como já foi salientado foram produzidas 707 mil toneladas de tabaco a maioria da produção destinada à exportação. O contingente de pessoas envolvidas no processo é enorme sendo estimado que mais de 146 mil famílias tem como principal fonte de renda a produção de tabaco (AFUBRA, 2019; KIST et al., 2018).

A Região Sul do Brasil, representa 97% da produção nacional, isso deve-se à alta rentabilidade que a cultura proporciona em pequenas propriedades, à tradição dos povos europeus em cultivar tabaco, e também, pelas condições climáticas e de solo (AFUBRA, 2019).

Segundo o relatório da Associação dos fumicultores do Brasil (AFRUBRA, 2019), no período de 2005 a 2019, o número de famílias produtoras de tabaco na região sul do Brasil reduziu cerca de 24%. Nesse período a área plantada, caiu em 32% e a produção, em toneladas, reduziu apenas 18% em função do aumento da produtividade.

De acordo com Silveira; Dorneles e Ferrari (2012) a produtividade em 1996 era em média de 1,55 t ha<sup>-1</sup> e, em 2006, aumentou para 2,03 t ha<sup>-1</sup>, ou seja, um aumento de aproximadamente 49% (SANTOS et al., 2017).

As principais áreas de produção de tabaco no mundo se localizam principalmente em regiões de latitudes médias, com destaque para o Brasil e os Estados Unidos, na América, para o Malawi, Zimbábue e Zâmbia, na África, para a Índia, a China e a Indonésia, na Ásia (FAO, 2019; SHAFÉY et al., 2009).

Dados recentes divulgados pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) da produção mundial revelam que o Brasil foi o segundo maior produtor em 2017/18, ficando atrás apenas da China o que muda o cenário, já que na safra 2016/17 ele ocupava a terceira posição (FAO, 2019; KIST et al., 2018).

Na China que é o maior produtor de tabaco, a produção é feita manualmente por aproximadamente 20 milhões de famílias de produtores com propriedades do tamanho médio de 0,3 a 0,4 hectares (FAO, 2003). Na Índia que é o terceiro maior produtor, a produção é realizada por aproximadamente 850 mil produtores em pequenas propriedades familiares, sendo que a metade desses apresentam propriedades com menos de 02 hectares (FAO, 2003).

Nos Estados Unidos que é o quarto maior produtor, a produção localiza-se principalmente no Sudeste do país, nos estados da Carolina do Norte, Kentucky, Tennessee, Carolina do Sul, Virginia e Geórgia, que juntos respondem por aproximadamente mais de 90% da produção dos Estados Unidos. É produzido em propriedades médias e grandes com aproximadamente 70

hectares (BUAINAIN e SOUZA FILHO, 2009, USDA, 2018). Em relação ao modo de produção os produtores investiram em alta tecnologia o que aumentou a produtividade e reduziu o custo da mão de obra (CAPEHART, 2004).

## 2.2 Origem e Caracterização da planta de *Nicotiana tabacum* L.

O tabaco (gênero *Nicotiana* L.) é uma planta autógama, anual, que é cultivada com o propósito comercial e apresenta o ciclo que varia de 120 a 240 dias. Apresenta uma grande variabilidade e produz um grande número de sementes por planta (CLARKSON et al., 2005; LEWIS; NICHOLSON, 2007; LIM et al., 2004; MURAD et al., 2002). Esse gênero apresenta aproximadamente 70 espécies, originárias da América do Sul, América do Norte, Austrália e Ilhas do Pacífico Sul. Está dividido em três subgêneros *Rustica*, *Tabacum* e *Petunioides*, que pertencem à família Solanaceae. Considera-se que a planta tem como centro de diversidade provável a América do Sul, mais precisamente o noroeste da Argentina e a região dos Andes (GERSTEL, 1979).

A maior parte dos tabacos cultivados pertence à *N. tabacum* L., um alotetraplóide que apresenta  $2n = 4x = 48$  cromossomos, distribuídos nos genomas S e T. A espécie é considerada um híbrido que se originou de duas espécies diploides, *N. sylvestris* ( $2n=24$ ) com genoma S (maternal), e *N. tomentosiformis* ( $2n=24$ ), que apresenta o genoma T (parental) seguido de duplicação cromossômica (CLARKSON et al., 2005; LEITCH et al., 2008; LEWIS; NICHOLSON, 2007; LIM et al., 2004; MURAD et al., 2002). Provavelmente, o processo de hibridação natural entre as espécies de *Nicotiana* ocorreu no Nordeste da Argentina ou Sudeste da Bolívia, pelo fato das duas espécies ainda conviverem nessa região (COLLINS e HAWKS, 1993). O genoma do tabaco possui aproximadamente 4.5 Gb, e a maior parte é constituída por regiões repetitivas, possui 69.500 genes (EDWARDS et al., 2017; SIERRO et al., 2014), é duas vezes superior ao genoma do milho que é uma espécie diploide e seu genoma está organizado em 10 cromossomos com tamanho estimado variando de 2,3 a 2,7 Gb, com um número predito de genes superior a 30 mil (SCHNABLE et al., 2009).

É considerada uma planta herbácea que concentra a nicotina em torno de 90% a 97% do conteúdo total de alcaloides (SISSON, SEVERSON, 1990). O alcaloide nicotina era empregado pelos índios em rituais religiosos, e também com fins medicinais. Atualmente, *N. rustica* tem sido utilizada como fonte de nicotina para produção de inseticida e como fonte de ácido cítrico. Outras espécies como *N. alata*, *N. sandarae* e *N. glauca* são ornamentais. *N. tabacum* é entre as espécies a mais importante na agricultura atual e no mercado internacional (COLLINS e HAWKS, 1993).

Apresenta folhas grandes, que iniciam o processo de amadurecimento da base para cima. Podem atingir de 90-180 cm. As flores, que aparecem no topo, acima das folhas menores e mais jovens, apresentam cores variáveis (branco, púrpura, rosa, vermelho). São tubulares e possuem tanto os órgãos masculinos e os femininos (HUNZIKER, 2001). As sementes do tabaco são pequenas, e produzidas em grande número, de forma aproximadamente oval.

A cultura possui diversos grupos varietais. Os principais são Virginia, Burley, Oriental, Dark e Charuto, embasado na morfologia, método de cura, qualidade da folha. Outros grupos que detêm a maior fatia do mercado são Flue-Cured Virginia e Burley (WERNSMAN; RUFTY, 1987).

No Sul do Brasil o tipo de tabaco mais produzido são os que pertencem ao grupo varietal Virgínia e Burley. Eles possuem a peculiaridade de garantir ao produto final um sabor, e assim, esses produtos são classificados como do tipo *flavour* (SILVEIRA; DORNELLES; FERRARI, 2012; SILVEIRA, 2016). O tabaco Virgínia representou cerca de 87.9% do total produzido nesta região na safra de 2017/18 e as estimativas indicam que a tendência é de aumento do plantio desse grupo varietal (MENDES et al., 2015; SANTOS et al., 2017).

No caso do grupo varietal Virginia a colheita é escalonada de acordo com a maturação e a cura é realizada sob condições controladas de temperatura e umidade. Após a cura, as folhas apresentam coloração amarela e laranja, com alta concentração de açúcares redutores (WERNSMAN; RUFTY, 1987). Esse grupo varietal é bem adaptado às condições de cultivo no Brasil, contudo, como toda espécie cultivada tem alguns problemas que ainda necessitam ser solucionados um deles é a ocorrência da murcha bacteriana.

### **2.3 Murcha bacteriana no tabaco**

A murcha bacteriana causada pela *Ralstonia solanacearum*, também conhecida como Granville Wilt, foi registrada em 1896, por Erwin F. Smith, causando danos em batata, tomate e berinjela (LUCAS, 1975; HAYWARD, 1994; SHOEMAKER e SHEW, 1999). O Brasil é considerado um centro de origem da *R. solanacearum* (WRICKER et al., 2012). Na época, era responsável por perdas de 1 a 2% da produção do tabaco. Entretanto, em 2014 aproximadamente 2,3% da produção foi afetada, sendo que os prejuízos foram de milhões de dólares nos EUA (MILA e RADCLIFF, 2015).

A *R. solanacearum* é uma bactéria gram negativa, aeróbica, bastonetiforme, habitante de solo, que apresenta um ou mais flagelos polares, pertencente à subdivisão  $\beta$  das proteobactérias, ordem *Burkholderiales*, família *Ralstoniaceae* (GENIN e BOUCHER, 2002).

As condições climáticas ideais para o desenvolvimento do patógeno são de altas temperaturas e umidade. A *R. solanacearum* apresenta a capacidade de sobreviver no solo à temperatura de 17,8 °C por vários meses. Contudo, as melhores condições acontecem em temperaturas do solo entre 26,7 a 37,8 °C. Em temperaturas inferiores a 21 °C mesmo com a infecção as solanáceas não apresentam o sintoma de murchamento (AKIEW e TREVORROW, 1994; HAYWARD, 1994; BITTNER; ARELLANO; MILA, 2016).

A *R. solanacearum* é uma espécie complexa, apresenta grande variabilidade, diferenciando em distribuição geográfica, propriedades fisiológicas, patogenicidade e círculo de hospedeiras (SANTIAGO; LOPES; MIZUBUTI, 2016). A variabilidade entre os isolados pode ser observada por meio de suas propriedades bioquímicas (HAYWARD, 1964; HAYWARD, 1991); por meio do uso de PCR multiplex que é usado para designar grupos maiores no nível de subespécies que é denominado Filotipo (FEGAN e PRIOR, 2005) e Sequevar que é usado para designar agrupamentos de isolados que apresentam variações abaixo ou igual a 1% dentro da sequência do gene (*egl*) endoglucanase (POUSSIER et al., 2000; WICKER et al., 2007).

O agente causador da murcha bacteriana é extremamente variável, sendo adaptado a um grande número de plantas hospedeiras, sob as mais variadas condições. A bactéria está associada a mais de 200 espécies de plantas cultivadas e silvestres, em pelo menos, 50 famílias diferentes. Esse patógeno tem sido chamado de Complexo de Espécies *R. solanacearum* devido a grande diversidade genética das estirpes responsáveis pela murcha bacteriana (GENIN; DENNY, 2012; HAYWARD, 1991; HAYWARD, 1994; MIRANDA et al., 2004; WICKER et al., 2007).

O sintoma da murcha bacteriana do tabaco aparece como a perda da turgescência, atrofiamento e amarelecimento dos tecidos foliares e das partes mais suculentas dos ramos da planta em qualquer estágio do desenvolvimento. Esses sintomas partem das folhas mais novas e podem evoluir para toda a planta (LOPES e ROSSATO, 2013; MILA e RADCLIFF, 2015).

No caso de plantas jovens e de cultivares suscetíveis, pode ocorrer a murcha de uma ou duas folhas durante o período mais quente do dia, que pode se recuperar à noite. Inicialmente, as folhas de um lado da planta ou até mesmo a metade de uma folha fica murcha, enquanto as folhas do outro lado aparentam estar normais. Esse fato representa o sintoma típico que é o murchamento unilateral. As folhas não alteram a tonalidade se a doença não se desenvolver rapidamente. No entanto, se o murchamento ocorrer de forma gradual, as folhas afetadas tornam-se verde claras até ficarem amarelas. Na maioria dos casos, entre as nervuras e as

margens das folhas aparecem áreas necróticas. Com temperatura elevada e baixa umidade do ar, as folhas afetadas tornam-se severamente escaldadas (LUCAS, 1975; MARIANO et al., 1997; AKIEW e TREVORROW, 1994; SHOEMAKER e SHEW, 1999; BITTNER; ARELLANO; MILA, 2016).

A invasão do hospedeiro pela *R. solanacearum* ocorre por meio das raízes desde que haja umidade para garantir a sua multiplicação. Em geral, penetra no xilema coloniza os tecidos aéreos, o que causa o sintoma da murcha. Os ferimentos ou aberturas naturais, tais como os pontos nos quais emergem as raízes secundárias e células parcialmente esfoliadas da camada externa do parênquima, são os pontos de acesso do patógeno (SAILE et al., 1997; LOPES e ROSSATO, 2013).

Esse processo de invasão pode ser organizado da seguinte maneira: a) inicialmente, um pequeno número de células bacterianas penetram em alguns vasos lenhosos; b) sem alterar os parênquimas do xilema ou do floema elas se multiplicam em áreas localizadas nos traqueídeos e sua distribuição longitudinal; c) ocorre a obstrução dos vasos lenhosos em grande extensão, dificultando o fluxo de água; d) posteriormente, há a degradação das paredes e de células dos parênquimas adjacentes surgindo cavidades com a invasão do floema, medula e tecido cortical, principalmente em órgãos suculentos (PEYRAUD et al., 2016; TOKESSHI e CARVALHO, 1980).

Os estudos em tabaco e tomate mostram que o processo de murchamento e o efeito do patógeno no hospedeiro pode ser dividido em dois processos: o primeiro corresponde a indução do murchamento e o segundo a quebra do tecido. Após uma estirpe virulenta do patógeno entrar no sistema vascular de uma planta suscetível, ela se multiplica rapidamente produzindo uma exsudação. Essa consiste de misturas de polissacarídeos complexos e um peptídeo simples, como por exemplo, o exopolissacarídeo (EPS), que auxilia as células bacterianas a se manterem unidas, causando a obstrução dos vasos, podendo, também, prevenir o patógeno de ser reconhecido e imobilizado pelos componentes da planta tais como lecitinas, uma condição necessária para a indução da hipersensibilidade em interações compatíveis (HUET et al., 2014; MENG, 2013; MUKAIHARA et al., 2016; TRIGALET-DEMERY et al., 1993).

