

RELAÇÕES GENÉTICAS ENTRE O ALGODOEIRO MOCÓ E DIFERENTES ESPÉCIES E RAÇAS DE ALGODOEIRO (Genetic Relationships among "Mocó" and other Species and Races of Cotton (*Gossypium* spp.))

Eleusio Curvelo Freire e José de Alencar Nunes Moreira

ABSTRACT

Five morphologically distinct populations of "moco" cotton were used for comparison with populations of *G. hirsutum* var. *marie galante* exotic, *G. barbadense* and *G. hirsutum* "verdões". Dispersion diagrams, multivariate statistical analyses, and morphological and technological indices were determined by using three to 10 entries from each group. We proved that "moco" cotton is made up of two genetically distinct populations of *G. hirsutum* var. *marie galante* exotic, and *G. barbadense* which, clearly, makes it incorrect to classify this cotton as *G. hirsutum* var. *marie galante*.

INTRODUÇÃO

O algodoeiro mocó cultivado no Nordeste brasileiro tem recebido, ao longo de sua história evolutiva, diversas classificações da parte dos especialistas. Green (1916), ao estudar o material de mocó coletado nas serras da região do Seridó do Rio Grande do Norte, classificou-o como *Gossypium vitifolium*. Luetzelburg (1922), filiou o mocó ao *G. herbaceum* var. *vitifolium*; todavia, não adiantou maiores detalhes no que respeita à classificação que adotou. Harland (1933), discordou desta classificação e das anteriores, preferindo considerar o mocó como pertencente ao *G. purpurascens*. A classificação do algodoeiro mocó nesta espécie foi, no entanto, abandonada depois que Hutchinson *et al.* (1947), propuseram enquadrá-lo como *G. hirsutum* r. *marie galante* como, aliás, é até hoje classificado este algodoeiro em cultivo

no Nordeste do Brasil. Segundo os autores, os pressupostos para esta classificação baseavam-se no fato de que o mocó se diferenciava das demais raças do *G. hirsutum*, por apresentar controle fotoperiódico para o início da floração, hábito de crescimento monopodial e número reduzido de dentes nas brácteas. Stephens (1967), entretanto, considerava falha esta diferenciação, por não permitir discriminação entre *marie galante*, *G. hirsutum* var. *punctatum* e *G. barbadense* que, por serem simpátricas nas Antilhas e no norte da América do Sul, apresentavam-se com características muito semelhantes nas áreas onde ocorre sobreposição de suas distribuições.

No caso específico do Nordeste do Brasil, a área de distribuição do algodoeiro mocó nesta região se sobrepõe às distribuições de *G. barbadense* var. *brasiliense*, *G. barbadense* e de *G. mustelinum*, conforme estabelecido por Hutchinson *et al.* (1947) e Pickersgill *et al.* (1975). A introgressão de genes de algodoeiros Upland (*G. hirsutum latifolium*) e de *G. barbadense* no genoma do algodoeiro mocó, tem sido discutida por Boulanger e Pinheiro (1972), e também têm sido obtidas evidências da introgressão de *G. mustelinum* no genoma do algodoeiro mocó da região do Seridó do Rio Grande do Norte (Freire *et al.*, 1989).

Por outro lado, os melhoristas de algodão do Nordeste do Brasil têm observado que no algodoeiro mocó são constatadas populações distintas quanto as suas características morfológicas, ecológicas e tecnológicas de fibra.

O presente trabalho reabre a questão da classificação do mocó, baseando-se em comparações efetuadas entre este algodoeiro e outras raças e espécies do gênero *Gossypium*, através de métodos convencionais e da Taxonomia Numérica. É seu objetivo aquilatar o grau de proximidade genética entre os algodoeiros estudados para que, assim, se possa melhor ajuizar sobre a atual classificação do mocó.

MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado no presente estudo faz parte do Banco Ativo de Germoplasmas (BAG), pertencente ao Centro Nacional de Pesquisa do Algodão e mantido no Campo Experimental de Patos, PB, desta instituição. O citado Campo encontra-se localizado na região fisiográfica do Seridó, considerada habitat natural do algodoeiro mocó. Esta região caracteriza-se por apresentar predominância de solos Bruno Não-Cálcico, com clima árido e normal pluviométrica situada na faixa dos 658,6 mm.

Os algodoeiros estudados constam da Tabela I e foram anteriormente descritos por Freire *et al.* (1989). Para os propósitos do estudo, os acessos foram classificados em quatro grupos e em cinco subgrupos. Os grupos acham-se representados por: 1) *G. hirsutum* r. *marie galante* Hutch (exótico); 2) *G. barbadense* var. *brasiliensis*; 3) tipos Verdões pertencentes ao *G. hirsutum* L., e 4) o grupo repre-

sentado pelo algodoeiro conhecido com a designação geral de mocó. Este último subdividiu-se em cinco subgrupos, incluindo o "Mocó de Fibra Creme", "Mocó Francisco Raimundo", "Mocó das Serras", "Mocozinho" e, por fim, o "Mocó Melhorado".

Tabela I - Identificação e origem dos grupos e entradas avaliadas no Campo Experimental de Patos, PB, 1986.

Grupo	Nº das entradas	Origem
1. <i>G. hirsutum</i> var. <i>marie galante</i> Exótico	BAG 83-172 BAG 83-174 BAG 83-176	St. Thomas-I Virgens - Dr. Stephens Ma. 7 - Texas - IAC Ma. 12 - IAC - St. Lúcia
2. <i>G. barbadense</i> var. <i>brasiliense</i> <i>G. barbadense</i>	BAG 83-22 BAG 84-35 e 36	Rim-de-Boi - Altos, PI Quebradinho - Maranhão, MA
3. <i>G. hirsutum</i> (verdão) <i>G. hirsutum</i> (verdão)	BAG 83-205 BAG 82-273 e 274	Assis Caboclo - Patos, PB Firmino de Moça - Sousa, PB
4. 4.1. <i>G. hirsutum</i> (mocó)	BAG 83-30, 34, 55 58, 90, 97, 118, 137, 162 e 361	Mocó das Serras do Vale do Seridó - Acari, RN
4.2. <i>G. hirsutum</i> (mocó)	BAG 83-01, 02, 09, 11, 16 37, 54, 108, 146 e 178	Mocó de fibra creme dos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba
4.3. <i>G. hirsutum</i> (mocó)	BAG 83/100, 111, 112, 129, 136, 245, 158, 254, 237, 240	Mocó tipo Francisco Raimundo, coletado na Serra do Barnabé - Acari, RN
4.4. <i>G. hirsutum</i> (mocó)	BAG 83/08, 10, 17, 18, 207, 220, 224, 227, 253 e 262	Mocozinho coletado no Estado do Ceará
4.5. <i>G. hirsutum</i> (mocó)	BAG 83/46, 60, 70, 74, 82, 95, 147, 159, 219, 229, 233 e 255	Mocó melhorado coletado em campos de agricultores do Rio Grande do Norte (cultivares SI-20, MF ₄ e 9193)

O plantio dos algodoeiros foi realizado em linhas de progênies de 10 m de comprimento, sem repetição e distribuídas ao acaso na área em que foi instalado o ensaio.

