

Fenotipagem de sorgo sacarino para tolerância ao estresse hídrico por meio de características morfológicas

Phenotyping of sweet sorghum for tolerance to hydric stress through morphological characteristics

Luciano Rezende Moreira*
 Rafael Silva Ramos dos Anjos**
 Jardécio Damião Carvalho Ervilha***
 Juliana Gonçalves Vidigal****
 Paulo Henrique Coutinho*****
 Glauco Vieira Miranda*****

Objetivou-se, com este trabalho, identificar as cultivares de sorgo sacarino que apresentam maior tolerância à seca e discriminar fenotipicamente as características morfológicas radiculares desses genótipos para ambientes com déficit hídrico. As cultivares (Rio, Ramada, BRS 501 e BRS 506) foram submetidas a dois tratamentos (Ambientes). O primeiro foi composto por um ambiente denominado água irrestrita (AI) -37,5 kPa e o segundo ambiente com restrição hídrica denominado água restrita (AR), com uma pressão matricial dez vezes menor que a do tratamento AI, ou seja, -375 kPa. A diferença entre o peso ideal do tratamento e o peso observado no vaso, antes de ser irrigado, comparado a um vaso idêntico aos respectivos tratamentos sem a planta, forneceu a evapotranspiração da cultivar nesse período. As raízes foram analisadas pelo sistema WinRhizo, de modo a se obter as seguintes características estudadas: comprimento, volume, área superficial, área projetada e diâmetro de raiz. A análise de variância para todas as características avaliadas mostrou não haver interação ($P > 0,05$) entre genótipo e

This study was conducted to identify the sweet sorghum cultivars presenting higher tolerance to drought as well as to phenotypically discriminate the root morphological characteristics of those genotypes for environments with water deficit. The cultivars (Rio, Ramada, BRS 501 and BRS 506) were subjected to two treatments (Environments). The first one was an environment named unrestricted water (AI) -37.5 kPa, and the second one, with hydric restriction, named restricted water (AR) with a matrix pressure lower than the with CPA treatment, that is, -375 kPa. The difference between the ideal weight of the treatment and the weight observed in the vase, before being irrigated, when compared with an identical vase used in the treatments without the plant, provided an evapotranspiration of the cultivar during the period. The roots were analyzed by the WinRhizo system, in order to obtain the following characteristics under study: length, volume, superficial area, projected area and root diameter. For all characteristics under evaluation, the variance analysis showed no interaction ($P > 0.05$) between genotype and environment. Separately, no variations were observed ($P > 0.05$) in the genotypes and

* Doutor em Fitotecnia (UFV). Professor do Instituto Federal Fluminense - Campus Bom Jesus do Itabapoana. Brasil. E-mail: lmoreira@ifff.edu.br

** Graduando em agronomia (UFV). Brasil. E-mail: rsr.anjos@gmail.com

*** Engenheiro Agrônomo. Brasil. E-mail: jardelcioervilha@gmail.com

**** Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Professora do Instituto Federal Fluminense - Campus Bom Jesus do Itabapoana. Brasil. E-mail: jvidigal@ifff.edu.br

***** Mestre em Fitotecnia (UFV). Brasil. E-mail: coutinhoph@gmail.com

***** Doutor em Genética e Melhoramento pela Universidade Federal de Viçosa. Professor da Universidade Federal de Viçosa. Brasil. E-mail: glaucovmiranda@gmail.com

ambiente. Isoladamente, também não foi observada variação ($P > 0,05$) nos genótipos e nos ambientes avaliados para as características em questão, com exceção do diâmetro de raiz. Neste sentido, observou-se que o diâmetro das raízes foi maior ($P < 0,05$) quando as plantas foram submetidas a condições de maior estresse de seca (AR). Conclui-se que as cultivares não apresentaram características significativamente distintas nos ambientes contrastantes o que pode ser em razão de serem muito tolerantes ao estresse imposto, pelo estágio fenológico avaliado ter sido muito inicial ou pelo estresse ter tido pouca intensidade para gerar atividades distintas nas cultivares.

