

Fontes de resistência em melancia aos principais potyvírus isolados de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro

Vanuzia B. de Oliveira¹; Manoel Abilio de Queiroz²; Albersio A. Lima¹

¹UFC, Lab. Virologia Vegetal, C. Postal 6046, 60.451.970 Fortaleza-CE, E-mail: albersio@ufc.br; ²Embrapa Semi-Árido, C. Postal 23, 56.300-970 Petrolina-PE; E-mail: fqueiroz@netcap.com.br

RESUMO

A melancia, *Citrullus* spp., pode ser infetada por várias espécies de vírus, dentre as quais se destacam as pertencentes à família *Potyviridae*. Visando identificar fontes de resistência a potyvírus, foi iniciado na UFC um programa de indexação do banco de germoplasma de melancia da Embrapa Semi-Árido. Foram utilizadas as espécies de potyvírus, isoladas de cucurbitáceas no Nordeste: *Papaya ringspot virus* type W (PRSV-W); *Watermelon mosaic virus-2* (WMV-2) e *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV). Dos 50 acessos de melancia avaliados, 37 pertencem a *Citrullus lanatus*, 9 a *C. lanatus* var. *citroides* e 4 a *C. colocynthis*. Em casa-de-vegetação foram inoculadas 4 plantas envasadas de cada acesso com PRSV-W, 4 com WMV-2 e 4 com ZYMV, ficando 4 sem inoculação. As inoculações foram efetuadas 8 dias após o plantio, e 15 dias depois. As plantas assintomáticas foram reinoculadas. As plantas que persistiram sem sintomas, após um período de 25 dias após a primeira inoculação, foram testadas por ELISA contra os anti-soros correspondentes. Dentre os acessos avaliados, 5 mostraram-se resistentes aos 3 vírus, um resistente somente ao PRSV-W, 21 resistentes somente ao ZYMV e nenhum com resistência isolada ao WMV-2. No entanto, 45 acessos apresentaram resistência ao ZYMV isoladamente ou em combinação com outro potyvírus. Os acessos suscetíveis, apresentaram sintomas 10 dias após a primeira inoculação enquanto que os resistentes permaneceram sem sintomas após a segunda inoculação e com resultados negativos em ELISA. Alguns acessos poderão ser cruzados visando obter populações segregantes para a seleção de indivíduos homocigotos recessivos e, juntamente com os acessos com resistência tripla identificados, ampliar a variabilidade genética de fontes quanto a características de planta e fruto.

Palavras-chave: *Citrullus* spp., *Potyviridae*, germoplasma de melancia.

ABSTRACT

Sources of resistance in watermelon to the main cucurbit potyvirus isolated in the Northeast of Brazil

The watermelon, *Citrullus* spp., can be infected by several virus species from the *Potyviridae* family. In the Universidade Federal do Ceará (Brazil), a research program was started to identify sources of resistance to *Papaya ringspot virus* type watermelon (PRSV-W), *Watermelon mosaic virus-2* (WMV-2) and *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) utilizing accessions from the watermelon germplasm bank from Embrapa Semi-Árido in Petrolina. In the green house experiments, 4 plants of each accession were inoculated, separately, with PRSV-W, WMV-2 and ZYMV, 8 days after planting date. Four plants from each accession were maintained as control not inoculated. The symptoms appeared in 10 days, after inoculation, in the susceptible accessions. Fifteen days after the first inoculation, the plants without symptoms were re-inoculated. Twenty-five days after the first inoculation the accessions were evaluated through ELISA test, against the 3 virus antisera and the plants without symptoms gave negative results. Five accessions were resistant to three virus, 3 of them from *Citrullus lanatus*, one from *C. lanatus* var. *citroides* and other from *C. colocynthis*. Only one accession was resistant only to PRSV-W, 21 were resistant only to ZYMV and neither one presented resistance only to WMV-2. Nevertheless, 45 accessions showed resistance to ZYMV alone and in combination with other potyviruses. Some accessions can be crossed in order to obtain plants with triple resistance in segregating populations for plant and fruit characters, increasing the genetic variability of the sources of resistance to the main watermelon potyvirus.