De cada grupo e subgrupo de algodoeiro foram escolhidas, antes do florescimento, cinco plantas ao acaso, a partir das quais foram tomadas as medidas morfológicas indicadas nas Figuras 1 a 3, para as características das folhas, brácteas e flor. Posto isto, procedeu-se ao cálculo das médias e desvios-padrões, para cada característica. Os valores encontrados para as médias foram então utilizados para o cálculo dos índices morfológicos utilizados por Stephens (1964, 1967), Loza Bonifaz e Giles Saenz (1971) e Boulanger e Pinheiro (1972), em seus estudos de evolução no gênero *Gossypium*. As expressões utilizadas para o cálculo dos índices estão apresentadas na Tabela II. Estes índices foram usados na confecção de diagramas de dispersão, conforme sugerido por Anderson (1949). Nos diagramas, adotou-se, para cada acesso, a combinação de dois índices ou de um deles com determinada característica morfológica, após o que os valores de suas médias foram inseridos no sistema de eixos coordenados. A inserção dos pares de dados nos diagramas permitiu, assim, apreciar a disposição dos pontos correspondentes a cada um dos algodoeiros estudados.

O mesmo conjunto de dados foi utilizado, também, para o estudo da técnica de análise multivariada representada pela análise de conglomerados. Com esta finalidade, os dados foram primeiramente organizados na forma de uma matriz, nas quais as linhas representavam os algodoeiros e as colunas, os caracteres estudados. Em seguida, as características e os índices foram todos estandarizados, através da divisão dos valores das médias constantes em cada coluna, pelos desvios-padrões correspondentes a cada um dos acessos estudados. Com este procedimento, corrigiu-se o efeito de escala ocasionado pelo fato dos caracteres serem medidos em unidades diferentes, com o que foi possível dar a cada um deles o mesmo peso na classificação.

Com as novas médias computou-se a matriz de dissimilaridade envolvendo os diversos pares de algodoeiros, usando, como medida de relação, a distância Euclidiana generalizada Δ_{ij} , segundo a expressão:

$$\Delta_{ij} = \left[\sum_{i,j}^n (X_{ij} - X_{ik})^2 \right]^{1/2}$$

onde:

X_{ij} = valor estandarizado do i-ésimo atributo para o j-ésimo acesso.

X_{ik} = valor estandarizado do i-ésimo atributo para o k-ésimo acesso.

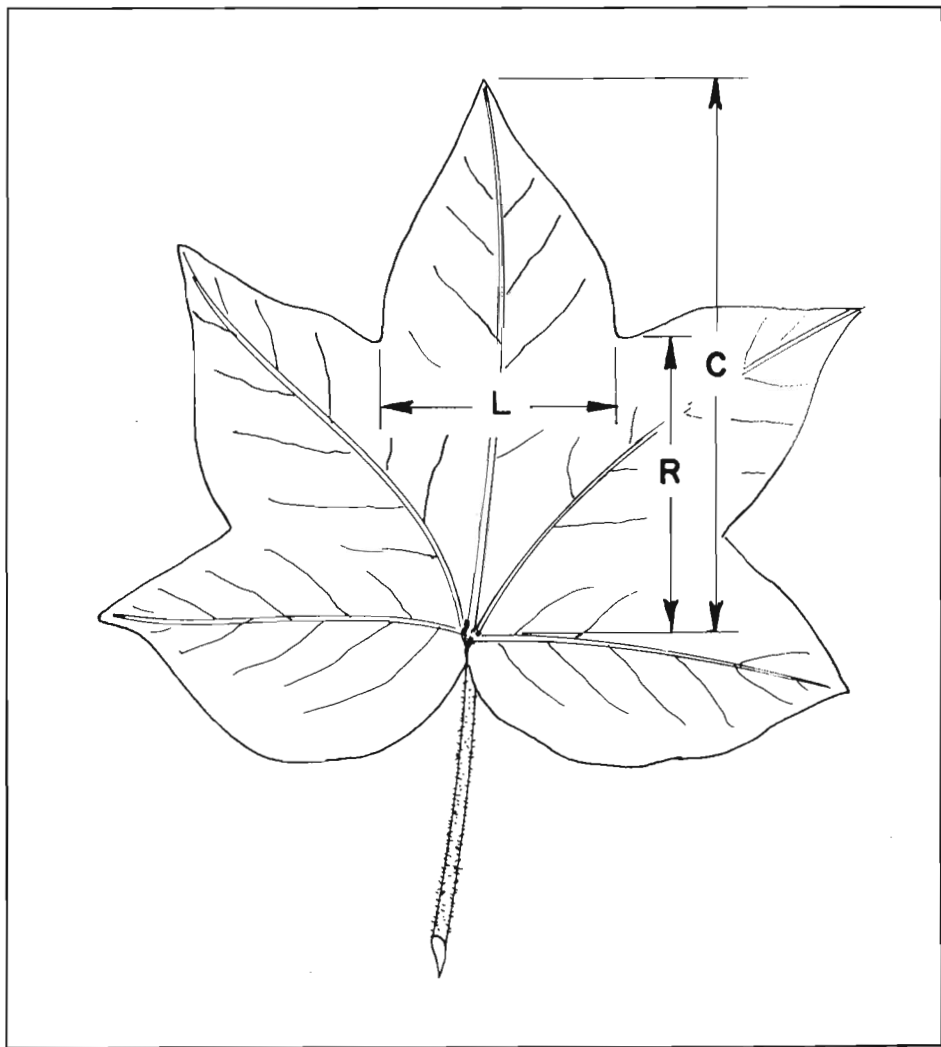


Figura 1 - Representação dos caracteres da folha: C - comprimento; L - largura do lobo central; R - recorte.

Em seguida, adotou-se o procedimento da conglomeração, segundo o método do grupo de pares não ponderados, usando-se as médias aritméticas como indicado por Sokal e Sneath (1963). Por fim, dos dados gerados a partir das distâncias calculadas, construiu-se o dendograma constante da Figura 10 a partir do qual foram apreciadas as relações entre os algodoeiros em estudo.

