



Acta Scientiarum. Agronomy

ISSN: 1679-9275

eduem@uem.br

Universidade Estadual de Maringá

Brasil

Magella Flôres da Mota, Geraldo; Sousa, Egilson Roque; Ranal, Marli Aparecida
Resposta da couve-da-Malásia (*Brassica chinensis* L. var. *parachinensis* (Bailey) Sinskaja) à
deficiência nutricional

Acta Scientiarum. Agronomy, vol. 31, núm. 2, abril-junio, 2009, pp. 321-329
Universidade Estadual de Maringá
Maringá, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=303026587020>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

Resposta da couve-da-Malásia (*Brassica chinensis* L. var. *parachinensis* (Bailey) Sinskaja) à deficiência nutricional

Geraldo Magella Flôres da Mota, Egilson Roque Sousa e Marli Aparecida Ranal*

Universidade Federal de Uberlândia, Cx. Postal 593, 38400-902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

*Autor para correspondência. E-mail: ranal@ufu.br

RESUMO. *Brassica chinensis* var. *parachinensis* é uma hortaliça folhosa, de ciclo curto, introduzida no Brasil em 1992, em função de sua excelente qualidade nutricional. Apresenta elevado teor de β-caroteno, vitamina C, Ca e Fe, o que a torna importante alimento, especialmente no combate à anemia. Este trabalho teve como objetivo avaliar a produtividade biológica e agronômica da couve-da-Malásia, cultivada sob deficiência de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn e comparada com o tratamento-testemunha que incluiu todos os macro e micronutrientes. As plantas cultivadas na ausência de N e P conseguiram completar o ciclo, mas foram significativamente menos produtivas e pouco desenvolvidas em relação às que receberam nutrição completa. Além disso, apresentaram coloração das folhas verde-acinzentada e arroxeamento do pecíolo e nervuras. Na ausência de B, todas as plantas morreram entre 30 e 37 dias após a semeadura e, na ausência de S, elas não produziram frutos, o que mostra a importância destes dois nutrientes para essa Brassicaceae.

Palavras-chave: Brassicaceae, couve chinesa sem cabecinha, *flowering white cabbage*, nutrição mineral, *tsoi sum*.

ABSTRACT. Response of Malaysian cabbage (*Brassica chinensis* L. var. *parachinensis* (Bailey) Sinskaja) to nutritional deficiency. *Brassica chinensis* var. *parachinensis* is a vegetable with short cycle, which was introduced in Brazil in 1992 due to its high nutritional qualities. It presents high concentration of β-carotene, vitamin C, Ca, and Fe, becoming an important food for the prevention of anemia. The aim of this paper was to evaluate the biological and agronomic productivity of plants grown under N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Mo, and Zn deficiency. The results were compared with plants grown with all macro and micronutrients. Plants cultured without N and P completed their cycle, but had lower yield than those cultured with complete nutrition. Additionally, they had green-grayish leaves, and purple petiole and veins. Plants cultured without B died between 30 and 37 days after sowing, and without S they did not produce fruits. These results show the importance of S and B to this Brassicaceae.

Key words: Brassicaceae, nonheading Chinese cabbage, flowering white cabbage, mineral nutrition, *tsoi sum*.

Introdução

As Brassicaceae são grandes extratoras de nutrientes do solo (KURAMOTO et al., 1981). Dentro os macronutrientes, N e P são os que mais interferem na produtividade dessas plantas, mas elas também são exigentes em Ca e S, sendo o K e o N retirados do solo em maiores quantidades (FURLANI et al., 1978; SHARMA, 2008). Em função dessa capacidade extratora as brássicas estão sendo testadas com sucesso para detectar metais pesados em substratos diversos, sendo candidatas à fitorremediação (HAN et al., 2004; PODAR et al., 2004; LINDBLOM et al., 2006; LI-XIAN et al., 2007; QI-TANG et al., 2007). *Brassica napus* L. acumula grandes quantidades de Fe, Mn, Zn, As, Cr, Ni, Cu, Pb, Co, Mo, Cd, Ag e Tl na raiz, mas a

transferência desses metais para a parte aérea das plantas é limitada e para as sementes mais ainda, o que garante sua qualidade como fonte de alimento humano (MESTEK et al., 2007). *Brassica oleracea* L. var. *acephala* é acumuladora de Se e apresenta alta quantidade de luteína e β-caroteno em seus tecidos, todos com propriedades anti-oxidantes (LEFSRUD et al., 2006).

Para o repolho, couve-flor e brócolos, as deficiências em B e Mo são as mais comuns porque, além da maior exigência dessas plantas quanto a estes micronutrientes, a maioria dos solos brasileiros é ácida, o que aumenta a solubilidade do B e sua lixiviação (MALAVOLTA et al., 1991). Ao contrário, o Mo é fixado em solos ácidos, deixando de estar disponível às plantas (GUEDES et al., 1973).

Em folhas de brócolos (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck), há interação entre B, Mo e o metabolismo do oxigênio (YANG-XIAN et al., 2000). As folhas dessa variedade têm a atividade da catalase e o conteúdo antiescorbútico elevados com aumentos nas concentrações desses dois micronutrientes, quando aplicados isoladamente. A aplicação combinada dos dois aumenta a capacidade produtiva das plantas e a atividade de enzimas protetoras contra efeitos deletérios de radicais livres nas células, como a superóxido dismutase, peroxidase, nitrato redutase, catalase e sistemas não enzimáticos como o ascorbato e os carotenóides (BURNELL, 1988; NIE et al., 2007), o que torna essas plantas importantes para a saúde do homem.

O gênero *Brassica* reúne as espécies economicamente mais importantes da família em função da produção de óleos recomendados por cardiologistas; de condimentos, folhas, talos e flores para a alimentação, ricos em fibras, vitaminas, minerais, carotenóides e fitoquímicos móveis protetores da carcinogênese, o que as torna alvo de estudos relacionados à biotecnologia (CARDOZA; STEWART JR., 2004; MOÏSE, et al., 2005; HARBAUM et al., 2008).

