



Acta Scientiarum. Agronomy

ISSN: 1679-9275

eduem@uem.br

Universidade Estadual de Maringá

Brasil

Baida, Fernando César; Santiago, Débora Cristina; Sadayo Assari Takahashi, Lúcia; Athanázio, João Carlos; Capparelli Cadioli, Marina; Levy, Ricardo Michael

Reação de linhagens de feijão-vagem ao *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis* em casa-de-vegetação

Acta Scientiarum. Agronomy, vol. 33, núm. 2, abril-junio, 2011, pp. 237-241

Universidade Estadual de Maringá

Maringá, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=303026596007>

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

# Reação de linhagens de feijão-vagem ao *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis* em casa-de-vegetação

Fernando César Baida<sup>1\*</sup>, Débora Cristina Santiago<sup>2</sup>, Lúcia Sadayo Assari Takahashi<sup>2</sup>, João Carlos Athanázio<sup>2</sup>, Marina Capparelli Cadioli<sup>1</sup> e Ricardo Michael Levy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Agronomia, Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Rod. Celso Garcia Cid, PR-445, Km 380, Cx. Postal 6001, 86051-990, Londrina, Paraná, Brasil. <sup>2</sup>Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: fbaida@hotmail.com

**RESUMO.** Nematoides formadores de galhas (*Meloidogyne* sp.) são responsáveis pela baixa produtividade na cultura do feijoeiro, cujas perdas, provocadas por esses patógenos, podem chegar até 90%. O presente estudo teve como objetivo avaliar o comportamento de seis linhagens de feijoeiro ('Hav 06', 'Hav 11', 'Hav 28', 'Hav 50', 'Hav 69' e 'Torino') frente ao parasitismo de *M. javanica* e de *M. paranaensis*. As linhagens foram inoculadas com 5.000 ovos e eventuais juvenis dos respectivos nematoides. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dez repetições para cada tratamento com os nematoides e dez repetições para testemunha sem inoculação. Quarenta e cinco dias após inoculação, os sistemas radiculares foram coletados, lavados e avaliados quanto à produção de ovos e estimativa do Fator de Reprodução (FR). Os resultados mostraram baixa reprodução dos nematoides nas linhagens de feijão-vagem avaliadas, e que, para *M. javanica*, o FR variou de 0,02 a 0,05, enquanto que, para *M. paranaensis*, a variação foi de 0,04 a 0,36, indicando que todas as linhagens se comportaram como resistentes, apresentando FR < 1.

**Palavras-chave:** nematoide-de-galha, resistência, feijoeiro.

**ABSTRACT.** Reaction of snap bean to *Meloidogyne javanica* and *M. paranaensis* in greenhouse. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* sp.) are responsible for low productivity on bean culture, where the losses caused by this pathogen can reach 90%. The present study aimed to evaluate the behavior of six bean lineages ('Hav 06', 'Hav 11', 'Hav 28', 'Hav 50', 'Hav 69' and 'Torino') against the parasitism of *M. javanica* and *M. paranaensis*. The lineages were inoculated with 5,000 eggs and possible juveniles of each nematode in a completely randomized design, with 10 replications per treatment with the nematodes and 10 replications per treatment without inoculation (control). Forty-five days after inoculation, the roots systems were collected, washed and evaluated for egg production and estimated reproduction factor (RF). The results showed that, for *M. javanica*, the RF varied from 0.02 to 0.05, while for *M. incognita* the variation was from 0.04 to 0.36, showing that all snap bean genotypes were resistant, presenting a RF < 1.

**Keywords:** root-knot nematode, resistance, bean.

## Introdução

Feijão é um nome comum de uma grande variedade de plantas de vários gêneros da família Fabaceae (anteriormente, leguminosas). O gênero *Phaseolus* L. comprehende aproximadamente 55 espécies, dentre elas o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). O feijão-vagem é uma das espécies de feijão comum mais cultivada em todo o Brasil e representa importante alimento, principalmente para a classe de baixa renda, sendo a principal fonte de proteína na alimentação, uma vez que outras fontes presentes no mercado são bem mais caras e de difícil acesso (AIDAR, 2003).

No Brasil, os nematoides formadores de galhas pertencentes ao gênero *Meloidogyne* Göeldi são

considerados um dos principais responsáveis pela baixa produtividade na cultura do feijoeiro. Sua predominância é maior em regiões com elevadas temperaturas, sendo encontrado nas principais áreas de cultivo de feijão-vagem no país (PEDROSA et al., 2000).

