

O Significado da Química no Estudo das Plantas

MARIA E. WEBB*

A compreensão da importância de relacionar os efeitos da componente química dos vegetais no Homem com a morfologia destes teve, possivelmente os seus inícios com o advento da Agricultura. A necessidade de poder distinguir as plantas comestíveis das não comestíveis devido, por exemplo, à sua toxicidade, levou o Homem a agrupá-las, de forma a poder comunicar a sua experiência a outros membros da sociedade. De igual modo, a utilização das plantas para fins medicinais e na preparação de cosméticos veio, a pouco e pouco, aumentando o número não só de grupos como também o de elementos dentro de cada grupo. Poucas destas designações chegaram até aos nossos dias podendo, no entanto ser ainda encontradas naquilo que se designa por taxonomias populares. Embora as correlações entre caracteres químicos e morfológicos sejam muito anteriores, Hipócrates (460-355 a.C.) é considerado como tendo sido o primeiro a efectuar uma lista de plantas de acordo com os seus usos medicinais e alimentares.

Várias compilações deste género foram surgindo, existindo em cada uma delas em menor ou maior grau, a preocupação de agrupar as plantas de acordo com as utilizações que lhes eram dadas. Neste contexto é curioso notar que a aplicação das propriedades químicas das plantas em medicina levou Petiver (1699) a descrever as semelhanças morfológicas apresentadas por plantas com "virtudes curativas" idênticas.

O trabalho de Helen Abbott (1886) sobre o significado taxonómico da distribuição de saponinas sugerindo, ao mesmo tempo, a correlação entre constituintes químicos e vias evolutivas em plantas, marcou o início da quimiosistemática.

O estudo dos compostos químicos sintetizados e acumulados pelas plantas tem metodologias de abordagem diferentes. A aproximação **fitoquímica** implica a selecção prévia da classe ou classes de compostos a extrair e analisar numa planta.

Neste caso, o número de grupos vegetais pode ser restringido em função da classe ou classes de compostos, dado que as vias biossintéticas das plantas são diversificadas, ou seja, nem

todos os taxa sintetizam e acumulam toda a variedade de compostos encontrados nos vegetais.

A selecção de um determinado grupo de plantas a fim de se proceder à análise de compostos químicos é considerada como o primeiro passo na aproximação **quimiosistemática**. A escolha recai, em geral e por razões de ordem prática, sobre uma determinada categoria taxonómica, como por exemplo, uma ordem, uma família ou um género. Mesmo assim é, por vezes, difícil obterem-se todas as subcategorias, especialmente quando o taxon seleccionado engloba um número razoável de subcategorias. De uma forma mais concreta, consideremos que a categoria taxonómica seleccionada para o nosso estudo é constituída por uma determinada família. Todos os subgrupos devem ser obtidos para análise. Assim, seria necessário termos acesso a espécies pertencendo a cada um dos géneros que constituem as várias tribos, sendo estas representativas de cada subfamília. No caso de uma determinada espécie, várias populações originárias de habitats distintos e áreas geográficas diferentes devem ser colhidas para análise. No caso da aproximação quimiosistemática, dado que o grupo de plantas é seleccionado em primeiro lugar, a classe ou classes de compostos a estudar encontra-se, pelo motivo já anteriormente referido, dependente do grupo vegetal seleccionado.

Tanto em relação à aproximação fitoquímica como em relação à aproximação quimiosistemática, a consulta prévia da matéria publicada sobre o tema a estudar tem como principais vantagens: (i) Auxiliar na selecção de métodos de análise, muito em especial técnicas de extracção e separação (ii) no caso de o volume de informação sobre este taxon e/ou classe de compostos ser já considerável, auxiliar a uma criteriosa selecção dos taxa e/ou compostos químicos ou fazer reflectir sobre a necessidade da realização do estudo.

Outro aspecto importante refere-se à quantidade de material vegetal requerido pelas técnicas de análise escolhidas. Em geral, a disponibilidade de material



Fig. 1 - *Veronica chamaedris* L.

vegetal não é grande e deve ter-se em atenção que só é possível efectuar comparações, fundamentais em quimiosistemática, quando as mesmas técnicas, o mesmo órgão da planta e a mesma quantidade de material vegetal são utilizados.