Como vegetais consumidos em larga escala e ricos em nitrogênio, podem aumentar o risco de câncer gastrointestinal e metahemoglobinemia. Em função disso, a regulação da nitrato redutase pelo óxido nítrico em *Brassica chinensis* L. foi estudada recentemente e os resultados acabaram gerando importantes informações sobre o metabolismo do nitrogênio nas plantas (DU et al., 2008). A acumulação de nitrato visando reduzir os riscos da ocorrência de câncer aos consumidores, especialmente os orientais que chegam a ter 80% da dieta diária de nitrato na forma de hortaliças, também foi estudada utilizando-se duas cultivares de *Brassica campestris* L. subsp. *chinensis* L., 'Shanghaiqing' com maior atividade da nitrato redutase citossólica e maior expressão de genes relacionados à produção da enzima, levando-a a acumular menor quantidade de nitrato no vacúolo do que 'Liangbaiye 1' (LUO et al., 2006).

Brassica chinensis L. var. *parachinensis* (Bailey) Sinskaja é uma hortaliça que foi introduzida no Brasil em 1992, por Warwick Estevan Kerr, para consumo de folhas, talos e flores. Essa Brassicaceae possui excelente nível nutricional, contém aproximadamente 2.045 µg (eq. caroteno) de vitamina A em 100 g da parte comestível, ultrapassando os níveis da couve-flor em 37 vezes, do repolho em sete vezes e do brócolos em três vezes (OPEÑA et al., 1988).

Em função das qualidades nutricionais apresentadas pela couve-da-Malásia e pela inexistência de literatura sobre a resposta dessa cultura aos nutrientes, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da deficiência nutricional na produção de biomassa e na produtividade biológica, utilizando a técnica do elemento faltante.

Material e métodos

Foram instalados dois experimentos na área experimental do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia, do dia 14 de maio até 14 de agosto de 1997, em estufa coberta com filme de polietileno e cercada com tela acrílica tipo sombrite.

Foram constituídos os sete tratamentos: testemunha (1), -Mg (2), -Ca (3), -K (4), -N (5), -P (6) e -S (7) para o primeiro experimento; testemunha (1), -B (2), -Mn (3), -Zn (4), -Fe (5), -Cu (6) e -Mo (7) para o segundo experimento. O delineamento experimental utilizado para cada experimento foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo uma planta por parcela. Realizou-se a semeadura diretamente em sacos de plástico para mudas, com capacidade para 3 L (20 cm de diâmetro por 30 cm de comprimento), mantidos em espaçamento de 30 x 30 cm. O substrato utilizado foi areia grossa (partículas com 0,5 mm de diâmetro), lavada abundantemente em água corrente e, em seguida, com água destilada, segundo recomendação de Raji (1991). A água da última lavagem da areia, já incluída em sacos para a semeadura, foi coletada para quantificar macronutrientes e micronutrientes residuais. Foram semeadas cinco sementes por saco plástico, a 1 cm de profundidade; logo após a emergência, foi feito o desbaste, e deixou-se apenas uma plântula por saco, a mais vigorosa e centralizada. A rega foi realizada com água destilada até a emergência das plântulas e, posterior à emergência, com solução nutritiva no volume de 50 mL por planta na parte da manhã e 50 mL na parte da tarde. De acordo com a necessidade da planta, foi feita uma rega adicional com água destilada.

O preparo das soluções nutritivas foi procedido de acordo com a formulação de Meyer et al. (1963), com algumas modificações. Da solução de micronutrientes, o trióxido de molibdênio foi substituído pelo molibdato de sódio, pela maior solubilidade do segundo. Para os tratamentos referentes à ausência de B, Mn, Zn, Cu e Mo, a solução de micronutrientes foi modificada retirando-se os 2,5 g de H_3BO_3 para o tratamento com ausência de B; substituindo-se os 1,5 g de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ por 0,89 g de NaCl para o tratamento com ausência de Mn; substituindo-se os 0,10 g de

ZnCl₂ por 0,09 g de NaCl para o tratamento com ausência de Zn; substituindo-se os 0,05 g de CuCl₂.2H₂O por 0,003 g de NaCl para o tratamento com ausência de Cu; retirando-se os 0,108 g de Na₂MoO₄.2H₂O para o tratamento com ausência de Mo. Amostras dessas soluções foram analisadas quimicamente para verificar a pureza quanto ao elemento faltante.

Para o cálculo da produtividade biológica, foram coletados dados referentes à área foliar e massa da matéria seca das plantas (secagem da parte aérea a 70°C até massa constante), determinados em duas coletas, com intervalo de sete dias, no final do período vegetativo da planta (30 e 37 dias após a semeadura). Para o cálculo da área foliar, foi utilizado o fator de correção da variedade (0,75), determinado por Ferreira et al. (2002). A partir desses dados, foram calculadas as taxas de crescimento absoluto (TCA), de crescimento relativo (TCR), assimilatória líquida (TAL) e razão de área foliar (RAF), de acordo com Hunt (1978). Das plantas colhidas aos 100 dias após a semeadura, foram coletados dados referentes ao número de frutos por planta, número de sementes por fruto e número de sementes por grama. A produtividade agronômica foi avaliada com base na massa da matéria fresca (g planta⁻¹), obtida no ponto de consumo, aos 30 e 37 dias após a semeadura. A produção relativa foi calculada segundo Rajj (1991). Para cada uma das avaliações realizadas (aos 30, 37 e 100 dias), foram coletadas quatro plantas por tratamento, totalizando 84 plantas avaliadas para cada um dos experimentos.

Foi feita análise química da lâmina foliar, realizada a partir de uma amostra composta de quatro plantas por tratamento. Para as análises, foram excluídos o pecíolo e a nervura principal, por servirem de fluxo aos nutrientes, o que poderia superestimar o teor nutricional efetivamente disponível para o metabolismo das plantas. A análise química de duas amostras de sementes, uma coletada em agosto de 1998 e outra em agosto de 2002, também foi realizada. As análises químicas das soluções nutritivas, da água de lavagem da areia, da lâmina foliar e das sementes foram processadas de acordo com Allen (1989) e Miyazawa et al. (1999).