O clima desfavorável à planta, os solos degradados com baixa fertilidade e pouca matéria orgânica e, também, os solos sem estrutura física adequada e com baixa quantidade de microrganismos que promovem o controle natural das espécies de *Meloidogyne*, são fatores que aumentam o estresse da planta e favorecem o desenvolvimento dos nematoides formadores de galhas. Outros fatores que contribuem para a

disseminação dos nematoides são a baixa resistência ou tolerância das variedades comerciais e o desconhecimento dos produtores que fazem cultivos sucessivos com outras plantas hospedeiras desses patógenos. O feijoeiro é considerado um bom hospedeiro para o *Meloidogyne* spp. (VIEIRA, 1993) e seu cultivo em áreas infestadas promove aumento da população deste, ocasionando perdas cada vez maiores, podendo chegar até 90% (AGUDELO, 1980).

Fontes de resistência do feijoeiro ao *Meloidogyne* têm sido detectadas, mas ainda são pouco exploradas (CARNEIRO et al., 1992). No Brasil, não há indicações de fontes de resistência eficientes dentro do gênero *Phaseolus*, apenas algumas variedades apresentam resistência moderada, sem, no entanto, reduzirem satisfatoriamente a reprodução do parasita (CARNEIRO et al., 1992). Então, fontes de resistência precisam ser identificadas, medidas e quantificadas para utilização de novas variedades que possam, cada vez mais, reduzir o ciclo evolutivo do nematoide, tentando manter a população abaixo do limiar de dano econômico e, também, para que o uso destas variedades seja explorado em programas de melhoramento de plantas, visando aumentar a tolerância ou resistência ao ataque desse fitoparasita, voltando, assim, a viabilizar o cultivo desta leguminosa em áreas infestadas.

A reprodução dos nematoides formadores de galhas em raízes de feijoeiro indica níveis de resistência ou tolerância diferentes entre as linhagens e, consequentemente, permite a separação das linhagens mais eficientes quanto à redução de crescimento populacional das espécies de *Meloidogyne*. As cultivares Pérola e Iapar 81 foram consideradas variedades tolerantes por Simão et al. (2005), pois não foi observada redução na produção mesmo sob ocorrência de reprodução de *M. javanica*.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de seis linhagens de feijão-vagem ('Hav 06', 'Hav 11', 'Hav 28', 'Hav 50', 'Hav 69' e 'Torino') frente ao parasitismo de *M. javanica* e de *M. paranaensis* em condições de casa-de-vegetação.

## Material e métodos

Para o estudo, realizado em condições de casa-de-vegetação, pertencente ao Departamento de Agronomia-CCA, da Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, Estado do Paraná, foram avaliadas seis linhagens de feijão-vagem quanto à reação à *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis*. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com dez repetições para cada tratamento. Plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) 'Santa Cruz' e de

feijão 'Carioca' (*Phaseolus vulgaris* L.) foram utilizadas como testemunhas da viabilidade dos inóculos de *Meloidogyne* spp.

O experimento foi conduzido no período compreendido entre setembro a novembro de 2008 e a temperatura média foi de 25°C. A irrigação foi realizada via aspersão, duas vezes ao dia, de manhã e à tarde.

A semeadura das linhagens de feijão-vagem ('Hav 06', 'Hav 11', 'Hav 28', 'Hav 50', 'Hav 69' e 'Torino') foi feita em vasos de plástico com capacidade para 3 L, contendo como substrato uma mistura de areia e solo, na proporção de 2:1. Imediatamente após a semeadura, procedeu-se uma adubação em cobertura com 2 g do formulado granulado 8-28-16 de N-P-K por vaso.

Os inóculos de *M. javanica* e *M. paranaensis* foram multiplicados em plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) 'Santa Cruz' e, para a extração dos ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (J2), empregou-se a metodologia descrita por Boneti e Ferraz (1981), tendo a suspensão ajustada para concentração média de 1.000 ovos por mL. Decorridos 15 dias da semeadura, as plantas foram inoculadas com 5 mL da suspensão ajustada, totalizando-se 5.000 ovos e eventuais J2 do respectivo nematoide.

As avaliações foram realizadas aos 45 dias após a inoculação, quando as plantas foram cortadas na altura do colo e foram avaliados o peso fresco da parte aérea, o peso e número de vagens e a altura das plantas. Em seguida, as raízes foram lavadas em água corrente e foram avaliados o peso das raízes, o índice de galhas com base na escala de Taylor e Sasser (1978), o número de ovos e os eventuais J2 por sistema radicular, por meio da técnica de Boneti e Ferraz (1981) e foi calculado o fator de reprodução (FR), dividindo-se o número final de ovos obtidos por sistema radicular pelo número inicial de ovos inoculados, para se diferenciar possíveis linhagens imunes, resistentes e suscetíveis. Foram consideradas imunes aquelas linhagens com FR igual a 0; resistentes com FR menor que 1,0 e suscetíveis com FR igual ou maior que 1,0, segundo escala proposta por Oostenbrink (1966).