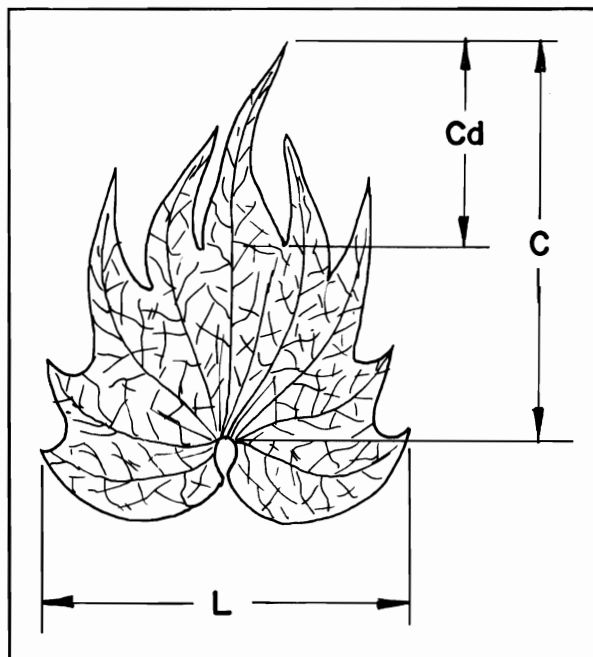


Figura 2 - Representação dos caracteres das brácteas: L - largura maior da bráctea; C - comprimento da bráctea; Cd - comprimento do dente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela III contém as médias, desvios-padrões e coeficientes de variação para os caracteres e índices dos grupos e subgrupos estudados, cujo exame revela que os atributos utilizados no estudo mostraram-se bastante variáveis apresentando-se os coeficientes de variação na amplitude de 41,4% para a finura da fibra a 5,8% correspondentes ao índice de maçã. Desta forma, um tão amplo limite para a variabilidade nos atributos é um indício de que eles realmente possam diferir entre os grupos e subgrupos e, como tal, sirvam para os propósitos de sua discriminação.

Os diagramas de dispersão com esta finalidade são encontrados nas Figuras 4 a 9. O exame de alguns desses diagramas mostra que há tendência de maior agrupamento dos pontos correspondentes a cada um dos grupos representando os algodoeiros. Esta tendência é bem manifestada nas Figuras 6 e 7, quando são referidos nos eixos coordenados, respectivamente, o índice de recorte da folha, o índice de forma da folha, o índice de sementes e o índice de maçãs. No segundo,

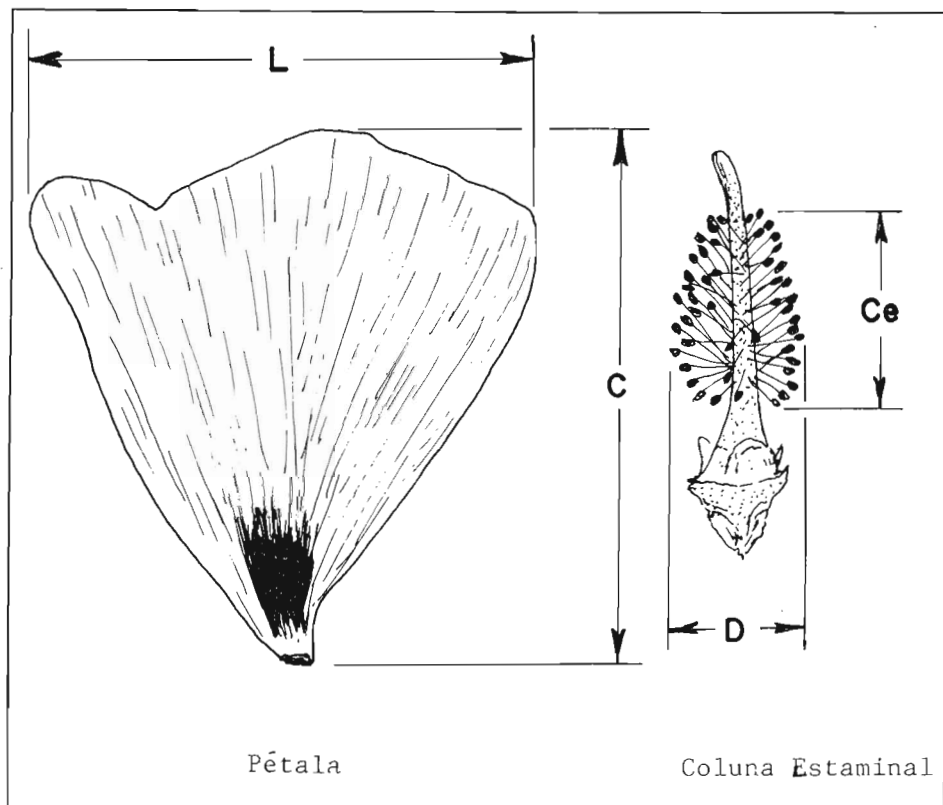


Figura 3 - Representação dos caracteres da flor: C - comprimento da pétala; L - largura da pétala; D - diâmetro da coluna estaminal; Ce - comprimento da coluna estaminal.

particularmente, é bem concentrada a distribuição dos pontos, representando os tipos de mocó e evidenciando, assim, a proximidade taxonômica dos acessos que o representam. Neste aspecto, adotando-se os atributos citados, a técnica do diagrama de dispersão serviu perfeitamente ao propósito em mira no trabalho, que era o de, realmente, discriminar este grupo dos demais estudados. Nos outros casos, constantes das Figuras 4 e 5, a distribuição dos pontos é muito dispersa e, como tal, não dá indicações das concentrações dos pontos correspondentes a cada um dos acessos em estudo. A técnica, neste aspecto, revelou-se falha pois, dependendo dos atributos adotados, pode não cumprir o seu objetivo discordando, em parte, das posições defendidas por Anderson (1949) e Stephens (1964 e 1967), de que estes índices eram

eficientes para detecção de diferenças entre grupos de uma mesma espécie. Outro aspecto que os diagramas de dispersão revelam, é a condição de intermediaridade da raça *marie galante* em relação aos tipos de mocó, e o *G. barbadense*, mostrada nas Figuras 6 e 9. A posição desta raça, neste caso, embora não repetida no diagrama da Figura 6, vem em reforço da tese defendida por Stephens (1967), em ser a raça *marie galante* um produto mesmo da introgressão do *G. barbadense* no *G. hirsutum*, numa grande área em que as espécies são simpátricas. De outra parte, é uma evidência também de que os tipos de mocó estudados possam constituir uma unidade à parte e, possivelmente, separada quer do *marie galante* ou do *G. barbadense*.

Tabela II - Métodos de obtenção e expressão dos vários índices estudados em cada acesso.

Índices	Métodos de Obtenção	Expressão
1. Tamanho da Bráctea	Raiz quadrada do produto do comprimento (C) pela largura (L)	$\sqrt{C \times L}$
2. Dentes na Bráctea	Divisão da diferença do comprimento da bráctea (C) e comprimento do dente (Cd) pelo comprimento (C) da bráctea (x 100)	$\frac{C - Cd}{C} \times 100$
3. Forma da Folha	Divisão da diferença do comprimento da folha (C) e medida do recorte (R) pela largura da folha no lóbulo central (L)	$\frac{C - R}{L}$
4. Recorte de Folha	Divisão do recorte (R) pelo comprimento da folha (C)	R/C
5. Tamanho da Maçã	Divisão do diâmetro máximo da maçã (D) pelo seu comprimento também máximo (C) (x 100)	D/C x 100
6. Tamanho da Semente	Raiz quadrada do comprimento máximo (C) pelo diâmetro também máximo (D) da semente	$\sqrt{C \times D}$

Tabela III - Valores das médias e desvios-padrões dos diversos caracteres nos germoplasmas estudados.