Keywords: *Citrullus* spp., *Potyviridae*, watermelon germplasm.

(Recebido para publicação em 8 de fevereiro do 2001 e aceito em 12 de setembro de 2002)

O Nordeste brasileiro apresenta grande potencial para produção de diferentes espécies de cucurbitáceas, notadamente, a melancia (*Citrullus* spp.), dadas as condições favoráveis de clima e solo da região. A melancia apresenta-se entre as 5 hortaliças mais cultivadas no Brasil, com uma área plantada de aproximadamente 70.000 ha e uma produção de 1.349 mil toneladas, no ano de 1987 (Cobbe & Jabuonski, 1993).

Mais de 20 espécies de vírus já foram constatadas infetando naturalmente diferentes espécies de cucurbitáceas. Até o final de 1997, 10 desses vírus já foram constatados no Brasil, sendo os mais predomi-

nantes pertencentes às seguintes famílias e gêneros, respectivamente: *Comoviridae*, *Comovirus*: vírus do mosaico da abóbora (*Squash mosaic virus*, SqMV) (Lima & Amaral, 1985); *Bromoviridae*, *Cucumovirus*: vírus do mosaico do pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV) (Cupertino *et al.*, 1988); *Potyviridae*, *Potyvirus*: estirpe melancia, do vírus da mancha anelar do mamoeiro (*Papaya ringspot virus* - type Watermelon, PRSV-W); vírus-2 do mosaico da melancia (*Watermelon mosaic virus-2*, WMV-2); vírus do mosaico amarelo da abobrinha-de-moita (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV) (Oliveira *et al.*, 2000).

Resistência e/ou tolerância aos potyvírus PRSV-W, WMV-2 e ZYMV têm sido encontradas em diversas espécies de cucurbitáceas (Provvidenti & Robinson, 1977; Provvidenti & Hampton, 1992). Munger *et al.* (1984) relataram resistência e tolerância ao PRSV-W em algumas introduções de *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai provenientes da Índia (PI 179662 e PI 179878) e da África do Sul (PI 295848). A resistência ao WMV-2 em *C. lanatus* e *C. colocynthis* Scharader foi, também, relatada, porém, o grau de resistência varia de acordo com a estirpe do vírus testada (Gillaspie & Wright, 1993).

Provvidenti (1986) identificou fontes de resistência às estirpes ZYMV-FL e ZYMV-CT em dois acessos de *C. colocynthis* (PI 494529 e PI 494532) provenientes da Nigéria. No entanto, essa resistência era melhor expressada em temperaturas elevadas. Em trabalho posterior, Provvidenti (1991) verificou um alto nível de resistência ao ZYMV em quatro variedades locais de *C. lanatus* (PI 482322, PI 482299, PI 482261 e PI 482308) coletadas em Zimbábue, conferida por um único gene recessivo (*Zym*), no entanto, específica somente para a estirpe ZYMV-FL, preva- lecente nos Estados Unidos.

Mesmo considerando a diversidade biológica dos potyvírus, o cultivo de híbridos ou cultivares resistentes representa a melhor forma para controlá-los. O Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido (Embrapa Semi-Árido) mantém um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de melancia, com cerca de 600 acessos, com ampla variabilidade genética (Queiróz, 1998), porém, não havia sido identificada fonte de resistência múltipla a vírus, especialmente em acessos que representam formas cultivadas adequadas para cruzamentos com os tipos comerciais.

Com o objetivo de identificar fontes de resistência aos 3 potyvírus que infetam a melancia no Brasil, avaliou-se o comportamento de 50 acessos de melancia provenientes do BAG-Melancia da Embrapa Semi-Árido, mediante inoculação artificial em condições de casa-de-vegetação, com isolados de vírus de cucurbitáceas do banco ativo de vírus pertencentes ao Laboratório de Virologia Vegetal da UFC.

