

5-氨基乙酰丙酸对葡萄盐胁迫缓解效应的研究

刘 鹏, 赵 宝 龙, 王 文 静, 孙 军 利, 马 海 新, 张 祥

(石河子大学农学院,新疆 石河子 832003)

摘要:以耐盐性不同的2个葡萄品种“夏黑”(耐盐性较弱)和“里扎马特”(耐盐性较强)为试材,研究了在0、2、4 g/kg 3个盐胁迫水平下对2个葡萄品种叶面喷施0、75、150 mg/L浓度的5-氨基乙酰丙酸(ALA),对2个品种叶片中的可溶性蛋白质含量、脯氨酸含量、丙二醛(MDA)含量、相对电导率以及抗氧化酶(CAT、POD、SOD)活性的影响。结果表明:利用2 g/kg 盐胁迫和75 mg/L ALA,4 g/kg 盐胁迫和150 mg/L ALA 分别对“夏黑”和“里扎马特”葡萄进行处理时,二者叶片中的可溶性蛋白质含量、脯氨酸含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性均显著增加,而相对电导率与丙二醛(MDA)含量则显著降低。

关键词:5-氨基乙酰丙酸(ALA);葡萄;盐胁迫;缓解效应

中图分类号:S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2014)09—0019—04

葡萄(*Vitis vinifera*)是新疆种植的传统优势作物,产量占我国总产量的23%以上,葡萄干产量占全国市场总量的90%以上^[1],种植葡萄给当地果农带来了显著的经济效益。但新疆是我国盐渍化土壤集中的地区^[2],耕地中31.1%的面积受到盐碱危害,盐碱土地总面积达847.6万hm²,且有不断增加之趋势^[3],制约了新疆葡萄种植产业的发展。

5-氨基乙酰丙酸(ALA)是所有卟啉化合物生物合成的关键前体,是一种生物代谢中间产物,不仅可以提高植物的光合速率、产量、着色和改善果实品质^[4~6],还可以通过提高植物体内保护酶系统的生理活性及渗透调

第一作者简介:刘鹏(1987-),男,硕士研究生,研究方向为果树栽培与生理。E-mail:649314012@qq.com。

责任作者:孙军利(1976-),女,硕士,副教授,研究方向为果树栽培与生理。E-mail:junli7656@126.com。

基金项目:石河子大学优秀青年基金资助项目(2012ZRKXYQ09);石河子大学自然科学创新资助项目(ZYKX2010YB09)。

收稿日期:2014—01—20

物质含量来提高植物的抗盐性,具有类似植物激素的生理活性^[7]。徐晓洁等^[8]研究表明,ALA 处理通过促进保护酶系统活性,降低了丙二醛含量,缓解盐胁迫对番茄的抑制作用;张春平等^[9]研究发现,ALA 能够有效减缓盐胁迫对紫苏种子及幼苗产生的伤害,提高种子及幼苗的抗盐能力。目前,关于ALA 缓解盐胁迫的研究报道主要集中在番茄、西葫芦、黄瓜等蔬菜和豌豆、紫苏、草莓等作物上^[4,9~10],有关ALA 对葡萄盐胁迫的缓解效应尚鲜见报道。因此,该试验结合新疆葡萄种植盐害情况,进行ALA 对葡萄盐胁迫缓解效应及其在生产上的开发利用的研究,以期为ALA 在葡萄抗盐栽培中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的2个耐盐性葡萄品种“里扎马特”和“夏黑”均为当年生的营养袋苗,其中,“里扎马特”耐盐性较强,“夏黑”耐盐性较弱^[11];ALA 由美国 Sigma 公司提供。

Abstract:Taking four southern highbush blueberry species in Dalian, northeast China as materials, using LI-6400XT portable photosynthesis system, the net photosynthetic rate-temperature curves from 25~36°C and the net photosynthetic rate-light intensity curves including 1 200, 1 000, 800, 600, 400, 200, 100, 50, 30, 10, and 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ were measured. The results showed that the net photosynthesis rate of ‘Gulfcoast’ was the highest one and that of ‘Bluebell’ was the lowest one among all the measured species under high temperature conditions. In terms of light response ability, the ‘Gulfcoast’ was the highest one and the order from high to low was ‘Gulfcoast’>‘Biloxi’>‘Bluebell’>‘Cooper’. Moreover, ‘Gulfcoast’ species had the highest transpiration rates and the other three species (‘Cooper’, ‘Biloxi’ and ‘Bluebell’) had lower transpiration rates under warmer conditions. The aim of this study was important significance for introducing southern highbush blueberry species to other regions of China.