Palavras-chave: Sorgo sacarino. Análise de raízes. Déficit hídrico.

environments evaluated for the characteristics under study, except the root diameter. Thus, it was observed that the diameter of the roots were higher ($P < 0.05$) when the plants were submitted to higher drought stress conditions (AIR). Findings indicate that the cultivars did not present significantly different characteristics in the contrasting environments, which probably occurred because they are very tolerant to the imposed stress, the phenological stage under evaluation study was too initial, or the stress had low intensity to generate different activities in the cultivars..

Keywords: Sweet sorghum. Root analysis. Water deficit.

Introdução

O sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] é cultivado na maior parte das regiões tropicais e subtropicais do mundo, constituindo-se na maior fonte de alimentos e de rações da África, Oriente Médio, especialmente Nigéria, Etiópia e Índia, sendo o quinto cereal mais produzido no mundo e um dos mais tolerantes a ambientes com déficit hídrico (BLUM, 2004).

Um ponto que pode ser fortemente explorado pela cultura do sorgo é que ela se assemelha à cana-de-açúcar para a produção de etanol, uma vez que o armazenamento de açúcares se localiza nos colmos, além de fornecer quantidade de bagaço suficiente para a geração de vapor para a operação industrial.

O sorgo também apresenta um ciclo mais curto que o da cana e é mais tolerante ao estresse hídrico, potencializando sua produção de bioetanol em áreas com pouca disponibilidade hídrica no período de entressafra da cana, uma vez que nesse período grande parte das destilarias fica operacionalmente ociosa ou em estado de reparo do maquinário para a próxima safra. Por isso, o sorgo apresenta-se como opção para manter as atividades operacionais das destilarias durante esse período.

Esse cereal apresenta grande eficiência no uso da água (KIDAMBI; KRIEG; ROSENOW, 1990) (PENG; KRIEG, 1992) e possui características fisiológicas que permitem paralisar o crescimento ou diminuir as atividades metabólicas durante o estresse hídrico, acumulando reservas metabólicas e reiniciando o crescimento ao término do estresse (MASOJIDEK et al, 1991). Essas reservas, que são pouco utilizadas durante a seca, ficam disponíveis para estimular o crescimento quando a água se torna novamente disponível (DONATELLI; HAMMER; VANDERLIP, 1992).

Também o entendimento sobre a morfologia do sistema radicular no solo e a compreensão de suas interações genéticas é fundamental para a escolha dos melhores genótipos adaptados às condições de estresse do solo (CANTÃO, 2007). De acordo com Fitter (1991), raízes que apresentam maiores comprimentos específicos tendem a explorar maior volume de solo por unidade de investimento metabólico em seus tecidos, sendo assim, mais eficientes na aquisição de água e nutrientes por unidade de carbono consumido.

Tuinstra et al. (1997) expuseram que durante o processo natural de evolução, as plantas de sorgo desenvolveram mecanismos de adaptação para diversas condições ambientais, resultando em extensa variação genética para tolerância a diversos estresses. Portanto, a escolha da cultivar mais adequada é um aspecto fundamental para o estabelecimento de um sistema de produção mais eficiente.

A eficiência na escolha de cultivar pode ser implantada pela observação de um conjunto de informações para a cultura dentro de cada região, dentre elas a caracterização do sistema radicular vigoroso (COELHO et al., 2002).

Este trabalho teve por objetivos identificar as cultivares de sorgo sacarino que apresentam precocemente maior tolerância à seca e discriminar fenotipicamente as características morfológicas do sistema radicular desses genótipos para ambientes com déficit hídrico.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Programa Milho[®] da Universidade Federal de Viçosa (UFV), durante os meses de julho a agosto de 2009. O experimento foi instalado segundo o delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Foram utilizadas quatro cultivares de sorgo sacarino, disponibilizadas pela Embrapa – Milho e Sorgo[®]: Rio, Ramada, BRS 501 e BRS 506.