A ligação dos vasos é resultado da alta polimerização da exsudação de tamanho molecular grande que aumenta a viscosidade do fluxo vascular. A massa bacteriana por si só oferece algumas obstruções para o movimento da água, contudo o pus bacteriano se torna o mais importante agente. A destruição e o colapso da parede celular garantem o movimento lateral da bactéria de célula para célula, impedindo a condução de água nos tecidos e aumentando a

severidade do murchamento (BUDDENHAGEN e KELMAN, 1964; KELMAN e SEQUEIRA, 1965; MENG, 2013).

O processo de diagnose da murcha bacteriana é relativamente simples e possível de ser feito a campo. Com base nos primeiros sintomas de murchamento nas folhas, deve-se examinar o sistema radicular: frequentemente uma ou poucas raízes serão encontradas em um estado avançado de apodrecimento. Caso o solo for úmido, as raízes de tabaco afetadas se tornarão tenras e pouco desenvolvidas. A despigmentação das raízes aparece como listras negras nas zonas próximas da casca e em pequenos pontos onde patógeno penetrou na raiz principal (LOPES e ROSSATO, 2013; LUCAS, 1975).

Um outro método de fazer a diagnose é por meio de um corte longitudinal no caule da planta infectada onde este apresenta descoloração de marrom-clara para amarela-amarronzada no tecido vascular. Com o desenvolvimento, da doença, grandes partes da medula e do córtex ficam com a coloração marrom para preta. Por fim, a casca interna apodrece na base do talo, a planta fica com o talo oco e o tecido vascular se torna marrom escura para preta (LUCAS, 1975; SHOEMAKER e SHEW, 1999).

Os aspectos epidemiológicos mais importantes da murcha bacteriana estão relacionados com a sobrevivência do patógeno em áreas infestadas, as formas de disseminação e o ambiente, especialmente a temperatura. O patógeno encontra condições para sobreviver no solo por meio da associação com plantas hospedeiras resistentes ou assintomáticas, apesar disso ele possui baixa capacidade de sobrevivência. A maior parte das plantas hospedeiras pode ser assintomática ou não suscetível e atuar como melhores mantenedoras do patógeno, do que plantas suscetíveis (LOPES e ROSSATO, 2013; MILA e RADCLIFF, 2015; TAKATSU e LOPES, 1997; WANG et al., 2009)

O patógeno possui a habilidade de sobreviver melhor em solos úmidos, diminuindo em alguns solos pela baixa capacidade de retenção de água. Também apresenta redução de crescimento e sobrevivência em solos com alta atividade de antagonismo microbiano, quando exposto à luz solar e devido à ausência de plantas invasoras hospedeiras. Além da habilidade de multiplicação rápida, a bactéria é capaz de sobreviver por longos períodos no solo (FRENCH et al., 1994; MARTINS et al., 2018).

De acordo com Agrios (1997), não são claros os mecanismos pelos quais os microrganismos antagonistas atingem a população de patógenos, porém são geralmente associados a parasitismo direto, competição por nutrientes e nichos ecológicos e produção de substâncias antibióticas. Nenhum dos meios de controle biológico da murcha bacteriana

alcançou o ponto de aplicação comercial (AGRIOS, 1997; ANURATHA e GNANAMANICKAM, 1990; FURUYA et al., 1991; NION et al., 2015; LI et al., 2014; LIU et al., 2016).

A estratégia mais eficiente para o controle da murcha bacteriana tem sido realizada por meio do melhoramento visando a resistência genética à doença (HAYWARD, 1991; HUET et al., 2014; LOPES e QUEZADO-SOARES, 1994; LOPES e BOITEUX, 2016). Entretanto, esse modo de controle encontra barreiras na estabilidade em relação ao tempo e ao local, principalmente devido à variabilidade genética das estirpes do patógeno e por alterações climáticas das diferentes regiões geográficas (LOPES e ROSSATO, 2018; MORAIS et al., 2015; TUNG et al., 1990; VIANA, BERGER e DUARTE, 2012). Dessa forma, justifica-se o estabelecimento de programas de melhoramento em áreas específicas, levando-se em consideração as estirpes que predominam em cada local (LOPES e GIORDANO, 1983; LOPES e BOITEUX, 2016).

O controle genético já relatado em alguns dos principais hospedeiros já foi determinado (ELPHINSTONE, 1993; TAKATSU e LOPES, 1997; SANTIAGO; LOPES; MIZUBUTI, 2016). Os trabalhos de Tung et al. (1990), Tung et al. (1992) e Chen et al. (2013) avaliaram não só os genes de resistência, mas também genes que conferem adaptação ao ambiente. Concluíram que a resistência em batata é poligênica e que são necessários genes de adaptação ao ambiente para a expressão efetiva da resistência à murcha bacteriana. Em espécies como tomate (CARMEILLE et al., 2006; GEETHANJALI et al., 2010; KIM et al., 2016; WANG et al., 2013), berinjela (LEBEAU et al., 2013) também se constatou que é poligênico. No caso do tabaco o controle genético também é poligênico e com efeito aditivo (DRAKESTOWE et al., 2017; GAI; ZHANG WANG, 2003; GAO; WANG; ZHANG, 2010; KIBA et al., 2007; LAN et al., 2014; MAIMBO et al., 2010; NISHI et al., 2003; QIAN et al., 2013; QIAN et al., 2016; WANG et al., 2000).

Um recente trabalho desenvolvido por Souza et al. (2018) comprovou que a tolerância de tabaco à murcha bacteriana apresenta herança quantitativa, obteve-se um mapa genético de alta densidade utilizando marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) por meio de genotipagem por sequenciamento (GBS) para identificar regiões genômicas ligadas à tolerância. O processo de fenotipagem foi realizado planta a planta e se considerou um índice que considera a severidade em uma escala de 0 a 4 descrita por Jack (2001). Foram mapeados 13 QTLs para a tolerância à murcha bacteriana em oito grupos de ligação. Os locos presentes

nos grupos de ligação 3, 17 e 22 apresentaram os maiores efeitos na variação fenotípica explicando de 11.4% a 14.8%.

Parte das relações entre patógeno e hospedeiro no caso da *R. solanacearum* pode ser explicado pela teoria de flor também conhecida teoria gene-a-gene, na qual ele demonstrou uma estreita relação entre os sistemas gênicos do hospedeiro e do patógeno, em que, para cada gene que condiciona resistência no hospedeiro existe um gene complementar no patógeno que condiciona avirulência (STASKAWICZ, 2001).

Esse tipo de resistência se aplica a resistência monogênica em que a planta será resistente apenas quando ela apresentar alelo de resistência e o patógeno o alelo de avirulência, em que esses produzem proteínas que possuem a capacidade de associação para desencadear esse mecanismo de resposta (HUET, 2014). Assim, para *R. solanacearum* isso se aplica apenas para alguns genes, é possível inferir por meio de alguns trabalhos que também estão envolvidos os QDR resistência quantitativa à doenças que também é conhecida como resistência basal, normalmente eles são controlados por vários genes associados com regiões genômicas chamadas de QTL. Eles promovem uma resistência fenotípica incompleta, seguindo uma distribuição normal, desde muitos suscetíveis até muito resistentes, pois cada gene pode ter um grande ou um pequeno efeito na expressão do caráter.

#### **2.4 Estratégias para a resistência duradoura aos patógenos**

Como já foi salientado a *R. solanacearum* é um patógeno de difícil controle. Encontrar uma cultivar com um bom nível de resistência é um desafio, pois são vários genes que atuam na resistência como já foi confirmado por diversos autores (CHEN et al., 2013; DRAKE-STOWE et al., 2017; JACK, 2002; LEBEAU et al., 2013; QIAN et al., 2013; WANG et al., 2013; SOUZA et al., 2018). Além disso, o patógeno consegue sobreviver por vários anos no solo, pois apresenta um elevado número de hospedeiros como plantas daninhas, arbustos e outras culturas (GENIN; DENNY, 2012). Assim, o desenvolvimento de estratégias de resistência duradoura para o controle de doenças é necessário para sustentar qualquer sistema de produção alvo desse patógeno.

O custo para introdução de novos alelos de resistência é extremamente elevado. Desse modo, é necessário preservar a eficiência do funcionamento desses genes ao longo do tempo (DELMOTTE et al., 2016). É preciso buscar estratégias mais eficientes que os mecanismos de virulência da população do patógeno como as forças evolucionárias mutação, seleção, migração, deriva genética, transformação, conjugação, transdução, fatores citoplasmáticos e a recombinação (DELMOTTE et al., 2016).

Uma estratégia relatada por alguns autores é o uso de multilinhas. Esse método consiste em utilizar uma mistura que possui proporções que são estabelecidas a priori e as linhagens que compõem as multilinhas são fenotipicamente semelhantes, mas apresentam diferentes alelos de resistência. Essa estratégia tem ampla recomendação no manejo de muitas doenças em várias culturas (MCDONALD, 2014; SILVA, 2008).

Outra forma para garantir a durabilidade é por meio da piramidação, ou seja, o processo de introgressão de dois ou mais alelos com mecanismos de ação diferentes (DELMOTTE et al., 2016; MIKLAS et al., 2006; MUNDT, 2014; NELSON et al., 2018).

Um modo de obter resistência duradoura e que associa todos esses processos é por meio da seleção recorrente. Em que é possível obter multilinhas, e também a piramidação de genes. Não foi encontrado nenhum trabalho em tabaco e nem em outra planta cultivada sob seleção recorrente visando a tolerância à *R. solanacearum*. Contudo, em feijoeiro existem alguns trabalhos realizados aqui no Brasil que apresentaram ganhos de seleção de até 10,68% para a antracnose no feijoeiro, e também, para a mancha angular (COSTA et al., 2019; AMARO et al., 2007; REZENDE et al., 2014). O uso da seleção recorrente e o mecanismo de obter multilinhas foi bem demonstrado a partir do trabalho realizado por Costa et al. (2019).

## **2.5 Seleção Recorrente**

A seleção recorrente é qualquer processo cíclico de melhoramento que envolve a obtenção de progênies, avaliação e recombinação das melhores. Trata-se de um processo dinâmico que tem como objetivo o aumento da frequência dos alelos favoráveis. É um método de acúmulo de vantagens, visto que a cada ciclo os indivíduos superiores são recombinados (RAMALHO et al., 2012).

Os melhores indivíduos ou progênies de uma população são selecionados, posteriormente intercruzados para formar a próxima geração (ou ciclo) e o procedimento é repetido no próximo ciclo (BERNARDO, 2010). Dessa forma, o que se espera com a seleção recorrente é o aumento na média do caráter sob seleção, mantendo a variabilidade genética para progressos futuros com a seleção (HALLAUER, 1992).

Vários trabalhos na literatura apresentam argumentos para se empregar a seleção recorrente (FOUILLoux; BANEROT, 1988; GERALDI, 1997; BERNARDO, 2010; RAMALHO et al., 2012). A maioria dos caracteres de importância para o melhoramento de plantas é controlado por vários genes. Assim, para se obter sucesso com a seleção faz-se necessário que o melhoramento seja feito por etapas, ou seja, em vários ciclos seletivos

(RAMALHO et al., 2012; SIMMONDS; SMART, 1999). Além disso, devido ao sistema de reprodução das espécies autógamas, com as sucessivas autofecundações, há o isolamento das progênies e dos indivíduos dentro das progênies, não sendo possível aproveitar os alelos que estão em diferentes indivíduos, a não ser pelo intercruzamento entre eles (RAMALHO et al., 2012).

A seleção recorrente é constituída de quatro etapas: obtenção da população, avaliação destas em experimentos com repetições, seleção das progênies superiores e recombinação dos indivíduos e/ou progênies. Cada ciclo, portanto, só termina com a recombinação das progênies ou genótipos que originam a nova população (SOUZA JÚNIOR, 2001; RAMALHO et al., 2012).

A primeira etapa da seleção recorrente consiste na obtenção da população base; nela os genitores são escolhidos de forma que se associe alta média e a maior variabilidade genética possível (RAMALHO et al., 2012). Eles também devem apresentar fenótipos desejáveis para a maioria dos caracteres de interesse, além de serem os mais contrastantes possível, o que permite associar média alta e variabilidade genética. A média alta indica que os genitores são bem adaptados. Já, a variância alta, implica que os genitores se complementam (RAMALHO et al., 2012).

A etapa posterior é a avaliação e seleção dos melhores indivíduos/progênies a serem utilizados na recombinação consiste na etapa mais difícil no processo. Os tipos de progênies usualmente utilizados são meios-irmãos, irmãos-germanos ou completos, progênies endogâmicas  $S_1$ 's e  $S_2$ 's. Para caracteres com herdabilidade alta a seleção pode ser realizada visualmente nas gerações  $F_2$  ou  $S_0$ , ou seja, realiza-se a seleção fenotípica individual. A seleção recorrente fenotípica tem sido utilizada para alguns caracteres em plantas autógamas, como resistência à antracnose (COSTA et al., 2019), resistência à mancha-angular (AMARO et al., 2007, REZENDE et al., 2014), porte da planta (PIRES et al., 2014), precocidade (SILVA; RAMALHO; ABREU, 2007) e para a produtividade de grãos (MENEZES JUNIOR; RAMALHO; ABREU, 2008).