Key words:southern highbush blueberry;blueberry varieties;photosynthetic characteristics

1.2 试验方法

试验采用水洗沙盆栽,每盆装沙8 kg。春季选择高度和基部直径比较均匀、根系较为发达、生命力强健的葡萄栽植在盆中,每盆栽1株葡萄苗,置于浅壁托盘中,避雨栽培,自然光照。视土壤含水量不定时浇灌以保持土壤田间持水量为60%~70%,待成活后选择生长健康一致的苗木作为试材进行试验处理。以氯化钠(NaCl)分析纯作为盐源,设3个盐处理水平:0、2、4 g/kg,分别记为Na₀、Na₁、Na₂。每盆中追施的NaCl分3次等量均匀浇入,每次间隔14 d。在盐处理1 d后叶面喷施ALA。ALA施用量为0、75、150 mg/L,分别记为A₀、A₁、A₂。试验共设Na₀A₀、Na₀A₁、Na₀A₂、Na₁A₀、Na₁A₁、Na₁A₂、Na₂A₀、Na₂A₁、Na₂A₂9种处理,其中以不加NaCl和ALA(Na₀A₀)的等量清水为对照。每个处理5株,3次重复。ALA在pH 6.5时缓解作用较好且见光易分解,用磷酸调清水pH值后稀释,傍晚进行叶面喷施^[8]。

1.3 项目测定

相对电导率测定采用电导法;丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸法;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光化学反应法;过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法;过氧化氢酶(CAT)活性测定采用紫外分光光度法;可溶性蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝法,用牛血清蛋白做标准曲线;脯氨酸含量测定采用茚三酮显色法,均采用李合生^[12]的方法。每处理设3次重复测定,取平均值。

1.4 数据分析

试验数据处理和相关性分析采用SPSS 21.0软件,对平均数用Duncan's新复极差法进行多重比较,然后用Microsoft Excel进行制表和作图。

2 结果与分析

2.1 ALA对盐胁迫下葡萄叶片渗透调节能力的影响

2.1.1 ALA对盐胁迫下葡萄叶片中可溶性蛋白质含量的影响 由表1可知,对于不同浓度的盐胁迫,葡萄叶片中的可溶性蛋白质含量随盐胁迫浓度的增加而增加。“夏黑”葡萄在Na₁盐胁迫的条件下叶面分别喷施A₁、A₂浓度的ALA处理分别比A₀处理提高了66.24%、13.94%;在Na₂盐胁迫的条件下叶面分别喷施A₁、A₂浓度的ALA处理分别比A₀处理提高了46.89%、14.66%;“里扎马特”葡萄在Na₁盐胁迫的条件下叶面分别喷施A₁、A₂浓度的ALA处理分别比A₀处理提高了23.25%、41.71%;在Na₂盐胁迫的条件下叶面分别喷施A₁、A₂浓度的ALA处理分别比A₀处理提高了35.61%、36.87%。由此可知,“夏黑”在2 g/kg盐胁迫条件下叶面喷施75 mg/L浓度的ALA即Na₁A₁,可溶性蛋白质含量提高效果明显;“里扎马特”在4 g/kg盐浓

度条件下叶面喷施150 mg/L浓度的ALA即Na₂A₂,可溶性蛋白质含量提高效果明显。

2.1.2 ALA对盐胁迫下葡萄叶片中脯氨酸含量的影响

由表1可知,在盐胁迫条件下,葡萄叶片中脯氨酸含量增加明显,Na₂盐浓度升高显著。喷施外源ALA后,葡萄叶片的脯氨酸含量较各自对照显著提高。对于2个品种来说,作用效果也有所不同,其中“夏黑”在Na₁和Na₂盐胁迫下叶面分别喷施A₁、A₂浓度的ALA处理后脯氨酸含量比各自对照分别增加了24.01%、12.35%和22.65%、1.64%;对于“里扎马特”在Na₁和Na₂盐胁迫下叶面分别喷施A₁、A₂浓度的ALA处理后脯氨酸含量比各自对照分别增加了16.56%、28.58%和9.98%、40.66%;由此可知,“夏黑”在2 g/kg盐浓度条件下叶面喷施75 mg/L浓度的ALA即Na₁A₁,脯氨酸含量上升效果明显;“里扎马特”在4 g/kg盐浓度条件下叶面喷施75、150 mg/L浓度的ALA即Na₂A₁、Na₂A₂,脯氨酸含量上升效果均比较明显。