Entrada	Nº Dentes	Comprimento Colúna Estaminal (mm)	Comprimento Pétala (mm)	Tamanho Bráctea (índice)	Dentes da Bráctea (índice)	Forma Folha (índice)	Recorte da Folha (índice)	Tamanho da Maçã (índice)	Tamanho da Semente (índice)	Finura da Fibra (índice)	Comprimento da Fibra (mm)
1. Marie galante exótico	5,7	22,7	49,3	26,0	0,6	1,9	0,3	54,0	4,9	3,8	29,9
2. G. barbadense	9,3	23,3	63,0	36,9	0,7	2,6	0,3	57,7	6,1	5,5	23,7
3. Verdões	5,3	30,3	66,0	32,9	0,6	1,3	0,4	60,3	5,5	3,9	30,6
4. Fibra Creme	6,4	25,7	60,5	33,5	0,6	1,2	0,5	63,1	5,3	4,1	31,9
5. Francisco Raimundo	4,6	26,1	54,9	27,6	0,6	1,2	0,5	59,2	5,6	3,8	33,0
6. V. Sentido	5,1	24,2	57,5	28,7	0,6	1,2	0,5	55,3	5,5	3,7	33,4
7. Mocozinho	6,1	24,6	54,3	26,2	0,6	1,2	0,5	63,4	5,3	4,1	29,5
8. M. Melhorado	5,5	25,6	51,1	27,5	0,7	1,3	0,5	57,7	5,7	3,7	34,3
Totais	48,0	202,5	456,6	239,3	5,0	11,9	3,5	470,7	43,9	32,6	246,3
Médias	6,0	25,3	57,0	29,9	0,6	1,5	0,4	58,8	5,5	4,1	30,8
Desvios-padrões	1,4	2,3	5,8	4,0	0,05	0,5	0,09	3,4	0,3	1,7	3,3
CV %	23,3	9,1	10,2	13,4	8,3	33,3	22,5	5,8	5,4	41,5	10,7

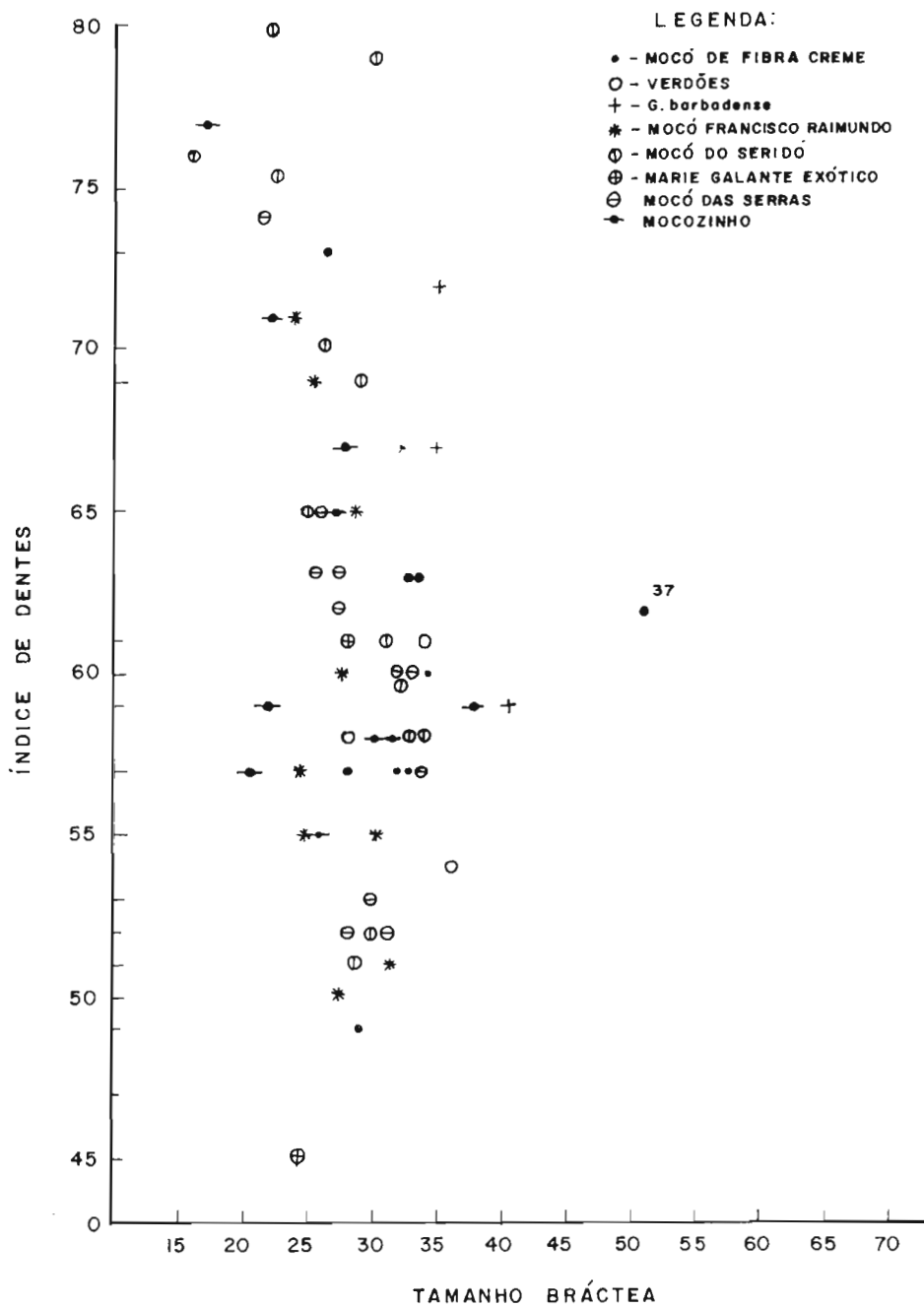


Figura 4 - Diagrama de dispersão para caracteres da bráctea.

