

# Qualidade fisiológica de sementes de guanxuma em influência do envelhecimento acelerado e da luz

Denise Bruginski de Carvalho e Ruy Inacio Neiva de Carvalho\*

Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, BR 376, km 14, 83010-500, São José dos Pinhais, Paraná, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: ruy.carvalho@pucpr.br

**RESUMO.** O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito do envelhecimento acelerado e da presença da luz na qualidade fisiológica de sementes de guanxuma (*Sida rhombifolia* L.). Foram estudados quatro tempos de envelhecimento acelerado (0, 24, 48 e 72h) e a presença ou ausência de luz no teste de germinação. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados num esquema fatorial 4 x 2, com três repetições. Adotou-se o método de germinação sobre papel em caixa de plástico (Gerbox) à temperatura de 25°C. Analisaram-se as variáveis porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio para germinação (TMG), velocidade média de germinação (VMG) e entropia. As avaliações foram realizadas durante 63 dias após a instalação do teste. A ausência de luz favoreceu a germinação e o IVG das sementes de guanxuma. O TMG e a entropia diminuíram e a VMG aumentou com o aumento do tempo de envelhecimento acelerado e não foram influenciados pela luz. Na presença de luz, a germinação e o IVG foram reduzidos com tempos de envelhecimento acelerado mais longos. Conclui-se que o envelhecimento acelerado de sementes de guanxuma por até 72h proporcionou aumento na qualidade fisiológica das sementes submetidas à germinação no escuro.

**Palavras-chave:** *Sida rhombifolia*, germinação, fisiologia vegetal, vigor.

**ABSTRACT. Influence of accelerated aging and light on the physiological quality of arrowleaf sida seeds.** The objective of this study was to determine the effect of accelerated aging and presence of light on the physiological quality of arrowleaf sida (*Sida rhombifolia* L.) seeds. Four accelerated aging times (0, 24, 48 and 72 hours), as well as the presence or absence of light during germination test, were evaluated by using a randomized block design, with a 4 x 2 factorial scheme and three replications. Seeds were germinated in germination boxes (Gerbox) lined with paper, at 25°C. The variables analyzed were: germination percentage, germination speed index (GSI), average germination time (AGT), average germination speed (AGS) and entropy. Evaluations were made 63 days after installation of the test. Absence of light favored germination and GSI. Both AGT and entropy diminished as accelerated aging time increased, but were not influenced by light. Germination and AGT diminished under longer accelerated aging periods in the presence of light. It was possible to conclude that accelerated aging of arrowleaf sida seeds up to 72 hours increased the physiological quality of seeds germinated in darkness.

**Key words:** *Sida rhombifolia*, germination, plant physiology, vigor.

## Introdução

A guanxuma (*Sida rhombifolia* L.) é uma importante espécie invasora de diversas áreas de exploração agropecuária. A planta tem capacidade de produzir elevado número de sementes, mesmo em baixas densidades, interferindo decisivamente no desenvolvimento das culturas e provocando perdas de rendimento nas lavouras (FLECK et al., 2003; RIZZARDI et al., 2003).

A elevada produção de sementes pela planta deixa, no solo, um banco de sementes, cuja germinação ocorre de forma escalonada,

necessitando de controle constante realizado por meio de moléculas sintéticas (RIZZARDI; FLECK, 2004; CONSTANTIN et al., 2007) ou por meio de técnicas alternativas, como a utilização de resíduos gerados por destilarias, como o óleo de fúsel e a vinhaça (AZANIA et al., 2004). Porém, para que métodos alternativos de controle possam ser utilizados e seus mecanismos de ação sejam esclarecidos, a fisiologia da semente deve ser bem conhecida, de forma que as técnicas de manejo de culturas possam ser adotadas com segurança.

Além de a guanxuma ser considerada importante planta daninha na agricultura, é amplamente

empregada na medicina caseira, embora a eficácia e a segurança do seu uso não tenham sido comprovadas cientificamente (LORENZI; MATOS, 2002). Com o desenvolvimento de pesquisas na área de plantas com bioatividade potencial, será necessário também o estudo da produção da espécie de interesse. Especificamente para a guanxuma, a propagação natural se dá apenas por sementes.

A qualidade da semente é definida como o somatório de todos os atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade. A qualidade fisiológica da semente é a sua capacidade de desempenhar funções vitais, caracterizadas pela germinação, vigor e longevidade (POPINIGIS, 1985).