表1 ALA对盐胁迫下葡萄叶片中可溶性蛋白质和脯氨酸含量的影响

Table 1 Effect of ALA on the content of soluble protein and proline in grape leaves under salt stress

处理组合 Treatment combination	可溶性蛋白质含量 Contents of soluble protein /mg·g ⁻¹		脯氨酸含量 Contents of proline /μg·g ⁻¹				
	“夏黑” ‘Summer black’	“里扎马特” ‘Rizamat’	“夏黑” ‘Summer black’	“里扎马特” ‘Rizamat’			
	Na ₀ A ₀	Na ₁ A ₀	Na ₂ A ₀	Na ₁ A ₁	Na ₂ A ₁	Na ₁ A ₂	Na ₂ A ₂
Na ₀ A ₀	11.66±0.182f	29.22±0.819f	13.75±0.195e	38.12±0.092g			
Na ₀ A ₁	18.00±0.201c	37.15±1.014e	16.25±0.117d	44.85±0.145f			
Na ₀ A ₂	14.07±0.355e	41.18±0.477d	16.13±0.602d	49.37±2.378e			
Na ₁ A ₀	15.49±0.195d	36.56±0.292e	17.49±0.901d	50.00±0.962e			
Na ₁ A ₁	25.75±0.715a	45.06±0.901c	21.69±0.535b	58.28±2.473d			
Na ₁ A ₂	17.65±0.367c	51.81±0.436b	19.65±0.774c	64.29±1.025c			
Na ₂ A ₀	18.15±0.838c	43.10±0.675cd	21.94±0.953b	65.40±1.510c			
Na ₂ A ₁	26.66±0.217a	58.45±1.042a	26.91±0.947a	71.93±1.071b			
Na ₂ A ₂	20.81±0.342b	58.99±0.935a	22.30±0.634b	91.99±2.098a			

注:同一列中不同小写字母表示差异性达到5%显著水平。以下同。

Note: Different lowercase letters in the same column mean significant difference at 5% level. The same below.

2.2 ALA对盐胁迫下葡萄膜脂过氧化物的影响

2.2.1 ALA对盐胁迫下葡萄相对电导率的影响 由表2结果可知,2个品种葡萄叶片和根的相对电导率都随着盐胁迫浓度的不断增加而升高,Na₂A₀显著高于Na₁A₀、Na₀A₀、Na₁A₀显著高于Na₀A₀。相同浓度的盐胁迫条件下,葡萄叶和根的相对电导率随着ALA浓度的增加而降低,A₁、A₂处理组合都显著低于各自的对照(A₀)组合,其中,“夏黑”葡萄A₁与A₂处理组合间差异不显著,“里扎马特”葡萄A₂处理组合明显低于A₁处理组合。由此可知,叶面喷施75 mg/L浓度的ALA能够更好地缓解“夏黑”叶片盐胁迫造成的质膜伤害,叶面喷施150 mg/L浓度的ALA能够更好地缓解“里扎马特”叶片盐胁迫造成的质膜伤害。

表 2 ALA 对盐胁迫下葡萄叶片和根中相对电导率的影响

Table 2 Effect of ALA on the relative electric conductivity in grape leaves and roots under salt stress

处理组合 Treatment combination	相对电导率(叶片)		相对电导率(根)	
	Relative electrolytic leakage(Leaf)		Relative electrolytic leakage(Root)	
	“夏黑” ‘Summer black’	“里扎马特” ‘Rizamat’	“夏黑” ‘Summer black’	“里扎马特” ‘Rizamat’
Na ₀ A ₀	0.52±0.016de	0.22±0.010e	0.49±0.007d	0.23±0.005de
Na ₀ A ₁	0.45±0.025f	0.22±0.009e	0.45±0.003e	0.20±0.006ef
Na ₀ A ₂	0.46±0.018ef	0.21±0.003e	0.46±0.001e	0.19±0.002f
Na ₁ A ₀	0.57±0.040bc	0.29±0.010c	0.57±0.020b	0.26±0.014c
Na ₁ A ₁	0.48±0.001ef	0.29±0.002cd	0.48±0.007d	0.24±0.006cd
Na ₁ A ₂	0.52±0.014cd	0.27±0.003d	0.53±0.004c	0.21±0.006def
Na ₂ A ₀	0.67±0.012a	0.42±0.004a	0.62±0.002a	0.37±0.012a
Na ₂ A ₁	0.58±0.010bc	0.32±0.007b	0.57±0.006b	0.34±0.006b
Na ₂ A ₂	0.62±0.008ab	0.30±0.007bc	0.61±0.003a	0.33±0.020b