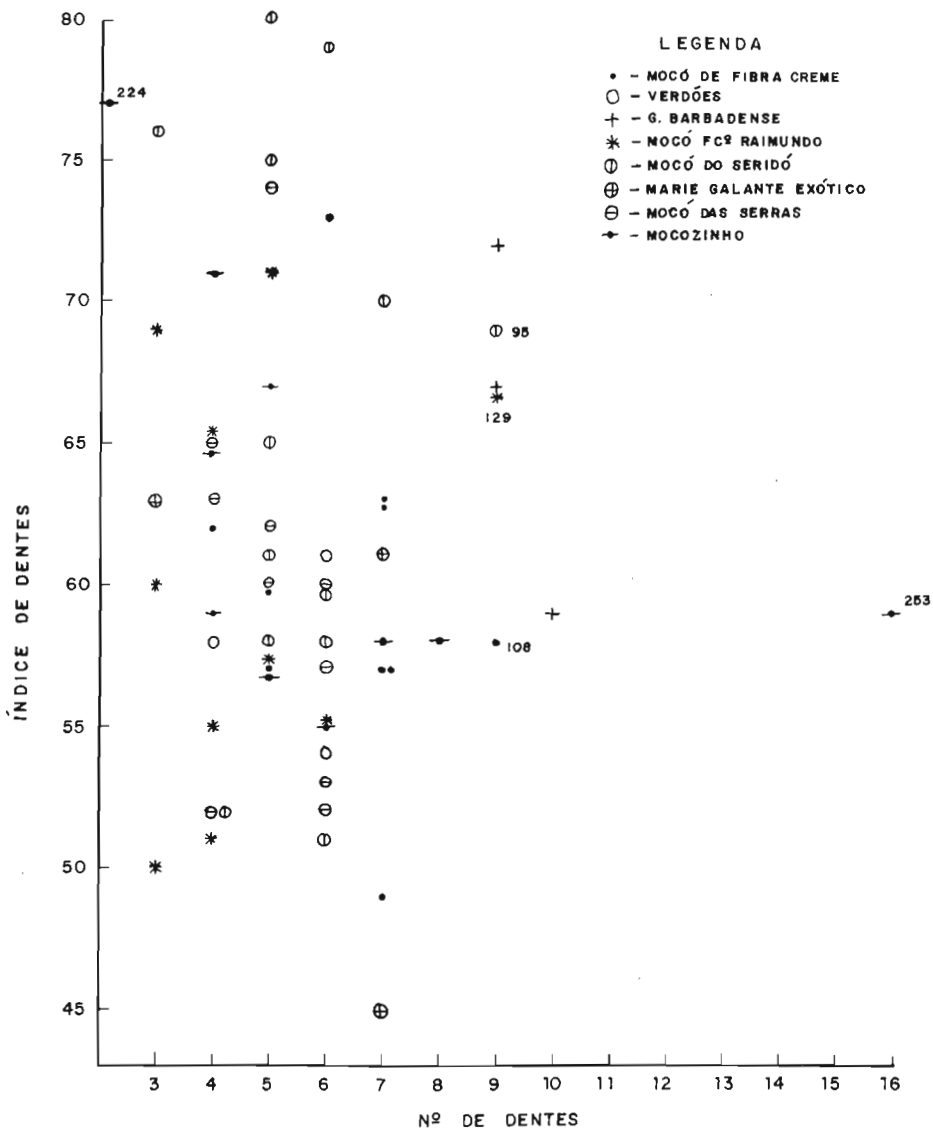


Figura 5 - Diagrama de dispersão para número de dentes.

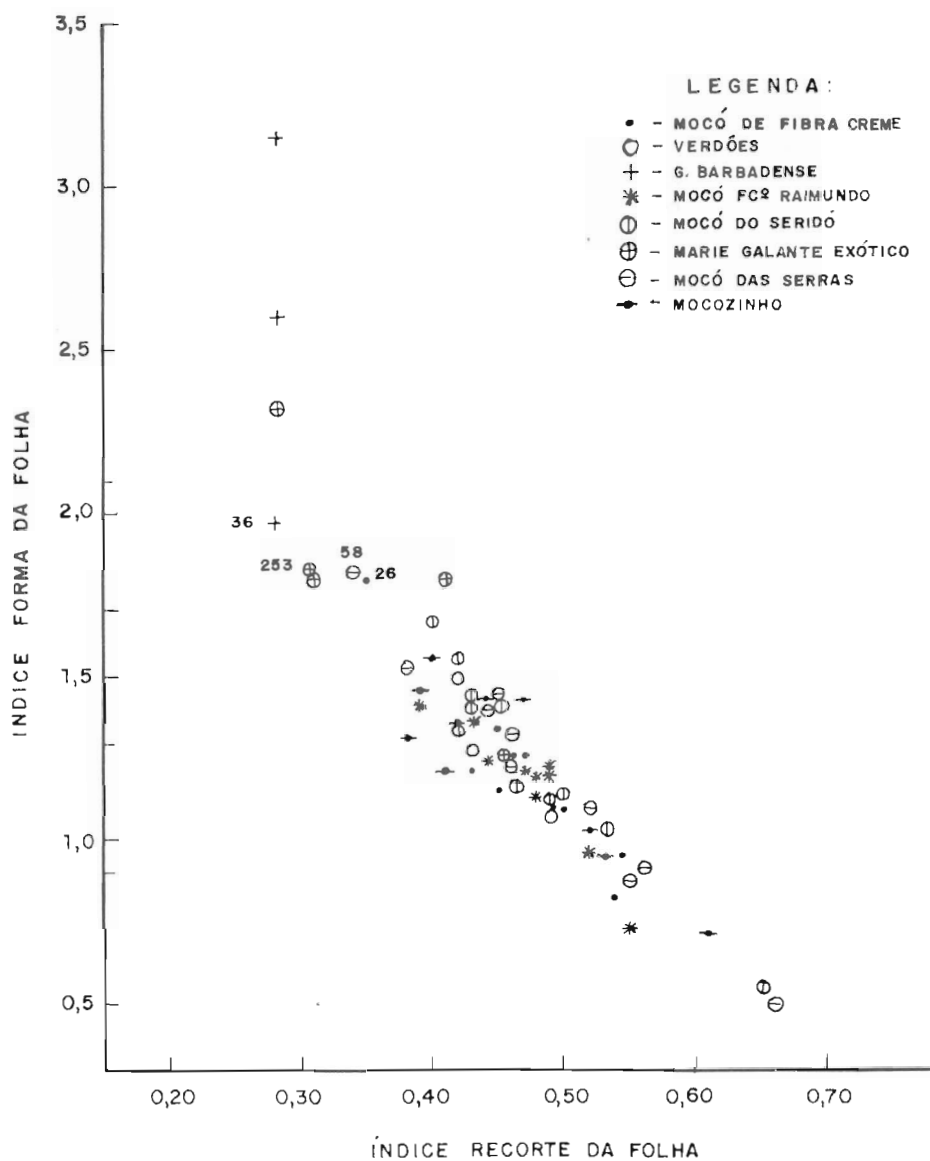


Figura 6 - Diagrama de dispersão para os caracteres da folha.