MATERIAL E MÉTODOS

Fontes dos Vírus

Os isolados de vírus usados na presente pesquisa pertencem ao banco ativo de vírus do Lab. Virologia Vegetal da UFC e foram obtidos de espécies vegetais naturalmente infetadas, em campos de produção de melão e/ou melancia dos estados do Ceará (PRSV-W), Rio Grande do Norte (ZYMV), Bahia e Pernambuco (WMV-2) (Oliveira *et al.*, 2000). O isolado do PRSV-W foi originalmente obtido por Lima *et al.* (1997)

de plantas de *Luffa operculata* Cogn. O isolado de WMV-2 foi obtido de plantas de melancia do Submédio São Francisco, e o isolado do ZYMV foi obtido por Lima *et al.* (1996) a partir de amostras foliares coletadas do meloeiro híbrido 'AF-522', em Mossoró, RN.

Experimentos de Casa-de-Vegetação

Foram avaliados 50 acessos de melancia provenientes do BAG da Embrapa Semi-Árido, sendo 37 deles pertencentes a *C. lanatus*, 9 a *C. lanatus* var. *citroides* e 4 a *C. colocynthis*. As sementes foram plantadas em solo esterilizado constituído por uma parte de esterco e duas de terra, contido em vasos, cultivando-se, após o desbaste, 4 plantas por vaso de cada acesso. Quatro plantas de cada acesso foram inoculadas artificialmente com os respectivos potyvírus, ficando 4 plantas sem inoculação, como testemunha. Uma primeira inoculação foi realizada 8 dias após o plantio e uma segunda 15 dias após a primeira, usando-se como inóculo, extratos de plantas sistemicamente infetadas pelos respectivos potyvírus, preparados na presença de solução tampão 0,05 M de fosfato de potássio, pH 7,5, através da maceração de tecido foliar infetado, na proporção de 1,0 g de tecido para 2,0 ml de solução. A segunda inoculação foi efetuada 15 dias após a primeira, somente nas plantas que não apresentaram sintomas. As plantas inoculadas foram mantidas em casa-de-vegetação para observação de reações sintomatológicas. Amostras de cada tratamento foram submetidas ao teste imunoabsorção com enzima conjugado ("enzyme linked immunosorbent assay", ELISA) indireto contra anti-soros específicos para os respectivos potyvírus.

Testes Sorológicos

O ELISA indireto (Mowat & Dawson, 1987) foi realizado com extratos de folhas de plantas inoculadas e de plantas sadias, na proporção 1:10 em tampão carbonato pH 9,6 e anti-soros específicos para os respectivos potyvírus diluídos 1:1.000, previamente absorvidos com extrato de tecido sadio 1:20. A presença da reação vírus-anticorpo foi detectada através do uso de IgG de cabra anti-IgG de coelho, conjugada à fosfatase alcalina, diluída na proporção

1:2.000 e do substrato p-nitrofenil fosfato na concentração 0,5 mg/ml. As leituras das placas foram realizadas no aparelho Labsystems Multiskan MS, utilizando-se o comprimento de onda 405 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação do comportamento dos 50 acessos de melancia demonstraram que os vírus em estudo, quando inoculados isoladamente, causam danos que variam desde mosaico leve até mosaico severo em alguns acessos, porém não causam sintomas nem conseguem se multiplicar em outros acessos, indicando a grande variabilidade genética do germoplasma avaliado (Tabela 1). Um total de 21 acessos de melancia apresentou resistência isolada ao ZYMV, correspondendo a 42% dos acessos avaliados (Tabela 2). Por outro lado, 45 dos acessos avaliados apresentaram resistência ao ZYMV isoladamente e em combinação com outro potyvírus (Tabela 1, 2), representando o maior índice de resistência observado. Cinco acessos apresentaram resistência tripla aos 3 potyvírus estudados, correspondendo a 10% dos acessos avaliados (Tabela 2). Embora nenhum acesso tenha apresentado resistência isolada ao WMV-2, 19 mostraram-se resistentes ao WMV-2 e, também, a um ou aos dois outros potyvirus (Tabelas 1 e 2). Da mesma forma, embora somente um acesso tenha mostrado resistência isolada ao PRSV-W, 13 apresentaram resistência múltipla a este vírus e a um ou aos dois outros potyvirus (Tabelas 1 e 2). A herança da resistência a ZYMV tem sido identificada como monogênica e recessiva (Provvidenti, 1991) ou digênica e recessiva (Sitolin, 1998). Sitolin (1998) encontrou que a resistência a PRSV-W e WMV-2 é, também, controlada por dois genes recessivos. Assim sendo, é possível que amostras de acessos diretamente coletadas no campo, nem sempre, apresentem resistência, quando inoculadas, em virtude de se encontrarem na forma heterozigota, quanto à resistência. Uma das formas mais efetivas de controlar doenças de plantas ocasionadas por vírus tem sido o desenvolvimento de cul-