O teste de envelhecimento acelerado é um método indireto de avaliação de vigor que simula condições de estresse nas sementes, gerando alta taxa de respiração e consumo das reservas e acelerando os processos metabólicos que levam à deterioração. O princípio do teste é submeter as sementes a altas temperaturas (40 a 45°C), em condições de umidade relativa de 90 a 100%, por períodos variáveis de 24 a 72h e, em seguida, submetê-las ao teste-padrão de germinação (PIÑA-RODRIGUES et al., 2004).

O teste de envelhecimento acelerado tornou-se um dos testes mais utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes. Pela sua facilidade de aplicação, vem sendo utilizado para análise de sementes de várias espécies, como de melancia (BHERING et al., 2003), milho e soja (DUTRA; VIEIRA, 2004), tomate (MARTINS et al., 2006), beterraba (SILVA; VIEIRA, 2006), trigo (MAIA et al., 2007), feijão (BINOTTI et al., 2008) e guandu (BERTOLIN et al., 2008). O teste também é utilizado para avaliação do potencial fisiológico de sementes após determinado tempo de armazenamento (PANOBIANCO et al., 2007).

A luz é um fator ambiental decisivo na germinação de algumas sementes. Sementes que dependem da luz para germinar são fotoblásticas positivas, como algumas variedades de alface (*Lactuca sativa*). Essas respostas à ação da luz também podem ser influenciadas por outras condições ambientais. As unidades de dispersão de *Sida rhombifolia* foram consideradas fotoblásticas neutras (ROSA; FERREIRA, 2001).

A determinação da resposta das sementes de guanxuma à ação da luz em função da longevidade das sementes, simulada pelo teste de envelhecimento acelerado, é fator importante para determinação do manejo das culturas em que ela é planta invasora. Da mesma forma, a crescente importância da guanxuma como planta bioativa (LORENZI; MATOS, 2002)

implica a necessidade de obtenção de dados fisiológicos essenciais para manejo comercial de suas sementes e produção controlada da planta.

O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito do envelhecimento acelerado e da luz na qualidade fisiológica de sementes de guanxuma.

## Material e métodos

Plantas de guanxuma de crescimento espontâneo em fase reprodutiva foram coletadas em abril no município de Candói, Estado do Paraná (latitude 25° S, longitude, 52° O, altitude de 880 m), em área cultivada com sorgo granífero em sistema de integração lavoura-pecuária, e levadas ao Laboratório de Pesquisa em Produção Vegetal da PUCPR, em São José dos Pinhais, Estado do Paraná. As unidades de dispersão, sementes aderidas ao pericarpo, aqui chamadas simplesmente de sementes, foram retiradas manualmente da planta e selecionadas, eliminando-se as imaturas, chochas e de tamanho reduzido.

As sementes foram mantidas em câmara de envelhecimento acelerado por diferentes tempos (0, 24, 48 e 72h), à temperatura de 45°C e umidade relativa de 100%. Após cada tempo específico, as sementes foram submetidas ao teste de germinação realizado em câmara de germinação (BRASIL, 1992), modelo Mangersdorffii, à temperatura de 25°C. Adotou-se o método de germinação sobre papel em caixa de plástico (Gerbox) com 100 sementes por caixa. A assepsia das sementes foi realizada com hipoclorito de sódio a 1% por 3 min., e das caixas e pinças foi realizada com álcool a 70%.

No teste de germinação, estudou-se também o efeito da luz na germinabilidade das sementes; as caixas de plástico foram mantidas sem recobrimento (germinação na luz) ou envolvidas com papel laminado de forma a escurecer completamente o interior da caixa (germinação no escuro).

As avaliações foram feitas a cada dois dias, a partir do primeiro dia, durante 63 dias. Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram protrusão da raiz. As variáveis calculadas foram as seguintes:

- Germinação (G): calculada pela fórmula  $G = (N/100) \times 100$ , em que: N = número de sementes germinadas ao final do teste. Unidade: %.

- Índice de velocidade de germinação (IVG): calculado pela fórmula  $IVG = \sum (n_i/t_i)$ , em que:  $n_i$  = número de sementes que germinaram no tempo 'i';  $t_i$  = tempo após instalação do teste;  $i = 1 \rightarrow 63$  dias. Unidade: adimensional.

- Tempo médio de germinação (TMG): calculado pela fórmula  $TMG = (\sum n_i t_i) / \sum n_i$ , em que:

$n_i$  = número de sementes germinadas por dia;  $t_i$  = tempo de incubação;  $i = 1 \rightarrow 63$  dias. Unidade: dias.