2.2.2 ALA 对盐胁迫下葡萄叶片中 MDA 含量的影响

由图 1 可知, 在盐胁迫条件下, 葡萄叶片中 MDA 含量升高, 且随着盐胁迫浓度的增加而逐渐上升, 耐盐性较强品种“里扎马特”的 MDA 含量增加显著高于耐盐性较弱品种“夏黑”。葡萄叶片喷施 ALA 后, 叶片中 MDA 含量增加幅度比对照缓慢, 表明 ALA 可以减少 MDA 的生成。在 Na₁ 盐胁迫下, 叶面喷施 A₁、A₂ 浓度的 ALA 后“夏黑”叶片中 MDA 含量比 A₀ 处理分别减少了 21.75%、9.32%; “里扎马特”叶片中 MDA 含量比 A₀ 处理分别减少了 12.33%、26.03%; 在 Na₂ 盐胁迫下, 叶面喷施 A₁、A₂ 浓度的 ALA 后“夏黑”叶片中 MDA 含量比 A₀ 处理分别减少了 26.92%、21.21%; “里扎马特”叶片中 MDA 含量比 A₀ 处理分别减少了 23.84%、38.53%。由此可知, “夏黑”在 4 g/kg 盐胁迫条件下叶面喷施 75 mg/L 浓度的 ALA 时丙二醛含量降低显著(Na₂A₁); “里扎马特”在 4 g/kg 盐胁迫条件下叶面喷施 150 mg/L 浓度的 ALA 时丙二醛含量降低显著(Na₂A₂), 从而显著缓解了盐胁迫对植株的影响。

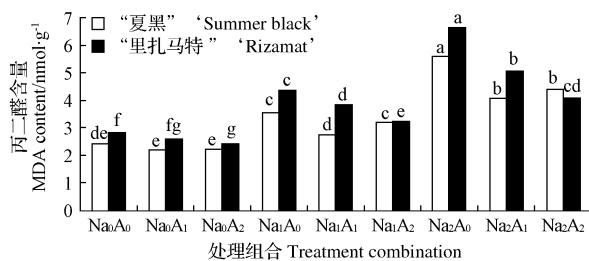


图 1 ALA 对盐胁迫下葡萄叶片中 MDA 含量的影响

Fig. 1 Effect of ALA on the MDA content of grape leaves under salt stress

2.3 ALA 对盐胁迫下葡萄叶片中 3 种保护酶活性的影响

2.3.1 ALA 对盐胁迫下“夏黑”葡萄叶片中 3 种保护酶活性的影响 由图 2 可知, 在相同盐胁迫条件下, 叶面喷施 ALA 处理均对葡萄植株叶片中 SOD、POD 和 CAT 3 种保护酶活性表现出相似的变化趋势。在 Na₁ 和 Na₂ 盐胁迫下叶面分别喷施 A₁、A₂ 浓度的 ALA 处理后 CAT 活性比各自对照分别增加了 24.07%、6.58% 和 23.40%、7.24%; POD 活性比各自对照分别增加了 44.29%、6.43% 和 15.43%、11.26%; SOD 活性比各自对照分别增加了 20.52%、2.49% 和 17.76%、5.55%。由此可知, “夏黑”在叶面喷施 75 mg/L 浓度的 ALA 能够有效地缓解 2 g/kg 的盐胁迫(Na₁A₁), 从而缓解了植株的盐胁迫。

3 个保护酶活性表现出相似的变化趋势。在 Na₁ 和 Na₂ 盐胁迫下叶面分别喷施 A₁、A₂ 浓度的 ALA 处理后 CAT 活性比各自对照分别增加了 24.07%、6.58% 和 23.40%、7.24%; POD 活性比各自对照分别增加了 44.29%、6.43% 和 15.43%、11.26%; SOD 活性比各自对照分别增加了 20.52%、2.49% 和 17.76%、5.55%。由此可知, “夏黑”在叶面喷施 75 mg/L 浓度的 ALA 能够有效地缓解 2 g/kg 的盐胁迫(Na₁A₁), 从而缓解了植株的盐胁迫。

