

不同光照条件对菹草外部形态与内部结构的影响

陈小峰^{1,3}, 王庆亚¹, 陈开宁^{2*}

(1. 南京农业大学生命科学学院, 南京 210095; 2. 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室, 南京 210008; 3. 中科水治理工程有限公司, 南京 210008)

摘要: 通过受控试验,研究了4个光照处理(100%、50%、20%、10%的自然光)对菹草(*Potamogeton crispus*)外部形态与内部结构的影响。结果显示:(1)100%和50%自然光处理对菹草的总生物量影响不显著,20%和10%的自然光显著降低了菹草的总生物量。(2)在生物量分配方面,50%自然光处理的根冠比值显著低于其他3个处理组,表现出菹草对地上部分茎叶生物量的投资较多。(3)在50%自然光条件下,菹草的株高、植株叶片数、顶枝叶片数明显高于其他3个处理组的对应参数,说明适当的遮荫会促进菹草植株的生长;10%自然光下的各参数值均最小(除根/冠比值),表明已较严重地限制了菹草的正常生长。(4)20%和10%自然光的遮光处理增加了菹草的叶片厚度,100%、50%、20%和10%的自然光下分别为0.260、0.297、0.440、0.306 mm。(5)100%自然光叶片的叶肉细胞没有形成发达通气组织,50%自然光的菹草叶肉细胞开始形成较发达的通气组织,通气组织中间隔分布有单层细胞组成的隔膜,20%和10%自然光的叶片中隔膜细胞破裂,形成了发达的通气组织;20%和10%自然光的叶片通气组织细胞面积显著大于100%和50%自然光处理组,均值分别为0.558 mm²、0.284 mm²和0.108 mm²、0.087 mm²。(6)20%自然光处理组根的表皮细胞中可以发现四端尖锐晶体存在,表明植物生长受到一定程度胁迫;50%自然光处理的根通气组织彼此相连,形成大的通气结构,而其它处理组皮层没有形成通气结构。综合上述研究结果表明,50%自然光处理较有利于菹草的生长发育。

关键词: 菹草; 光照条件; 形态与结构; 沉水植物

中图分类号: Q944.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2008)02-0163-07

Impacts of Different Light Intensity on Morphology and Structure of *Potamogeton crispus*

CHEN Xiao-Feng^{1,3}, WANG Qing-Ya¹, CHEN Kai-Ning^{2*}

(1. The College of Life Sciences, Nanjing University of Agriculture, Nanjing 210095, China; 2. State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography & Limnology, The Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 3. Zhongke Water Treatment engineering Co., Ltd, Nanjing 210008, China)

Abstract: With mesocosm experiment effects of different light intensity on morphology and structure of *Potamogeton crispus* were studied. The results showed that the mean difference in the total biomass of *P. crispus* under the condition of 100% and 50% of natural light intensity (NLI) was not significant. The total biomass of *P. crispus* was markedly decreased with the treatment of 20% and 10% NLI. In biomass distribution, rates of root/shoot with treatment of 50% NLI were much higher than other treatments, which indicated more biomass was distributed to above-ground shoot. Height of shoot, number of leaf and number of leaf in canopy of *P. crispus* with the treatment of 50% NLI were much more than other treatments, which showed the treatment of 50% NLI facilitated growth of this species, but the treatment of 10% NLI restrained growth of *P. crispus*. The thickness of leaf in *P. crispus* increased under the condition of the treatment of 20% and 10% NLI. The thickness of leaf with the treatment of 100%, 50%, 20% and 10% NLI were 0.260 mm, 0.297 mm, 0.440 mm and 0.306 mm, respectively. With the treatment of lower light intensity, mesophyll cells became bigger, and mesophyll cells shaped bigger ventilating tissue. Cell area of ventilating tissue with the treatments of 100%, 50%, 20% and 10% NLI were 0.108 mm², 0.087 mm², 0.558 mm² and 0.284 mm², respectively, which showed that the treatments of 20% and 10% NLI were

收稿日期: 2007-07-16, 修回日期: 2008-01-08。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30670373); 国家基础研究发展规划(973计划)资助项目(2002CB412307); 国家科技支持计划(2006BAC10B03); 江苏科技计划太湖专项(BS2007161)。

作者简介: 陈小峰(1979-), 男, 硕士, 主要从事水生植物生态研究, 发表论文6篇。

* 通讯作者(E-mail: knchen@niglas.ac.cn)。

much more than those of 100% and 50% NLI. Crystals were observed in epidermis cells of root with the treatment of 20% NLI. The bigger ventilating structure was observed in cortex of root with the treatment of 50% NLI, but this structure did not exist in other treatments. The results indicated the treatment of 50% NLI was in favor of growth of *P. crispus*.