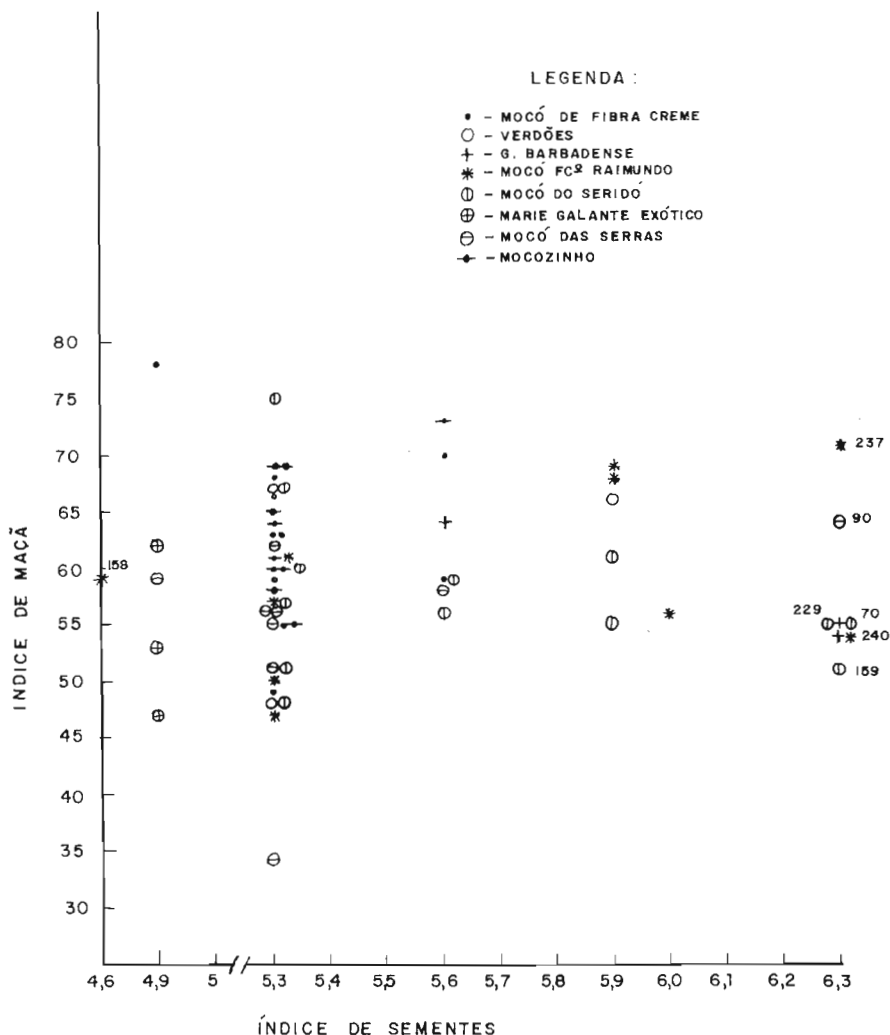


Figura 7 - Diagrama de dispersão para os caracteres do fruto e semente.

Os dados obtidos com o emprego da análise de conglomerados acham-se sumarizados no dendograma constante na Figura 10. Observa-se, do seu exame, que é possível identificar dois grupos de algodoeiro. O primeiro, constituído pelo "Mocó Francisco Raimundo" (M.F.R.) e "Vale do Seridó" (M.V.S.), e o segundo, pelo "Mocó de Fibra Creme" (M.F.C.), e o "Mocozinho" (M.Z.). Ao primeiro grupo liga-se, ainda, o "Mocó Melhorado" (M.M.), enquanto constituem grupos isolados o algodoeiro do