- Velocidade média de germinação (VMG): calculada pela fórmula  $VMG = 1/t$  em que:  $t$  = tempo médio de germinação. Unidade: dias<sup>-1</sup>.

- Entropia: calculada de acordo com procedimento adotado por Nassif e Perez (2000). Unidade: Bits.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados num esquema fatorial 4 x 2, sendo um fator o tempo de envelhecimento acelerado (0, 24, 48 e 72h) e o outro fator a luz (presença ou ausência), com três repetições. Cada parcela experimental foi constituída de 100 sementes, totalizando 2.400 sementes analisadas. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias dos tratamentos com diferença significativa pelo teste F foram comparadas pelo teste de Tukey para o fator luz ou pela análise de regressão para o fator tempo de envelhecimento acelerado. A análise de correlação foi realizada entre a variável entropia e as demais variáveis, de acordo com a significância da diferença entre os tratamentos.

## Resultados e discussão

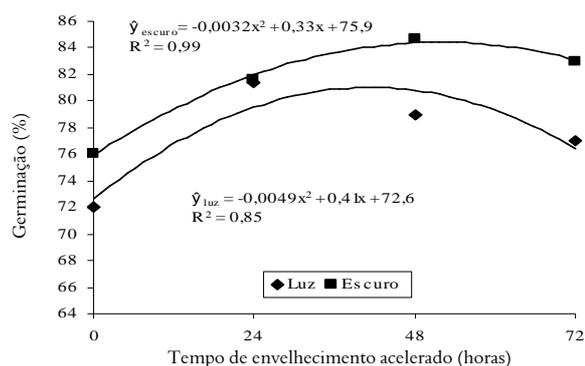
Houve germinação das sementes em todos os tratamentos estudados e houve interação significativa entre os fatores tempo de envelhecimento acelerado e presença de luz. A germinação final mínima encontrada foi de 72% na luz e 76% no escuro, quando as sementes não receberam o estresse das condições ambientais para envelhecimento acelerado (Tabela 1). Por interpolação na curva de regressão, com o aumento do tempo de envelhecimento acelerado, as sementes germinadas no escuro atingiriam germinação máxima de 84,4% após 51,6h de tratamento. Já as germinadas, na luz, atingiriam a germinação máxima de 81,2% após 41,8h de envelhecimento acelerado e, após tempos mais longos de exposição ao estresse do teste, apresentariam perdas na sua qualidade fisiológica (Figura 1).

**Tabela 1.** Germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Sida rhombifolia* submetidas a diferentes períodos de exposição no teste de envelhecimento acelerado.

Envelhecimento acelerado (horas)	Luz		Escuro	
	Germinação (%)*			
0	72,0	A	76,0	A
24	81,3	A	81,7	A
48	79,0	A	84,7	A
72	77,0	A	83,0	A
	IVG *			
0	3,98	A	5,16	A
24	5,60	A	6,57	A
48	7,39	A	7,33	A
72	5,99	B	9,47	A

$CV_{germinação} = 4,61\%$   $CV_{IVG} = 11,30\%$

\*Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si em nível de significância de 5%.



**Figura 1.** Germinação de sementes de *Sida rhombifolia* germinadas na luz ou no escuro, após diferentes tempos de envelhecimento acelerado.

Por extrapolação de dados na curva, o tratamento com 96h de envelhecimento acelerado provocaria redução da germinação na luz a níveis inferiores aos iniciais (66,8%), enquanto no escuro provocaria redução a níveis ainda superiores aos iniciais (78,1%).

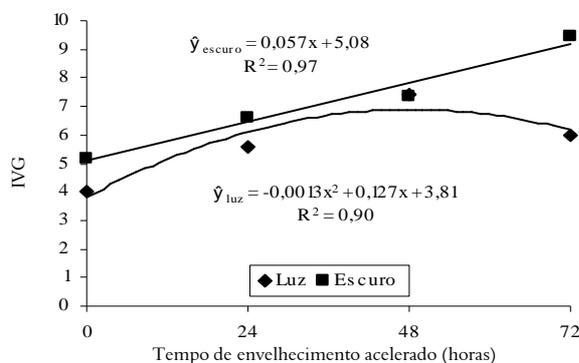
Rosa e Ferreira (2001), testando a influência da luz e de diferentes temperaturas na germinação de sementes de guanxuma, relataram germinação média de apenas 22% na luz e 20,8% no escuro, sem diferir estatisticamente, indicando fotoblastismo neutro. A germinação obtida a 25°C foi de apenas 2% no escuro e 1% na luz e foi elevada a até 60% com o aumento da temperatura para 35°C; mesmo assim, ficou abaixo da menor germinação encontrada neste estudo (Tabela 1). A maturidade e a intensidade de dormência da semente, em função de sua origem (latitude 30° Sul), o uso do substrato ágar a 1% e o curto tempo de observação (nove dias) podem ter sido causas desses baixos níveis de germinação em relação à germinação obtida de sementes colhidas em região subtropical e colocadas para germinar em papel por 63 dias.