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística. Inicialmente, testou-se a normalidade dos resíduos da ANOVA (Shapiro-Wilk) e a homogeneidade entre as variâncias (Bartlett ou Levene). Quando estas duas premissas foram atendidas, a análise da variância e o teste de Tukey foram realizados; caso contrário, aos dados foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn. Todos os testes foram realizados a $p < 0,05$ de significância.

Resultados e discussão

Dentre os seis macronutrientes avaliados, a ausência de N, P e S inibiu o desenvolvimento das plantas e, dentre os seis micronutrientes, somente a ausência de B teve efeito semelhante na couve-da-Malásia (Tabelas 1 a 3). Na ausência de N, as plantas apresentaram folhas de coloração verde-acinzentada, arroxamento do pecíolo e face abaxial da lâmina. Este último sintoma também apareceu na ausência de P. Na ausência de K, ocorreu clorose marginal da lâmina foliar, com coloração branca, seguida de necrose. Na ausência de S, a lâmina foliar se expandiu a poucos milímetros da nervura principal, e as plantas foram atacadas por pulgões. Proteínas sulfurosas podem ter sido hidrolisadas nessas condições, para a liberação do S, atraiendo herbívoros na busca por aminoácidos protéicos. A deficiência de enxofre como causa direta do decréscimo no teor de proteínas é suportada por seu declínio, juntamente com o declínio do enxofre celular, e pela correlação entre os genes que codificam a síntese de proteínas e os metabólitos sulfurosos como serina, putrescina e glutationa, dentre outros (NIKIFOROVA et al., 2005). A baixa herbivoria de plantas bem nutridas de *Brassica nigra* (L.) W. D. J. Koch e a eficiência na recuperação desse tipo de dano em relação a plantas desnutridas foi estudada por Meyer (2000). Clorose com aparecimento de coloração amarela só foi observada no final do ciclo das plantas com deficiência em Fe. Para a maioria das características avaliadas, os coeficientes de variação foram muito altos. Comportamento semelhante foi verificado por Ferreira et al. (2002) para a mesma variedade, cultivada em diferentes espaçamentos e fertilizantes em Uberlândia, ano agrícola de 1993, um ano após a introdução da variedade no Brasil. Certamente, trabalhos de melhoramento genético poderiam ser úteis no sentido de diminuir a heterogeneidade entre plantas e facilitar a sua comercialização. Por outro lado, a alta plasticidade fenotípica tem facilitado a adaptação da variedade a regiões diversas.

Mesmo sob deficiência nutricional, exceto do B, as plantas não tiveram a eficiência do tecido fotossintético, medida pela razão de área foliar e refletida na taxa assimilatória líquida, diminuída em relação às plantas testemunha (Tabela 1). A ausência de N diminuiu significativamente a taxa de crescimento absoluto e a taxa de crescimento relativo das plantas. Segundo Zanão Júnior et al. (2005), a couve-da-Malásia cresce melhor e com maior produtividade pela melhor absorção de nutrientes, na dose de 210 kg ha⁻¹ de N. Algumas variedades de *Brassica napus* também apresentam a maior produtividade de sementes, de óleo, proteínas e de

nutrientes com aplicação de 180 kg ha⁻¹ de N (KARAASLAN, 2008). A manutenção da eficiência fotossintética permitiu às plantas com deficiência em micronutrientes, exceto de B, manterem valores de TCA, TCR e TAL similares aos das plantas-testemunha, observando-se, assim, a baixa resposta da variedade à ausência desses micronutrientes. Os dados oriundos das plantas cultivadas sem o B só puderam ser incluídos na análise da primeira coleta porque as plantas morreram entre 30 e 37 dias após a semeadura. As plantas desse tratamento produziram apenas um par de folhas definitivas e encarquilhadas, de tamanho similar aos cotilédones.

Tabela 1. Produtividade biológica da couve-da-Malásia cultivada sob deficiência nutricional.

Tratamento	TCA (g dia ⁻¹)	TCR (g g ⁻¹ dia ⁻¹)	TAL (g dm ⁻² dia ⁻¹)	RAF (dm ⁻² g ⁻¹)
1º experimento				
T	0,1951 a	0,1282 ab	0,0638 a	2,0342 a
- N	-0,0004 b	-0,0122 b	0,0033 a	0,7502 a
- P	0,0014 ab	0,0730 ab	0,0256 a	1,4543 a
- K	0,1674 a	0,1759 ab	0,0928 a	2,1318 a
- Ca	0,2103 a	0,1911 a	0,0954 a	2,0901 a
- Mg	0,2042 a	0,1280 ab	0,0674 a	2,0614 a
- S	0,0101 ab	0,0843 ab	0,0324 a	2,4375 a
CV (%)	55,84	79,77	103,85	40,09
2º experimento				
T	0,1049 a	0,1316 a	0,0593 a	2,3694 a
- Fe	0,0310 a	-0,0534 a	-0,0128 a	2,4169 a
- Cu	0,0608 a	0,0690 a	0,0307 a	2,3594 a
- Mn	0,1010 a	0,1402 a	0,0592 a	2,3958 a
- Zn	0,0972 a	0,1535 a	0,0692 a	2,2230 a
- Mo	0,1208 a	0,1406 a	0,0824 a	2,5210 a
CV (%)	80,39	117,04	106,45	29,25

Médias seguidas de letras iguais, na coluna, por experimento, não diferem significativamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey ou Dunn; T: testemunha; TCA: taxa de crescimento absoluto; TCR: taxa de crescimento relativo; TAL: taxa assimilatória líquida; RAF: razão de área foliar; CV: coeficiente de variação. Estatística não-paramétrica para TCA (primeiro experimento) e RAF (segundo experimento).