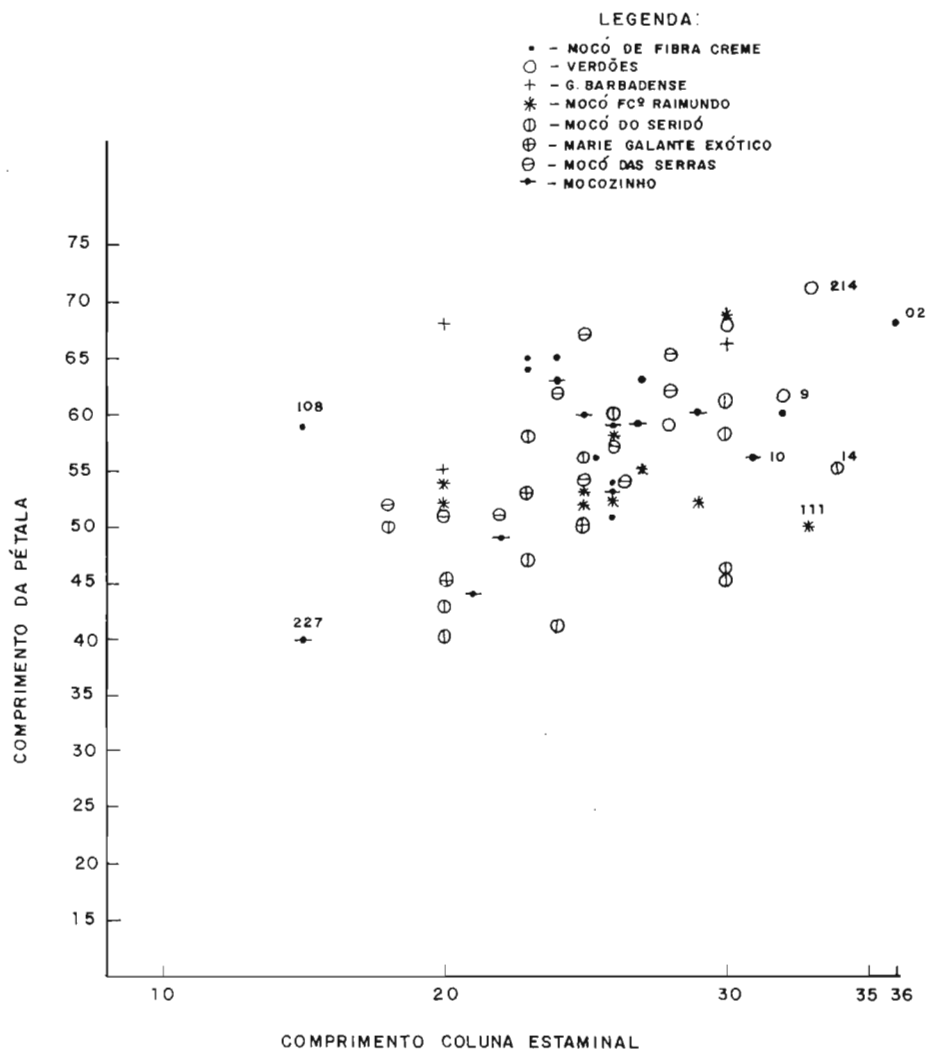
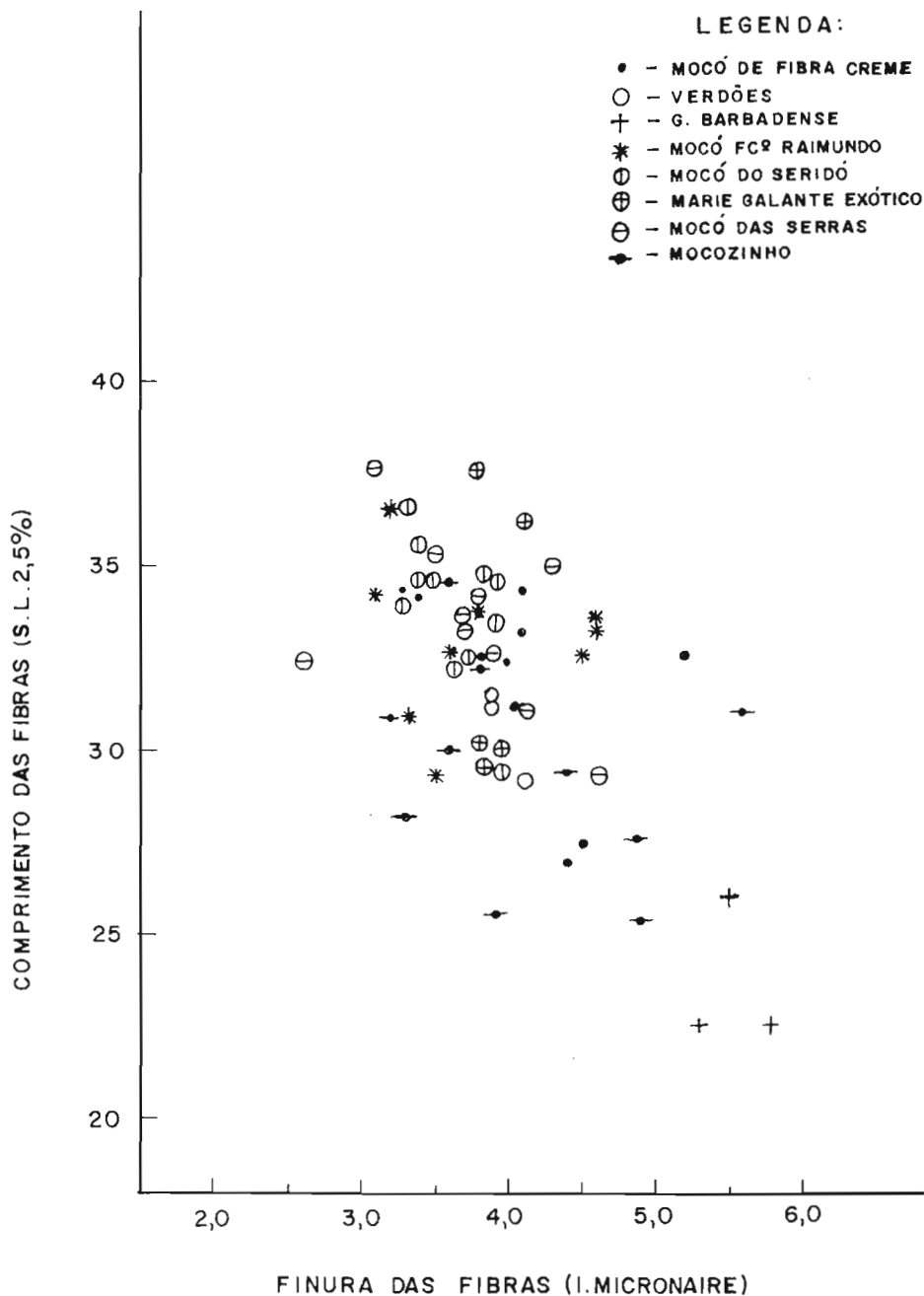


Figura 8 - Diagrama de dispersão para caracteres da flor.



tipo Verdão (V), o *G. barbadense* e os representantes da raça *marie galante* (M.G.). O resultado, como se vê, confirma plenamente o que já havia sido constatado pelo exame dos diagramas constantes nas Figuras 6, 7 e 9, quando se evidenciou a possibilidade de que os tipos de mocó estudados pudessem constituir um grupo à parte e separado quer do *marie galante* ou do *G. barbadense* como, aliás, foi encontrado também usando a técnica da análise de conglomerados.

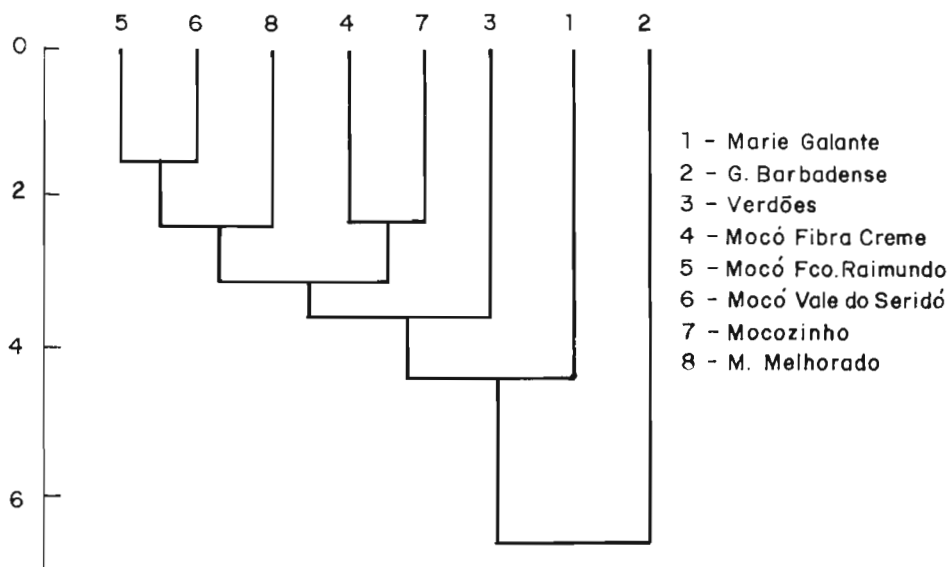


Figura 10 - Dendrograma mostrando as relações entre as amostras de germoplasmas estudados.

A similaridade no primeiro grupo entre o (M.F.R.) e o (M.V.S.) concorda, de certo modo, com as relações filogenéticas envolvendo os algodoeiros citados. Com efeito, o "M.F.R." foi selecionado no passado por um adiantado agricultor do Rio Grande do Norte, o Capitão Francisco Raimundo, a partir de introduções no Vale do Seridó, neste Estado. Assim sendo, deve ser aparentado com os tipos antigos de mocó cultivados nesta região como, aliás, são os representantes do "M.V.S." utilizados no estudo. De modo semelhante, pode-se explicar a similaridade desses algodoeiros com o "M.M.", considerando-se ser este o produto da seleção de germoplasmas, também da região do Seridó, já mencionada. Num caso e no outro, a similaridade pode bem refletir as relações filogenéticas envolvendo os três tipos de algodoeiro, devido ao tronco comum em que os mesmos se originaram.