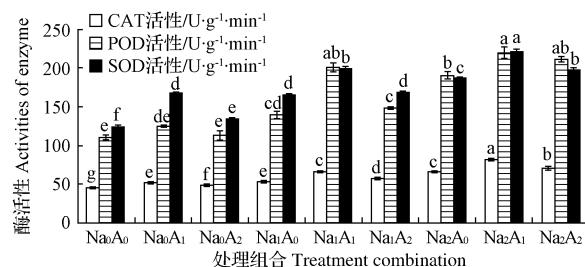


图 2 ALA 对盐胁迫条件下“夏黑”葡萄叶片中 CAT、POD 和 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effect of ALA on the activities of SOD, POD and CAT in ‘Summer black’ grape leaves under salt stress

2.3.2 ALA 对盐胁迫条件下“里扎马特”葡萄叶片中 3 种保护酶活性的影响 由图 3 可知, 在相同盐胁迫条件下, 叶面喷施 ALA 处理均对葡萄植株叶片中 SOD、POD 和 CAT 3 种保护酶活性表现出相似的变化趋势。在 Na₁ 和 Na₂ 盐胁迫下叶面分别喷施 A₁、A₂ 浓度的 ALA 处理后 CAT 活性比各自对照分别增加了 5.75%、19.37% 和 5.23%、24.28%; POD 活性比各自对照分别增加了 16.00%、27.55% 和 18.82%、33.68%; SOD 活性比各自对照分别增加了 24.68%、26.36% 和 21.13%、38.26%。由此可知, 叶面喷施 150 mg/L 浓度的 ALA 能够提高盐浓度 4 g/kg 胁迫下“里扎马特”葡萄叶片中 3 种保护酶的活性, 从而较好地缓解了植株的盐胁迫。

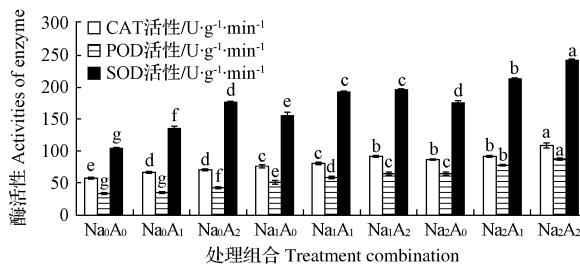


图 3 ALA 对盐胁迫条件下“里扎马特”葡萄叶片中 CAT、POD 和 SOD 活性的影响

Fig. 3 Effect of ALA on the activities of SOD, POD and CAT in ‘Rizamat’ grape leaves under salt stress

3 讨论与结论

ALA 对植物盐胁迫的缓解作用比较复杂, 判断 ALA 的缓解效果不能单纯地用一两个指标来衡量。该

试验研究了不同浓度的ALA处理对不同盐浓度胁迫下2个葡萄品种的生理指标的影响,结果表明,叶面喷施ALA对盐胁迫下葡萄的生长起到了一定的缓解作用,包括提高了可溶性蛋白质、脯氨酸的含量和相对电导率,降低了盐胁迫条件下葡萄叶片MDA含量的上升以及提高了3个保护酶的活性,这与刘晖等^[13]的研究结果一致,ALA缓解盐胁迫与能够提高渗透调节能力、保护酶活性和抑制膜质过氧化有关。此外,可能由于2个葡萄品种的耐盐性不同,ALA对它们的盐胁迫缓解作用也有所不同。该研究表明,相同浓度的盐胁迫条件下,叶面喷施ALA处理后SOD、POD和CAT的活性显著高于对照且降低了脂质过氧化产物MDA的含量,从而维持膜系统的完整性,增强植株抗逆境能力。这与张春平^[14]的研究结果相似,ALA通过降低MDA的含量对盐胁迫导致的细胞膜氧化伤害进行缓解。

在盐胁迫条件下,葡萄叶片内的可溶性蛋白质、脯氨酸含量增加,提高渗透调节能力,增强对盐碱胁迫的适应能力^[15],从而利于调动植株体内的抗逆生理反应。该试验结果表明,叶面喷施ALA后,又进一步不同程度地提高了葡萄叶片中的可溶性蛋白质、脯氨酸含量。这与孟长军等^[16]的研究结果相一致,叶面喷施各浓度ALA处理后,均可使植物叶片中可溶性蛋白质、脯氨酸含量增加,但缓解效果基于植物的耐盐性不同而有差异。