Os valores de TCA, TCR e TAL das plantas cultivadas na ausência de N, P, S e Fe (Tabela 1) foram menores do que os obtidos por Ferreira et al. (2002), em cultivo da couve-da-Malásia realizado no solo. Quanto à eficiência do tecido fotossintético, medida pela RAF, exceto para a ausência de N e P, todos os valores obtidos no presente trabalho foram maiores do que os obtidos por Ferreira et al. (2002). Analisando os resultados obtidos para essa variedade, pode-se verificar que os menores valores da razão de área foliar, que indicam aumento da eficiência fotossintética do tecido foliar, ocorreram quando a planta foi submetida a algum tipo de estresse. Essas informações reforçam a suposição de que a variedade em estudo possui alta plasticidade fenotípica, o que lhe garante a sobrevivência em situações desfavoráveis.

Aos 30 e 37 dias após a semeadura, os menores valores de área foliar e massa da matéria seca foram registrados quando as plantas foram cultivadas na ausência de N, P, S e B (Tabela 2).

Quanto à massa seca das raízes, diferença significativa entre os tratamentos só foi detectada para o experimento cujas plantas foram cultivadas sob deficiência em macronutrientes, sendo a ausência de N, P e S as mais restritivas (Tabela 2). O fato de o sistema radicular não ter sofrido alterações em massa seca, em decorrência da falta de micronutrientes, deve ter facilitado a absorção de nutrientes pelas plantas, que acabaram não diferindo das plantas-testemunha para a maioria das características avaliadas.

A produtividade da parte áerea da couve-da-Malásia, aos 30 dias após a semeadura, na ausência de N, P, K, Ca, S e B, foi reduzida significativamente em relação à planta-testemunha e, aos 37 dias, apenas na ausência do N e do P redução significativa foi registrada (Tabela 2). Com o cálculo da produção relativa da massa fresca no ponto de colheita (37 dias de cultivo), confirma-se a importância do N, P e S para essa variedade, além do B, sem o qual as plantas morreram antes dos 37 dias de cultivo. A resposta fisiológica das plantas, mensurada pela taxa fotossintética líquida, condutância estomática, eficiência na carboxilação, uso eficiente da água; a atividade enzimática, composição de ácidos graxos e a produtividade de frutos e sementes de vários genótipos de *Brassica napus* e *B. juncea* (L.) Czern. também indica a importância do N, P e S para esse grupo de plantas (SIDDQUI et al., 2008).

Exceto para as plantas cultivadas na ausência de N e P, que tiveram produção de frutos e sementes baixa e significativamente menor do que as demais, a ausência de K, Ca e Mg não alterou esses números em relação às plantas-testemunha (Tabela 3). Nenhum efeito significativo foi observado para as plantas mantidas sob deficiência de micronutrientes. Os valores médios referentes ao número de frutos totalmente desenvolvidos, obtidos neste trabalho, para a maioria dos tratamentos, foram bem superiores aos registrados por Ferreira et al. (2002), que variaram de 37,29 em plantas mantidas em espaçamento 30 x 10 cm, com adubo mineral, a 102,48 em espaçamento 30 x 30 cm, com esterco de gado. O número de sementes por grama das plantas cultivadas com deficiência de micronutrientes foi maior do que os valores registrados por Ferreira et al. (2002) que variaram de 456 a 609. Para o experimento realizado com deficiência de macronutrientes, os valores foram similares aos obtidos por esses autores.

Os resultados referentes à análise química foliar (Tabela 4) indicaram que, quando cultivadas na ausência de macronutrientes, as plantas apresentaram, em seus tecidos, quantidades menores dos nutrientes faltantes em relação às plantas-testemunha, como era esperado, com redução de 23% (K) até 51,5% (Ca).

Tabela 2. Massas das matérias fresca e seca da parte aérea, área foliar e da matéria seca de raízes da couve-da-Malásia cultivada sob deficiência nutricional.

Trat.	MMF_1 (g planta ⁻¹)	MMF_2 (g planta ⁻¹)	MMS_1 (g planta ⁻¹)	MMS_2 (g planta ⁻¹)	AF_1 (dm ²)	AF_2 (dm ²)	$MMSR_1$ (g planta ⁻¹)	$MMSR_2$ (g planta ⁻¹)	PR (%)
1º experimento									
T	11,92 a	25,37 a	0,94 a	2,31 a	2,08 a	4,35 a	0,21 ab	2,84 a	-
- N	0,16 c	0,18 b	0,02 c	0,02 c	0,01 b	0,02 c	0,03 abc	0,02 b	$0,73 \pm 0,15$ c
- P	0,38 c	0,46 ab	0,05 c	0,06 bc	0,06 b	0,07 bc	0,02 bc	0,01 b	$1,82 \pm 0,29$ bc
- K	6,83 b	23,86 a	0,46 b	1,64 abc	1,10 ab	3,16 abc	0,04 abc	0,73 ab	$95,64 \pm 17,53$ ab
- Ca	6,65 b	23,95 a	0,52 b	2,00 ab	1,21 ab	3,74 ab	0,05 abc	0,83 ab	$94,47 \pm 14,44$ ab
- Mg	12,85 a	27,52 a	0,99 a	2,42 a	2,15 a	4,48 a	0,21 a	1,99 a	$108,35 \pm 17,51$ a
- S	1,58 c	2,62 ab	0,11 c	0,18 abc	0,24 ab	0,36 abc	0,006 c	0,09 ab	$10,12 \pm 2,69$ abc
CV	25,02	21,22	30,07	29,83	24,69	27,53	119,91	57,83	22,68
2º experimento									
T	5,38 a	12,64 a	0,49 a	1,22 a	1,48 a	2,45 a	0,26 a	0,93 a	-
- Fe	5,51 a	7,44 a	0,53 a	0,75 a	1,25 a	1,54 a	0,13 a	0,73 a	$55,10 \pm 42,21$ a
- Cu	4,78 a	9,51 a	0,45 a	0,87 a	1,12 a	1,88 a	0,16 a	0,66 a	$70,17 \pm 30,79$ a
- Mn	4,25 a	14,94 a	0,43 a	1,14 a	1,01 ab	2,70 a	0,18 a	0,89 a	$120,73 \pm 38,10$ a
- Zn	4,26 a	10,99 a	0,38 a	1,06 a	0,96 ab	2,14 a	0,17 a	0,58 a	$90,09 \pm 33,89$ a
- Mo	3,80 ab	10,10 a	0,41 a	1,25 a	0,92 ab	2,60 a	0,14 a	0,83 a	$85,38 \pm 55,48$ a
- B	0,08 b	-	0,05 b	-	0,01 b	-	0,07 a	-	-
CV	42,85	47,06	38,34	50,90	48,64	45,05	51,77	59,74	48,64