As cultivares foram semeadas em vasos de oito litros, usando-se cinco sementes por vasos preenchidos com solo de superfície, sendo deixada apenas uma planta por vaso, desbastando-se as demais no quinto dia após a emergência. A análise química e física do solo foi feita pelo Laboratório de Análises de Solos da UFV, sendo classificado texturalmente como argiloso, contendo 59% de argila, 2% de silte e 39% de areia, densidade de 1,1 kg/dm³ e pH de 4,64. A calagem foi realizada segundo o método de neutralização do Al³⁺ e da elevação dos teores de Ca²⁺ e Mg²⁺, para a correção da acidez até a faixa de pH 5,5, sendo utilizado 9,8 g de calcário dolomítico PRNT=80% para cada vaso.

A adubação foi adequada às recomendações referentes à cultura do sorgo. Foi realizada adubação no plantio e outra de cobertura aos 20 dias após a emergência, totalizando as seguintes quantidades de nutrientes fornecidos a cada vaso: 0,600 g de N, 0,360 g de P₂O₅ e 0,481 g de K₂O.

As cultivares foram submetidas a dois tratamentos. O primeiro, composto por um ambiente denominado água irrestrita (AI), com pressão matricial de -37,5 kPa; e o segundo ambiente, com restrição hídrica, denominado água restrita (AR), com pressão matricial dez vezes menor que a do tratamento AI, ou seja, -375 kPa. As análises foram feitas de acordo com a curva de retenção de água no solo, determinada pelo Laboratório de Análises do Solo da UFV.

As cultivares foram mantidas sob o tratamento AI até 14 dias após a semeadura, com o intuito de haver água em quantidade suficiente a fim de se promover condições ideais de germinação e início de desenvolvimento vegetativo. Após esse período as cultivares foram submetidas aos seus referidos tratamentos, com sua manutenção a cada quatro dias pela irrigação artificial.

A diferença entre o peso ideal do tratamento e o peso observado no vaso antes de ser irrigado, comparado com um vaso idêntico aos respectivos tratamentos sem a planta, forneceu a evapotranspiração da cultivar nesse período. A soma da diferença desses valores de evapotranspiração até o término do experimento gerou a evapotranspiração acumulada da cultivar (ETAC).

As plantas foram retiradas dos vasos 30 dias após a germinação, com a secagem da parte aérea e da raiz em estufa com fluxo de ar quente a 70°C por quatro dias. A relação do peso seco desse material pela ETAC forneceu a Eficiência de Evapotranspiração (EET), em grama de matéria seca por dm³ de água evapotranspirada durante o experimento.

As plantas foram separadas em sistema radicular e parte aérea, na altura do coleto. As raízes lavadas foram armazenadas em frascos contendo solução de etanol 70%, para evitar sua desidratação.

As amostras de raízes foram submergidas em bacias contendo água destilada, por 30 minutos. Esse procedimento, descrito por Magalhães et al. (2008), teve por objetivo facilitar o processo de lavagem das raízes, que foi realizado utilizando-se um jato de água, até que os sistemas radiculares das plântulas ficassem livres de partículas e impurezas do solo, sobretudo gravetos e raízes estranhas. Para evitar perda de material durante esse procedimento foram utilizadas duas peneiras distintas: a de tipo R (reforçada, utilizada em garimpos para separar torrões e raízes de maiores diâmetros) e a de tipo 1 (tradicional, usada na construção civil para obtenção de areia fina).

As raízes foram dispostas em uma cuba de acrílico de 20 centímetros de largura por 30 centímetros de comprimento contendo água. A utilização desse acessório permitiu a obtenção de imagens em três dimensões, minimizando também a sobreposição das raízes. As leituras foram analisadas pelo sistema WinRhizo (Epson®), acoplado a um scanner profissional Epson XL 10000, equipado com unidade de luz adicional (TPU). Foi utilizada uma definição de 400 (dpi) para as medidas de morfologia de raiz, como descritos por Bauhus e Christian (1999), Bouma, Nielson, Koutstaal (2000) e Costa et al. (2002), gerando os dados referentes às seguintes características morfológicas radiculares: diâmetro, comprimento, volume, área superficial e área projetada da raiz.

As análises estatísticas foram executadas utilizando-se o programa SAS (Statistical Analysis System - SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), versão 9.1. 2003.