Embora os vegetais exibam um vasto leque de constituintes químicos, tem-se verificado que os produtos do metabolismo secundário, preenchem os requisitos necessários à sua utilização em Quimiosistemática. Na verdade, muitos destes requerem técnicas relativamente pouco sofisticadas, encontram-se presentes em quantidades detectáveis, são, na generalidade, estáveis e podem ainda ser utilizados como marcadores quimiosistemáticos. Este tipo de metabolitos inclui uma multiplicidade de compostos de baixo peso molecular, tais como terpenóides, flavonóides e amino ácidos não-proteicos para mencionar apenas alguns, talvez os mais frequentemente detectados como sendo de ocorrência natural. Para além destes torna-se ainda importante mencionar a importância que compostos induzidos têm apresentado em Quimiosistemática. Abordaremos assim o significado que as fitoalexinas^(*) têm na delimitação de géneros taxonomicamente difíceis.

Os padrões de distribuição destes mesmos compostos em vários taxa são elucidativos do seu significado taxonómico, como veremos a seguir.

O termo terpenóide abrange uma vasta gama de substâncias de origem vegetal e é utilizado no sentido de indicar que todas essas substâncias tem uma origem biossintética comum. Estes compostos baseiam-se na molécula de isopreno, sendo o seu esqueleto de carbono

construído a partir da união de duas ou mais destas unidades em Cs. Os terpenóides são então classificados de acordo com o número das unidades de isopreno. Muitos exemplos ilustrando a importância taxonômica destes compostos, que são detectados tanto como componentes de óleos essenciais como sob a forma de pigmentos – os carotenóides —, poderiam ser mencionados.

Seleccionámos no entanto, o estudo realizado em espécies de *Veronica* (Fig. 1) e outras de géneros relacionados com este (*Hebe*, *Parahebe*, *Veronicastrum* e *Paedorata*), utilizando os compostos monoterpénicos designados **iridóides**. A estrutura destes compostos baseia-se num sistema de anel de ciclopentanodihidropirano (Fig. 2), reconhecendo-se cinco grupos. Para a compreensão deste exemplo, é suficiente referir que os iridóides “propriamente ditos” ocorrem principalmente sob a forma glicosídica, contendo um grupo B-D-glucosil na posição C-1.

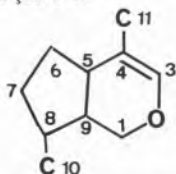


Fig. 2 - Sistema de anel de ciclopentanodihidropirano.

A análise cromatográfica destes compostos conjuntamente com a de flavonóides (ver adiante) sintetizados e acumulados pelos taxa em questão serviu de auxílio na delimitação do género *Veronica*. O género engloba um elevado número de espécies (cerca de 150, de acordo com Römpp, 1928) e assim a relação existente entre estas e as de géneros afins torna-se importante do ponto de vista sistemático. A Tabela I refere as diferenças detectadas a nível dos padrões químicos (iridóides e flavonóides) entre *Veronica s. str.* e géneros relacionados com este.

Embora as diferenças detectadas ao nível dos caracteres químicos confirmaram uma base de apoio quanto à separação de *Paedorata*, *Veronicastrum*, *Hebe*, *Parahebe* e *Pygmea* de *Veronica*, a distinção entre *Hebe*, *Parahebe* e *Pygmea* com base nos resultados fornecidos pelos iridóides é difícil. Os padrões químicos detectados forneceram caracteres úteis que permitiram compreender as relações existentes no seio de *Veronica s. l.*. Os iridóides surgem neste exemplo como

compostos elucidativos das relações existentes ao nível genérico e também no seio de *Veronica s. str.*; acima da categoria específica permitem o estabelecimento de grupos ao nível da secção e subsecção.

Não só em membros da família Scrophulariaceae a presença de iridóides foi detectada; na família Rubiaceae (à qual pertence o cafeeiro), por exemplo, asperolósido é um dos iridóides frequentemente detectados em alguns dos seus membros. É interessante referir que estes compostos de gosto amargo são os principais responsáveis pelo escurecimento de várias espécies durante o processo de herborização, incluindo-se neste grupo determinadas plantas parasitas ou semi-parasitas pertencentes à família Scrophulariaceae.

A cor escura surge por hidrólise da forma glicosídica e posterior polimerização dos aglicões que, apesar do que se poderia suspeitar, são praticamente desprovidos de actividade antimicrobiana. Na verdade são formas não-glucosídicas, como por exemplo plumericina, genipina ou ácido genípico, que mostram uma maior actividade antimicrobiana. O número de plantas contendo iridóides e com utilização em medicina é relativamente grande sabendo-se que estes compostos podem ter, para além de actividade antimicrobiana, efeitos sedativo, laxante, diurético, antileucémico e hipotensor.