O intercruzamento é a etapa mais fácil da seleção recorrente. Para obter sucesso basta identificar as progênies que são realmente superiores para serem intercruzadas. O processo é dinâmico e pode-se a qualquer momento introduzir novas linhagens (RAMALHO et al., 2012).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Local**

Todos os dados experimentais utilizados foram gentilmente cedidos pela empresa British American Tobacco (BAT). A condução do presente estudo ocorreu no laboratório da empresa em Rio Negro (PR), 26° 06' de latitude Sul e 49° 47' longitude Oeste. Na área experimental da empresa na Unidade de Melhoramento de Tabaco do CMT, na estação de Canoinhas, SC, 26° 10' latitude Sul e 50° 23' longitude Oeste onde foram realizados os inter cruzamentos. E também, em uma fazenda com histórico bem conhecido da ocorrência do patógeno de um produtor integrado ao sistema, em Canoinhas (SC). As atividades experimentais foram conduzidas nos anos de 2017, 2018 e 2019.

#### **3.2 Obtenção e avaliação da população base (ciclo 0) e populações do ciclo I do programa de seleção recorrente**

A população base da SR do grupo varietal Virgínia utilizada nesse trabalho foi obtida a partir do inter cruzamento de 26 linhagens. Essas linhagens foram escolhidas em função da performance agrônômica em informações obtidas em experimentos conduzidos pela empresa nos últimos anos. Nenhuma informação da possível tolerância à *R. solanacearum* foi utilizada na seleção dessas linhagens.

As etapas na condução da SR estão mostradas na Figura 1. A obtenção das progênies  $S_{0:1}$  do C0 foi realizada na safra de 2015/2016.

Na safra 2016/2017 ocorreu a avaliação das progênies  $S_{0:1}$  e identificadas as melhores para serem recombinadas para a obtenção da população do CI. Como na recombinação utilizou-se um bulk de pólen das melhores progênies, foram obtidas progênies de meios-irmãos (MI). No mesmo campo as plantas de cada progênie  $S_{0:1}$  do C0 foram autofecundadas, obtendo-se progênies  $S_{1:2}$  do C0.

Na safra de 2017/2018 foram avaliadas progênies de MI do CI e  $S_{1:2}$  do C0 e duas testemunhas comuns aos dois experimentos. O delineamento para o experimento com progênies de MI foi o de blocos completos casualizados, com três repetições e parcelas constituídas de 1 linha de 10m. O espaçamento entre linhas era de 1,3m e entre plantas 0,5m, ou seja, 20 plantas por parcela.

Na avaliação das progênies  $S_{1:2}$  do C0 utilizou-se o delineamento látice triplo 10x10. Os detalhes da parcela foram os mesmos do utilizado com meios-irmãos. As bordaduras de todos os experimentos foram feitas nas laterais, constituídas pela cultivar K358LF, moderadamente

resistente, para que fossem evitados os efeitos ambientais nas parcelas que estavam localizadas nas laterais do experimento, e para que se tivesse padrões para a avaliação da performance produtiva.

A partir dos resultados de incidência foram identificadas as melhores progênies para serem recombinadas. Uma quarta repetição com as progênies de MI do C0, foi implantada um mês após para se proceder a recombinação das melhores progênies identificadas no experimento já mencionado. A recombinação foi efetuada utilizando um bulk de pólen.

Procedimento semelhante foi adotado na safra de 2018/19. Nesse caso, foram avaliadas 174 progênies de MI do CII e 194 progênies  $S_{0:1}$  do CI. Em ambos os casos as duas testemunhas, os híbridos CSC 4707 suscetível e o CSC 4704 resistente, foram incluídos nos experimentos. Dessa forma, na avaliação das progênies de MI adotou-se o delineamento alfa látice 11x16, com três repetições e no experimento com progênies  $S_{0:1}$  o delineamento foi látice triplo 14x14. A parcela com progênies de MI tinha 15 plantas e com progênies  $S_{0:1}$  dez plantas. No mesmo espaçamento entre linhas e plantas dentro da linha do ano anterior.

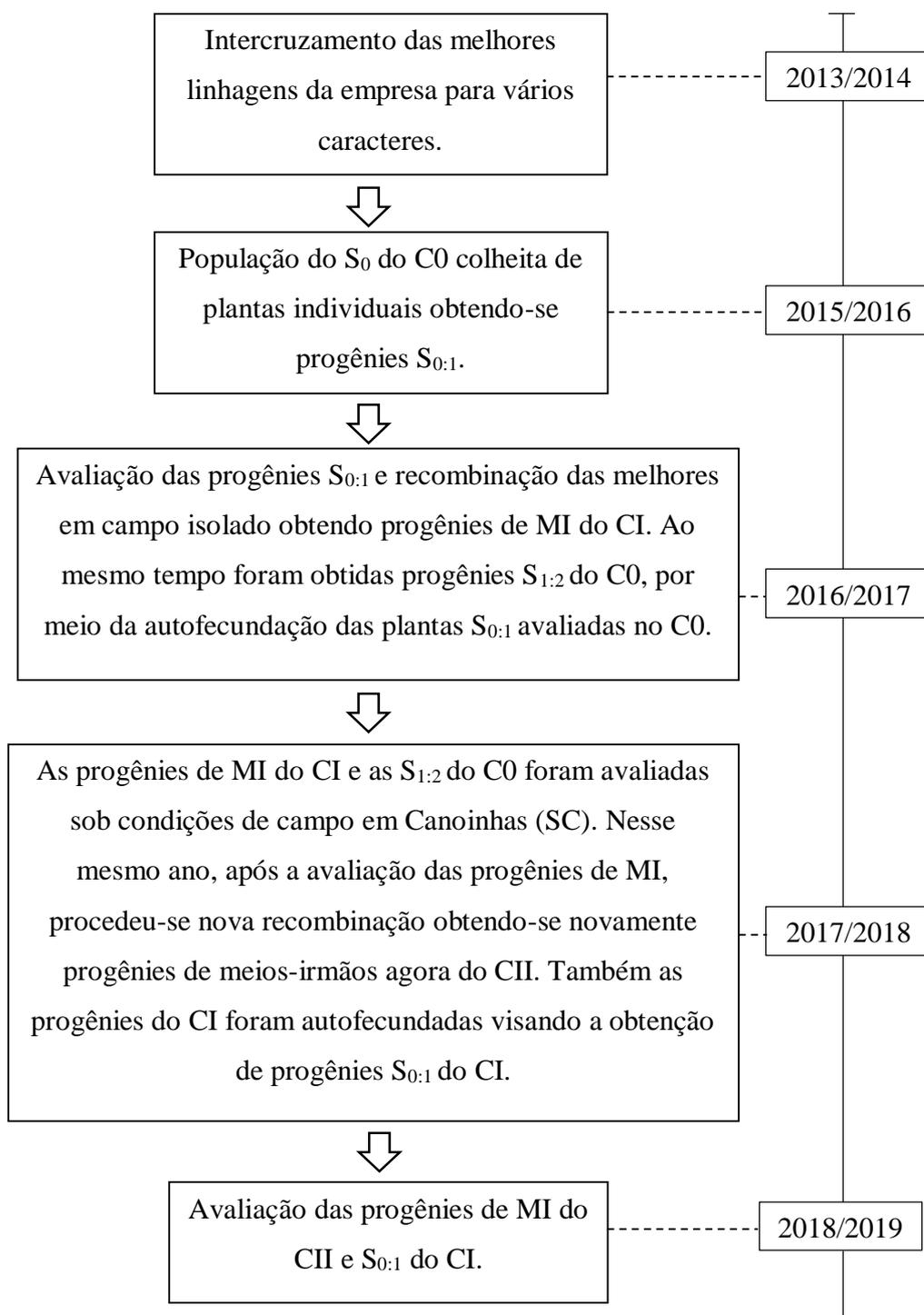


Figura 1. Esquema do programa de seleção recorrente para a tolerância à *R. solanacearum* em tabaco. Canoinhas (SC).

Os tratos culturais foram idênticos ao que a empresa recomenda aos seus parceiros na condução da cultura na região.

Em ambos os anos foram realizadas as inoculações com *R. solanacearum*. O isolado utilizado foi coletado em Tubarão/SC e caracterizada como biovar 1 e filotipo II (VIANA, BERGER; DUARTE, 2012), a metodologia utilizada foi adaptada do trabalho de Viana, Berger e Duarte (2012) e Gonçalves (2014). Aproximadamente 40 a 50 dias após a semeadura foi realizado um processo de injúria (ferimento) no terço inferior das raízes com o auxílio de uma tesoura, após a injúria as bandejas foram imediatamente acomodadas em bandejas de alumínio contendo a solução de água destilada saturada com *R. solanacearum* (800 mL de solução por bandeja).

O inóculo foi preparado a partir de células de *R. solanacearum* armazenadas em solução salina 0,85% à 4°C, utilizando placas de Petri contendo meio de cultura SPA (sacarose 20g L<sup>-1</sup>; peptona 10g L<sup>-1</sup>; ágar 20g L<sup>-1</sup>), mantidas a 28°C (BOD) por 3 dias. As colônias foram coletadas e diluídas em água destilada autoclavada até a densidade ótica por absorbância de 600 nm (OD<sub>600</sub>) = 0,025, que corresponde a 1x10<sup>6</sup> UFC mL<sup>-1</sup>.

A segunda inoculação foi feita de 40 a 45 dias após o transplântio das mudas para o campo. Foi utilizada uma solução com patógeno de *R. solanacearum* na concentração adequada. A inoculação foi realizada com ajuda de um pulverizador, distribuindo 15ml de solução contendo o patógeno, via drench, no colo da planta.

A incidência do patógeno foi avaliada por meio do número de plantas com sintoma (NPCS) a partir dos 60 dias após o transplântio, sendo que esta avaliação foi repetida aos 90 dias e nos experimentos do ano de 2017/2018 também aos 120 dias.

Na safra de 2017/2018 foi efetuada também a avaliação visual da performance agrônômica por meio de uma escala de nota, considerando-se o potencial produtivo e o fenótipo padrão dentro do grupo varietal. Essa avaliação foi efetuada aos 120 dias utilizando uma escala de 1 a 5, com intervalos de 0,5 unidades, sendo dada a nota um para a pior e a nota 5 para a melhor.

### 3.3 Análise dos dados

Os dados obtidos quanto à incidência da murcha bacteriana (dados de contagem) das progênies de cada geração foram transformados para  $(\sqrt{(x + 0.5)})$  e submetidos à análise de variância (ANAVA) conforme descrito por (STEEL, TORRIE e DICKEY, 1997), considerando-se todos os efeitos aleatórios, exceto a média. Para os experimentos em blocos casualizados utilizou-se o seguinte modelo:

$$Y_{ik} = m + r_k + p_i + e_{ik},$$

em que:

$Y_{ik}$  é o valor observado na parcela que recebeu o tratamento  $i$  no bloco  $k$ ;

$m$  é a média geral;

$r_k$  é o efeito do bloco  $k$ ;

$p_i$  é o efeito do tratamento  $i$ ;

$e_{ik}$  é o erro experimental associado à observação  $Y_{ik}$ .

Para os experimentos em látice utilizou-se o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = m + r_k + b_{j(k)} + p_i + e_{ijk},$$

em que:

$Y_{ijk}$  é o valor observado na parcela que recebeu o tratamento  $i$  no bloco  $j$  e repetição  $k$ ;

$m$  é a média geral;

$r_k$  é o efeito de repetição  $k$ ;

$b_{j(k)}$  é o efeito do bloco  $j$  dentro da repetição  $k$ ;

$p_i$  é o efeito do tratamento  $i$ ;

$e_{ijk}$  é o erro experimental associado à observação  $Y_{ijk}$ .

As análises de variância individuais foram realizadas utilizando-se o programa R core team (2017).

A partir das esperanças dos quadrados médios, foram estimadas a variância genética entre progênies ( $\hat{\sigma}_p^2$ ) e a variância fenotípica entre médias de progênies ( $\hat{\sigma}_F^2$ ).

As herdabilidades ( $h^2$ ) para a seleção na média das progênes foram obtidas pelo estimador:

$$\hat{\sigma}_G^2 = \frac{Q_1 - Q_2}{r}$$

em que:

Q<sub>1</sub>: quadrado médio de progênes

Q<sub>2</sub>: quadrado médio do erro. \* (No caso dos experimentos em látice o erro efetivo).

$$\hat{\sigma}_F^2 = \frac{Q_1}{r}$$

$$h^2 = \frac{Q_1 - Q_2}{Q_1}$$

Para estimar os intervalos de confiança para as estimativas da herdabilidade, foram obtidos os limites inferiores (LI) e superiores (LS) das estimativas de  $h^2$ , de acordo com as expressões apresentadas por Knapp et al. (1985):

$$LI = 1 - \left[ (Q_1 / Q_2) \cdot F_{(1-\alpha/2)} \right]^{-1}$$

$$LS = 1 - \left[ (Q_1 / Q_2) \cdot F_{(\alpha/2)} \right]^{-1}$$

em que:

F: valor tabelado da distribuição F de Snedecor a partir dos graus de liberdade de tratamentos (gl<sub>1</sub>) e resíduo (gl<sub>2</sub>) e do nível de significância ( $\alpha = 0,05$ );

Q<sub>1</sub>: quadrado médio de tratamentos;

Q<sub>2</sub>: quadrado médio do erro.