Resultados e discussão

Na análise de variância para a característica eficiência de evapotranspiração (EET), comprimento, volume e diâmetro de raiz ($P > 0,05$) entre genótipo (G) e ambiente (A) (Tabela 1), isoladamente, não foi observada variação ($P > 0,05$) para EET, comprimento e volume de raiz entre os genótipos e entre os ambientes avaliados.

Tabela 1 – Análise de variância para as características comprimento, volume e diâmetro de raiz

F.V.	G.L.	Q.M.			
		EET	Comprimento (cm)	Volume (dm ³)	Diâmetro (cm)
Cultivar (G)	3	0,00321697 ^{ns}	18,3990 ^{ns}	0,5983 ^{ns}	0,0013 ^{ns}
Ambiente (A)	1	0,00197091 ^{ns}	1,8906 ^{ns}	0,9900 ^{ns}	0,01395 [*]
(G) X (A)	3	0,000264601 ^{ns}	6,5889 ^{ns}	0,3836 ^{ns}	0,0008 ^{ns}
RESÍDUO	8	0,00422679	36,0967	0,8354	0,0011
Média		0,10108840	13,5754	0,4790	0,0427
CV(%)		64,31378	44,26	190,81	77,67

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F

^{*} significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F

Fonte: Dos autores, 2014.

Segundo os resultados obtidos por Balota et al. (2008), para essa mesma característica, houve diferenças significativas entre o acúmulo de matéria seca em relação à quantidade de água transpirada no ambiente com estresse hídrico e sem estresse hídrico.

A aparente contradição apresentada pode ser decorrente desse experimento ter sido conduzido apenas até o estágio de quarta folha completamente expandida, ao contrário do experimento citado, que foi conduzido até a fase de florescimento.

Ademais, os tratamentos no experimento de Balota et al. (2008) foram submetidos a uma pressão matricial de -100 kPa para o ambiente equivalente ao AI e -1000 kPa para o ambiente equivalente ao AR, amplitude superior ao estabelecido nesse experimento (AI -37,5 kPa e AR -375 kPa).

A utilização da técnica de análise de imagens digitais, embora demonstre ser uma ferramenta promissora para estudos de raízes em sorgo, deve ser conduzido atento aos níveis adequados de irrigação, respeitar as fases críticas do desenvolvimento fenológico da espécie, além de se conhecer as características de cada genótipo testado (MAGALHÃES et al., 2009). Portanto, com os cuidados devidos, além de servir como um instrumento de alta precisão, rápido e confiável na avaliação da morfologia das raízes de sorgo, o sistema utilizado permite ainda diferenciar, quantificar e caracterizar

raízes de sorgo na fase precoce de desenvolvimento.

Nascimento (2008), ao avaliar o sorgo forrageiro sob diferentes disponibilidades de água em solos do nordeste brasileiro, observou uma influência negativa no crescimento das plantas de acordo com a diminuição de água disponível no solo, afetando de forma significativa no desenvolvimento radicular, interferindo nas características de volume e diâmetro das raízes. Entretanto, a metodologia usada por esse autor foi de imposição de maiores restrições hídricas, em quatro níveis de água no solo, em situações de 100%, 80%, 60% e 40% de capacidade de campo.

Parâmetros de raízes tais como volume e comprimento são difíceis de serem determinados, sendo necessárias amostragens do sistema radicular por métodos rápidos e confiáveis (AMATO; PARDO, 1994).

A relação de eficiência das raízes com altos índices de comprimento específico pode variar entre as espécies, provavelmente devido ao fato de as raízes muito finas apresentarem reduzida longevidade, podendo dificultar o metabolismo radicular. Assim, separar comprimentos específicos nos componentes finura de raiz (comprimento/volume) e densidade de tecido de raiz (massa raiz/volume) pode trazer informações sobre a relação entre características de raiz e estratégias de desenvolvimento das plantas (RYSER; LAMBERS, 1995). Pela Tabela 2, observa-se que o diâmetro das raízes foi maior ($P < 0,05$) quando as plantas foram submetidas a condições de maior estresse de seca (AR).