Englobados na vasta classe de compostos fenólicos encontra-se um grupo de constituintes vegetais que, pela sua frequência, abundância e variedade estrutural tem sido muito da preferência dos quimiosistematas – os compostos flavónicos ou flavonóides. O termo aplica-se a um número já muito elevado de estruturas conhecidas. Estas baseiam-se num núcleo com 15 carbonos, constituído por dois anéis benzénicos (o anel A e o anel B) ligados por um anel pirânico (o anel C) (Fig. 3). Diferentes níveis de oxidação da estrutura central em C3 permitem a divisão deste grupo de compostos de ocorrência natural em vários subgrupos, como por exemplo as antocianidinas os flavonóis, as flavonas, as flavan-

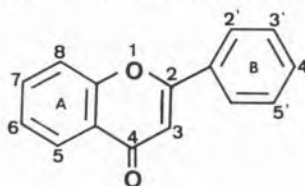


Fig. 3 - Núcleo flavónico.

Tabela I – Caracteres Químicos que distinguem os géneros *Paedorata*, *Veronicastrum*, *Hebe*, *Parahebe* e *Pygmea* de *Veronica s. str.*

Géneros	Caracteres Químicos	
	Iridóides	Flavonóides
<i>Paedorata</i>	– Esters de catalpol baseados em derivados do ácido benzóico – Ausência ou baixa concentração de protocatequicatalpol	– Presença de 6-hidroxiavonas metiladas
<i>Veronicastrum</i>	– Ausência de catalpol e esters de catalpol	– Presença de flavonovas metiladas
<i>Hebe</i>	– Esters de aucubina – Esters de catalpol baseados em derivados do ácido cinâmico dominando sobre os derivados do ácido benzóico	–
<i>Parahebe</i>	– Esters de aucubina – Esters de catalpol baseados em derivados do ácido cinâmico dominando sobre os derivados do ácido benzóico	– Ausência de flavonas metiladas – Maior variedade de padrões de glicosilação
<i>Pygmea</i>	– Esters de aucubina	– Presença de 6-hidroxiavonas

(Adaptado de Gray-Barkmeijer, 1973 e 1978).

nas, os biflavonilos e as proantocianiclinas. As isoflavonas e as auronas por exemplo são diferentes dos compostos acima mencionados, devido a uma modificação biossintética da estrutura básica do 2-fenilbenzopirano. Alguns destes subgrupos têm uma distribuição mais vasta do que outros. Assim, enquanto antocianidinas, flavonóis e flavonas se encontram numa grande variedade de grupos de plantas, os restantes compostos apresentam uma distribuição mais restrita. Por definição os flavonóis têm um grupo hidroxil ligado à posição-3, enquanto que as flavonas não apresentam este grupo. A variação estrutural encontrada neste tipo de compostos relaciona-se essencialmente com os padrões de hidroxilação, metilação, glicosilação, acilação e sulfonação.

Embora as formas livres (os aglicões) possam ser encontradas nas plantas, tanto flavonóis como flavonas são em geral detectados sob a forma glicosídica. Esta forma é mais hidrossolúvel e mais estável no interior da planta, acumulando-se geralmente no vacúolo.

A glicosilação pode ocorrer mais frequentemente em algumas posições da estrutura básica do que noutras. Dado que as flavonas não têm um grupo hidroxil na posição -3, os glicósidos ligam-se em geral à posição -7, embora outras posições, como a 5- e 4' — possam também apresentar-se glicosiladas.

Nestas formas conjugadas, os glicósidos encontram-se ligados ao núcleo flavónico por uma ligação glicosídica. No entanto, estes podem ligar-se através de uma ligação carbono-carbono, a um ou

mais dos átomos de carbono do núcleo flavónico básico. A glicosilação de outras posições pode, de igual modo, ocorrer.

Após esta breve introdução relativa às características básicas das estruturas químicas destes compostos vejamos de que forma eles têm sido utilizados em estudos quimiossistemáticos. Como já referimos, os flavonóides ocorrem numa grande variedade de plantas e as intensivas e extensivas análises até hoje realizadas indicam que estes compostos têm uma distribuição quase universal nas Angiospérmicas. Vejamos, através de alguns exemplos, o tipo de informação que é possível obter.

