



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA — MA
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária — EMBRAPA
Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido — CPATU

1º Simpósio
do Trópico Úmido

1st Symposium
on the Humid Tropics

1er Simposio
del Trópico Húmedo

ANAIS
PROCEEDINGS
ANALES

Volume I

CLIMA e SOLO

CLIMATE and SOIL

CLIMA y SUELO

BELEM - PARÁ - BRASIL

1986



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA — MA
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária — EMBRAPA
Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido — CPATU

1º Simpósio do Trópico Úmido

1st Symposium
on the Humid Tropics

1^{er} Simpósio
del Trópico Húmedo

Belém, Pará, 12 a 17 de Novembro de 1984

Belém, November 12 through 17, 1984

Belém, 12 a 17 de novembre de 1984

ANAIS PROCEEDINGS ANALES

Volume I

CLIMA e SOLO

CLIMATE and SOIL

CLIMA y SUELO

BELÉM - PARÁ - BRASIL



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA — EMBRAPA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA
CENTRO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO TRÓPICO ÚMIDO — CPATU

EMBRAPA-CPATU. Documentos, 36

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à
EMBRAPA-CPATU

Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/n

Telefone: 226-6622

Telex: (091) 1210

Caixa Postal, 48

66000 Belém, PA - Brasil

Tiragem: 1.000 exemplares

Observação

Os trabalhos publicados nestes anais não foram revisados pelo Comitê de Publicações do CPATU como normalmente se procede para as publicações regulares. Assim sendo, todos os conceitos e opiniões emitidos são de inteira responsabilidade dos autores.

Simpósio do Trópico Úmido, I, Belém, 1984.

Anais. Belém, EMBRAPA-CPATU, 1986.

6v. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 36)

I. Agricultura — Congresso — Trópico. I. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido, Belém, PA, II. Título. III. Série.

CDD: 630.601

EFEITO DE INOCULAÇÃO COM MICORRIZA (VA) EM DUAS CULTIVARES DE CAUPI (*Vigna unguiculata*) EM CASA DE VEGETAÇÃO

Elizabeth Ying Chu¹ e Areolino de Oliveira Matos¹

RESUMO: Os efeitos de inoculação com uma mistura de micorriza VA (*Gigaspora margarita* + *Acaulospora longula* + *Glomus* + *manihotis*) em duas cultivares de caupi (Quebracadeira e V-48) foram estudados num ensaio em vaso em casa-de-vegetação com solo de Tracuateua, caracterizado como Areia Quartzosa Vermelha Amarela, fumigado e sem adição de qualquer corretivo. A nodulação ocorreu naturalmente em todas as plantas utilizadas neste experimento. A inoculação com micorriza aumentou significativamente a nodulação, o crescimento da planta, as quantidades de N e P absorvidas, a produção de grãos e antecipou o amadurecimento das vagens, independente das cultivares de caupi. Porém, a inoculação não aumentou proporcionalmente o valor de raiz/parte aérea. A cultivar V-48 respondeu melhor à inoculação com micorriza, indicando haver diferenças em efetividade da micorriza sobre diferentes variedades de planta. O resultado deste trabalho preliminar mostrou a perspectiva futura de utilizar-se micorriza na produção de caupi na região amazônica.

Termos para indexação: Região amazônica, caupi, *Gigaspora margarita*, *Glomus manihotis*, *Acaulospora longula*, *Rhizobium*, nodulação, Areia Quartzosa Vermelho Amarela.