Tabela 1. Comportamento de acessos de melancia, *Citrullus* spp., aos potyvírus: *Papaya ringspot virus*, type watermelon (PRSV-W), *Watermelon mosaic virus-2* (WMV-2) e *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), em experimentos de casa-de-vegetação. Fortaleza, UFC, 1999.

Acesso de melancia	PRSV-W		ZYMV		WMV-2	
	Sint. ¹	ELISA ²	Sint. ¹	ELISA ²	Sint. ¹	ELISA ²
01 - <i>C. colocynthis</i> g	S/S	0,3	S/S	0,3	M	3,5
02 - <i>C. lanatus</i> var. <i>colocynthis</i> g	M	3,2	S/S	0,2	M ³	3,5
03 - <i>C. lanatus</i> var. <i>colocynthis</i> g	S/S	0,3	S/S	0,2	S/S	0,3
04 - <i>C. lanatus</i> var. <i>colocynthis</i> ^a	MS	3,5	S/S	0,3	ML	2,8
05 - <i>C. lanatus</i> ^{ig}	S/S	0,2	M	1,3	S/S	0,2
06 - <i>C. lanatus</i> ^{ig}	M	2,3	S/S	0,3	S/S	0,3
07 - <i>C. lanatus</i> ^{ig}	M	2,3	S/S	0,3	ML ³	1,8
08 - <i>C. lanatus</i> ^{ig}	MS	3,6	S/S	0,3	S/S	0,2
09 - <i>C. lanatus</i> ^{ig}	MS	3,8	S/S	0,3	ML	3,5
10 - <i>C. lanatus</i> ^{ig}	S/S	0,3	S/S	0,2	M	3,7
11 - <i>C. lanatus</i>	M	3,1	S/S	0,3	M	1,7
12 - <i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i>	M	3,5	S/S	0,3	M	3,3
13 - <i>C. lanatus</i>	MS	3,5	S/S	0,3	M	2,2
14 - <i>C. lanatus</i>	M	3,3	M	1,2	M	3,3
15 - <i>C. lanatus</i>	ML ⁴	4,0	S/S	0,3	ML	4,0
16 - <i>C. lanatus</i>	M	4,0	S/S	0,3	S/S	0,3
17 - <i>C. lanatus</i>	ML	2,3	S/S	0,3	M	2,3
18 - <i>C. lanatus</i>	M	3,3	S/S	0,3	S/S	0,4
19 - <i>C. lanatus</i> ^a	ML	2,3	S/S	0,3	ML	3,3
20 - <i>C. lanatus</i> ^a	S/S	0,3	S/S	0,3	S/S	0,3
21 - <i>C. lanatus</i> ^a	M	2,2	S/S	0,3	S/S	0,2
22 - <i>C. lanatus</i> ^a	M	2,2	S/S	0,3	S/S	0,2
23 - <i>C. lanatus</i> ^a	M	2,2	S/S	0,3	S/S	0,2
24 - <i>C. lanatus</i>	M	3,2	S/S	0,3	S/S	0,3
25 - <i>C. lanatus</i>	ML	3,2	S/S	0,3	S/S	0,3
26 - <i>C. lanatus</i> ^a	ML	2,9	S/S	0,2	ML	3,2
27 - <i>C. lanatus</i> ^a	S/S	0,3	S/S	0,3	S/S	0,3
28 - <i>C. lanatus</i> ^a	S/S	0,3	S/S	0,2	M	2,3
29 - <i>C. lanatus</i> ^a	M	2,4	M	3,0	M	2,3
30 - <i>C. lanatus</i>	M	2,2	S/S	0,3	M	3,0
31 - <i>C. lanatus</i> ^a	ML ⁴	3,3	S/S	0,3	M	3,2
32 - <i>C. lanatus</i>	ML	3,3	ML	1,3	MS	2,2
33 - <i>C. lanatus</i> ^a	ML	2,4	S/S	0,3	S/S	0,2
34 - <i>C. colocynthis</i> ^a	S/S	0,2	S/S	0,3	S/S	0,2
35 - <i>C. lanatus</i> ^a	S/S	0,2	S/S	0,2	S/S	0,3
36 - <i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i> ^a	M	2,3	S/S	0,3	M	1,9
37 - <i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i> ^a	S/S	0,3	S/S	0,3	MS	3,0
38 - <i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i> ^a	M	3,3	S/S	0,3	ML	1,9
39 - <i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i> ^a	M	3,5	S/S	0,3	S/S	0,3
40 - <i>C. lanatus</i> ^a	S/S	0,2	M, CL	3,2	MS	2,5
41 - <i>C. lanatus</i> ^a	S/S	0,2	S/S	0,3	MS	1,5
42 - <i>C. lanatus</i> ^a	M	4,0	S/S	0,2	MS	1,9
43 - <i>C. lanatus</i> ^a	M	4,0	S/S	0,3	S/S	0,2
44 - <i>C. lanatus</i> ^a	MS	2,2	S/S	0,2	M	3,6
45 - <i>C. lanatus</i> ^a	MS	3,4	S/S	0,3	M	3,7
46 - <i>C. lanatus</i> ^a	MS	3,1	S/S	0,3	S/S	0,3
47 - <i>C. lanatus</i> ^a	M	3,5	S/S	0,2	ML	3,7
48 - <i>C. colocynthis</i>	S/S	0,3	S/S	0,2	ML	3,0
49 - <i>C. colocynthis</i>	ML	2,7	S/S	0,2	ML	1,9
50 - <i>C. lanatus</i> var. <i>citroides</i> ^a	MS	3,3	S/S	0,2	ML	1,9
Testemunha- Melancia Sadia	S/S	0,2	S/S	0,2	S/S	0,2