Voll et al. (2003) também encontraram baixa germinação (29,5%) de sementes de guanxuma a temperaturas alternadas de 30/20°C (luz/escuro), no substrato papel, durante 16 dias. A germinação escalonada encontrada durante os 63 dias de observação sugere que o teste de germinação de sementes de guanxuma deva ser ampliado para tempos mais longos que os já utilizados. Em testes em casa-de-vegetação, a emergência de plântulas de guanxuma em vasos atingiu apenas 35,25% após 40 dias de observação (AZANIA et al., 2004).

O IVG das sementes foi influenciado pela interação entre os fatores envelhecimento acelerado e presença de luz. Nos tempos mais curtos de exposição ao teste de envelhecimento acelerado, não houve influência significativa da presença ou não de luz no teste de germinação, porém as sementes germinadas no escuro apresentaram maior IVG após 72h de tratamento na câmara de EA (Tabela 1). Da mesma forma que

ocorreu na germinação, o IVG das sementes germinadas no escuro aumentou de forma linear com o aumento do tempo de envelhecimento acelerado; na presença de luz, o IVG atingiria, por interpolação na curva de regressão, um valor máximo de 6,91 após tratamento com 48,8h (Figura 2). O tratamento com 96h de envelhecimento acelerado proporcionaria, por extrapolação de dados, redução do IVG a níveis semelhantes (4,02) às sementes-testemunha (3,98). Voll et al. (2003), embora tenham obtido baixo percentual de germinação (29,5%), encontraram IVG elevado (9,9) em teste conduzido por 16 dias.

A análise conjunta da germinação e do IVG revela que a qualidade fisiológica das sementes de guanxuma aumenta após o tratamento de EA, desde que a semente não esteja sob influência da luz. Tais resultados permitem inferir que, em condições de cultivo, as sementes enterradas no solo e protegidas da luz aumentam seu potencial e sua velocidade de germinação ao longo do tempo. No entanto, deve-se considerar que espécies distintas do mesmo gênero podem apresentar respostas fisiológicas diferenciadas a fatores externos, como detectaram Constantin et al. (2007) trabalhando com o efeito de herbicidas em quatro espécies de *Sida*, incluindo a *S. rhombifolia* e a *S. cordifolia*.



**Figura 2.** Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Sida rhombifolia* germinadas na luz ou no escuro, após diferentes tempos de envelhecimento acelerado.

O TMG foi influenciado pelos fatores envelhecimento acelerado e presença de luz de forma isolada, não havendo interação significativa entre eles. O TMG de sementes expostas à luz foi maior que o das sementes germinadas no escuro (Tabela 2). O prolongamento do teste de germinação por até 63 dias possibilitou, por um lado, a observação de elevado percentual de germinação, por outro, aumentou o TMG. O teste encerrado precocemente, em especial em sementes de plantas daninhas, cuja característica é a germinação escalonada, implica tempos mais curtos, uma vez que já nos primeiros dias inicia-se a germinação de algumas sementes. Rosa e Ferreira

(2001) conduziram os testes por apenas nove dias e Voll et al. (2003) por apenas 16 dias.

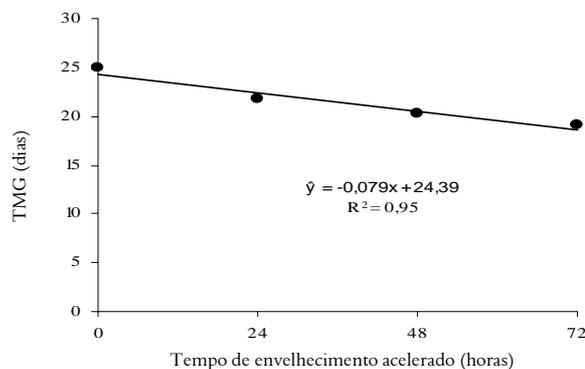
O TMG foi reduzido de forma linear com o aumento do tempo de envelhecimento acelerado, mostrando que o tratamento, além de aumentar a germinação e o IVG, tornou a germinação mais rápida, independentemente da presença de luz (Figura 3).