THE EFFECT OF INOCULATION WITH MYCORRHIZA (VA) ON TWO COWPEA (*Vigna unguiculata*) CULTIVARS UNDER GREENHOUSE CONDITION

ABSTRACT: The effects of inoculation with a mixed micorrhizal inoculum (*Gigaspora margarita* + *Acaulospora longula* + *Glomus manihotis*) on two cowpea cultivars (Quebracadeira e V-48) were studied in a pot experiment in greenhouse with fumigated and unamended Red Yellow Quartz Sand soil from the country of Tracuateua of State of Pará. Nodulation occurred naturally in all the plants used. The inoculation with mycorrhiza significantly increased nodulation, plant growth, amount of N and P absorbed, bean yield and anticipated the seed pod maturation, independent of cowpea cultivar. However, inoculation did not proportionally increase the root/shoot ratio. The cultivar V-48 responded better to inoculation with micorrhiza which indicates a difference in mycorrhiza effectiveness on different plant cultivars. The results of this preliminary work showed that there is a potential for the use of mycorrhiza for cowpea production in Amazon region.

Index terms: Amazon region, cowpea, *Gigaspora margarita*, *Glomus manihotis*, *Acaulospora longula*, *Rhizobium*, nodulation.

¹Eng. Agr. M.Sc. EMBRAPA-CPATU, Caixa Postal 48, CEP 66.000, Belém, PA

²Eng. Agr., M.Sc. EMBRAPA-CPATU.

INTRODUÇÃO

As raízes da maioria das plantas formam associações com micorrizas endotróficas tipo vesicular-arbuscular (Gerdemann, 1968). As evidências de micorrizas vesicular-arbuscular em aumentar a absorção de nutrientes do solo, principalmente fósforo, pelas plantas podem tornar esta associação a desempenhar um importante papel na nutrição mineral de plantas nos solos tropicais de baixa fertilidade (Mosse 1981).

Na Amazônia, a maioria dos solos são carentes em teor de fósforo. Para melhorar a produtividade da planta é necessária a aplicação constante de fertilizantes fosfatados, que geralmente resulta em alto custo de produção. Entretanto, a utilização de inoculação com micorriza VA de eficiência comprovada pode se transformar numa técnica promissora para aumentar a produtividade de plantas sem onerar o custo de produção.

Devido a sua alta resistência fitopagênica e adaptabilidade sob condições da região amazônica, o caupi já é uma cultura de grande importância alimentícia no nordeste paraense. Nos últimos cinco anos, a área de produção desta cultura aumentou significativamente. Para manter a sua alta produtividade (1.000 kg/ha) uma dosagem de 111 kg de supertríplo/ha é aplicada anualmente. Portanto, é de grande interesse realizar um estudo sobre a inoculação de micorriza VA nesta cultura em condições climáticas e de solos da Amazônia. Neste trabalho preliminar verificou-se o efeito de inoculação com micorrizas VA no crescimento e desenvolvimento de duas cultivares (Quebra-cadeira e V-48) de caupi.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação em vasos plásticos contendo três quilos de solo fumigado com brometo de metila (5m², 10 cm profundidade/lata). Foi utilizado solo sob vegetação de capoei-

ra, caracterizado como Areia Quartzosa Vermelho Amarela, em área localizada próximo aos experimentos de caupi no Campo Experimental de Tracuateua. O solo foi coletado numa profundidade de 0-20 cm e peneirado. A análise do solo mostrou as seguintes características: pH: 4,5; N:0,05%; Ca+Mg:1.20 meq/100g T.F.S.A.: K:0,05meq/100g T.F.S.A. P₂O₅: 1,21 mg/100g. O solo foi utilizado sem adição de qualquer corretivo.

Foi usado como inóculo uma mistura de três tipos de micorrizas VA: *Gigaspora margarita* (fornecido pelo IAC, originária da Inglaterra), *Acaulospora longula* e *Glomus manihotis* (proveniente do CIAT, Colômbia). Os esporos dos fundos foram multiplicados em vasos-de-cultivo plantados com *Brachiaria decumbens*. Uma mesma quantidade de solo contendo raízes e esporos foi retirada dos três vasos-de-cultivo e homogeneizada dentro de um saco plástico. Dez gramas desta mistura, contendo aproximadamente 1700 esporos, foram utilizados como inóculo por vaso.