¹ Sintomatologia: CL = clorose; M = mosaico; MS = mosaico severo; ML = mosaico leve; S/S = sem sintomas^{3,4} 25% e 50% de plantas sem sintomas^{ig} progênies de irmãos germanos e de autofecundação, respectivamente² valor de absorvência no comprimento de onda 405 nm

Tabela 2. Distribuição de acessos de melancia, *Citrullus* spp., de acordo com seus comportamentos aos potyvírus: *Papaya ringspot virus* type watermelon (PRSV-W), *Watermelon mosaic virus-2* (WMV-2) e *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), em experimentos de casa-de-vegetação. Fortaleza, UFC, 1999.

Potyvírus	Número de acessos de melancia	
	Resistentes	Suscetíveis
PRSV-W	1	13
ZYMV	21	1
WMV-2	0	6
PRSV-W e ZYMV	6	0
PRSV-W e WMV-2	1	21
ZYMV e WMV-2	13	1
PRSV-W, ZYMV e WMV-2	5	3

tivares ou híbridos com resistência às infecções virais, indicando que quanto maior o número de fontes de resistência aos principais vírus de uma cultura forem encontrados, inclusive em tipos com boas características de planta e frutos, melhores serão as alternativas para os melhoristas desenvolverem novos híbridos ou cultivares com resistência a vírus.

Duas fontes de resistência tripla foram encontradas em acessos de *C. lanatus* var. *citroides* e *C. colocynthis*, que apesar de serem facilmente cruzadas com *C. lanatus* (Assis, 1994), apresentam várias características de planta e fruto muito diferenciadas dos tipos cultivados comercialmente, implicando em tempo prolongado de pré-melhoramento e melhoramento até que se consiga padrões de planta e frutos adequados para cultivo comercial. Dentre os acessos de *C. lanatus* testados, foram encontrados 3 com resistência múltipla aos 3 potyvírus (Tabela 1), representando, portanto, fontes promissoras para serem empregadas em programas de melhoramento genético de melancia, visando ao desenvolvimento de cultivares resistentes. A herança da resistência

aos 3 vírus, a partir da literatura corrente, é condicionada por genes recessivos (Provvidenti, 1991; Sitolin, 1998). Acessos de *C. lanatus* resistentes ao PRSV-W poderão ser cruzados com acessos de *C. lanatus* com resistência dupla a ZYMV e WMV-2 para obtenção de populações segregantes e seleção de indivíduos homozigotos recessivos com resistência tripla, ampliando assim a variabilidade genética de fontes de resistência tripla para características de planta e fruto.