Tabela 2 – Médias da característica diâmetro de raiz, nas duas condições de disponibilidade de água (AR e AI) avaliadas

Ambiente	Diâmetro de Raiz (mm)
Água Restrita (AR)	0,50850 ^a
Água Irrestrita (AI)	0,44945 ^b

* Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

Fonte: Dos autores, 2014.

Por ser o diâmetro das raízes uma característica morfológica de extrema importância na planta, influenciando diretamente a interação da planta com o solo para a aquisição de nutrientes minerais e por haver pouca literatura a respeito para a cultura do sorgo, são necessários mais estudos sobre sua dinâmica no solo.

De acordo com Magalhães et al. (2009), a apresentação de raízes mais finas (diâmetro menor) e compridas nem sempre confere maior eficiência na absorção de água e nutrientes pela planta de milho, pois as mesmas podem apresentar tal aspecto por estarem mais suberizadas e menos impermeáveis. Segundo Hopikins (1995), as modificações morfológicas e anatômicas durante a maturidade de tecidos, seja por suberização, cutinização ou formação de tecidos secundários, determinarão o padrão de absorção pelas partes radiculares.

Além do mais, com maior quantidade de água disponível no solo, é de se esperar um maior desenvolvimento de raízes finas, contribuindo para a diminuição da média do diâmetro das mesmas.

Assim, como observado para EET, comprimento, volume e diâmetro de raiz, para a característica morfológica área superficial e área projetada de raiz, também não houve interação ($P > 0,05$) entre genótipo e ambiente. Também não foi observada variação ($P > 0,05$) para essa característica entre os genótipos e entre ambientes (Tabela 3).

Tabela 3 – Análise de variância para as características área de raiz

F.V.	G.L.	Q.M.	
		Área Projetada (cm ²)	Área Superficial (cm ²)
Cultivar (G)	3	38127,8119 ^{ns}	376305,331 ^{ns}
Ambiente (A)	1	9377,0172 ^{ns}	92543,724 ^{ns}
(G) X (A)	3	18301,0973 ^{ns}	180615,59 ^{ns}
RESÍDUO	8	67815,8597	669319,058
Média		645,3425313	2027,403313
CV(%)		40,35	40,35

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F

Fonte: Dos autores, 2014.

Em relação às características do sistema radicular, pode-se afirmar que quanto maior o volume do solo explorado pelo sistema radicular, maior é a absorção dos nutrientes pela planta (TEO et al., 1995). A não diferenciação entre os dois ambientes em relação à área superficial de solo explorada pelo sistema radicular pode ser em razão do experimento ter sido conduzido até o estádio de quarta folha completamente expandida, não permitindo desenvolvimento mais robusto do sistema radicular da planta.

Conclusões

As cultivares não apresentaram características significativamente distintas nos ambientes contrastantes ou por serem muito tolerantes ao estresse imposto ou pelo estresse ter tido pouca intensidade para gerar atividades distintas nas cultivares, ou até mesmo pelo fato de o estádio fenológico avaliado ter sido muito inicial. Exceção ao diâmetro de raiz, que, em condição de restrição hídrica, demonstrou índices maiores.

É aconselhável que as quatro cultivares aqui analisadas possam ser reavaliadas em ambientes com estresse hídrico mais intenso, além de serem analisadas até estádios mais avançados de desenvolvimento da cultura, preferencialmente com solos ou substratos de textura mais arenosa.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pelo apoio financeiro ao projeto.

Referências

AMATO, M.; PARDO, A. Root length and biomass losses during sample preparation with different screen mesh sizes. *Plant and Soil*, v. 161, p. 299–303, 1994.

BALOTA, M.; WILLIAM, A.; PAYNE, W. R.; ROSENOW, D. Gas exchange and transpiration ratio in sorghum. *Crop Science*, v. 48, p. 2361-2371, 2008.

BAUHUS, J.; MESSIER, C. Evaluation of fine root length and diameter measurements obtained using WinRhizo Image Analysis. *Agronomy Journal*, Madison, v. 91, n. 1, p. 142-147, Jan./Feb. 1999.