Key words: Light intensity; Morphology and structure; *Potamogeton crispus*; Submerged macrophyte

在水域生态系统中,大型水生植物是保持系统良性循环、维持水体生态系统平衡的关键生态类群,它的存在、生长、繁殖等生命活动对其生活的水环境有着重要的影响。植物生长过程既反映环境因子的变化过程,也是对环境的适应过程。识别植物生长对个别环境因子的依赖性,尤其是影响植物生长的主导因子,是评价环境因子和植物间相互作用的前提^[1]。目前水体透明度的下降是水质恶化的主要表征之一,也是限制沉水植物生长的关键因素。在不同的光照条件下,沉水植物如何通过调节自身的形态与结构来适应环境的变化?植物内部结构如何改变?这些问题的研究对沉水植物菹草的栽培、育种以及生态系统的恢复与重建有着重要科学意义。同时,近年来对水生植物适应环境的外部形态与内部结构方面的研究较少,特别是对内部结构方面的变化研究较少,本研究旨在加强该方面的研究。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验于 2004 ~ 2005 年在位于太湖北部湖湾——五里湖边的中国科学院南京地理与湖泊研究所实验基地进行。供试菹草(*Potamogeton crispus*)石芽于 2004 年 11 月底采自无锡五里湖,在冰箱中 4℃ 保湿储藏。

1.2 研究方法

2005 年 5 月,菹草石芽萌发、幼苗生长在室内光照培养箱进行,温度 22℃,光照 4530 lx。幼苗生长出 4 ~ 5 叶时,移栽到容积为 90 L 的白色塑料培养桶,在室外自然光条件下培养。每个培养桶移栽 20 株菹草幼苗,在自然光照条件下驯化 5 d,观察其植株高度增加,并有新叶长出,然后用黑色聚乙烯遮阳网进行遮光处理,处理时间为 45 d。培养水和底泥均取自五里湖,水在使用前用 300 目筛绢过滤,除去藻类与杂质,试验各组除光照不同以外,其它环境条件基本一致,每天测量 5 次光照强度。

为了能反映出实际湖泊不同水层的光照强度,依据 2003 年 9 月到 2004 年 8 月每隔一个月在五里湖 21 个点不同水层的光照强度实测数据,通过遮光,设计了 4 个不同光照强度:100% 自然光(对

照),25833 lx(实测平均值);50% 自然光(处理一),13100 lx;20% 自然光(处理二),5530 lx;10% 自然光(处理三),1805 lx。每个处理设 3 个重复,培养 45 d 后,对每个处理组植物进行生长性状和形态结构测试分析。

菹草生长性状测定:菹草培养 45 d 以后,取出所有移栽的植株,清洗干净,人工记录各处理组的植株总数,测定每株植物的株高、节间数、从基部向上第二节间距、第三叶片长和宽、顶枝叶片数,以及根、茎、叶生物量鲜重。然后将这些材料放入烘箱中,在 85℃ 下经过 48 h 的烘烤,测定生物量干重(DW)。根据测量和测定的值,计算出干重根冠比、鲜重根冠比、单位株高节间数。

根、茎、叶营养器官结构观察:每个处理材料根、茎、叶选取位置一致,取材后用 FAA(50% 酒精:冰醋酸:甲醛 = 18:1:1)固定液进行现场固定,以常规石蜡切片法制片,经过一系列的脱水、透明、石蜡包埋、染色,切片厚度一律为 10 μm,番红-固绿双重染色,中性胶封片。制成永久切片,Olympus BH-2 型光学显微镜下观察、测试和摄影。

1.3 数据处理和统计分析

数据采用 Excel 2000 制图分析,利用 SPSS 10.0 统计软件中的 LSD 法进行多重比较方差分析,并用字母表示法标注处理组间差异性。

2 结果与分析

2.1 对菹草营养器官生物量的影响

试验结果表明,除了 100% 和 50% 自然光条件下,在不同光照条件下菹草植株营养器官的生物量分配方式有显著差异($p < 0.01$)。在 4 个光照条件下,对根的物质投资最多的是 100% 自然光下的菹草植株,随着光照强度的减小,根的生物量依次下降。而对茎、叶的物质投资最多的是 50% 光照强度下的菹草植株,其次依次为 100%、20% 和 10% 自然光(见图 1)。可见,在 100% 的自然光下有利于菹草地下根系统生长,20% 和 10% 的自然光抑制了菹草根、茎、叶的发育。