Foram estimadas as correlações de Pearson entre as médias das progênes nas diferentes épocas de avaliação. Nos experimentos de 2017/2018 estimou-se também as correlações entre as épocas de avaliação e a performance agrônômica média das progênes.

#### 4 RESULTADOS

O resumo das análises de variância do número de plantas doentes (Dados transformados  $\sqrt{(x + 0.5)}$ ) para os dois experimentos realizados na safra 2017/18 estão apresentados na tabela 1. Verificou-se que a acurácia foi de pequena magnitude tanto quando se avaliou as progênes endogâmicas (S<sub>1:2</sub> do C0) ou não endogâmicas (MI do CI). Constatou-se também que a fonte de variação progênes não foi significativa em todas as épocas de avaliação e do tipo de progênie avaliada, exceto aos 120 dias quando se utilizou progênes de MI. Esse resultado evidencia que não foi possível detectar diferenças entre as progênes com relação à tolerância ao patógeno, na maioria das situações experimentais, nessa safra. Chama atenção a significância ( $p \leq 0.01$ ) da fonte de variação repetições em todas as épocas e nos dois tipos de progênes. Esse resultado possibilita inferir que a área utilizada foi muito heterogênea com relação a ocorrência da bactéria.

Todas as estimativas do intervalo de confiança da herdabilidade, exceto a obtida aos 120 dias da avaliação progênes de MI apresentou o limite inferior negativo. Pode-se inferir que, nessa condição, há possibilidade das estimativas da  $h^2$  não serem diferentes de zero.

A distribuição de frequência das médias dados não transformados, estão apresentados nas figuras de 1 e 2. Verifica-se que o número de plantas com sintomas foi relativamente pequeno, especialmente nas avaliações realizadas aos 60 e 90 dias. Contudo, mesmo aos 120 dias o máximo de plantas com sintoma não atingiu à 50% das plantas da parcela.

Deve ser enfatizado também que a safra 2017/18, a testemunha suscetível T<sub>1</sub> (CSC 4707) não apresentou todas as plantas da parcela com sintoma. A testemunha suscetível apresentou número de plantas com sintoma igual ou ligeiramente inferior ao da moderadamente resistente T<sub>2</sub> (CSC 4704).

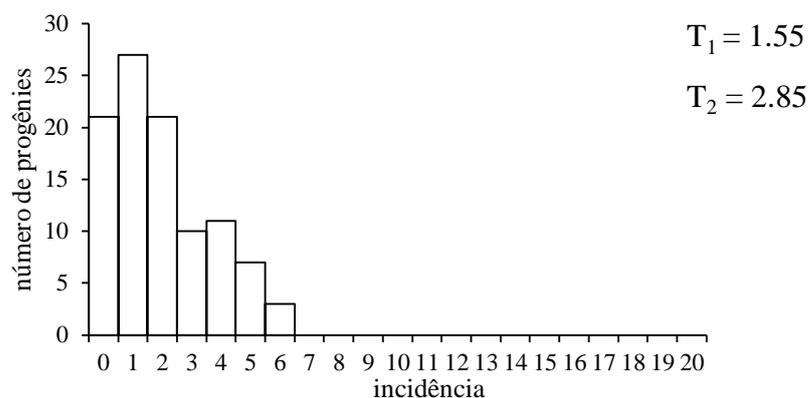
Tabela 1. Resumo das análises de variância do número de plantas com sintomas nas parcelas (dados transformados para  $\sqrt{(x + 0.5)}$ ). Obtidos nas avaliações de progênes S<sub>1:2</sub> do C0 e das progênes MI do CI. Canoinhas (SC) - 2017/2018.

FV	S <sub>1:2</sub> do C0				MI do CI			
	60 dias		90 dias		60 dias		90 dias	
	GL	QM	QM	QM	GL	QM	QM	QM
Repetição	2	6.56**	3.52**	0.76**	2	4.09**	5.23**	2.67**
Progênie	99	0.60 <sup>ns</sup>	0.66 <sup>ns</sup>	0.23 <sup>ns</sup>	107	0.42 <sup>ns</sup>	0.47 <sup>ns</sup>	0.28**
Resíduo	198	0.50	0.53	0.19	214	0.37	0.36	0.18
Média		2.47	2.94	5.06		2.93	3.7	5.69
Acurácia (%)		42.54	43.59	40.82		32.87	49.21	59.07
$h^2_{Pk}$		16.67	19.69	12.38		11.90	23.40	35.71
LI		-16.24	-12.02	-15.24		-21.37	-5.53	11.43
LS		41.43	43.56	41.94		37.22	45.41	54.18

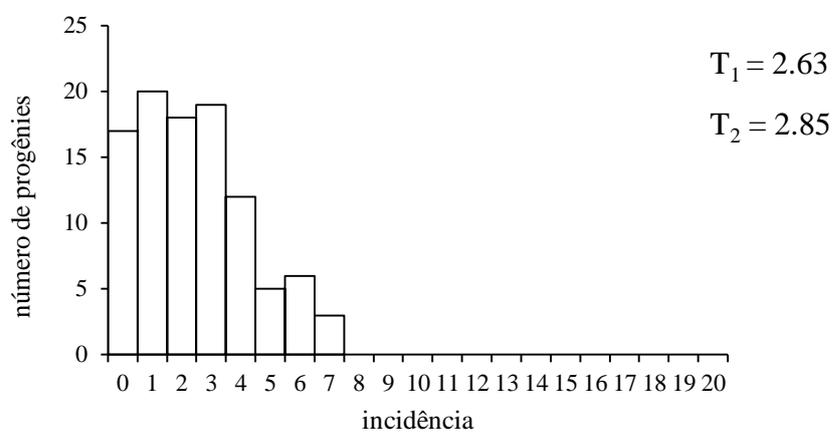
\*\* : significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F;

ns: não significativo pelo teste F.

A



B



C

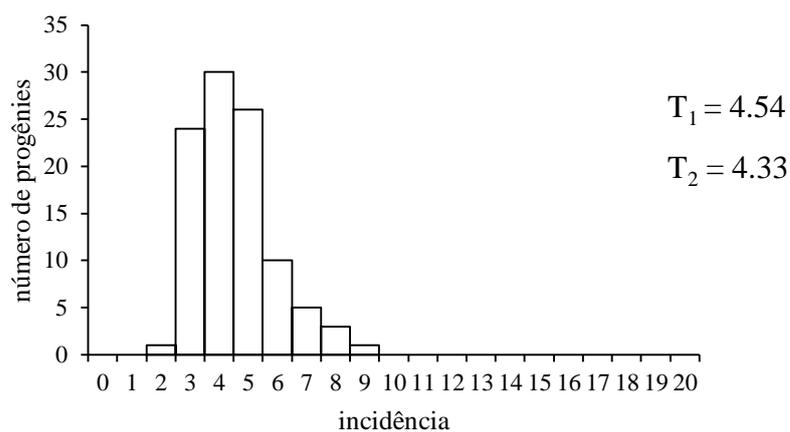


Figura 1. Distribuição de frequência do número de progênes em função do número de plantas por parcela com sintoma do patógeno. Dados obtidos na avaliação de progênes S<sub>1:2</sub> do C0. T<sub>1</sub> CSC 4704 e T<sub>2</sub> CSC 4707. A- avaliação com 60 dias; B- avaliação com 90 dias; C- avaliação com 120 dias. Canoinhas (SC) safra 2017/2018.

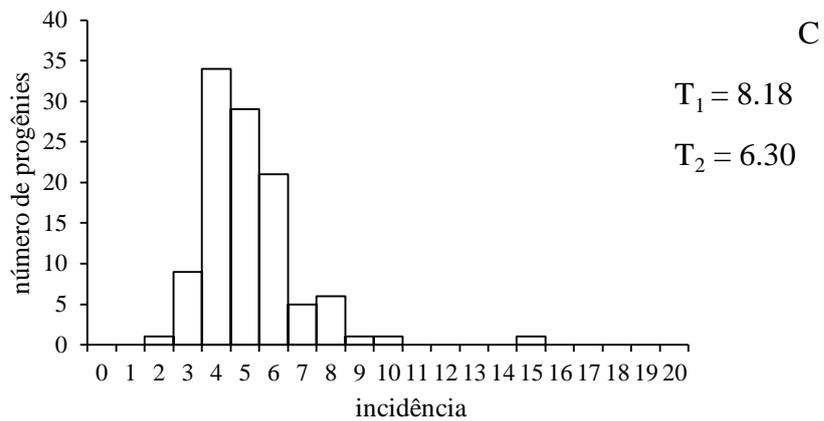
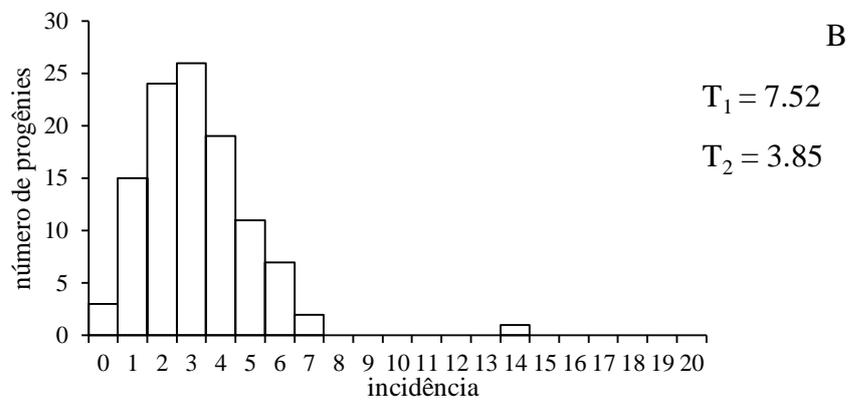
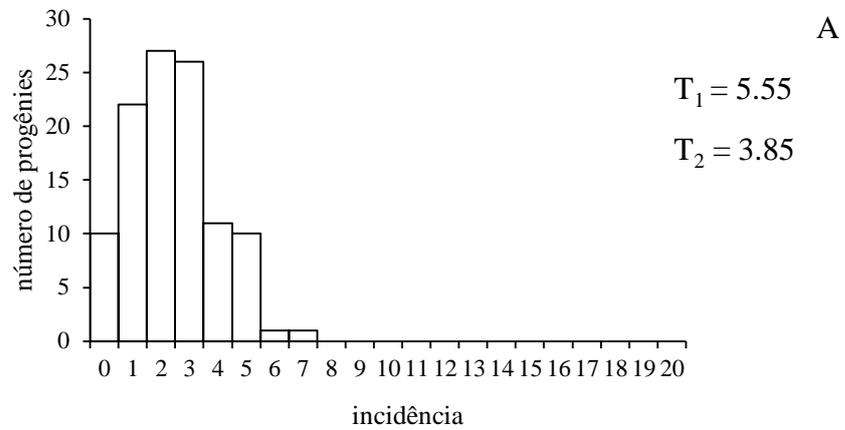


Figura 2. Distribuição de frequência do número de progênes em função do número de plantas por parcela com sintoma do patógeno. Dados obtidos na avaliação de progênes de MI do CI. T<sub>1</sub> CSC 4704 e T<sub>2</sub> CSC 4707. A- avaliação com 60 dias; B- avaliação com 90 dias; C- avaliação com 120 dias. Canoinhas (SC) safra 2017/2018.

Os resultados das análises de variância da avaliação das progênes de meios irmãos (MI do CII), progênes  $S_{0:1}$  ( $S_{0:1}$  do CI) obtida na safra 2018/2019 para o caráter número de plantas com sintoma, estão apresentados na Tabela 2. Verificou-se que o delineamento em látice só não foi eficiente em relação ao de blocos casualizados na avaliação de 60 dias, progênes MI do CII. As estimativas da acurácia foram todas de magnitude superior a observada no ano anterior, exceto para as progênes  $S_{0:1}$  do CI. Contudo, elas ainda foram de baixa magnitude.

Constatou-se diferença significativa ( $p \leq 0.01$ ) entre as progênes apenas quando se avaliou progênes de MI do CII. A fonte de variação blocos dentro de repetições foram significativas ( $p \leq 0.01$ ), como ocorreu nos experimentos da safra anterior. As estimativas de  $h^2$ , como esperado, foram superiores as obtidas no ano anterior, exceto, como já mencionado, para as progênes  $S_{0:1}$  do CI. Pode-se inferir também que como já mencionado anteriormente existe a possibilidade que as estimativas de  $h^2$  não sejam diferentes de zero.

A distribuição de frequência das médias dados não transformados, estão apresentados nas figuras de 3 à 4. Verifica-se novamente que o número de plantas com sintomas foi relativamente pequeno na primeira avaliação realizada aos 60 dias. Considerando que cada parcela tinha 15 plantas, especialmente nas avaliações realizadas aos 60 dias. Contudo, aos 90 dias, como era esperado o NPCS foi maior. Inclusive algumas progênes apresentaram todas as plantas da parcela com sintoma. Nessa última avaliação, considerando os dois tipos de progênes, nenhuma delas mostrou ser completamente resistente. Isto é, não ocorreu nenhuma planta sem sintoma na parcela. O menor NPCS, aos 90 dias, foi superior a 50 % das plantas na parcela.