Foram testadas duas cultivares de caupi: Quebra-cadeira e V-48. Em cada vaso, o inóculo foi depositado numa profundidade de 2 cm sobre o qual foram colocadas três sementes. Após a germinação foi feito o desbaste, deixando-se uma planta por vaso. Todos os vasos receberam 5 ml de suspensão preparada com o mesmo solo no qual foi utilizado inóculo, isenta de esporos dos fungos micorrízicos, mas contendo outros microorganismos do solo.

O delineamento do experimento foi fatorial 2x2 com os blocos inteiramente casualizados e quatro repetições por tratamento, totalizando 32 vasos. Foram feitas duas avaliações: 40 e 62 dias após o plantio para avaliar o crescimento e a produção das plantas. Foram utilizados 16 vasos para cada avaliação.

Uma pequena parte das raízes foi corada conforme a técnica descrita por Phillips & Haymann (1970) para avaliação de infecção de raiz. A estimativa da percentagem do comprimento de raiz infectada foi

feita através do método descrito por Giovannetti & Mosse (1980). Após remoção das raízes, 50 g de solo de cada vaso foram peneirados pelo método sugerido por Gerdemann & Nicolson (1963) e centrifugados para avaliação de esporos e detecção de contaminação.

Para determinação do peso de grão, as vagens foram secadas ao sol e debulhadas. Após a pesagem, os grãos foram secados novamente numa estufa de 65°C até atingir peso constante. As determinações de nitrogênio e fósforo totais foram feitas conforme metodologia descrita por Chapman & Pratt (1973).

Os teores de fósforo dos solos de cada tratamento foram analisados 40 dias após o plantio pelo método de Riley and Murphy.

RESULTADOS

O efeito da inoculação foi observado duas semanas após o plantio. Com 20 dias de idade as plantas inoculadas já demonstravam crescimento superiores às plantas não inoculadas. A diferença mais acentuada foi observada na cultivar V-48. Embora não tendo sido adicionada suspensão de *Rhizobium* neste experimento, todas as plantas nodularam. Na Tabela 1 são mostrados o número e o peso seco de nódulos das cultivares de caupi 40 dias após o plantio. Constatou-se que a inoculação aumentou significativamente o número e o peso seco de nódulos independente das cultivares de caupi.

TABELA 1. Efeito da inoculação com micorriza VA sobre o número e o peso seco de nódulos de duas cultivares de caupi 40 dias após o plantio.

	Nº de nódulo /pl			Peso seco nódulo (g/pl)		
	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}
Inoculada	169,0	363,50	266,25a	1,20	1,18	1,19a
Não Inoculada	89,75	45,25	67,50b	0,69	0,65	0,67b
\bar{X}	129,38	204,38	-	0,95	0,91	-

Dif. entre inoculação		*			**	
Dif. entre variedades		NS			NS	
Int. inoc. x Var.		NS			NS	
CV (%)		88,44			8,83	

* Indica diferença significativa à probabilidade de 5%

** Indica diferença significativa à probabilidade de 1%

Na Tabela 2 observou-se que a inoculação aumentou significativamente a altura da planta, o diâmetro do primeiro nó e a área foliar da cultivar V-48, enquanto a cultivar Quebra-cadeira teve aumento significativo somente no diâmetro do primeiro nó e a área foliar.

Pelos dados da Tabela 3 constatou-se que a inoculação aumentou significativamente a produção de matéria seca da raiz e da parte aérea, quantidade de nitrogênio e fósforo absorvidos pela planta, independente da cultivar. Embora não tenha havido interação entre inoculação e culti-

TABELA 2. Efeito da inoculação com micorrizas VA sobre o crescimento de duas cultivares de caupi 40 dias após plantio.