综上所述,叶面喷施ALA对盐胁迫下葡萄的各项生理指标均有较好的体现,进而对盐胁迫起到了缓解作用。但由于2种葡萄的耐盐性不同,对应缓解的浓度也有差异,叶面喷施75 mg/L浓度的ALA对2 g/kg盐胁迫下耐盐性较弱的“夏黑”葡萄缓解作用效果较明显;叶面喷施150 mg/L浓度的ALA对4 g/kg盐胁迫下耐盐性较强的“里扎马特”葡萄缓解作用效果较明显。

Study on Mitigative Effect of 5-aminolevulinic Acid on Grape Under Salt Stress

LIU Peng,ZHAO Bao-long,WANG Wen-jing,SUN Jun-li,MA Hai-xin,ZHANG Xiang
(College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003)

Abstract: Using two salinity-resistance grape variants: ‘Summer black’(weak salt resistance) and ‘Rizamat’(strong salt resistance) as the materials, the soluble protein content, the proline content, MDA content, the relative electric conductivity and the level of three enzymes’ activity(CAT, POD, SOD) after treating the leaf surface withALA at the concentration of 0, 75, 150 mg/L, which respectively corresponds to three salinity-stress levels of 0, 2, 4 g/kg were studied. The results showed that as for the ‘Summer black’(75 mg/L ALA, 2 g/kg salinity stress) and the ‘Rizamat’(150 mg/L ALA, 4 g/kg salinity stress) respectively, the soluble protein, proline content and the level of the three different enzymes’ activity increased significantly, however the MDA content, relative electric conductivity decreased significantly.

Key words: 5-aminolevulinic acid(ALA); grape; salt stress; mitigative effect

参考文献

- [1] 蒲胜海,张计峰,丁峰,等.新疆葡萄产业发展现状及研究动态[J].北方园艺,2013(13):200-203.
- [2] Ainiuw A E R,Li X H. Discussion on exploitation of water resource and construction of ecological environmental protection in Xinjiang [J]. Arid Environmental Monitoring,2001,3(1):43-47.
- [3] 新疆维吾尔自治区农业厅.新疆土壤[M].北京:科学出版社,1996:304-366.
- [4] 高年春,孙永平,张琼,等.外源5-氨基乙酰丙酸(ALA)对NaCl胁迫下草莓植株光合作用的影响[J].江苏农业学报,2010,26(6):1329-1333.
- [5] 郭珍,徐福利,汪有科.5-氨基乙酰丙酸对枣树生长发育、产量和品质的影响[J].西北林学院学报,2010,25(3):93-96.
- [6] 汪良驹,王中华,李志强,等.5-氨基乙酰丙酸促进苹果着色的效果[J].果树学报,2004,21(6):512-515.
- [7] Hotta Y, Tanaka T, Takaoka H, et al. New physiological effects of 5-aminolevulinic acid in plants: the increase of photo synthesis chlorophyll content and plant growth[J]. Biosci Biotech Biochem,1997,61:2025-2028.
- [8] 徐晓洁,邹志荣,乔飞,等.ALA对NaCl胁迫下不同品种番茄植株光合作用、保护酶活性及果实产量的影响[J].干旱地区农业研究,2008,26(4):131-135.
- [9] 张春平,何平,韦品祥,等.外源5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下紫苏种子萌发及幼苗抗氧化酶活性的影响[J].草药,2011,42(6):1194-1200.
- [10] 周月,徐亮,杨立,等.外源ALA对盐胁迫下豌豆幼苗生理特性的影响[J].西南师范大学学报(自然科学版),2012,37(8):111-115.
- [11] 周志文.葡萄种质资源的耐盐性鉴定及其生理基础的研究[D].泰安:山东农业大学,2003.
- [12] 李合生.现代植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2008.
- [13] 刘晖,康琅,汪良驹.ALA对盐胁迫下西瓜种子萌发的促进效应[J].果树学报,2006,23(6):854-859.
- [14] 张春平.不同外源物质提高盐胁迫下黄连种子及幼苗抗逆性机理研究[D].重庆:西南大学,2012.
- [15] 李妍.盐胁迫对番茄幼苗生长及保护酶活性的影响[J].北方园艺,2008(6):18-20.
- [16] 孟长军,邹志荣.外源ALA对樱桃番茄幼苗盐伤害的缓解效应[J].江苏农业学报,2011,27(2):378-381.