**Tabela 2.** Tempo médio para germinação (TMG), velocidade média de germinação (VMG) e entropia de sementes de *Sida rhombifolia* submetidas ao teste de germinação na presença ou ausência de luz.

Variável	Condição do teste de germinação*			
	Luz		Escuro	
TMG (dias)	22,7	A	20,4	B
VMG (dias <sup>-1</sup> )	0,04	B	0,05	A
Entropia (bits)	4,00	A	4,04	A

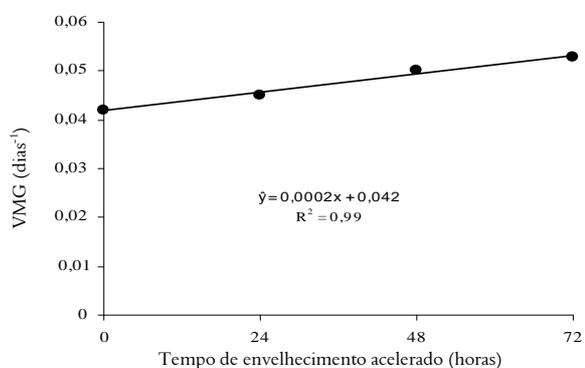
$CV_{TMG} = 6,48\%$   
 $CV_{VMG} = 11,60\%$   
 $CV_{Entropia} = 2,63\%$

\*Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si em nível de significância de 5%.



**Figura 3.** Tempo médio de germinação (TMG) de sementes de *Sida rhombifolia*, após diferentes tempos de envelhecimento acelerado.

A VMG, inversamente proporcional ao TMG, também foi influenciada apenas pelos fatores de forma isolada, sem haver interação entre eles. A VMG foi maior nas sementes germinadas no escuro (Tabela 2) e apresentou, igualmente, aumento linear em função do tempo mais longo de EA (Figura 4).



**Figura 4.** Velocidade média de germinação (VMG) de sementes de *Sida rhombifolia*, após diferentes tempos de envelhecimento acelerado.

A entropia mede a organização de um sistema de forma que quanto menor a entropia, maiores são a organização e a sincronia do sistema (NASSIF; PEREZ, 2000), neste caso representado pela população de sementes de cada amostra analisada no teste de germinação.

A entropia não foi influenciada pela presença ou ausência de luz no teste de germinação (Tabela 2), mas foi reduzida de forma linear em função do tempo mais longo de envelhecimento acelerado (Figura 5).

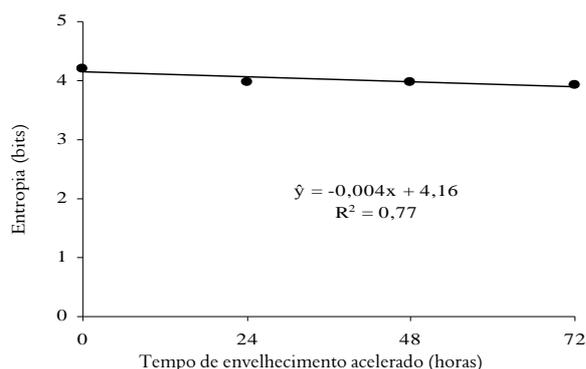


Figura 5. Entropia da germinação de sementes de *Sida rhombifolia*, após diferentes tempos de envelhecimento acelerado.

A entropia, como variável que analisa de forma geral a sincronia do sistema, apresentou elevada correlação com as demais variáveis. A correlação negativa e elevada com as variáveis germinação e IVG das sementes germinadas no escuro reforça a característica de que as sementes de guanxuma apresentam melhor qualidade fisiológica, representada pela maior germinação, vigor e longevidade (POPINIGIS, 1985), quando na ausência de luz. A correlação elevada e positiva com a variável TMG indica que tempos mais longos para germinação estão associados à germinação escalonada, característica de sementes mais dormentes, comum em plantas daninhas (Tabela 3).

Tabela 3. Correlações entre entropia e germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio para germinação (TMG) e velocidade média de germinação (VMG) de sementes de *Sida rhombifolia* submetidas ao teste de germinação.