Médias seguidas de letras iguais, na coluna, por experimento, não diferem significativamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey ou Dunn; Trat.: tratamento; T: testemunha; MMF_1 : massa da matéria fresca da primeira coleta; MMF_2 : massa da matéria fresca da segunda coleta; MMS_1 : massa da matéria seca da primeira coleta; MMS_2 : massa da matéria seca da segunda coleta; AF_1 : área foliar da primeira coleta; AF_2 : área foliar da segunda coleta; $MMSR_1$: massa da matéria seca da raiz da primeira coleta; $MMSR_2$: massa da matéria seca da raiz da segunda coleta; PR : produção relativa de massa da matéria fresca, aos 37 dias de cultivo; CV (%): coeficiente de variação. Estatística paramétrica para dados da primeira e da terceira colunas do primeiro experimento e para todos do segundo experimento; demais dados submetidos à estatística não-paramétrica.

Tabela 3. Número de frutos e sementes de couve-da-Malásia, por planta e por grama, cultivada sob deficiência nutricional.

Tratamento	¹ Frutos desenvolvidos	Total de frutos	Sementes fruto ⁻¹	Sementes grama ⁻¹
1º experimento				
Testemunha	186,75 a	317,75 a	13,92 a	588,33 b
- N	4,00 b	5,50 b	1,81 b	-
- P	13,50 b	19,50 b	1,63 b	-
- K	158,50 a	249,50 a	14,85 a	607,00 a
- Ca	187,75 a	283,25 a	13,00 a	555,00 c
- Mg	186,25 a	274,00 a	11,60 a	497,67 d
CV (%)	14,26	16,98	51,78	1,60
2º experimento				
Testemunha	112,00 a	557,50 a	-	1041
- Fe	176,25 a	567,75 a	-	1034
- Cu	181,00 a	473,75 a	-	1120
- Mn	238,75 a	569,25 a	-	1210
- Zn	157,50 a	469,00 a	-	998
- Mo	204,50 a	662,00 a	-	1282
CV (%)	43,51	35,12		

Médias seguidas de letras iguais, na coluna, por experimento, não diferem significativamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey ou Dunn; CV : coeficiente de variação. *Dados transformados para $\sqrt{x+1}$ para efetuar a análise estatística. Dados referentes ao número de sementes fruto⁻¹ submetidos à estatística não-paramétrica.

Para o N e P, não foi possível obter esses resultados pelo reduzido tamanho das plantas. Para os dois experimentos, a ordem de acumulação de macronutrientes pelas plantas foi $N > K > Ca > S$. Esta ordem de acumulação de macronutrientes é a mesma que foi registrada para folhas da couve-flor (FURLANI et al., 1978) e para o repolho (MARTINEZ et al., 1999).

Na ausência de micronutrientes, o teor destes nos tecidos foliares foi, muitas vezes, similar ao encontrado nas plantas-testemunha. Resultado semelhante foi obtido por Kuramoto et al. (1981) para a couve-flor. Parte desses micronutrientes está presente nas sementes da couve-da-Malásia

(Tabela 4). Resultado semelhante foi observado para sementes de 22 genótipos de canola e três de mostarda analisadas quanto à concentração de Zn, que variou de 35 a 52 mg kg⁻¹ (GREWAL et al., 1997). Essa quantidade do nutriente encontrada nas sementes é capaz de suprir a necessidade da planta, uma vez que a concentração crítica do Zn, em folhas de canola e de mostarda, é de 33 e 41 mg kg⁻¹, respectivamente (RASHID et al., 1994).

Como os sintomas da ausência de Fe apareceram somente no final do ciclo da couve-da-Malásia e a poeira do ar na região de Uberlândia contém o elemento, pelo predomínio de Latossolos na região (GOMES et al., 2004), essa fonte de contaminantes foi considerada pouco relevante. A água da última lavagem da areia, antes da semeadura, estava com pH em água (1:2,5) igual a 6,5; 0,2 e 27 mg L⁻¹ de P e K; 80 e 24 mg L⁻¹ de Ca e Mg; 0,85; 0,02; 0,01 e 0,005 mg L⁻¹ de Fe, B, Zn e Cu, respectivamente, e sem Mn. De acordo com as classes de interpretação da disponibilidade de nutrientes no solo (ALVAREZ et al., 1999), as quantidades obtidas neste trabalho são muito baixas, exceto as de K e Mg, que são consideradas baixas.

Dentre os micronutrientes, apenas o Fe estava em concentração mais elevada, mas, mesmo assim, as plantas apresentaram clorose no final do ciclo. Isso significa que a quantidade do nutriente disponível às plantas não foi suficiente para manter seu metabolismo normal. A contaminação pelos reagentes é descartada, uma vez que, nas soluções de rega das plantas, não foram registrados traços do elemento faltante. Certamente, por serem necessários em menor quantidade, os micronutrientes, presentes principalmente nas

sementes, foram suficientes para a manutenção do metabolismo das plantas, exceto no caso do B. É importante destacar que as quantidades de micronutrientes registradas como contaminantes do substrato de cultivo estão abaixo daquilo que está disponível para as plantas na camada superficial do solo no Brasil. Dados compilados por Malavolta et al. (1991) mostram que a quantidade de B disponível para as plantas nos solos do território brasileiro varia de 0,06 a 0,32 mg kg⁻¹; o Cl está entre 0,4 e 34 mg kg⁻¹; o Mo entre 0,01 e 1,4 mg kg⁻¹; o Cu entre 0,1 e 6 mg kg⁻¹; o Mn entre 0,1 e 140 mg kg⁻¹ e o Zn entre 0,1 e 45 mg kg⁻¹.