A utilidade do(s) caracter(es) provenientes(s) da análise de compostos flavónicos pode depender do nível taxonómico; assim, na família Araceae (na qual se encontra incluído o jarro de jardim), embora o perfil flavónico mais ou menos uniforme apresentado pelos *taxa* analisados não permita uma distinção entre as várias subfamílias, obtiveram-se padrões taxonómicos significativos ao nível da tribo. Ao nível da subtribo, foi possível distinguir a subtribo Arinae, com base na homologia dos flavonóides apresentada pela maioria dos seus membros (Williams *et al.*, 1981).

Ao nível genérico cada espécie apresenta o seu padrão flavónico, geralmente como diferentes formas glicosídicas do ou dos aglicões detectados. Este padrão específico pode ser de utilidade na abordagem de diferentes tipos de informação. Das análises levadas a efeito em diferentes espécies de *Eleusine* (Gramineae) foi possível (i) confirmar quimicamente a posição isolada de *Eleusine compressa* dentro do género, (ii) mostrar a estreita relação existente entre caracteres morfológicos e padrões flavónicos no que se refere às restantes espécies e (iii) tendo-se ainda confirmado a origem de *E. coracana ssp. coracana* a partir de *E. coracana ssp. africana* (Hilu *et al.*, 1978).

Na verdade, os padrões flavónicos podem ser utilizados na detecção de híbridos ou na identificação da geração parental desses híbridos. Demonstrou-se que no tecido foliar os caracteres flavónicos herdados são geralmente aditivos; deste modo a comparação do padrão apresentado pelo híbrido com o apresentado por cada um dos progenitores pode dar indicações úteis quanto às relações existentes. Estes padrões flavónicos aditivos foram detectados em vários estu-

dos, como os levados a efeito sobre *Glycine*, por exemplo (Vaughan e Hymowitz, 1984).

Os flavonóides considerados durante muitos anos como compostos superfluos do metabolismo vegetal, tornaram-se de grande importância na compreensão das interacções existentes entre as plantas e os diversos organismos que fazem parte do seu habitat. Grande parte do conhecimento actual deriva das correlações existentes entre dados provenientes de análises químicas e a biologia dos organismos interactuantes.

Em relação a outro tipo de compostos inicialmente abordado, os aminoácidos, podemos dizer que são caracterizados pela presença de pelo menos um grupo amina e um grupo carboxil nas suas estruturas.

Do ponto de vista bioquímico estes componentes nitrogenados dos vegetais encontram-se convenientemente agrupados em:

- Aminoácidos proteicos, incluindo os vinte constituintes das proteínas.
- Aminoácidos não-proteicos que ocorrem no estado livre ou como produtos de condensação, incluindo não só aminoácidos mas também as suas amidas e iminoácidos.

Os aminoácidos não-proteicos ocorrem numa grande variedade de organismos, incluindo na alga vermelha *Condria coerulescens*; no entanto, é nas plantas superiores que vamos encontrar uma maior variedade deste tipo de compostos. Estudos levados a efeito sobre a distribuição de aminoácidos não-proteicos demonstraram que estes podem ser utilizados na confirmação ou definição de grupos de plantas, a diferentes níveis taxonómicos.

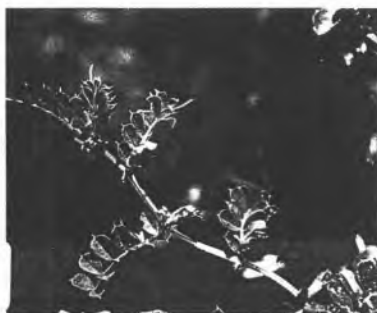
Tomemos como exemplo o trabalho desenvolvido em espécies dos géneros *Vicia* (Fig. 4) (Webb, 1989) e *Lathyrus* (família Leguminosae, subfamília

Papilionoideae, tribo Viciae) (Bell e Tirmanna, 1965), aos quais pertencem a faveira e a ervilha de cheiros respectivamente. Vários membros destes géneros apresentam semelhanças morfológicas bastante acentuadas o que dificulta, por vezes em extremo, a sua delimitação e identificação. Assim verificou-se que as análises efectuadas num número representativo de espécies de *Lathyrus* e de *Vicia* contribuíam para a caracterização de cada um dos géneros, com base na acumulação de aminoácidos não-proteicos. Observe-se que enquanto os membros do género *Lathyrus* acumulam compostos guanidino, em C7 [homocitrulina, γ -hidroxihomocitrulina e β -(2-amino-pirimidina-4-il) alanina] ou ácido α - γ -diaminobutírico (Fig. 5-A), as espécies englobas no género *Vicia* sintetizam e acumulam compostos em C6 (arginina e γ -hidroxarginina) ou canavanina (Fig. 5-B). Ao nível infragenérico, foi ainda possível dividir tanto *Vicia* como *Lathyrus* em grupos caracterizados pelo seu perfil em aminoácidos.