A comparação das médias dos experimentos avaliação de  $S_{0:1}$  do CI e MI do CII não pode ser realizada diretamente, pois dependendo do tipo de progênes o número de plantas por parcela foi diferente.

Comparando a performance das testemunhas com relação ao NPCS, na safra de 2018/2019, no experimento com cada tipo de progênie, verifica-se que sempre o híbrido moderadamente resistente  $T_1$  (CSC 4704), apresentou menor NPCS aos 60 dias. Na avaliação realizada aos 90 dias, os resultados foram muito semelhantes, independente do experimento.

Tabela 2. Resumo das análises de variância do número de plantas com sintomas nas parcelas (dados transformados para a  $\sqrt{(x + 0.5)}$ ). Obtidas nas avaliações de progênes MI do CII e de progênes S<sub>0:1</sub> do CI. Canoinhas (SC) - 2018/2019.

FV	MI do CII			S <sub>0:1</sub> do CI		
		60 dias	90 dias		60 dias	90 dias
	GL	QM	QM	GL	QM	QM
Bloco/Rep.	45	0.39**	0.22**	39	1.11**	0.27**
Prog. ajust.	175	0.32**	0.17**	195	0.26 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>
Resíduo	305	0.25	0.11	351	0.21	0.06
Erro Efetivo	-	0.26	0.12	-	0.23	0.07
média		4.09	10.77		2.52	8.88
Acurácia (%)		51.55	62.23		62.79	58.9
$h^2_{pk}$		21.88	29.41		11.54	14.29
LI		-1.20	8.56		-12.87	-9.37
LS		40.26	46.02		31.29	33.42
Eficiência do látice		101	105		131	125

\*\* : significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F;

ns: não significativo pelo teste F.

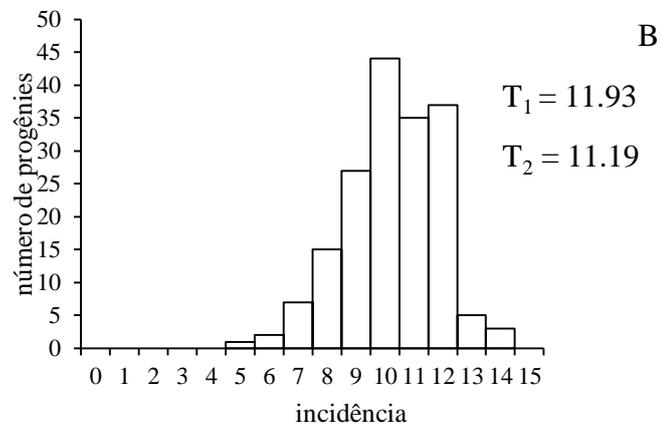
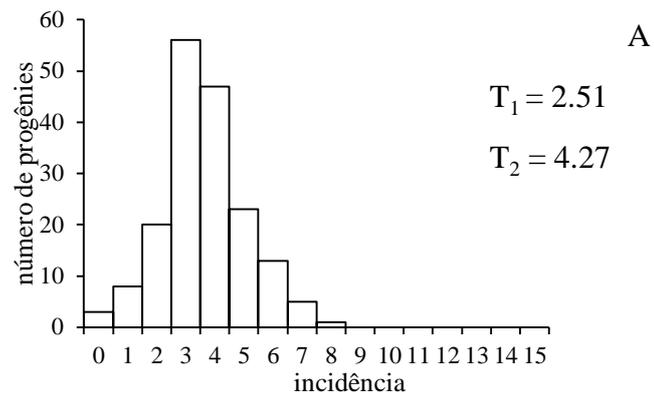


Figura 3. Distribuição de frequência do número de progênies em função do número de plantas por parcela com sintoma do patógeno. Dados obtidos na avaliação de progênies de MI do CII. T<sub>1</sub> CSC 4704 e T<sub>2</sub> CSC 4707. A- avaliação com 60 dias; B- avaliação com 90 dias. Canoinhas (SC) safra 2018/2019.

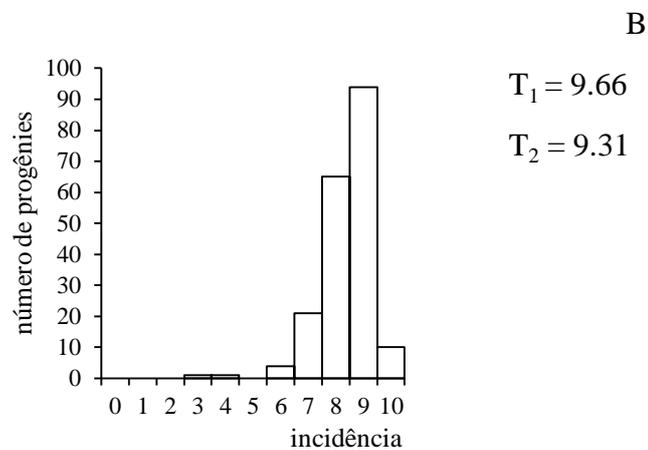
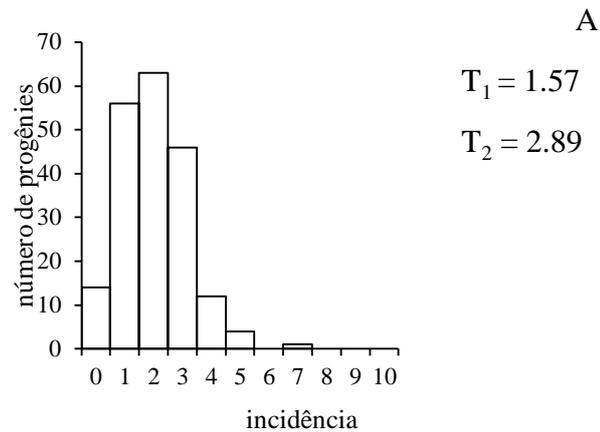


Figura 4. Distribuição de frequência do número de progênies em função do número de plantas por parcela com sintoma do patógeno. Dados obtidos na avaliação de progênies de  $S_{0:1}$  do CI.  $T_1$  CSC 4704 e  $T_2$  CSC 4707. A- avaliação com 60 dias; B- avaliação com 90 dias. Canoinhas (SC) safra 2018/2019.

Como o número de plantas por parcela variou de uma safra para outra, para comparar o desempenho das progênies dentro das diferentes gerações é necessário utilizar as testemunhas como referência. Contudo, elas também apresentam número de plantas diferente por parcela em cada geração. Desse modo, a comparação foi feita por meio de estimativas percentuais em relação a incidência das duas testemunhas estimativas de  $d_1$  e  $d_2$ . Além disso, considerando-se que a avaliação da incidência em alguns experimentos foi realizada apenas aos 60 e 90 dias, constatou-se que o desempenho percentual das progênies em relação as duas testemunhas, tanto na safra de 2017/2018, quanto na safra de 2018/2019 foi errático. Isto é, não houve uma consistência das estimativas obtidas, ocorrendo valores percentuais positivos e negativos (Tabela 4).

Contudo veja que as progênies  $S_{1:2}$  do C0, independente da idade de avaliação, sempre apresentaram estimativas negativas da percentagem em relação a testemunha moderadamente resistente CSC 4704 (estimativas de  $d_1$ ). Esse resultado indica que nessa geração as progênies apresentaram maior número de plantas com sintoma do que a referida testemunha. Já com relação à CSC 4707 suscetível (estimativas de  $d_2$ ) ocorreu o contrário, apenas na avaliação aos 60 dias. Nas avaliações com 90 dias a referida testemunha apresentou menor número de plantas com sintoma do que as progênies, ou seja, resposta negativa. A magnitude da percentagem, contudo foi bem inferior à obtida em relação CSC 4704 (Tabela 4).

Quando se observa o comportamento percentual das progênies do ciclo I em relação as testemunhas, verificou-se que ocorreu o contrário, exceto na comparação das progênies avaliadas aos 60 dias em relação à CSC 4704. Veja bem que como todos os valores foram positivos isso indica que a incidência de plantas com sintoma nas testemunhas foi maior que da média das progênies. Em princípio esse resultado possibilita inferir que a seleção recorrente foi eficiente em reduzir a ocorrência de sintomas comparando o CI em relação ao C0 (Tabela 4).

No experimento 2018/2019 em que foram avaliadas progênies do CI e CII o desempenho relativo médio das progênies com sintoma em relação à testemunha CSC 4704 não apresentou estimativas  $d_1$  coerente com o esperado. Veja bem que a porcentagem foi negativa aos 60 dias nos dois ciclos. Contudo, positiva para os dois ciclos aos 90 dias. Se for considerado apenas a avaliação realizada aos 90 dias poder-se-ia inferir que a seleção recorrente foi eficiente, porém a magnitude da diferença do resultado do ciclo I ( $d_1 = 8.17$ ) ao ciclo II ( $d_1 = 10.54$ ) foi muito pequena. Considerando que é relativo a mesma testemunha, poder-se-ia também inferir que as médias do CI e CII foram superiores ao do C0. Depreende-se que a média das progênies dos

ciclos CI e CII foram menores do que no C0 confirmando a eficiência da seleção recorrente em relação ao C0 (Tabela 4).

O desempenho em produtividade de tabaco, avaliado visualmente por meio de uma escala de notas possibilitou detectar diferenças significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre as progênies (Tabela 5). A distribuição de frequência das estimativas das notas de performance, mostra que elas variaram de 2.0 até 11.0 para as progênies S<sub>1:2</sub> do C0 e de 1.0 a 14.0 quando se utilizou progênies de MI do CI, isto é, visualmente as progênies após um ciclo de seleção recorrente, mostrou que a performance em produtividade respondeu ao ciclo seletivo realizado.

Na geração S<sub>1:2</sub> do C0 a performance média foi de 6.80. Já, para as testemunhas foi de 6.07 (CSC 4704) e 8.0 (CSC 4707). Para as progênies de MI do CI a performance média foi de 8.04 e para as testemunhas foi de 6.25 para a CSC 4704 e de 7.11 para a CSC 4707 (Figura 5).

As estimativas das correlações ( $r$ ) das avaliações realizadas aos 60, 90 e 120 dias foram sempre positivas e altas. Indicando que a avaliação realizada aos 60 dias, classificou de modo semelhante ao obtidos aos 90 ou 120 dias. Os dados da performance agrônômica obtida nos experimentos de 2017/2018, permitiu estimar a associação entre o NPCS e a performance agrônômica. Observou-se que, como era esperado, quanto maior o NPCS na parcela pior foi a performance agrônômica (estimativa de  $r$  sempre negativa) (Tabela 6).

Tabela 4. Estimativa percentual da média do número de plantas com sintomas em relação às testemunhas, ( $d_1$ ) em relação à testemunha CSC 4707 e ( $d_2$ ) à CSC 4704. Canoinhas (SC) – 2017 à 2019.

Ciclo	Geração	$d_1(\%)$		$d_2(\%)$	
		60	90	60	90
C0	S <sub>1:2</sub>	-59.35	-11.79	13.33	-3.16
CI	MI	47.21	50.8	23.9	3.9
CI	S <sub>0:1</sub>	-50.96	8.17	17.99	4.72
CII	MI	-57.77	10.54	7.26	4.3

<sup>1</sup>: [(Média da testemunha CSC 4707 – Média das progênies)/Média da testemunha CSC 4707] x 100.

<sup>2</sup>: [(Média da testemunha CSC 4704 – Média das progênies)/Média da testemunha CSC 4704] x100.

Tabela 5. Resumo das análises de variância da performance produtiva, avaliação visual, realizada por meio de notas. Dados obtidos nas avaliações das progênes S<sub>1:2</sub> do C0. MI do CI. Canoinhas (SC) – 2017/2018.

FV	S <sub>1:2</sub> do C0		MI do CI	
	GL	QM	GL	QM
Repetição	2	5.76**	2	7.86**
Progênes	99	0.46**	107	0.46**
Resíduo	198	0.36	214	0.32
Média		6.76		8.04
Acurácia (%)		46.77		55.28
$h^2_{Pk}$		21.74		30.43
LI		-9.17		4.16
LS		44.99		50.42

\*\* : significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F;  
 ns: não significativo pelo teste F.