A extração de micronutrientes pelas hortaliças geralmente obedece à seguinte ordem Fe>Mn>Zn>B>Cu>Mo (CASTELLANE et al., 1991). Os dados obtidos para a couve-da-Malásia indicam uma inversão entre o Zn e o B, sendo o B o terceiro micronutriente mais absorvido pelas plantas dessa variedade (Tabela 4). O B também é o terceiro micronutriente mais absorvido pelas folhas da couve-flor (FURLANI et al., 1978).

A ausência de K, Mn, Cu e Mo induziu aumento da absorção de Fe pelas plantas, em relação à testemunha (Tabela 4). Esses nutrientes competem pelo mesmo sítio, no mesmo carregador, e informações apresentadas por Malavolta et al. (1997) e Dechen et al. (1991) confirmam a relação de antagonismo existente entre esses nutrientes. Relação de antagonismo também existe entre o Mn, K, Zn, Cu e Mo. A relação entre esses micronutrientes também é abordada como exemplos de antagonismo por Dechen et al. (1991). A ausência de S aumentou a absorção de B, indicando a presença de mais um par de íons antagonistas. Relações de sinergismo entre íons também podem ser inferidas a partir dos dados obtidos, como S e N, Mg e P, Mo e K,

Ca e S, Ca e Cu, Ca e Mn, Ca e Zn, uma vez que a ausência do primeiro diminui a absorção do segundo (Tabela 4). Os efeitos do sinergismo entre N e S foram detectados na produção de grãos de *Brassica napus*, uma vez que incrementos nesses dois nutrientes estimulam a produção, mas a concentração de óleo nos grãos tende a diminuir com o aumento nas doses de N e a aumentar com as doses de S (BRENNAN; BOLLAND, 2008).

Os teores de nutrientes encontrados nas folhas da couve-da-Malásia estão dentro da faixa registrada para várias brássicas, como brócolos, couve, couve-flor e repolho (MARTINEZ et al., 1999). Ao analisar os valores de referência apresentados por esses autores, pode-se afirmar que a variedade em estudo é rica em S, B e Fe e pobre em Zn. De acordo com a Food Composition Table for Use in East Asia, 1972 (OPEÑA et al., 1988), *Brassica campestris* subsp. *parachinensis* (sinônima de *Brassica chinensis* var. *parachinensis*) é a mais rica em Fe (3,1 mg em 100 g da porção comestível ou 31 mg kg⁻¹), dentre nove brássicas conhecidas quanto ao seu valor nutricional, e a segunda mais rica em Ca (109 mg por 100 g ou 1,09 g kg⁻¹) e vitamina A (2045 µg eq. caroteno). Os teores de Ca e Fe registrados para essa variedade cultivada na Ásia são inferiores aos obtidos no presente trabalho. Se, de fato, nas condições climáticas de Uberlândia, ela consegue absorver mais Fe, esta variedade pode ser recomendada como importante alimento no combate à anemia que incide sobre a população de baixa renda no Brasil. Na zona rural da China, cerca de 20% das crianças vivem sob riscos de suprimento inadequado de Zn.

Tabela 4. Teor de nutrientes do tecido foliar da couve-da-Malásia cultivada sob deficiência nutricional, analisada 30 dias após a semeadura, e teor de nutrientes de duas amostras de sementes. Avaliações feitas a partir de amostras compostas.

Trat.	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
g kg ⁻¹mg kg ⁻¹		
1º experimento											
T	51,0	8,6	50,0	13,2	5,5	10,5	70,0	9,0	492,0	105,0	34,0
-K	50,3	8,2	11,5	14,6	7,6	12,1	93,0	12,0	1245,0	157,0	29,0
-Ca	52,5	9,1	47,0	6,8	8,4	8,2	-	5,0	194,0	94,0	20,0
-Mg	53,6	6,9	43,0	14,2	2,0	11,2	82,0	10,0	173,0	109,0	32,0
-S	39,4	-	-	-	-	-	147,0	-	-	-	-
2º experimento											
T	50,7	8,8	44,0	18,6	10,0	14,4	135,0	9,0	212,0	157,0	31,0
-Fe	49,2	9,0	41,5	19,3	10,6	13,5	103,0	12,0	253,0	146,0	29,0
-Zn	51,4	10,1	42,0	20,6	10,8	16,1	120,0	10,0	195,0	181,0	30,0
-Mn	51,8	9,5	42,0	19,3	11,0	15,4	111,0	11,0	533,0	160,0	32,0
-Cu	51,8	9,4	40,5	19,4	9,4	16,2	121,0	9,0	588,0	181,0	35,0
-Mo	49,2	8,5	38,5	20,4	11,2	15,1	127,0	12,0	376,0	173,0	33,0
1	41,3	9,15	8,0	4,1	3,4	6,5	27,0	8,0	288,0	35,0	95,0
2	39,2	9,71	8,0	4,6	3,8	6,6	23,0	15,0	207,0	31,0	94,0

Trat.: tratamento; T: testemunha; - Amostra insuficiente para análise; 1: amostra de sementes coletada em 27/8/1998; 2: amostra de sementes coletada em 19/8/2002. Determinação do teor de N feita por digestão sulfúrica e destilação micro-Kjeldahl; P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn por digestão nitro-perclórica, com leituras para P e S por colorimetria, K por fotometria de chama e demais por absorção atómica; B por colorimetria com azometina-H.