A similaridade entre o "M.F.C. e o "M.Z.", ambos com frequência elevada de plantas de tonalidade de cor creme da fibra, poderia ser, talvez, explicada pela possível participação do *G. mustelinum* Miers no genoma de ambos os algodoeiros, mas o certo mesmo é que eles formam um grupo à parte e separado do "M.F.R.", do "M.V.S." e do "M.M."

A separação do Verdão (V) do grupo constituído pelos três algodoeiros anteriormente mencionados, já era esperada, pois a sua proximidade maior é mesmo em relação à raça *latifolium*, conforme encontrado por Boulanger e Pinheiro (1972). Este algodoeiro é tido como descendente híbrido entre representantes desta raça e o mocó; porém no estudo aparece como grupo separado dos "M.F.R.", "M.V.S." e do "M.M.". No entanto, a separação desses algodoeiros da raça *marie galante* é, até certo ponto, uma novidade, pois contraria até a classificação do algodoeiro mocó cultivado no Nordeste brasileiro dentro desta raça. Na verdade, os dados obtidos no presente trabalho evidenciam que as amostras de "M.F.R.", "M.V.S." e "M.M." apresentam-se, para a maioria dos caracteres analisados, bem divergentes dos representantes da citada raça (Tabela II). Este fato pode ser o responsável pelo acentuado valor de assimilaridade, separando os grupos referidos do *marie galante* e dos demais algodoeiros em estudo (Figura 10).

Portanto, com base nas amostras de algodoeiro mocó estudados, não vemos como corroborar a sua classificação na raça *marie galante* como, aliás, vem sendo descrito até hoje. Os dados sugerem, pelo contrário, que os representantes desse algodoeiro constituem um grupo individualizado e à parte, tanto do *G. barbadense* como da raça mencionada. Neste caso, a se configurar este mesmo resultado em estudos posteriores, não se pode justificar o fato de o algodoeiro mocó ser incluído na raça *marie galante* e, como tal, ficaria reforçada a origem autoctane deste algodoeiro. O resultado, por outro lado, contrariando a filiação do algodoeiro na raça *marie galante*, anula a tese de que esta raça tenha chegado ao Brasil por meio dos holandeses que se estabeleceram no litoral nordestino e aí passaram a cultivá-la a partir de introduções das Antilhas via oeste da África como, aliás, defende Stephens (1967).

Neves *et al.* (1965) defendem, neste particular, que, apesar de o mocó estar incluído na raça *marie galante*, as opiniões, tanto entre o povo da região do Seridó como entre alguns especialistas, é de que ele se teria evoluído nesta região do Rio Grande do Norte, a partir de formas selvagens que ainda hoje se encontram esporadicamente nas montanhas daquela região. Nesta suposição, fica mais do que explicado o porquê da separação deste algodoeiro da raça *marie galante*, como evidenciado, aliás, pelos dados do presente trabalho.

CONCLUSÕES

1. A técnica dos diagramas de dispersão foi eficiente na discriminação entre o *G. marie galante* exótico, o *G. barbadense* e o algodoeiro mocó.

2. Foram discriminados dois subgrupos no algodoeiro mocó, envolvendo os algodoeiros de fibra creme e mocozinho de um lado, e os demais tipos de mocó oriundos dos vales e serras do Seridó, de outro lado.

3. A análise de conglomerados evidenciou que o algodoeiro mocó constitui um grupo isolado, quer do *G. barbadense*, quer do *G. hirsutum marie galante* contrariando a classificação do mocó nesta última raça.

RESUMO

Foram utilizadas cinco populações morfológicamente distintas de algodoeiro mocó (*G. hirsutum* L.) para comparação com entradas de *G. hirsutum* var. *marie galante* exótico, *G. barbadense* e *G. hirsutum* verdões. A partir de três a 10 acessos de cada grupo, foram calculados índices morfológicos e tecnológicos, para confecção de diagramas de dispersão e análise por estatística multivariada. O uso dessas técnicas permitiu a comprovação de que o algodoeiro mocó é composto de duas populações geneticamente distintas do *G. hirsutum* var. *marie galante* exótico, bem como do *G. barbadense*, evidenciando a inadequação da classificação do algodoeiro mocó como *G. hirsutum* var. *marie galante*.

REFERÊNCIAS

- Anderson, E. (1949). *Introgressive hybridization*. New York, John Wiley e Sons, 109 p.
- Boulanger, J. e Pinheiro, D. (1972). Conseqüências genéticas da evolução da cultura algodoeira do Nordeste do Brasil. *Pesq. Agrop. Nordeste* 4: 5-51.
- Freire, E.C., Santos, M. dos S.S., Medeiros, L.C., Andrade, F.P. e Santos, E.O. dos. Avaliação preliminar da coleção de algodoeiro arbóreo do Nordeste brasileiro. Campina Grande, EMBRAPA/CNPA (no prelo).
- Green, E.C. (1916). Classificação botânica dos algodoeiros brasileiros. In: *Anais da Conferência Algodoeira*, 1 (Green, E.C.) São Paulo, Vol. 1.
- Harland, S.C. (1933). Some notes on mocó cotton in Brazil. *The Empire Cotton Growing Review* 10: 100-107.
- Hutchinson, J.B., Silow, R.A. and Stephens, S.G. (1947). *The evolution of Gossypium*. London, Oxford, University Press, 150 p.
- Loza Bonifaz, E. and Giles Saez, J. (1971). Estudio sobre la evolucion del *Gossypium barbadense* LIMMEO. *Anuales Científicos* 9: 1-17.
- Luetzelburg, P. von (1922). *Estudo Botânico do Nordeste*. Rio de Janeiro, Inspeção Federal de Obras Contra as Secas (Publicação 57).

- Neves, O. da S., Gridi-Papp, I.L., Cavaleri, P.A., Ferra, C.A.P., Fuzatto, M.G., Silva, N.M. da., Schmidt, W. e Correa, D.M. (1965). Distribuição geográfica atual dos algodoeiros perenes no Brasil. Primeiro levantamento parcial. *Bragantia* 27: 437-475.
- Pickersgill, B., Barrett, S.C.H. and Andrade Lima, D. (1975). Wild cotton in Northeast Brazil. *Biotrópica* 7: 42-54.
- Sokal, R.R. and P.H.A. Sneath. (1963). *Principles of Numerical Taxonomy*. W.H. Freeman and Company.
- Stephens, S.G. (1964). Native Hawaiian Cotton (*Gossypium tomentosum* Mult.). *Pacific Science* 18: 385-398.

(Recebido em 11 de Outubro de 1989)