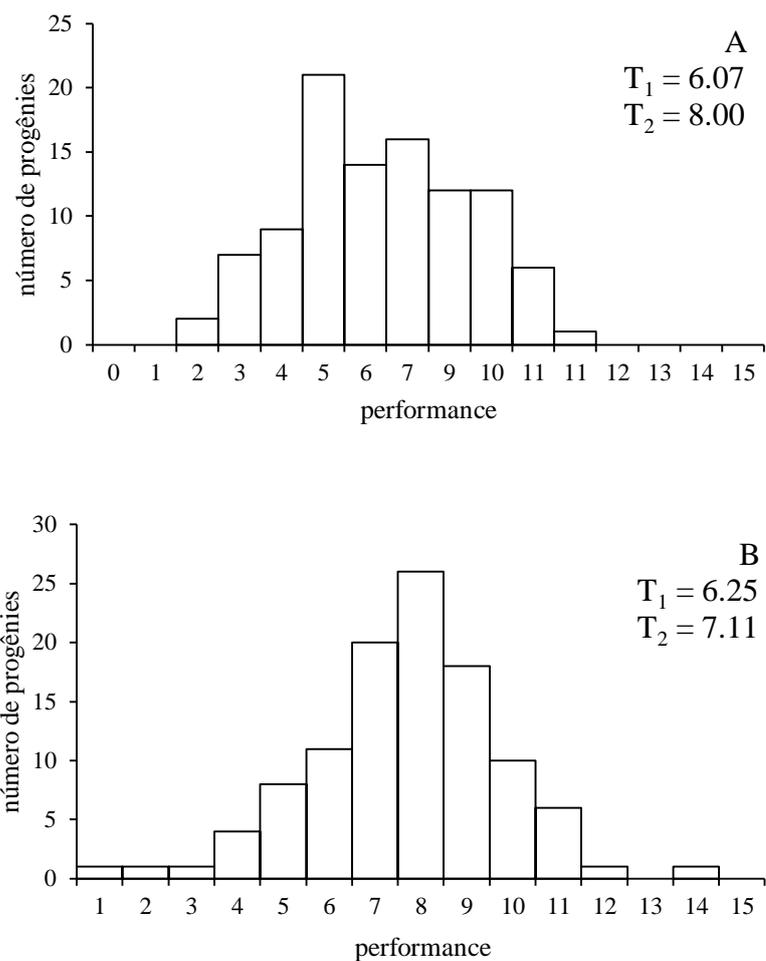


Figura 5. Distribuição de frequência do número de progênies em função da média da performance produtiva das progênies de tabaco. Dados obtidos na avaliação de progênies de  $S_{1:2}$  do C0 e progênies de MI do CI.  $T_1$  CSC 4704 e  $T_2$  CSC 4707. A- avaliação de progênies  $S_{1:2}$  do C0; B- avaliação de progênies de MI do CI. Canoinhas (SC) safra 2018/2019.

Tabela 6. Estimativas das correlações fenotípicas entre as épocas de avaliação do número de plantas com sintomas nas parcelas e a performance agrônômica. Obtidos nas avaliações de progênies S<sub>1:2</sub> do C0 e MI CI. Canoinhas (SC) – 2017 à 2019.

Gerações	60 dias	90 dias	120 dias	Performance
S <sub>1:2</sub> C0	60dias	0.9578*	0.8585*	-0.7634*
	90dias		0.8656*	-0.7566*
	120dias			-0.8604*
MI CI	60dias	0.8483*	0.7137*	-0.5491*
	90dias		0.8759*	-0.6502*
	120dias			-0.7644*
S <sub>0:1</sub> C0	60dias	0.2903*		
	90dias			
MI CII	60dias	0.2752*		
	90dias			

\*: significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste t;

## 5 DISCUSSÃO

As estimativas da acurácia seletiva ( $r_{gg}$ ) foram de baixa magnitude (Tabelas 1 e 2). Em princípio indicando que a precisão experimental foi baixa. Depreende-se que o processo de fenotipagem da tolerância ao patógeno, por meio do NPCS não obteve a eficiência almejada. Isto porque, a repetibilidade dos resultados do NPCS das progênies nas diferentes repetições foi baixa. Na literatura existem alguns relatos da precisão experimental na avaliação da *R. solanacearum* com tabaco ou outras espécies e a precisão também foi pequena (COSTA et al., 2019; COSTA et al., 2018; NISHI et al., 2003; QIAN et al., 2016; TUNG, 1992).

Um fato que chamou atenção foi o efeito significativo da fonte de variação Blocos (repetições) (Tabelas 1 e 2). Essa informação possibilita inferir que a distribuição do patógeno na área foi heterogênea. As interações patógeno hospedeiro são influenciadas pelas condições bióticas e abióticas. Entre as condições bióticas outros microorganismos antagonistas podem atuar dificultando o crescimento e competindo por recursos, e também, fatores abióticos como as diferentes condições de temperatura do solo e umidade (BITTNER; ARELLANO e MILA, 2016; LI et. al., 2014; LIU et. al., 2016; KROLL et al., 2017; WANG; ZHU e HUA, 2009). Fato que deve evidentemente ter contribuído para reduzir a precisão experimental.

Chamou a atenção a distribuição das plantas com sintoma dentro das parcelas com as testemunhas. No caso da testemunha suscetível CSC 4707 era esperado que em uma mesma parcela todas as plantas deveriam ou não apresentar o sintoma. Isto é, considerando que a referida testemunha é um híbrido, se o patógeno estiver presente na parcela todas as plantas deveriam apresentar sintoma, em caso contrário todas deveriam não apresentar sintoma.

Se houve heterogeneidade duas alternativas podem explicar, a primeira é que as plantas do híbrido CSC 4707, ao contrário do esperado, não possuíam a mesma constituição genotípica para a suscetibilidade ao patógeno. A ocorrência de variação genética dentro das linhagens/híbridos pode ser mais frequente do que se apregoa, como foi comentado por Tokatlidis (2015) envolvendo várias espécies alógamas ou autógamias. O referido autor discute algumas das possíveis alternativas para que esse fato possa ocorrer, por meios sexuais ou não. Considerando que esse híbrido vem sendo utilizado por algum tempo é perfeitamente possível que ela apresente variação para alguns caracteres entre eles a suscetibilidade ou não a *R. solanacearum*.

Uma outra explicação para a ocorrência de plantas doentes e sem sintomas nas parcelas com a testemunha CSC 4707 é a heterogeneidade na distribuição do patógeno dentro da parcela. É evidente que em ocorrendo essa heterogeneidade a precisão experimental é muito

prejudicada. Em se tratando de um patógeno de solo, mesmo tendo ocorrido a inoculação artificial, essa variação é factível. Contudo, a sua ocorrência é um enorme desafio na condução de trabalhos visando a seleção de progênies em programa de seleção recorrente.

A seleção recorrente (SR) é qualquer processo cíclico de melhoramento que envolve a obtenção de progênies, avaliação e recombinação das melhores (RAMALHO et al., 2012). O sucesso da SR evidentemente depende da existência de variação na população base para o caráter sob seleção. Na obtenção da população base desse programa de SR conduzido pela empresa, foram recombinadas 26 linhagens que se destacaram em experimentos anteriores especialmente na produtividade de matéria seca. Em princípio não se tinha nenhuma informação do comportamento desses genitores sob condições de ocorrência da bactéria. Os resultados obtidos nas avaliações dos diferentes tipos de progênies sob condições de ocorrência natural do patógeno no campo e com inoculação artificial mostra que a variação genética embora de pequena magnitude ocorreu.

Para se estimar a variação genética na população de SR, foram utilizados dois tipos de progênies endogâmicas ( $S_{0:1}$  e  $S_{1:2}$ ) ou não (Meios-irmãos-MI). Essa é uma condição favorável porque segundo informações da literatura com tabaco e outras espécies, há indícios que no controle genético da tolerância à *R. solanacearum* predomina as interações alélicas aditivas (COSTA et al., 2019; DRAKE-STOWE et al., 2017; GAI; ZHANG; WANG, 2003; GAO; WANG; ZHANG, 2010; KIBA et al., 2007; LAN et al., 2014; MAIMBO et al., 2010; NISHI et al., 2003; QIAN et al., 2013; QIAN et al., 2016).

Nessa situação é esperado que entre as progênies endogâmicas seja detectada maior variação genética. Isto porque entre progênies  $S_{0:1}$  por exemplo, ocorre 1 variância aditiva ( $1V_A$ ) + 0,25 da variância de dominância ( $V_D$ ). Já as progênies  $S_{1:2}$ , a variância genética em progênies explora  $1,5V_A + 0,1875 V_D$ . Por outro lado, entre progênies de Meios-irmãos só é explorado  $\frac{1}{4} V_A$  (BERNARDO, 2010; RAMALHO et al., 2012). Contudo, as estimativas obtidas, sobretudo da herdabilidade ( $h^2$ ) para o NPCS, não refletiram o que era esperado. A magnitude de  $h^2$  foram sempre baixas e sem nenhuma tendência de serem mais expressivas com progênies endogâmicas. Novamente fica bem explícito que a precisão experimental obtida não possibilitou que a variação genética se expressasse como esperado.

Um fato que chamou atenção foram as estimativas das correlações do NPCS nas diferentes épocas. Elas foram todas significativas e de grande magnitude nos experimentos de 2017/2018, o mesmo não ocorrendo na safra de 2018/2019. Não foram encontrados relatos da melhor época para a avaliação do NPCS na cultura do tabaco sob condições de campo. Em

trabalho em casa de vegetação, a severidade da ocorrência de *R. solanacearum* foi avaliada aos 35 dias após a inoculação. No presente trabalho a primeira avaliação foi com 15 dias após a inoculação, isto é, 60 dias após o transplante. Como se constatou nessa condição o NPCS foi pequeno e não houve boa discriminação das progênies (Tabela 1 e 2, figura 1, 2, 3 e 4). Contudo, as estimativas da correlação evidenciam que a classificação das progênies com relação ao NPCS não variou muito com a idade de avaliação. Em princípio, seria aconselhável em experimentos futuros postergar as avaliações para 45 dias após as inoculações.

O potencial produtivo das progênies no que se refere ao aspecto das plantas visualmente avaliadas foi obtido na safra de 2017/2018. As estimativas da correlação dessa variável com o NPCS nas diferentes épocas de avaliação foram sempre negativas e altas indicando que o potencial produtivo das progênies foi, como era esperado, afetado pelo NPCS. Depreende-se que nessa safra a avaliação da ocorrência do patógeno foi bem coerente com o potencial produtivo das progênies.

Um dos objetivos desse trabalho foi verificar se a SR foi eficiente em selecionar para a tolerância à *R. solanacearum*. Para isso foram avaliadas progênies de anos e experimentos diferentes. Para possibilitar a comparação das informações do NPCS das diferentes situações foram utilizadas testemunhas como referência. Esse procedimento tem sido constantemente utilizado em outras espécies. No caso da cultura do feijoeiro visando avaliar o ganho com a SR à resistência ao fungo *P. griseola* utilizou também testemunhas comuns para comparar a performance das progênies em diferentes ciclos (AMARO et al., 2007, REZENDE et al., 2014). No presente caso, foi estimado o comportamento das progênies em relação a duas testemunhas. Embora os resultados não fossem muito consistentes (Tabela 4), constatou-se que em relação a população original, ciclo 0, ocorreu um pequeno progresso com a seleção, contudo já quando se comparou o CI com o CII não houve diferença (Tabela 4). Como já mencionado, resposta significativa a SR não era esperada em função da pequena variação genética existente na população para esse caráter. Não foi encontrado nenhum relato do emprego de SR visando a tolerância a esse patógeno.

Finalmente seria oportuno apresentar algumas sugestões para a continuidade do trabalho visando a tolerância à *R. solanacearum* pelos programas de melhoramento. Ao que indica, embora não existam relatos publicados a esse respeito, as avaliações sob condições de casa de vegetação não tem boa associação com as obtidas sob condições de campo. Assim a ênfase deve ser direcionada nas avaliações sob condições de campo. Nessa condição, o primeiro desafio, e o maior deles é melhorar a fenotipagem da severidade e a incidência do patógeno sob condições

de campo. Se a fenotipagem tiver uma boa acurácia haveria a possibilidade de procurar identificar marcas moleculares associadas à tolerância ao patógeno. Enquanto isso não ocorrer a procura dessas marcas não irá fornecer resultados consistentes e aplicáveis no programa.

Para se ter uma boa fenotipagem o local de avaliação deve ser bem escolhido. Deve-se evitar o máximo a ocorrência de outros fatores que mascarem os sintomas da bactéria. Nesse contexto, o emprego de testemunha comprovadamente suscetível é indispensável. Adicionalmente, deve ter segurança, periodicamente avaliada, que a testemunha seja realmente homozigota para o loco ou locos envolvidos na tolerância. Usando uma testemunha que não seja completamente homozigota sempre haverá dúvida se a diferença na performance da testemunha é devido à distribuição não uniforme da bactéria na área ou a diferenças genotípicas.

Poderia ser procurada outras alternativas experimentais na condução do experimento. Uma delas seria utilizar maior número de repetições. O que poderia ser obtido por meio de parcelas menores ou até mesmo de uma única planta por progênies com dezenas de repetições, como é muito empregado em plantas perenes (BISON et al., 2009; FERREIRA, 2018, REZENDE et al., 2019). Essa estratégia também possibilitaria realizar com maior eficiência com análises espacial visando atenuar os efeitos da heterogeneidade na distribuição do patógeno.

Novas alternativas de inoculação artificial do patógeno também devem ser pesquisadas visando reduzir ao máximo a distribuição não uniforme do patógeno. Algumas sugestões na literatura KATAWCZIK, TSENG e MILA (2016); SINGH et al. (2018) deveriam ser avaliadas pela empresa.

Antes de se melhorar a fenotipagem do patógeno não é aconselhável continuar o programa de seleção recorrente, utilizando a população já comentada que recebeu ênfase na seleção para outros caracteres. Nessa condição a variabilidade para a tolerância não deve ser grande como observado, o que evidentemente restringe a possibilidade de sucesso com a seleção recorrente. Após identificadas possíveis linhagens com bom nível de tolerância à *R. solanacearum* aí sim dever-se-ia conduzir um programa de SR exclusivo visando a tolerância ao patógeno. Ao que tudo indica o seu controle genético deve ser complexo e só a SR, bem conduzida, irá acumular alelos favoráveis visando maior tolerância à *R. solanacearum*.