	Altura da planta (cm/pl.)			Diâmetro basal (cm/pl.)			Diâmetro 1ª nod. (cm/pl.)			Nº Trifólio/planta			Área foliar (cm ² /pl.)		
	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}
Inoculada	38,89a	33,87a	36,37	0,63	0,55	0,59a	0,74a	0,84a	0,79	13,00	7,50	10,25a	1.134,58a	1.196,33a	1.165,45
Não inoculada	36,80a	18,80b	27,80	0,55	0,42	0,48b	0,62b	0,57b	0,59	8,50	4,75	6,62b	663,59b	368,15b	515,86
\bar{X}	37,83	26,33		0,59a	0,48b		0,68	0,70		10,75a	6,12b		899,08	782,24	
Dif. entre inoculação															
	**			**			**			**			**		
Dif. entre variedades															
	**			**			N.S.			**			*		
Int. inoc. x Var.	*			N.S.			**			N.S.			**		
CV (%)	12,73			9,25			5,06			14,55			10,18		

* Indica diferença significativa à probabilidade de 5%

** Indica diferença significativa à probabilidade de 1%

var, o efeito de inoculação foi bem maior na cultivar V-48. A inoculação diminuiu significativamente a relação raiz/parte aérea da planta. Observou-se também que o sistema radicular da planta inoculada foi bem mais fino e ramificado do que da planta não inoculada.

A avaliação de produção foi feita, conseqüentemente, a partir do amadurecimento da primeira vagem (62 dias após o plantio). A inoculação aumentou significativamente o número e o peso seco de grãos e a quantidade de proteína bruta, enquanto diminuiu significati-

TABELA 3. Efeito da inoculação com micorrizas VA sobre peso da matéria seca da raiz, peso da matéria seca da parte aérea, relação raiz/parte aérea, Nitrogênio e Fósforo absorvidos de duas cultivares de caupi 40 dias após plantio.

	Peso seco raiz (g/pl.)			Peso seco aérea (g/pl.)			Relação raiz/parte aérea			N absorvido (mg/pl.)			P absorvido (mg/pl.)		
	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}
Inoculada	4,13	4,27	4,20a	12,05	10,03	11,04a	0,34	0,44	0,39b	242,60	196,62	219,61a	12,90	10,83	11,87a
Não inoculada	3,40	1,95	2,68b	6,79	2,4	4,62b	0,51	0,80	0,66a	148,53	75,20	111,87b	6,02	1,89	3,96b
\bar{X}	3,77	3,11		9,24a	6,24b		0,43b	0,62a		195,57a	135,91b		9,47a	6,37b	
Dif. entre inoculação															
	*			**			*			**			**		
Dif. entre variedades															
	N.S.			**			**			**			**		
Int. inoc. x Var.	N.S.			N.S.			N.S.			N.S.			N.S.		
CV (%)	29,63			14,84			28,38			15,50			22,44		

* Indica diferença significativa à probabilidade de 5%

** Indica diferença significativa à probabilidade de 1%

vamente a época de colheita, antecipando o amadurecimento das vagens (Tabela 4). Observou-se também interação entre inoculação e a cultivar V-48, notando-se que o aumento do peso seco de grãos e quantidade de proteína bruta das plantas inoculadas foi bem maior (teste Duncan 5%). A cultivar Quebra-cadeira não apresentou aumentos significativos (teste Duncan 5%).

A percentagem do comprimento das

raízes infectadas 40 dias após a inoculação variou de 66%-87% para Quebra-cadeira, 64%-79% para V-48 e 0% para as plantas não inoculadas. A análise de solo após o plantio mostrou que a concentração de P disponível nos solos inoculados com micorriza foi bem menor do que nos solos sem micorriza, sendo de 3,4ppm e 1,9ppm para Quebra-cadeira e V-48 inoculadas; 6,8ppm e 6,6ppm para Quebra-cadeira e V-48 não inoculadas.

TABELA 4. Efeito da inoculação de micorriza VA sobre produção de grãos de duas cultivares de caupi.