Na tentativa de auxiliar na resolução desse problema, pesquisadores estão investindo esforços no estudo de hortaliças, largamente consumidas pelos orientais. Nessa linha de trabalhos, foi descoberto que *Brassica rapa* L. é responsiva a doses crescentes desse nutriente, aumentando ainda a absorção de Fe e Mn (WU et al., 2007). Em condições tropicais a deficiência de zinco é muito freqüente e, no Brasil, também tem limitado a produtividade de algumas culturas (PRADO et al., 2008; TEIXEIRA et al., 2008). A presença de Zn no substrato de cultivo também reduz a absorção de cádmio em *Brassica juncea*, metal pesado carcinogênico (PODAR et al., 2004).

Conclusão

As deficiências de N, P, K, S e B interferem no desenvolvimento da couve-da-Malásia, causando redução do porte, da área foliar, do acúmulo de massa verde, com comprometimento do seu ciclo de vida.

Agradecimentos

Ao Dr. Sebastião de Paula Eiras, pela formulação das soluções nutritivas utilizadas para testar o efeito da ausência de Cu, Mn, Zn, Mo e B; à Dra. Denise Garcia de Santana, pelas sugestões no tratamento estatístico dos dados; ao Luiz Zanão Júnior e ao Dr. José Magno Q. Luz, pela leitura crítica do manuscrito e importantes sugestões; e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa concedida ao primeiro autor (Capes - PET), os autores registram seus agradecimentos.

Referências

- ALLEN, S. E. **Chemical analysis of ecological materials.** Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1989.
- ALVAREZ V., V. H.; NOVAIS, R. F.; BARROS, N. F.; CANTARUTTI, R. B.; LOPES, A. S. Interpretação dos resultados das análises de solos. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V. V. H. (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais:** 5^a aproximação. Viçosa: UFV, 1999. p. 25-32.
- BRENNAN, R. F.; BOLLAND, M. D. A. Significant nitrogen by sulfur interactions occurred for canola grain production and oil concentration in grain on sandy soils in the Mediterranean-type climate of southwestern Australia. **Journal of Plant Nutrition**, v. 31, n. 7, p. 1174-1187, 2008.
- BURNELL, J. N. The biochemistry of manganese in plants. In: GRAHAM, R. D.; HANNAM, R. J.; UREN, N. C. (Ed.). **Manganese in soils and plants.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1988. p. 125-137.
- CARDOZA, V.; STEWART JR., C. N. *Brassica* biotechnology: progress in cellular and molecular biology. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, v. 40, n. 6, p. 542-551, 2004.
- CASTELLANE, P. D.; SOUZA, A. F.; MESQUITA FILHO, M. V. Culturas olerícolas. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. (Ed.). **Micronutrientes na agricultura.** Piracicaba: Potafós, 1991. p. 549-584.
- DECHEM, A. R.; HAAG, H. P.; CARMELLO, Q. A. C. Mecanismos de absorção e de translocação de micronutrientes. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. (Ed.). **Micronutrientes na agricultura.** Piracicaba: Potafós, 1991. p. 79-97.
- DU, S.; ZHANG, Y.; LIN, X.; WANG, Y.; TANG, C. Regulation of nitrate reductase by nitric oxide in chinese cabbage pakchoi (*Brassica chinensis* L.). **Plant, Cell and Environment**, v. 31, p. 195-204, 2008.
- FERREIRA, W. R.; RANAL, M. A.; FILGUEIRA, F. A. R. Fertilizantes e espaçamento entre plantas na produtividade da couve-da-Malásia. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 635-640, 2002.
- FURLANI, A. M. C.; FURLANI, P. R.; BATAGLIA, O. C.; HIROCE, R.; GALLO, J. R. Composição mineral de diversas hortaliças. **Bragantia**, v. 37, n. 1, p. 33-34, 1978.
- GOMES, J. B. V.; CURI, N.; SCHULZE, D. G.; MARQUES, J. J. G. S. M.; KER, J. C.; MOTTA, P. E. F. Mineralogia, morfologia e análise microscópica de solos do bioma cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 4, p. 679-694, 2004.
- GREWAL, H. S.; STANGOULIS, J. C. R.; POTTER, T. D.; GRAHAM, R. D. Zinc deficiency of oilseed rape (*Brassica napus* and *B. juncea*) genotypes. **Plant and Soil**, v. 191, n. 1, p. 123-132, 1997.
- GUEDES, A. C.; MONNERAT, P. A.; BRAGA, J. M. Efeitos de níveis de calagem e de molibdênio sobre a produção de couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.). **Revista de Olericultura**, v. 13, p. 112-113, 1973.
- HAN, F. X.; SRIDHAR, B. B. M.; MONTS, D. L.; SU, Y. Phytoavailability and toxicity of trivalent and hexavalent chromium to *Brassica juncea*. **New Phytologist**, v. 162, n. 2, p. 489-499, 2004.
- HARBAUM, B.; HUBBERMANN, E. M.; ZHU, Z.; SCHWARZ, K. Free and bound phenolic compounds in leaves of pak choi (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *communis*) and chinese leaf mustard (*Brassica juncea* Coss.). **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 838-846, 2008.
- HUNT, R. **Plant growth analysis.** London: Edward Arnold Publishers Limited, 1978. (Studies in Biology, 96).
- KARAASLAN, D. The effect of different nitrogen doses on seed yield, oil, protein and nutrient contents of spring rape. **Pakistan Journal of Botany**, v. 40, n. 2, p. 807-813, 2008.
- KURAMOTO, M.; OLIVEIRA, G. D.; HAAG, H. P. Deficiência de micronutrientes em couve-flor. In: HAAG, H.