## **6 CONCLUSÕES**

A heterogeneidade da distribuição do patógeno na área contribui para a baixa precisão experimental. Nessa condição a variação genética, independente do tipo de progênie utilizado, é de pequena magnitude. Contudo, mesmo nesse cenário a diferença na tolerância entre as progênies foi associada com a performance agronômica e a seleção recorrente mostrou que foi ligeiramente eficiente na acumulação de alelos favoráveis visando a maior tolerância ao patógeno.

## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 635p. 1997.
- AFUBRA-ASSOCIAÇÃO DOS FUMICULTORES DO BRASIL. Dados sobre a fumicultura no Brasil. [Em línea]. <[www.afubra.com.br](http://www.afubra.com.br)>. [15 de dezembro de 2017].
- AFUBRA-ASSOCIAÇÃO DOS FUMICULTORES DO BRASIL. Dados sobre a fumicultura no Brasil. [Em línea]. <<https://afubra.com.br/fumicultura-brasil.html>>. [20 de junho de 2019].
- AKIEW, E.; TREVORROW, P.R. Management of bacterial wilt of tobacco. In: HAYWARD, A.C.; HARTMAN, G.L. (Eds.). **Bacterial wilt: the disease and causative agent, *Pseudomonas solanacearum***. Wallingford: CAB International, p. 179-198. 1994.
- AKEHURST, B.C. Tobacco, **Blackwell Sci.**, 1981.
- ANURATHA, C. S.; GNANAMANICKAM, S. S. Biological control of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* in India with antagonistic bacteria. **Plant and Soil**, v.124, p.109-116, 1990.
- AMARO, G. B. et al. Phenotypic recurrent selection in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with carioca-type grains for the resistance to the fungi *Phaeoisariopsis griseola*. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 3, p. 584-588, set. 2007.
- BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Woodbury: Stemma, 390 p., 2010.
- BISON, O. et al. Dialelo parcial entre clones de *Eucalyptus camaldulensis* e clones de *E. urophylla*, *E. grandis* e *E. saligna*. **Revista Árvore**, v. 33, n. 3, p. 395-402, 2009.
- BITTNER, R. J.; ARELLANO, C.; MILA, A. L. Effect of temperature and resistance of tobacco cultivars to the progression of bacterial wilt, caused by *Ralstonia solanacearum*. **Plant and soil**, v. 408, n. 1-2, p. 299-310, 2016.
- BUAINAIN, A. M. e SOUZA FILHO, H. M. (Org.). **Organização e funcionamento do mercado de tabaco no Sul do Brasil**. Campinas: Unicamp. 2009.
- BULDDENHAGEN. I.; KELMAN A. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.2, p.203-230, 1964.
- CARMEILLE, A. et al. Identification of QTLs for *Ralstonia solanacearum* race 3-phyloptype II resistance in tomato. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 113, p. 110-121, 2006.
- COLLINS, W. K.; HAWKS, S.N. **Principles of Flue-Cured Tobacco Production**. Raleigh: N. C. State University, 301 p. 1993.
- COSTA, L. C. et al. Mapeamento de genes de resistência a diferentes isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* e seleção recorrente visando à resistência a antracnose do feijoeiro. 2019. 109 p. **Tese** (Doutorado em Genética e Melhoramento Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

- COSTA, K. D. da S. et al. Genetic control of tomato resistance to *Ralstonia solanacearum*. **Euphytica**, v. 215, n. 7, p. 136, 2019.
- CAPEHART, T. Trends in U. S. Tobacco farming. **Electronic Outlook Report from the Economic Research Service**. [Em linha]. USDA, November, 2004.
- CHEN, L. et al. Nuclear and cytoplasmic genome components of *Solanum tuberosum* + *S. chacoense* somatic hybrids and three SSR alleles related to bacterial wilt resistance. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, p. 1861–1872, 2013.
- CLARKSON, J. J. et al. Long-term genome diploidization in allopolyploid Nicotiana section Repandae (Solanaceae). **New Phytologist**, v. 168, p. 241–252, 2005.
- DRAKE-STOWE, K. et al. Multiple disease resistance loci affect soilborne disease resistance in tobacco (*Nicotiana tabacum*). **Phytopathology**, v. 107, 2017, p. 1055-1061.
- DELMOTTE, F. et al. Combining selective pressures to enhance the durability of disease resistance genes. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1916, 2016.
- EDWARDS, K. D. et. al. A reference genome for *Nicotiana tabacum* enables map-based cloning of homeologous loci implicated in nitrogen utilization efficiency. **BMC Genomics**, v. 18, n. 448, 2017.
- ELPHINSTONE, J.G.; ALEY, P. Integrated control of bacterial wilt potato in the warm tropics of Peru. In: INTERNATIONAL BACTERIAL WILT CONFERENCE, 1992, Taiwan. **Proceedings...** Canberra: ACIAR, p.276-283. 1993.
- ELPHINSTONE, JG. The current bacterial wilt situation: a global overview. In: Allen C, Prior P, Hayward AC, editors. Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. **American Phytopathological Society Press**; St Paul, MN: pp. 9–28. 2005.
- FAO-FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Issues in the global tobacco economy: Selected case studies**. 2003.
- FAOSTAT, FOOD. "Agriculture Organization of the United Nations, 2014."
- FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization**. 2012. Disponível em: Acesso em: 6 dez. 2015.
- FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization**. Disponível em: <<http://www.fao.org/statistics/en/>> Acesso em: 20 Junho. 2019.
- FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em: 20 Junho. 2019.
- FEGAN, M.; PRIOR, P. How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex. **APS press**, 2005.
- FERREIRA, G. C. Alternativa para ajuste de estande em testes de progênies e clonais na cultura do eucalipto. 2018. 47 p. **Dissertação** (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)– Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

FOUILLOUX, G.; BANNEROT, H. Selection methods in the common bean (*Phaseolus vulgaris*). In: GEPTS, P. **Genetic resources of Phaseolus beans**. Dordrecht: Kluwer Academic, p. 503-541, 1988.

FRENCH, E.R. Control integrado de la marchitez bacteriana de la papa causada por el biovar 2-raza 3 de *Pseudomonas solanacearum*. In: TALLER SOBRE ENFERMIDADES BACTERIANAS DE LA PAPA, 1993, Brasilia. **Memórias**. Brasília: EMBRAPA/CNPq, 1994. p.39-41.

FURUYA, N.; KUSHIMA, Y.; TSUCHIYA, K.; MATSUYAMA, N.; WAKIMOTO, S. Protection of tomato seedlings by pre-treatment with *Pseudomonas glumae* from infection with *Pseudomonas solanacearum* and its mechanisms. **Annals of Phytopathology Society of Japan**, v.57, p.363-370, 1991.

GAI J.Y., ZHANG Y.M. e WANG J.K. Genetic system of quantitative traits in plants. **Science Press**, Beijing., 2003.

GAO J.M., WANG Z.D. e ZHANG W.X. Genetic analysis on resistance to bacterial wilt in oriental tobacco. **Chin. Tob. Sci** 31: 1-4., 2010.

GEETHANJALI, S. et al. Development and characterization of tomato SSR markers from genomic sequences of anchored BAC clones on chromosome 6. **Euphytica**, v. 173, p. 85–97, 2010.

GENIN S., BOUCHER C. *Ralstonia solanacearum*: secrets of a major pathogen unveiled by analysis of its genome. **Molecular Plant Pathology** 3:111-118. 2002.

GENIN, S.; DENNY, T. P. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex. **Annual review of phytopathology**, v. 50, p. 67-89, 2012.

GERALDI, I. O. Selección recurrente em el mejoramiento de plantas. In: GUIMARÃES, E. P. (Ed). **Selección recurrente em arroz**. CIAT: Cali, p. 3-11, 1997.

GERSTEL, D. U. Tobacco. *Nicotiana tabacum*. (Solanaceae) In: SIMMONS, N. W. (Ed.) **Evolution of Crop Plants**. New York: Longman, p. 273-277. 1979.

GONÇALVES, R. C. et al. Método de inoculação de *Ralstonia solanacearum* para a seleção de plantas de *Piper hispidinervum* resistentes à murcha bacteriana. **Comunicado Técnico** 185. Embrapa Acre, Rio Branco, 2014.

HALLAUER, A. R. Recurrent selection in maize. **Plant Breeding Reviews**, New York, v. 9, n.1, p.115-179, 1992.

HAYWARD, A. C. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 27, n. 2, p. 265-277, 1964.

HAYWARD, A. C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Annual Review of Phytopathology**, v.29, p.65-87, 1991.

HAYWARD, A.C. Systematic and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. In: HAYWARD, A.C.; HARTMAN, G.L. (Eds.) **Bacterial Wilt: The Disease and its**

Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford, UK: CAB International, p.123-135. 1994.

HUET, G. "Breeding for Resistances to *Ralstonia Solanacearum*." **Frontiers in Plant Science** 5 (2014): 715. PMC.

HUNZIKER, A.X. **Genera Solanacearum: The genera of Solanaceae**. Illustrated, Arranged According to a New System. Gantner, Ruggell (Liechtenstein). 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (2018)**. Disponível em:

<<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>>. Acesso em: 20 jul. 2019.

JACK, A. The CORESTA collaborative study on bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) – 2001 **report**, 2001. Disponível em: <[https://www.coresta.org/sites/default/files/technical\\_documents/main/BacterialWilt-Report2001\\_0.pdf](https://www.coresta.org/sites/default/files/technical_documents/main/BacterialWilt-Report2001_0.pdf)>. Acesso em 20 junho. 2019.

JACK, A. The CORESTA collaborative study on bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) – 2002 **report**. 2002. Disponível em: <[https://www.coresta.org/sites/default/files/technical\\_documents/main/BacterialWilt-Report2002\\_0.pdf](https://www.coresta.org/sites/default/files/technical_documents/main/BacterialWilt-Report2002_0.pdf)>. Acesso em 20 junho 2019.

KATAWCZIK, M.; TSENG, H. T.; MILA, A. L. Diversity of *Ralstonia solanacearum* populations affecting tobacco crops in North Carolina. **Tobacco Science**, p. 1-11, 2016.

KIBA, A. et al. Isolation and expression analysis of candidate genes related to *Ralstonia solanacearum*–tobacco interaction. **Plant Biotechnology**, v. 24, p. 409–416, 2007.

KIM, B. S. et al. Bacterial wilt disease: host resistance and pathogen virulence mechanisms. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 95, p. 37-43, 2016.

KIST, B. B. et al. **Anuário brasileiro do tabaco 2018**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta. 128 p. 2018.

KELMAN, A.; SEQUEIRA, L. Root-to-root spread of *Pseudomonas solanacearum*. **Phytopathology**, St.Paul, v.55, 304-309, 1965.

KNAPP, S. J.; STROUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis 1. **Crop Science**, v. 25, n. 1, p. 192-194, 1985.

KROLL, S.; AGLER, M. T. and KEMEN, E. Genomic dissection of host–microbe and microbe–microbe interactions for advanced plant breeding. **Current opinion in plant biology**, 36, 71-78. 2017.

LAN, L. et al. Mapping of quantitative trait loci conferring resistance to bacterial wilt in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). **Plant Breeding**, v. 133, p. 672–677, 2014.

LEBEAU, A. et al. Genetic mapping of a major dominant gene for resistance to *Ralstonia solanacearum* in eggplant. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, p.143–158, 2013.

- LEITCH, I. J. et al. The ups and downs of genome size evolution in polyploid species of *Nicotiana* (Solanaceae). **Annals of Botany**, v. 101, p. 805–814, 2008.
- LEWIS, R. S.; NICHOLSON, J. S. Aspects of the evolution of *Nicotiana tabacum* L. and the status of the United States *Nicotiana* germplasm collection. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 54, p. 727–740, 2007.
- LI, L., et al. Antibacterial activity of Lansiumamide B to tobacco bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*). **Microbiological research**, 169(7-8), 522-526, 2014.
- LIM, K. Y. et al. Genome evolution in allotetraploid *Nicotiana*. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 82, p. 599-606, 2004.
- LIU, X., et al. Using community analysis to explore bacterial indicators for disease suppression of tobacco bacterial wilt. **Scientific reports**, v. 6, p. 36773, 2016.
- LOPES, C. A., e BOITEUX, L. S. Melhoramento Genético Visando Resistência à Murcha Bacteriana. **Estado da Arte em Fitobacterioses Tropicais**, 257., 2016.
- LOPES, C. A.; ROSSATO, M. Diagnóstico de *Ralstonia solanacearum* em tomateiro. **Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2013.
- LOPES, C. A. Ecologia de *Pseudomonas solanacearum*. In: TALLER SOBRE ENFERMIDADES BACTERIANAS DELA PAPA, 1., Brasília, 1994. Brasília: **EMBRAPA CNPH CIP**, p.17-22. 1994.
- LOPES, C.A.; GIORDANO, L.B. Avaliação da resistência de oito clones e três cultivares de batata (*Solanum tuberosum* L.) à murcha bacteriana causada por *Pseudomonas solanacearum*. **Horticultura Brasileira**, v. 1, p. 33-35, 1983.
- LOPES, C. A.; QUEZADO-SOARES, A. M. Evidence of the stability of the resistance of the potato cultivar Achat to bacterial wilt in Brazil. **Bacterial Wilt Newsletter**, s.l., v. 11, p.6-7, 1994.
- LOPES, C.A.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. Manejo integrado das moléstias da batata. **Informe Agropecuário**, Porto Alegre, v.20, p. 56-60, 1999.
- LOPES, C. A.; ROSSATO, M. History and Status of Selected Hosts of the *Ralstonia solanacearum* Complex Species causing Bacterial Wilt in Brazil. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1228, 2018.
- LUCAS, G.B. Granville Wilt: Diseases of Tobacco. 3 ed. New York: North Carolina State College: **The Scarecrow Press**, p. 365-382. 1975.
- MAIMBO, M. et al. S-glycoprotein-like protein regulates defense responses in *Nicotiana* plants against *Ralstonia solanacearum*. **Plant Physiology**, v. 152, p. 2023–2035, 2010.
- MARTINS, P. M. M. et al. Persistence in phytopathogenic bacteria: do we know enough?. **Frontiers in microbiology**, v. 9, 2018.
- MARIANO, R.L.T.; SILVEIRA, N.S.S.; MICHEREFF, S.J. Bacterial wilt in Brazil: current status and control Methods. In: INTERNATIONAL BACTERIAL WILT SYMPOSIUM, 2., 1997, Guadalupe. **Reports...** Paris: INRA, p. 386-393. 1998.