	Peso seco grão (sol) (g/pl)			Peso seco grão (estufa) (g/pl)			Proteína bruta do grão (g/pl)			Nº de grão/pl.			Dias de coleta/pl.		
	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}	Q. cadeira	V-48	\bar{X}
Inoculado	6,64a	5,84a	6,24	5,98	5,08a	5,53	1,45a	1,35a	1,40	35,75	32,75	34,25a	62,00	69,00	65,50b
Não inoculado	6,08a	2,48c	4,29	5,46a	2,22b	3,84	1,32a	0,60b	0,96	25,75	15,25	20,50b	70,25	84,00	77,13a
\bar{X}	6,36	4,16		5,72	3,65		1,39	0,97		30,75a	24,00b		66,13b	76,50a	

Dif. entre inoculação		**			**			**			**			**	
Dif. entre variedades		**			**			**			*			**	
Int. inoc. x Var.		*			*			*			N.S.			N.S.	
CV (%)		19,66			19,76			20,46			15,96			5,17	

* Indica diferença significativa à probabilidade de 5%

** Indica diferença significativa à probabilidade de 1%

DISCUSSÃO

A fumigação do solo provavelmente reduz mas não elimina totalmente os endófitos nativos (Islam & Ayanaba 1981a), isto pode ter contribuído para a nodulação espontânea das plantas utilizadas neste experimento. A ocorrência de micorriza VA em leguminosas que nodulam é um exemplo de infecção dupla envolvendo a bactéria que fixa nitrogênio e o fungo que aumenta a absorção de nutriente pela planta, especialmente fósforo, através de uma associação simbiótica com as raízes da planta. Para nodulação e fixação de nitro-

gênio, uma quantidade adequada de fósforo no solo é indispensável (Schreven 1958). No solo de baixo teor de fósforo, a leguminosa não consegue nodular sem ser infectada pela micorriza (Asai 1944). Segundo Crush (1974), o aumento de nodulação na presença de micorriza ou adubação fosfatada solúvel é devido a um aumento no fornecimento de fósforo à planta. Entretanto, o aumento de nodulação pode ser considerado um efeito indireto da micorriza sobre o Rhizóbium.

Godse (1978) observou que a inoculação com micorriza aumentou a nodulação e crescimento de caupi, tanto nas plantas

inoculadas com *Rhizobium* como nas plantas noduladas naturalmente. Islam & Ayanaba (1981b) relatou que no solo fumigado com formalina ou não sob condições de campo, a inoculação com micorriza no início do plantio aumentou o peso seco da parte aérea, infecção da raiz N e P total e produção de grãos. Os mesmos efeitos benéficos da inoculação foram observados neste trabalho. A inoculação com micorriza aumentou sensivelmente a produção de matéria seca, quantidades de N e P absorvidas e produção de grãos.

A proporção sistema radicular/parte aérea da planta inoculada foi reduzida em relação ao tratamento não inoculado. Hayman e Mosse (1971) verificaram que as plantas não inoculadas de cebola absorvem menos fósforo, enquanto as suas proporções de raiz/parte aérea foram duas vezes maior do que as plantas inoculadas, sugerindo que o aumento de absorção de nutrientes com inoculação de micorriza não resultou de um crescimento proporcionalmente maior do sistema radicular. Foi observado também que o sistema radicular das plantas inoculadas apresentou raízes mais finas e ramificadas. A mesma observação foi descrita pelo Sieverding (1980) em raízes de sorgo inoculadas com micorriza. A alteração da morfologia da raiz pode ser um feito micorrízico e ter contribuído para o aumento de absorção de nutrientes pela planta.