2.2 对菹草生物量分配的影响

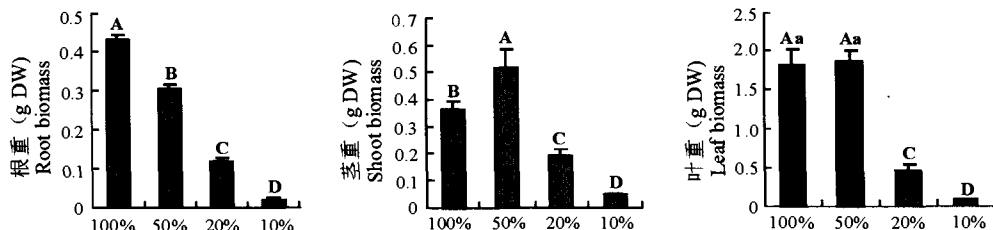
100% 和 50% 自然光的菹草植株总生物量和地

上部分生物量之间差异不显著($p > 0.05$),但是 50% 自然光的根冠比显著低于 100% 自然光条件下($p < 0.05$)(见图 2)。而 20% 和 10% 自然光条件下植株总生物量和地上部分生物量显著下降($p < 0.01$),但根冠比值与 100% 自然光的差异不显著($p > 0.05$),而与 50% 自然光下的差异显著($p < 0.05$)。生物量从平均值方面看,50% 自然光 $>$ 100% $>$ 20% $>$ 10%;根冠比值比较结果为:100% 自然光 $>$ 20% $>$ 10% $>$ 50%。从生物量对地上、地下的分配来看,50% 遮光

有利于菹草生长发育,100% 光照条件下由于光照强烈,菹草的冠层茎叶器官可能产生部分光抑制,植物生物量并未显著增加,相反略有减少。随着光强的进一步减弱,菹草生物量显著降低。

2.3 对菹草枝叶分布格局的影响

不同光照条件的菹草株高、植株数、第二节间距、节间数,除 100% 与 50% 自然光条件下节间数、20% 与 10% 自然光间顶枝的叶片数无显著差异外,其它各参数处理组之间均差异显著(见图 3)。植株

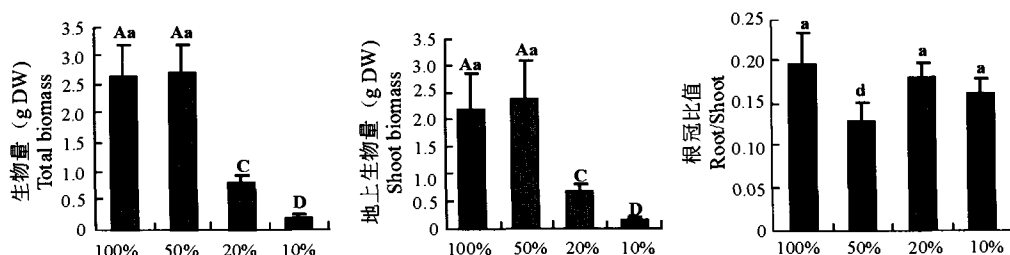


A, B, C, D 和 a 分别表示处理组间在 1% 和 5% 水平上的差异,相同字母表示差异不显著

A, B, C, D and a indicate that the mean difference is significant at the 0.01 and 0.05 level. The same letters indicate the mean difference is not significant

图 1 不同光照条件对菹草根、茎、叶生物量的影响

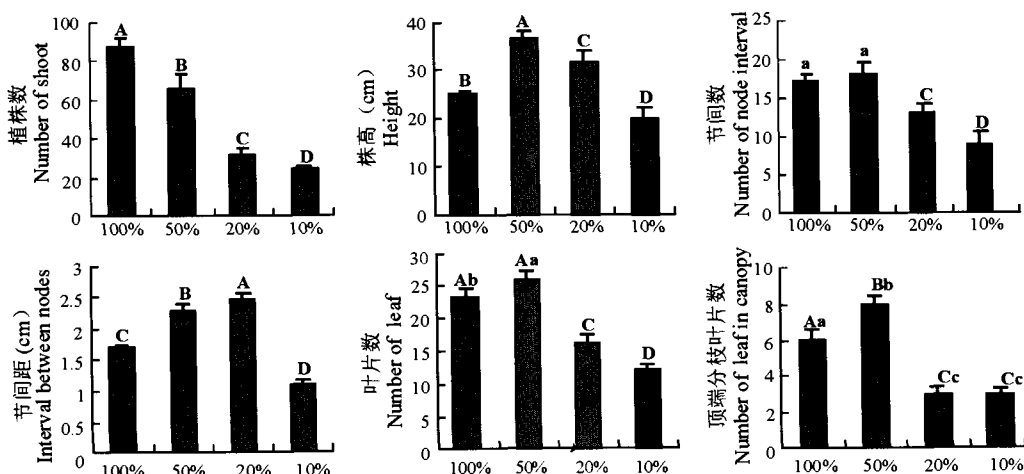
Fig. 1 Effects of different light condition on dry weight of root, stem and leaf