LITERATURA CITADA

- ASSIS, J.G.A. *Estudos genéticos no gênero Citrullus*. Jaboticabal: UNESP, FCAV, 1994. 98 p. (Tese mestrado)
- COBBE, R.V.; JABUONSKI, R.E. A importância econômica e social das plantas olerícolas. In: FERREIRA, M.E.; CASTELLANE, P.D.; CRUZ, M.C.P. *Nutrição e adubação de hortaliças*. Piracicaba: POTAFOS, p. 1-14, 1993.
- CUPERTINO, F.P.; KITAJIMA, E.W.; FONSECA, M.E.N.; MEYER, N.C. Víruses olerícolas no Estado de Goiás. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 13, n. 2, p. 101, 1988 (Resumo).
- GILLASPIE, A.G.Jr.; WRIGHT, J.M. Evaluation of *Citrullus* spp. germplasm for resistance to watermelon mosaic virus 2. *Plant Disease*, v. 77, n. 4, p. 352-354, 1993.
- LIMA, J.A.A.; AMARAL, M.R.G. Purificação e

sorologia de "squash mosaic virus" isolado de melancia. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 10, n. 3, p. 605-611, 1985.

LIMA, J.A.A.; FLORINDO, M.I.; SOUSA, A.E.B.A. An isolate of papaya ringspot virus obtained from naturally infected *Luffa operculata*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 22, n. 2, p. 213, 1997.

MOWAT, W.P.; DAWSON, S. Detection of plant viruses by ELISA using crude sap extracts and unfractionated antisera. *Journal of Virology Methods*, v. 15, p. 233-247, 1987.

MUNGER, H.M.; MORE, T.A.; AWNI, S. A preliminary report on screening watermelon for resistance to watermelon mosaic virus 1 e 2. *Cucurbit Genetic Cooperative Report*, n. 7, p. 61-62, 1984.

OLIVEIRA, V.B.; LIMA, J.A.A.; VALE, C.C.; PAIVA, W.O. Caracterização biológica e sorológica de isolados de potyvirus obtidos de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 25, n. 4, p. 628-636, 2000.

PROVVIDENTI, R. Inheritance of resistance to the Florida strain of zucchini yellow mosaic virus in watermelon. *HortScience*, v. 26, p. 407-408, 1991.

PROVVIDENTI, R. Reaction of accessions of *Citrullus colocynthis* from Nigéria to zucchini yellow mosaic virus and other cucurbit viruses. *Cucurbit Genetic Cooperative Report*, n. 9, p. 82-83, 1986.

PROVVIDENTI, R.; HAMPTON, R.O. Sources of resistance to viruses in the *Potyviridae*. In: BARNETT, O.W. (Ed.). *Potyvirus Taxonomy*. Springer, Wien and New York. *Arch Virology*, p. 189-211, 1992. (Supplement).

PROVVIDENTI, R.; ROBINSON, R.W. Inheritance of resistance to watermelon mosaic virus 1 in *Cucumis metuliferus*. *Journal of Heredity*, v. 68, p. 56-57, 1977.

QUEIRÓZ, M.A. Cucurbitáceas no semi-árido do Nordeste brasileiro: resgate, conservação e uso. In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO, 15. 1998. Piracicaba, SP. *Anais...Piracicaba: USP/ESALQ*, p. 1-12, 1998.

SITOLIN, I.M. *Tolerância de melancia aos vírus do mosaico amarelo da abobrinha-de-moita e do mosaico da melancia-2*. FCA-UNESP Botucatu, 1998. 72 p. (Tese doutorado).