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade de erro para comparação das médias, com transformação dos dados relativos ao número de ovos por sistema radicular em  $\sqrt{x} + 0,5$ .

## Resultados e discussão

As viabilidades dos inóculos de *M. javanica* e *M. paranaensis* foram confirmadas pelos números de ovos

encontrados nas plantas de feijão ‘Carioca’ e de tomate ‘Santa Cruz’, utilizadas como testemunhas (Tabela 1).

Os dados apresentados na Tabela 1, obtidos referentes ao ataque direto provocado pelos nematoides (índice de galhas), ao ciclo evolutivo (número de ovos e/ou juvenis) e ao fator de reprodução (FR), dentro das raízes das plantas, apontam a capacidade das linhagens em resistir ao ataque de *M. javanica* e *M. paranaensis*. Esses dados são extremamente interessantes pelo fato de que o feijão-vagem frequentemente é cultivado após o tomateiro e os cultivos sucessivos com estas plantas na mesma área podem proporcionar o aumento da densidade populacional do nematoide em curto período de tempo, o que resulta no declínio prematuro de plantas de feijão-vagem (CHARCHAR et al., 1995).

Estudos de Carneiro et al. (1992) mostraram que a variação na taxa de desenvolvimento e reprodução de fêmeas adultas de *M. incognita* pode estar associada ao comportamento de cultivares resistentes em feijoeiro e outras culturas.

Para o índice de galhas, temos que as testemunhas apresentaram médias superiores em comparação com as linhagens de feijão-vagem estudadas, mostrando que estas apresentaram resistência ao ataque para ambas as espécies de *Meloidogyne*. Para *M. javanica*, as linhagens HAV 11, 28, 50 e 69 foram, então, as mais eficientes em reduzir a formação de galhas nas raízes, e, para *M. paranaensis*, não houve diferença estatística entre as linhagens.

Com relação ao número de ovos e/ou juvenis, as testemunhas também tiveram as maiores médias, com diferença significativa para todas as linhagens em relação a *M. javanica*, indicando que houve resistência do feijoeiro ao ataque desse fitoparasita. Quanto ao *M. paranaensis*, todas as linhagens apresentaram médias inferiores às das testemunhas, e a ‘Torino’ e a ‘HAV 06’ obtiveram as menores médias, mostrando maior capacidade de resistência ao ataque. Então, os resultados mostram que todas as linhagens são resistentes quando comparados aos resultados obtidos com o feijão ‘Carioca’.

A confirmação da resistência dessas linhagens é observada quando se analisa a comparação de médias do fator de reprodução cujos resultados mostraram que, para *M. javanica*, o FR variou de 0,02 a 0,05 e, para *M. paranaensis*, a variação foi de 0,04 a 0,36, mostrando que todas as linhagens se comportaram como resistentes, apresentando FR <1.

A Tabela 2 apresenta as comparações das linhagens inoculadas com *M. javanica* e *M. paranaensis* entre as testemunhas não-inoculadas. Estas comparações são importantes para validar os resultados, pelos sintomas provocados pelo *Meloidogyne* nas plantas.

Para o peso de parte aérea, tanto as testemunhas não-inoculadas quanto os tratamentos com *M. javanica* não apresentaram diferença significativa, indicando que o ataque não provoca redução no peso de parte aérea para as linhagens avaliadas. Em relação aos tratamentos com *M. paranaensis*, as linhagens ‘HAV 11’ e ‘HAV 28’ apresentaram diferenças perante suas testemunhas. A redução da parte aérea de uma planta mostra que houve interferência no desenvolvimento fisiológico, que acarretará em menor número de gemas reprodutivas e, consequentemente, menores números de vagens e grãos, levando essa planta a uma menor produtividade. No caso dos nematoides formadores de galhas, em função do comprometimento do sistema radicular pela formação de células gigantes, hiperplasia e hipertrofia (sintomas histológicos) de células, pode haver exibição exacerbada de deficiências nutricionais que se refletem na parte aérea, levando a planta a um declínio vagaroso (FERRAZ; MONTEIRO, 1995).