Variável	Entropia
Germinação (luz)	-0,7903
Germinação (escuro)	-0,9173
IVG (luz)	-0,7784
IVG (escuro)	-0,8586
VMG	-0,8410
TMG	0,9526

## Conclusão

O envelhecimento acelerado de sementes de guanxuma por até 72h proporcionou aumento na

qualidade fisiológica das sementes submetidas à germinação no escuro.

## Referências

- AZANIA, A. A. P. M.; AZANIA, C. A. M.; MARQUES, M. O.; PAVANI, M. C. M. D. Emergência e desenvolvimento de guanxuma (*Sida rhombifolia*), capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) e cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) influenciados por subprodutos da destilação do álcool. **Planta Daninha**, v. 22, n. 3, p. 331-336, 2004.
- BHERING, M. C.; DIAS, D. C. F. S.; BARROS, D. I.; DIAS, L. A. S.; TOKUHISA, D. Avaliação do vigor de sementes de melancia (*Citrullus lunatus* Schrad.) pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 2, p. 1-6, 2003.
- BERTOLIN, D. C.; SÁ, M. E.; BUZZETTI, S.; COLOMBO, A. S.; OLIVEIRA, L. L.; RODRIGUES, G. B. Sementes de guandu produzidas em semeadura tardia: efeito de doses de fósforo, potássio e espaçamentos. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 4, p. 555-560, 2008.
- BINOTTI, F. F. S.; HAGA, K. I.; CARDOSO, E. D.; ALVES, C. Z.; SÁ, M. E.; ARF, O. Efeito do período de envelhecimento acelerado no teste de condutividade elétrica e na qualidade fisiológica de sementes de feijão. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 2, p. 247-254, 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Departamento Nacional de Produção Vegetal - SNA/DNPV/CLAV, 1992.
- CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; KAJIHARA, L. H.; ARANTES, J. G. Z.; CAVALIERI, S. D.; ALONSO, D. G. Controle de diferentes espécies de guanxuma com aplicações seqüenciais de flumiclorac-pentil. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 29, n. 4, p. 475-480, 2007.
- DUTRA, A. S.; VIEIRA, R. D. Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de milho e soja. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 715-721, 2004.
- FLECK, N. G.; RIZZARDI, M. A.; AGOSTINETTO, D.; VIDAL, R. A. Produção de sementes por picão-preto e guanxuma em função de densidades das plantas daninhas e da época de semeadura da soja. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 191-202, 2003.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.
- MAIA, A. R.; LOPES, J. C.; TEIXEIRA, C. O. Efeito do envelhecimento acelerado na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 3, p. 678-684, 2007.
- MARTINS, C. C.; CASTRO, M. M.; SENEME, A. M.; NAKAGAWA, J. Metodologia para a avaliação de sementes de tomate. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 3, p. 301-304, 2006.
- NASSIF, S. M. L.; PEREZ, S. C. J. G. Efeito da temperatura na germinação de sementes de amendoim-do-campo (*Pterogyne nitens* Tul.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 1-6, 2000.

- PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R. D.; PERECIN, D. Electrical conductivity as an indication of pea seed aging of stored at different temperatures. **Scientia Agricola**, v. 64, n. 2, p. 119-124, 2007.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Teste de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. cap. 18, p. 283-297.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Agiplan, 1985.
- RIZZARDI, M. A.; FLECK, N. G.; MUNDSTOCK, N. G.; BIANCHI, M. A. Perdas de rendimento de grãos de soja causadas por interferência de picão-preto e guanxuma. **Ciência Rural**, v. 33, n. 4, p. 621-627, 2003.
- RIZZARDI, M. A.; FLECK, N. G. Dose econômica ótima de acifluorfen + bentazon para controle de picão-preto e guanxuma em soja. **Planta Daninha**, v. 22, n. 1, p. 117-125, 2004.
- ROSA, S. G. T.; FERREIRA, A. G. Germinação de sementes de plantas medicinais lenhosas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, n. 2, p. 147-154, 2001.
- SILVA, J. B.; VIEIRA, R. D. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de beterraba. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 128-134, 2006.
- VOLL, E.; BRIGHENTI, A. M.; GAZZIERO, D. L. P.; ADEGAS, F. S. Relações entre germinação de sementes de espécies de plantas daninhas e uso da condutividade elétrica. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 181-189, 2003.

*Received on December 14, 2007.*

*Accepted on April 29, 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.