- MENDES, L. et al. **Anuário brasileiro do tabaco 2015**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta. 128p. 2015.
- MENEZES JUNIOR, J. A. N. ; RAMALHO, M. A. P. ; ABREU, A. de F. B. . Seleção recorrente para três caracteres do feijoeiro. **Bragantia** (São Paulo), v. 67, p. 833-838, 2008.
- MENG, F. The virulence factors of the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. **J Plant Pathol Microbiol**, v. 4, n. 168, p. 10-4172, 2013.
- MILA A.L., RADCLIFF J. Managing diseases. **Flue-Cured Tobacco Guide. North Carolina Cooperative Extension Service**. Bull., North Carolina State University, Raleigh, In, pp. 124–156, 2015.
- MIRANDA, E. F. O.; TAKATSU, A.; UESUGI, C. H. Colonização de raízes de plantas daninhas cultivadas in vitro e em vasos por *Ralstonia solanacearum*, biovar 1, 2 e 3. **Fitopatologia brasileira**, v. 29, n. 2, p. 121-127, 2004.
- MARTINS, P. M. M. et al. Persistence in phytopathogenic bacteria: do we know enough? **Frontiers in microbiology**, v. 9, 2018.
- MIKLAS, P. N. et al. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding. **Euphytica**, v. 147, n. 1-2, p. 105-131, 2006.
- MORAIS JUNIOR, O. P. et al. Genetic progress after cycles of upland rice recurrent selection. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 72, p. 297-305, 2015.
- MORAIS, T. P., LOPES, C. A., TEBALDI, N. D., e LUZ, J. M. Q. Occurrence and diversity of *Ralstonia solanacearum* populations in Brazil. **Bioscience Journal**, 31(6). 2015.
- MUKAIHARA T, HATANAKA T, NAKANO M, ODA K. *Ralstonia solanacearum* type III effector RipAY is a glutathione-degrading enzyme that is activated by plant cytosolic thioredoxins and suppresses plant immunity. **mBio** 7(2):e00359-16. 2016.
- MUNDT, C. C. Durable resistance: a key to sustainable management of pathogens and pests. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 27, p. 446-455, 2014.
- MURAD, L. et al. The origin of the paternal genome of tobacco is traced to a particular lineage within *Nicotiana tomentosiformis* (Solanaceae). **American Journal of Botany**, v. 89, p. 921-928, 2002.
- MCDONALD, B. A.; LINDE, C.. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. **Euphytica**, v. 124, n. 2, p. 163-180, 2002.
- NELSON, R. et al. Navigating complexity to breed disease-resistant crops. **Nature Reviews Genetics**, v. 19, n. 1, p. 21, 2018.
- NION, YANETRI ASI et al. Recent trends in control methods for bacterial wilt diseases caused by *Ralstonia solanacearum*. **Microbes and environments**, p. ME14144, 2015.
- NISHI, T. et al. Identification of DNA markers of tobacco linked to bacterial wilt resistance **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, p. 765–770, 2003.

PEYRAUD, RÉMI et al. A resource allocation trade-off between virulence and proliferation drives metabolic versatility in the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. **PLoS pathogens**, v. 12, n. 10, p. e1005939, 2016.

PIRES, L. P. M. et al. Recurrent mass selection for upright plant architecture in common bean. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 71, n. 3, p. 240-243, May/June 2014.

POUSSIÉ, S.; LUISETTI, J. Specific detection of biovars of *Ralstonia solanacearum* in plant tissue by nested PCR. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, p. 255-265, 2000.

QIAN, Y. et al. The detection of QTLs controlling bacterial wilt resistance in tobacco (*N. tabacum* L.). **Euphytica**, v. 192, p. 259–266, 2013.

QIAN, Y. L. et al. Genetic analyses of the major and minor locus groups of bacterial wilt resistance in tobacco using a diallel cross design. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 15, n. 1, 2016.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas**. UFLA. 522p. 2012.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B. Genetic progress after four cycles of recurrent selection for yield and grain traits in common bean. **Euphytica** (Wageningen), Holanda, v. 144, p. 23-29, 2005.

REZENDE, B. A. ; ABREU, Â. de F. B. ; RAMALHO, M. A. P. ; DE SOUZA, E. A. . Severity Evaluation Methods in Common Bean Recurrent Selection Programme for Resistance to Angular Leaf Spot. **Journal of Phytopathology** v.162, p. n/a-n/a, 2014.

REZENDE, G. D. S. P. et al. Clonal composites: An alternative to improve the sustainability of production in eucalypt forests. **Forest Ecology and Management**, v. 449, p. 117445, 2019.

SAILE, E.; Mc GARVEY, J.A.; SCHELL, M.A.; DENNY, T.P. Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum*. **Phytopathology**, St. Paul, v.87, n.12, p. 1264-1271, 1997.

SANTIAGO, T. R., LOPES, C. A., CAETANO-ANOLLÉS, G., E MIZUBUTI, E. S. G. Phylotype and sequevar variability of *Ralstonia solanacearum* in Brazil, an ancient centre of diversity of the pathogen. **Plant pathology**, v. 66, n. 3, p. 383-392, 2017.

SANTOS, C. E. et al. **Anuário brasileiro do tabaco 2017**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta. 128 p. 2017.

SANTOS, G. A. et al. Genetic control and genotype-by-environment interaction of wood weight in Eucalyptus clones in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista Árvore**, v. 40, n. 5, p. 867-876, 2016.

SIERRO, N. et. al. The tobacco genome sequence and its comparison with those of tomato and potato. **Nature Communications**, v. 5, n. 3833, 2014.

SILVA, G. S. et al. Estimation of genetic progress after eight cycles of recurrent selection for common bean grain yield. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, p. 351-356, 2010.

SILVA, F. B.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Seleção recorrente fenotípica para florescimento precoce de feijoeiro 'Carioca'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 10, p. 1437-1442, abr. 2007.

SILVA, F. B. **Seleção recorrente fenotípica para florescimento precoce de feijoeiro tipo carioca**. Lavras: UFLA, 2006. 61 p.: il.

SILVA, F. B. Multilinhas visando atenuação dos estresses bióticos e maior estabilidade fenotípica no feijoeiro. 2008. **Tese** (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Coorientador: Ângela de Fátima Barbosa Abreu.

SILVEIRA, J. R. P.; RUPRECHT, V. C.; SILVA, M. M.; LISBOA, B. B.; VARGAS, L. K.; OLIVEIRA, A. M. R. Predominância da biovar 1 de *Ralstonia solanacearum* em olerícolas cultivadas no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 12, p. 31-36, 2006.

SILVEIRA, R. L. L.; DORNELLES, M.; FERRARI, S. Expansão da cultura do tabaco no sul do Brasil (1996-2006): características, mudanças e persistências na produção de tabaco e nos usos do território. **Revista Bibliográfica de Geografía y Ciencias Sociales**. Universidad de Barcelona. v. XVII, n. 987, 2012.

SIMMONDS, N. R.; SMARTT. **Principles of crop improvement**. Wiley-Blackwell, 1999, 412 p.

SINDTABACO-Sindicato Interestadual da Indústria do Tabaco. **Relevância do Setor de Tabaco no Brasil**. 2018 [Em línea]. < <http://www.sinditabaco.com.br>>. [20 de Junho de 2019].

SISSON, V. A.; SEVERSON, R. F. Alkaloid composition of the Nicotiana species. **Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research**, v. 14, n. 6, p. 327-339, 1990.

SINGH, N. et al. An innovative root inoculation method to study *Ralstonia solanacearum* pathogenicity in tomato seedlings. **Phytopathology**, v. 108, n. 4, p. 436-442, 2018.

SOUZA JUNIOR, C. L.. Melhoramento de Espécies Alógamas. In: Luciano Lourenço Nass; Afonso Celso Candeira Valois; Itamar Soares de Melo; Maria Cléria Valadares-Ingliš. (Org.). **Recursos Genéticos e Melhoramento-Plantas**. 1ed. Rondonópolis: Fundação MT, v. , p. 159-199. 2001.

SOUZA, A. M. et al. **Mapeamento de Qtls para Tolerância à Murcha Bacteriana (*Ralstonia Solanacearum* Smith) em Tabaco**. 2018.

SCHNABLE, P.S. et al.: The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. **Science**, 326:1112-1115, 2009.

SHAFEY, O. et al. **The Tobacco Atlas**. [Em línea]. 3rd ed. Atlanta, GA - USA, 2009.

SHOEMAKER, P. B.; SHEW. H.D. Fungal and Bacterial Disease. In: DAVIS, D.L.; NIELSEN, M. (Eds.). **Tobacco, Production, Chemistry and Technology**. [S.I.:s.n.], p.195-196. 1999.

STASKAWICZ, B. J. Genetics of Plant-Pathogen Interactions Specifying Plant Disease Resistance. **Plant Physiology**, v. 125, p. 73–76, 2001.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H.;, D. A. **Principles and procedures of statistics**. 3rd ed. New York: McGraw Hill Book, 666p. 1997.

TAKATSU, A. e LOPES, C. A. Murcha Bacteriana em hortaliças: avanços científicos e perspectivas de controle. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.15 p.170-177, 1997.

TRIGALET-DEMERY, D.; MONTROZIER, H.; ORGAMBIDE, G.; PATRY, V.; ADAM, O.; NAVARRO, L.; COTELLE, V.; TRIGALET, A. Exopolysaccharides of *Pseudomonas solanacearum*: relation to virulence. In: INTERNATIONAL BACTERIAL WILT CONFERENCE, 1992, Taiwan. **Proceedings...** Canberra: ACIAR, p.312-315. 1993.

TOKESSHI, H.; CARVALHO, P.C.T. Moléstias do tomateiro. In. GALLI, F. et al **Manual de Fitopatologia: Moléstias de Plantas Cultivadas**. São Paulo: Ceres, V.2, p. 511-513. 1980.

TOKATLIDIS, I. S. Conservation breeding of elite cultivars. **Crop Science**, v. 55, n. 6, p. 2417-2434, 2015.

TUNG, P.X.; RASCO, E.T.; ZAAG, P.V.; SCHMIEDICHE, P. Resistance to *Pseudomonas solanacearum* in the potato: I Effects of source of resistance and adaptation. **Euphytica**, Alexandria, v.45, n.3,p.203-210, 1990a.

TUNG, P.X.; RASCO, E.T.; ZAAG, P.V.; SCHMIEDICHE, P. Resistance to *Pseudomonas solanacearum* in the potato: II Aspects of host-pathogen- environment interaction. **Euphytica**, Alexandria, v.45, n.3,p.211-215, 1990b.

TUNG, P.X. Genetic variation for bacterial wilt resistance in population tetraploid potato. **Euphytica**, Alexandria, v.61, n.1,p.73-80, 1992.

USDA-UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE NATIONAL AGRICULTURAL STATISTICS SERVICE. National Agricultural Statistics Service (NASS), **Agricultural Statistics Board**. Setembro de 2018. Disponível em: <[https://www.nass.usda.gov/Publications/Todays\\_Reports/reports/crop0918.pdf](https://www.nass.usda.gov/Publications/Todays_Reports/reports/crop0918.pdf)> Acesso em: 20 Junho. 2019.

VIANA, F. C.; BERGER, I. J.; DUARTE, V. Caracterização de populações de *Ralstonia solanacearum* Smith em tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) no Brasil. **Tropical Plant Pathology, Brasília**, v. 37, n. 2, p. 123-129, 2012.

WANG, Y., B., Z., ZHU, Y., e HUA, J. Analysis of temperature modulation of plant defense against biotrophic microbes. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 22(5), 498-506. 2009.

WANG, J. F. et al. Identification of major QTLs associated with stable resistance of tomato cultivar ‘Hawaii 7996’ to *Ralstonia solanacearum*. **Euphytica**, v. 190, p. 241–252, 2013.

WERNSMAN, E.; RUFTY, R. Tobacco. In: FEHR, W. **Principles of Cultivar Development** v. 2, New York: Macmillan Publishing Company Inc., 1987.

WICKER, E.; et al. *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies) exhibiting a new pathogenic potential. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 73, p. 6790-6801, 2007.

WICKER, E. et al. Contrasting recombination patterns and demographic histories of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* inferred from MLSA.. *ISME J.* 6, 961–974. 2012.