A presença do ácido α - γ -diaminobutírico em algumas das espécies de *Lathyrus* analisadas é responsável pela grave doença do sistema nervoso designada neurolatirismo. Um outro aminoácido não-proteico e que provoca osteolatirismo, manifestado por sérias deformações ósseas foi igualmente detectado em espécies deste género. Dado que, em determinadas zonas, nomeadamente na Índia, as espécies que contêm estes compostos são utilizadas na alimentação, tanto uma forma como outra de latirismo atingem, especialmente em períodos de seca (o que equivale a fome, em muitas áreas do globo), proporções dramáticas. Embora o "alvo" destes produtos tóxicos do metabolismo secundário de *Lathyrus*, não seja muito provavelmente o Homem, facto é que este tem sido uma das suas principais vítimas. Dado que estes compostos são também tóxicos para outros vertebrados é possível que a sua acumulação nas sementes de algumas destas plantas, lhes confira uma certa protecção em relação ao ataque levado a efeito por roedores e/ou outros predadores. Um destes compostos é ainda capaz de inibir a germinação de sementes de várias espécies que não o produzem, apresentando assim efeitos alelopáticos.

Na verdade, tanto iridóides, como flavonóides, além dos aminoácidos não-proteicos, encontram-se frequentemente ligados a funções defensivas nas plantas. Como já anteriormente referimos, estes

Fig. 4 - *Vicia sativa* L.



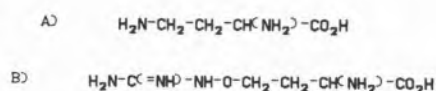


Fig. 5 A – Estrutura do amino ácido não-proteico α , γ -diaminobutírico.
B – Estrutura do amino ácido não-proteico canavanina.

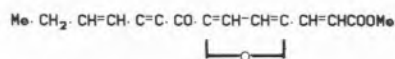


Fig. 6 – Estrutura de wyerone(*), uma fitoalexina poliacetilética.
(*) Designação derivada do nome do colégio inglês onde foi detectada pela primeira vez (Wye College).

compostos são de ocorrência natural, ou seja, não são induzidos. O número de espécies testado até hoje, em relação à produção de compostos induzidos pela acção de agentes quer bióticos quer abióticos, é considerável. O contacto destes agentes com a superfície de uma planta saudável vai activar um sistema enzimático latente e permitir a síntese *de novo* de um ou mais compostos que, em princípio, irão ter um papel activo na resistência a doenças. Nem sempre o esforço dispendido na síntese destes compostos, designados fitoalexinas, é coroado de êxito em relação à salvaguarda dos interesses da planta, isto é, nem sempre o agente patogénico é vencido. Na maior parte dos casos a sua acção é retardada. No entanto, é inegável que as fitoalexinas desempenham um papel importante na resistência a doenças em espécies vegetais e em conjunto com as substâncias alelopáticas, fornecem uma perspectiva sobre as relações existentes entre plantas e entre estas e outros organismos, como fungos, bactérias ou insectos, por exemplo.

– De que forma têm estas substâncias, igualmente produtos do metabolismo secundário e distribuídos por classes de compostos químicos tão diversas como a dos poliacetilénicos, encontram aplicação em quimiosistemática?

Do ponto de vista sistemático é significativo que o tipo de fitoalexina induzido por um determinado fungo seja específico em relação às espécies englobadas numa família; de um modo geral cada família produz o seu próprio tipo de composto, que por sua vez apresenta uma certa relação com os constituintes, também derivados do metabolismo secundário, que são acumulados como produtos naturais. Assim sabe-se que os membros analisados e englobados na família *Compositae* (à qual pertence o malmequer) produzem compostos poliacetilénicos enquanto os da família *Sola-*

naceae (onde se encontra englobado o género ao qual pertence a batateira) sintetizam sesquiterpenóides.