Segundo Mosse (1972), a efetividade da endomicorriza em aumentar o crescimento e absorção de nutrientes da planta depende dos estados fisiológicos do fungo e da planta, condições do solo e interação entre eles. Portanto, diferentes plantas respondem diferentemente à infecção micorrízica. Quebra-cadeira e V-48 são duas cultivares morfológicamente e fisiologicamente distintas. A inoculação com micorriza promoveu o desenvolvimento de ambas as cultivares em diferentes graus, sendo a efetividade da micorriza maior na cultivar V-48.

A inoculação com micorriza reduziu significativamente o ciclo da planta de cau-

pi sob condições de casa-de-vegetação. O aumento em absorção de nutrientes e o crescimento da planta podem ter contribuído para o amadurecimento antecipado da planta.

Os resultados deste trabalho preliminar mostraram perspectiva de se utilizar micorriza na produção de caupi na região amazônica.

CONCLUSÃO

A inoculação com micorriza VA aumentou significativamente a nodulação, o crescimento, a absorção de N e P e a produção de grãos de caupi.

O aumento de absorção de nutrientes com inoculação de micorriza não resultou num crescimento proporcionalmente maior do sistema radicular, embora, a presença de micorriza tenha alterado a morfologia das raízes.

A inoculação com micorriza estimulou o desenvolvimento da planta, antecipando sua fase reprodutiva sob condições de casa-de-vegetação.

Existem diferentes graus de efetividade da micorriza entre as diferentes cultivares de caupi.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos auxiliares Srta. Marluce Pereira da Costa e Sr. Ocir Matos de Moraes pela ajuda prestada na realização deste experimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASAI, T. Über die Mycorrhizenbildung der Leguminosen-Pflazen. *Japan. J. Bot.*, 13:463-85, 1944.
- CRUSH, I.R. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza VII. Growth and nodulation of some herbage legumes. *New Phytol.*, 73(4):743-52, 1974.
- GERDEMANN, J.M. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. R. Phytopath.*, 6:397-418, 1968.

- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting **Trans. Brit. Mycol. Soc.**, **46**, 235-44, 1963.
- GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytol.**, **84**(3):498-500. 1980.
- GODSE, D.B.; WAIN, S.P.; PATIL, R.B. & BAGYARAJ, D.J. Response of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) to Rhizobium-VA mycorrhiza dual inoculation, **Curr; Sci.**, **47**(20):784-5, 1978.
- HAYMAN, D.S. & MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Growth of endogene-inoculated plants in phosphate-deficient soils. **New Phytol.**, **70**:19-27, 1971.
- HOMER, D.C. & PARKER, F.P. Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas. México, Triallas, 1973.
- ISLAM, R. & AYANABA, A. Growth and yield responses of cowpea and maize to inoculation with *Glomus mosseae* in sterilized soil under field conditions. **Plant and soil**, **63**:505-9, 1981a.
- ISLAM, R. & AYANABA, A. Effect of seed inoculation and pre-infecting cowpea (*Vigna unguiculata*) with *Glomus mosseae* on growth and seed yield of the plants under field conditions **Plant and Soil**, **61**:341-50, 1981.
- MOSSE, B. The influence of soil type and endogone strain on the growth of mycorrhizal plants in phosphate deficient soils. **R. Ecol. Biol. Soil.**, Paris, **9**(3):529-37, 1972
- MOSSE, B. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. **Annu. R. Phytopathol.**, **11**:171-96, 1973.
- MOSSE, B. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture and human resources.** s.l., university of Hawaii, 1981. (Research Bulletin, 194).
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Trans. Br. Mycol. Soc.**, **55**:158-61, 1970.
- SCHREVEN D.A. van. (1958). Some factors affecting the uptake of nitrogen by legumes. In: HALLSWORTH, E.G. ed. **Nutrition of legumes.** London, Butterworths, 1958. p.137.
- SIEVERDING, E. **Einfluss der Bodenfeuchte auf Entwicklung und Effektivität Der vesikulär-arbuskulären Mykorrhiza.** Fakultät der Georg-August-universität. Göttingen, 1980. Tese doutorado.