BLUM, A. Sorghum physiology. In: NGUYEN H. T.; A. BLUM, A. (Ed.) *Physiology and biotechnology integration for plant breeding*. New York: Marcel Dekker, 2004. p. 141–223.

BOUMA, T. J.; NIELSON, K. L.; KOUTSTAAL, B. A. S. Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 218, p. 185-196, 2000.

CANTÃO, F. R. O. *Marcadores morfológicos de raiz em genótipos de milho contrastantes para tolerância à seca em resposta a estresses de fósforo e alumínio*. 2007. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2007.

COELHO, A. M. et al. Seja doutor de seu sorgo. *Potafós: Informações Agronômicas*, n. 100, p. 24, 2002.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. *Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5.ª Aproximação*. Viçosa: [S.n.], 1999. 359 p.

COSTA, C. et al. Root morphology of contrasting maize genotypes. *Agronomy Journal*, Madison, v. 94, n. 1, p. 96-101, Jan./Feb. 2002.

DONATELLI, M.; HAMMER, G. L.; VANDERLIP, R. L. Genotype and water limitation effects on phenology, growth and transpiration efficiency in grain sorghum. *Crop Science*, Madison, v. 32, n. 3, p. 781-786, 1992.

EPSON Flatbed Scanner EPSON Perfection V700/V750 1.8 V3.24. [S.l.]: EPSON, [20--].

FITTER, A. H. The ecological significance of root system architecture: an economic approach. In: *Plant Root Growth: an Ecological Perspective*. London: Blackwell Scientific Publishers, 1991. p. 229–243.

- HOPKINS, W. G. *Introduction to plant physiology*. New York: John Wiley, 1995. 464 p.
- KIDAMBI, S. P.; KRIEG, D. R.; ROSENOW, D. T. Genetic variation for gas exchange rates in grain sorghum. *Plant Physiology*, v. 92, n. 4, p. 1211-1214, 1990.
- MAGALHÃES, P. C. et al. Caracterização precoce de raízes através de WinRhizo em ciclos de seleção de milho Saracura BRS-4154. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. AGROENERGIA, PRODUÇÃO DE ALIMENTOS E MUDANÇAS CLIMÁTICAS: DESAFIOS PARA MILHO E SORGO, 2008, Londrina. *Trabalhos e palestras*. Londrina: Embrapa Milho e Sorgo, 2008.
- MAGALHÃES, P. C. et al. Avaliação das modificações morfológicas radiculares durante os ciclos de seleção do milho Saracura tolerante a hipoxia. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, Sete Lagoas, Embrapa, n. 15, 2009. 23 p.
- MASOJIDEK, J. et al. The synergetic effect of drought and light stress in sorghum and pearl millet. *Plant Physiology*, Bethesda, v. 96, p. 198-207, 1991.
- NASCIMENTO, R. Crescimento de plantas de sorgo sob diferentes disponibilidades de água no solo. *Revista Educação Agrícola Superior*, v. 23, n. 1, p.53-54, 2008.
- PENG, S.; KRIEG, D. R. Gas exchange traits and their relationship to water use efficiency of grain sorghum. *Crop Science*, v. 32, n. 2, p. 386-391, 1992.
- RYSER, P.; LAMBERS, H. Root and leaf attributes accounting for the performance of fast- and slow-growing grasses at different nutrient supply. *Plant and Soil*, v. 170, n. 2, p. 251-265, 1995.
- SAS INSTITUTE (2003) SAS/STAT software versão 9.1. Cary, NC: SAS, 2003.
- TEO, Y. H.; BEYROUTY, C. A.; NORMAN, R. J.; GBUR, E. E. Nutrition uptake relationship to root characteristics of rice. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 171, p. 297-302, 1995.
- TUINSTRAN, M. R. et al. Genetic analysis of post flowering drought tolerance and components of grain development in Sorghum bicolor (L.) Moench. *Molecular Breeding*, v. 3, p. 439-448, 1997.

Artigo recebido em: 24 set. 2013

Aceito para publicação em: 10 out. 2014