Como excepção a esta “regra” temos de reconhecer a família *Leguminosae*. Nesta família têm sido detectados interessantes padrões em relação aos géneros e tribos que dela fazem parte. Retomemos a análise da tribo *Viciaeae*. Além de *Vicia* e de *Lathyrus* a tribo engloba ainda os géneros *Pisum* (a ervilha), *Lens* (a lentilha) e *Vavilovia*. Este último não tem levantado problemas em relação a sua posição taxonómica e delimitação, o que já não se aplica a qualquer dos outros quatro. As análises levadas a efeito em espécies de *Vicia*, *Lathyrus*, *Lens* e *Pisum* (Ingham, 1981) vieram demonstrar a existência de uma dicotomia a nível da produção de fitoalexinas. Assim, enquanto *Vicia* e *Lens* produzem compostos furanoacetilénicos (Fig. 6), *Lathyrus* e *Pisum* produzem compostos do grupo dos pterocarpanos (isoflavonóides) (Fig. 7).

É interessante notar que tanto os dados obtidos das análises dos aminoácidos não-proteicos como os relativos às fitoalexinas diferenciam dois géneros englobando espécies que, do ponto de vista morfológico, apresentam fortes semelhanças.

Este aflorar da quimiosistemática, um tema interessante e ainda com muito para estudar não pretende, de modo algum, ser exaustivo. Esperemos que o interesse tenha sido despertado. Convém ter em mente que as principais atribuições de um quimiosistemata envolvem

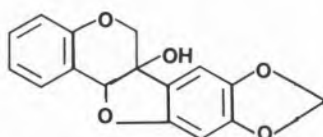


Fig. 7 – Estrutura de pisatina, um pterocarpano com actividade fungitóxica.

a interpretação dos dados obtidos das análises químicas e disponibilizá-las, subsequentemente, aos taxonomistas. A revisão das classificações existentes só pode ser feita após serem considerados dados provenientes de outras disciplinas (morfologia, anatomia, citologia, etc.).

Para além da importância que o estudo interpretativo da distribuição de cada uma das classes de compostos acima mencionada tem em Quimiosistemática e do contributo desta disciplina para uma classificação natural, podemos ainda acrescentar a possibilidade de se encontrarem novos compostos, aumentando assim o número de estruturas conhecidas. Traz ainda como vantagem a existência de dados suficientes para que análises mais detalhadas sobre estrutura e actividade biológica dos compostos previamente reportados possa vir a ser feita.

*Faculdade de Ciências e Tecnologia, U.N.L.

(**) Fitoalexinas são compostos sintetizados de novo em resposta a uma tentativa de invasão dos tecidos vegetais por um agente biológico. A indução feita através de um agente abiótico é também considerada como dando origem à produção de fitoalexinas.

BIBLIOGRAFIA

- H. C. De S., Abbott - Certain chemical constituents of plants considered in relation to their morphology and evolution. *The Botanical Gazette* **11** (1866) 270-272.
- R. J. Grayer-Barkmeijer - A chemosystematic study of *Veronica*: Iridoid glucosides. *Biochem. Syst.* **1** (1973) 11-110.
- R. J. Grayer-Barkmeijer - Flavonoids in *Parahebe* and *Veronica*: A chemosystematic study. *Biochem. Syst. Ecol.* **6** (1978) 131-137.
- K. V. Hilu; J. M. J. Wet; D. De e Seigler - Flavonoid patterns and systematics of *Eleusine*. *Biochem. Syst. Ecol.* **6** (1978) 247-249.
- J. L. Ingham (1981) - Phytoalexin induction and its taxonomic significance in the Leguminosae (subfamily Papilionoideae). In “*Advances in Legume Systematics*” (R. M. Polhill e P. H. Raven, eds), parte 2 pp. 599-626. Royal Botanic Gardens, Kew.
- J. Petiver - Some attempt made to prove that herbs of the same make or class for the generality, have the like virtue and tendency to work the same effects. *Phil. Trans. R. Soc.* (Abridged) pp. 416-418. (1699) London.
- H. Rompp - Die Verwandtschaftsverhältnisse in der Gattung *Veronica*. *Repert. Spec. Nov. Regn. Veg. Bei.* **50** (1928) 1-171.
- D. A. Vaughan, e T. Hymowitz - Leaf flavonoids of *Glycine* subgenus *Glycine* in relation to systematics. *Biochem. Syst. Ecol.* **12** (1984)
- M. E. Webb - *Chemosystematic Studies in Genus Vicia* (Leguminosae). Ph. D. Thesis. University of Reading. U. K. (1989)
- C. A. Williams; J. B. Harborne, e S. J. Mayo. - Anthocyanin pigments and leaf flavonoids in the family Araceae. *Phytochemistry* **20** (1981) 217-234.