Com relação ao peso médio de raízes, pôde ser observado que os tratamentos ‘HAV 11, 28, 50 e 69’ sofreram influência significativa em relação às testemunhas quando inoculadas com o *M. javanica* e os tratamentos ‘HAV 06, 11, 69’ e ‘Torino’, quando inoculados com *M. paranaensis*, havendo então uma resposta destas linhagens ao ataque dos nematoides, resultaram em menor peso de raiz.

**Tabela 1.** Comparações das médias, entre as linhagens e as testemunhas, em relação ao ataque e desenvolvimento de *M. javanica* em feijão-vagem.

Linhagens	<i>M. javanica</i>			<i>M. paranaensis</i>								
	Índice de galhas	Nº ovos e/ou juvenis	Fator de reprodução	Índice de galhas	Nº ovos e/ou juvenis	Fator de reprodução						
HAV 06	1,51 <sup>1</sup>	b <sup>2</sup>	232 <sup>3</sup>	c	0,05 <sup>3</sup>	c	2,00 <sup>1</sup>	b	200 <sup>3</sup>	d	0,04 <sup>3</sup>	d
HAV 11	1,22	c	216	c	0,04	c	2,00	b	760	d	0,15	d
HAV 28	1,37	c	208	c	0,04	c	2,40	b	1216	c	0,25	c
HAV 50	1,30	c	264	c	0,05	c	2,00	b	920	d	0,18	d
HAV 69	1,43	c	144	c	0,03	c	1,80	b	1790	c	0,36	c
Torino	1,70	b	104	c	0,02	c	2,40	b	288	d	0,06	d
Feijão Carioca	2,55	a	2280	b	0,46	b	6,00	a	12050	a	2,41	a
Tomate	2,55	a	8800	a	1,76	a	3,00	b	10800	b	2,16	b
CV (%)	9,29		6,37		6,37		27,15		18,89		18,87	

<sup>1</sup>Os dados são médias de cinco repetições e foram transformados em  $\sqrt{x+0,5}$ . <sup>2</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scott-knott, em nível de 5% de probabilidade de erro. <sup>3</sup>São dados originais (não-transformados) da média de cinco repetições.

**Tabela 2.** Desenvolvimento das linhagens de feijão-vagem inoculadas com *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis* em comparação com a testemunha não-inoculada.

Linhagens	<i>M. javanica</i>								<i>M. paranaensis</i>							
	Peso (g)				Nº de vagens	Altura (cm)	Peso (g)				Nº de vagens	Altura (cm)				
	Parte aérea	Raiz	Vagens	Parte aérea			Parte aérea	Raiz	Vagens	Parte aérea		Parte aérea	Raiz	Vagens	Parte aérea	
HAV 06	41,50 <sup>1</sup>	a <sup>2</sup>	29,13	a	5,17	b	2,60	b	1,60	b	56,53	a	30,22	b	5,10	b
HAV 06 test	52,45	a	36,47	a	4,93	b	3,90	b	1,56	b	52,45	a	36,47	a	4,93	b
HAV 11	43,13	a	17,34	b	12,09	a	3,60	b	1,85	b	47,98	b	27,78	b	8,38	b
HAV 11 test	57,00	a	33,28	a	21,12	a	6,80	a	1,76	b	57,00	a	33,28	a	21,12	a
HAV 28	43,69	a	18,37	b	16,55	a	3,30	b	1,59	b	54,40	a	19,18	b	17,53	a
HAV 28 test	40,90	a	29,12	a	8,83	b	4,40	b	2,27	a	40,90	b	29,12	b	8,83	b
HAV 50	42,16	a	23,02	b	8,87	b	3,60	b	1,65	b	54,78	a	30,63	b	14,73	a
HAV 50 test	50,50	a	28,09	a	13,84	a	6,50	a	2,12	a	50,50	a	28,09	b	13,84	a
HAV 69	41,12	a	21,53	b	8,19	b	2,40	b	1,68	b	42,32	b	31,43	b	12,12	a
HAV 69 test	40,34	a	35,20	a	7,51	b	2,70	b	1,60	b	40,34	b	35,20	a	7,51	b
Torino	36,27	a	28,28	a	3,97	b	2,60	b	1,51	b	41,24	b	22,06	b	6,06	b
Torino test	45,66	a	42,33	a	3,36	b	4,80	b	1,62	b	45,66	b	42,33	a	3,36	b
CV (%)	32,75		39,46		79,76		79,7		23,6		26,4		40,02		78,19	
																73,38
																22,9

<sup>1</sup>Os dados são médias de dez repetições. <sup>2</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scott-knott, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Problemas que dificultam o desenvolvimento do sistema radicular, como camada compactada de solo, excesso ou falta de calagem e períodos de déficit hídrico, principalmente se ocorrerem após longo período de chuvas, agravam os sintomas do parasitismo de nematoides (ALMEIDA et al., 1997). Assim, o desenvolvimento perfeito do sistema radicular é de fundamental importância para o estabelecimento da planta e sua capacidade máxima produtiva.