- P.; MINAMI, K. (Ed.). **Nutrição mineral em hortaliças**. Campinas: Fundação Cargill, 1981. p. 117-129.
- LEFSRUD, M. G.; KOPSELL, D. A.; KOPSELL, D. E.; RANDLE, W. M. Kale carotenoids are unaffected by, whereas biomass production, elemental concentrations, and selenium accumulation respond to, changes in selenium fertility. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1764-1771, 2006.
- LINDBLOM, S. D.; ABDEL-GHANY, S.; HANSON, B. R.; HWANG, S.; TERRY, N.; PILON-SMITS, E. A. H. Constitutive expression of a high-affinity sulfate transporter in Indian mustard affects metal tolerance and accumulation. **Journal of Environmental Quality**, v. 35, n. 3, p. 726-733, 2006.
- LI-XIAN, Y.; GUO-LIANG, L.; SHI-HUA, T.; GAVIN, S.; ZHAO-HUAN, H. Salinity of animal manure and potential risk of secondary soil salinization through successive manure application. **Science of the Total Environment**, v. 383, p. 106-114, 2007.
- LUO, J.; SUN, S.; JIA, L.; CHEN, W.; SHEN, Q. The mechanism of nitrate accumulation in pakchoi [*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.)]. **Plant and Soil**, v. 282, p. 291-300, 2006.
- MALAVOLTA, E.; BOARETTO, A. E.; PAULINO, V. T. Micronutrientes: uma visão geral. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. (Ed.). **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba: Potafós, 1991. p. 1-33.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafós, 1997.
- MARTINEZ, H. E. P.; CARVALHO, J. G.; SOUZA, R. B. 1999. Diagnose foliar. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V. V. H. (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa: UFV, 1999. p. 143-168.
- MESTEK, O.; POLÁK, J.; JUŘÍČEK, M.; KARVÁNKOVÁ, P.; KOPLIK, R.; ŠANTRŮČEK, J.; KODIČEK, M. Trace element distribution and species fractionation in *Brassica napus* plant. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 21, n. 6, p. 468-474, 2007.
- MEYER, B. S.; ANDERSON, P. B.; SWANSON, C. A. **Curso prático de fisiologia vegetal**. New Jersey: Fundação Calouste Gulbenkian, 1963.
- MEYER, G. A. Interactive effects of soil fertility and herbivory on *Brassica nigra*. **Oikos**, v. 88, n. 2, p. 433-441, 2000.
- MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; MURAOKA, T.; CARMO, C. A. F. S.; MELLO, W. J. Análises químicas de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solo, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa, 1999. p. 173-223.
- MOÏSE, J. A.; HAN, S.; GUDYNAITE-SAVITCH, L.; JOHNSON, D. A.; MIKI, B. L. A. Seed coats: structure, development, composition, and biotechnology. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, v. 41, n. 5, p. 620-644, 2005.
- NIE, Z. J.; HU, C. X.; SUN, X. C.; TAN, Q. L.; LIU, H. E. Effects of molybdenum on ascorbate-glutathione cycle metabolism in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*). **Plant and Soil**, v. 295, n. 1-2, p. 13-21, 2007.
- NIKIFOROVA, V. J.; KOPKA, J.; TOLSTIKOV, V.; FIEHN, O.; HOPKINS, L.; HAWKESFORD, M. J.; HESSE, H.; HOEFGREN, R. Systems rebalancing of metabolism in response to sulfur deprivation, as revealed by metabolome analysis of *Arabidopsis* plants. **Plant Physiology**, v. 138, n. 1, p. 304-318, 2005.
- OPEÑA, R. T.; KUO, C. G.; YOON, J. Y. **Breeding and seed production of Chinese cabbage in the Tropics and Subtropics**. Tainan: Asian Vegetable Research and Development Center, 1988.
- PODAR, D.; RAMSEY, M. H.; HUTCHINGS, M. J. Effect of cadmium, zinc and substrate heterogeneity on yield, shoot metal concentration and metal uptake by *Brassica juncea*: implications for human health risk assessment and phytoremediation. **New Phytologist**, v. 163, n. 2, p. 313-324, 2004.
- PRADO, R. M.; ROMUALDO, L. M.; ROZANE, D. E. Aplicação de zinco em sementes de sorgo cv. BRS 304: efeitos na nutrição e no crescimento inicial. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 4, p. 471-478, 2008.
- QI-TANG, W.; ZHAO-LI, X.; HUI, Y.; WONG, J. W. C. Chemical composition of root and stem saps in relation to cadmium resistance and accumulation in *Brassica parachinensis*. **Pedosphere**, v. 17, n. 3, p. 352-359, 2007.
- RAIJ, B. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Potafós, 1991.
- RASHID, A.; BUGHIO, N.; RAFIQUE, E. Diagnosing zinc deficiency in rapeseed and mustard by seed analysis. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 25, n. 19-20, p. 3405-3412, 1994.
- SHARMA, A. Effect of sowing methods, nitrogen and sulphur level on growth, yield and oil contents of mustard (*Brassica juncea*). **Plant Archives**, v. 8, n. 1, p. 421-424, 2008.
- SIDDQUI, M. H.; MOHAMMAD, F.; KHAN, M. N.; KHAN, M. M. A. Cumulative effect of soil and foliar application of nitrogen, phosphorus, and sulfur on growth, physico-biochemical parameters, yield attributes, and fatty acid composition in oil of erucic acid-free rapeseed-mustard genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, v. 31, n. 7, p. 1284-1298, 2008.
- TEIXEIRA, I. R.; BORÉM, A.; SILVA, A. G.; KIKUTI, H. Fontes e doses de zinco no feijoeiro cultivado em diferentes épocas de semeadura. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 2, p. 255-259, 2008.
- WU, J.; SCHAT, H.; SUN, R.; KOORNNEEF, M.; WANG, X.; AARTS, M. G. M. Characterization of natural variation for zinc, iron and manganese accumulation and zinc exposure response in *Brassica rapa* L. **Plant and Soil**, v. 291, n. 1-2, p. 167-180, 2007.

YANG-XIAN; CHEN-XIAOYAN; LIU-ZHICAI; YANG-X; CHEN-XY; LIU-ZC. Effects of boron and molybdenum nutrition on curd yield and active oxygen metabolism in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). **Acta Horticulturae Sinica**, v. 27, n. 2, p. 112-116, 2000.

ZANÃO JÚNIOR, L. A.; LANA, R. M. Q.; RANAL, M. A. Doses de nitrogênio na produção de couve-da-Malásia. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 76-80, 2005.

Received on February 15, 2008.

Accepted on March 12, 2008.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.