Analizando-se a relação do peso e número de vagens quanto ao ataque do *M. javanica*, nota-se uma diferença significativa das médias nas linhagens 'HAV 11, 28 e 50'. Para os tratamentos com *M. paranaensis*, as linhagens 'HAV 11, 28 e 69' apresentaram diferença às suas testemunhas. Resultados semelhantes, que comprovam a influência do ataque deste fitoparasita na produção de vagens sobre o feijão-vagem foram descritos por Charchar et al. (1995). Estas características têm resposta direta sobre a produtividade do feijoeiro, a redução em relação a sua testemunha mostra que houve queda de produção e valores iguais ou superiores mostram que as linhagens não sofrem influência com o ataque do nematode. Martins et al. (2009), em seus estudos, relataram que o maior peso de 100 grãos, para as linhagens de feijão comum 'VC-8' e 'MA-I-2.5', não foi suficiente para elevar sua produtividade, comprometida pelo baixo número de vagens por planta e de grãos por vagem.

Quanto à altura das plantas, observou-se, em relação ao *M. javanica*, que as linhagens 'HAV 28' e a 'HAV 50' apresentaram médias inferiores às das suas testemunhas. Para o *M. paranaensis*, a linhagem 'HAV 11' teve uma média superior e as demais não diferiram significativamente das testemunhas. As plantas que apresentaram redução na altura em comparação às suas testemunhas, provavelmente sofreram influência com o parasitismo e as demais não apresentaram

interferência em seu crescimento na presença dos nematoides. O tamanho desigual de plantas, a murcha nas horas mais quentes do dia, as folhas e os frutos de menor tamanho, o nanismo e, consequentemente, a redução de produção são sintomas típicos do ataque de nematoides (FERRAZ; MONTEIRO, 1995), importante na seleção de linhagens resistentes.

## Conclusão

Os resultados indicaram que para *M. javanica* e *M. paranaensis* todas as linhagens se comportaram como resistentes, com redução na população inicial do nematode, apresentando FR < 1. Essas características de resistência encontradas são desejáveis em variedades e cultivares comerciais.

## Referências

- AGUDELO, F. V. Nematodes. In: SCHWARTZ, H. F.; GALVEZ, G. E. (Ed.). **Bean production problems: disease insect, soil and climatic constraints of Phaseolus vulgaris**. Cali: CIAT, 1980. p. 315-326.
- AIDAR, H. **Cultivo do feijoeiro comum**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003.
- ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A. Doenças da soja. In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN, A.; ARANHA, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 596-617.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, n. 3, p. 533, 1981.
- CARNEIRO, R. G.; FERRAZ, S.; REGAZZI, A. J. Estudo de mecanismo de resistência a *Meloidogyne incognita* raça 3 em variedades de feijoeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 16, n. (1/2), p. 41-52, 1992.
- CHARCHAR, J. M.; HORINO, Y.; MOITA, A. W. Reação de cultivares de feijão-de-vagem em áreas

- infestadas por *Meloidogyne javanica*. **Horticultura Brasileira**, v. 13, n. 1, p. 77, 1995.
- FERRAZ, C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 168-201.
- MARTINS, M.; FONSECA, L.; MELO, L.; OLIVEIRA, D.; ALVIM, K.; SANTANA, D. Avaliação de genótipos de feijoeiro comum do grupo comercial carioca cultivados nas épocas das águas e do inverno em Uberlândia, Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, n. 1, p. 23-28, 2009.
- OOSTENBRINK, R. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mededeelingen der Landbouw-Hoogeschool**, v. 66, n. 3, p. 1-46, 1966.
- PEDROSA, E. M. R.; MOURA, R. M.; SILVA, E. G. Respostas de genótipos de *Phaseolus vulgaris* à meloidoginose e alguns mecanismos envolvidos na reação. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 190-196, 2000.
- SIMÃO, G.; HOMECHIN, M.; SANTIAGO, D. C.; SILVA, R. T. V.; RIBEIRO, E. R. Comportamento de duas cultivares de feijoeiro em relação a *Meloidogyne javanica*. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 266-270, 2005.
- TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes Meloidogyne species**: cooperative publication of North Carolina State University Department of Plant Pathology and the United States Agency for International Development. Raleigh: North Carolina State Graphics, 1978.
- VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: UFV, 1993.

Received on January 16, 2009.

Accepted on May 16, 2009.

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.