图中各代号参见图 1 Symbols in figure 2 of refer to figure 1

图 2 不同光环境对菹草生物量分配的影响

Fig. 2 Effect of different light condition on biomass of *P. crispus*



大写字母 A, B, C, D 和小写字母 a, b, c 分别表示处理间 1% 和 5% 水平上差异

Letters of A, B, C, D and a, b, c indicate that the mean difference is significant at the 0.01 and 0.05 level. The same letters indicate the mean difference is not significant

图 3 不同光环境对菹草枝叶分布的影响

Fig. 3 Effect of different light condition on distribution of stem and leaf

数随着光照强度减弱而减少,说明光照减弱不利于菹草分蘖出新植株,降低其扩张能力。菹草株高顺序为:50% 自然光 > 20% > 100% > 10%, 100% 自然光环境菹草的株高减少,一方面有利于避免表层水体强光使植物产生光抑制,另一方面可以将有限的资源转化到分蘖新植株。节间数量的观测结果为:50% 自然光 > 100% > 20% > 10%; 第二节间距则为:20% 自然光 > 50% > 100% > 10%。可见,在遮光条件下,菹草为了获得生长所需的光照强度,节间距不断伸长,但是太弱的光照(10% 自然光)不发生此现象。

菹草的叶片数目和节间的多少能反映出植株分枝能力的大小。如图3所示,50%与100%自然光条件下菹草节间数之间差异不显著,但与其它2个处理组(20%和10%自然光)差异性显著($p < 0.01$)。不同光照条件对菹草顶枝的叶片数、植株叶片总数影响基本一致,均为50%自然光 > 100% > 20% > 10%,但20%和10%自然光的顶枝叶片数无显著差异。

2.4 对菹草营养器官叶结构的影响

菹草叶片横切面(图4:d)由表皮、叶肉组织、维管束3部分组成。100%自然光下菹草叶片厚度(0.260 ± 0.012) mm,经过适当遮光后,菹草叶片厚度有所增加[50%自然光:(0.297 ± 0.019) mm; 20%自然光:(0.440 ± 0.020) mm; 10%自然光:(0.306 ± 0.052) mm],其中20%自然光下叶片厚度增加显著,10%自然光下可能由于光照太弱而使叶片表皮细胞的生长和分裂受到限制,叶片厚度又开始减小。

表皮:上下表皮各由一层细胞紧密排列而成,细胞形状大小一致,细胞中含有少量的叶绿体;经过遮光处理以后,表皮细胞排列紧密,但形状不规则。

叶肉:比较不同处理之间叶片结构可以看出(图4:a~e),菹草叶片无栅栏组织和海绵组织分化,对照组(100%自然光)叶片上下表皮内紧接着是1~2层叶肉细胞;叶肉细胞形状不规则,在细胞之间开始形成隔膜,没有形成发达的通气组织。经过遮光处理后,表皮内叶肉细胞明显增大,形状不规则,50%自然光下的叶肉细胞开始形成较发达的通气组织。在通气组织中,间隔分布着有单层细胞组成的隔膜;隔膜细胞为近圆形细胞,主要起通气功能,但与100%自然光的细胞面积比较差异未达显著水平(表1)。20%自然光和10%自然光下的叶片中隔膜细胞破裂,形成发达的通气组织,与100%

自然光比较细胞面积差异显著(表1)。100%、50%、20%和10%自然光条件下叶片的通气组织细胞面积分别为(0.108 ± 0.015) mm²、(0.087 ± 0.015) mm²、(0.558 ± 0.192) mm²、(0.284 ± 0.050) mm²。

表1 不同光照环境叶结构之间多重差异比较(LSD)

Table 1 The result of multiple comparisons(LSD) between structures of leaves in different light condition

处理 Treatment	叶片厚度 差异性 Sig. in thickness of leaf	通气组织细胞 面积差异性 Sig. in surface area of ventilating tissue
100% 自然光 Natural light 100%	50% 自然光	0.069
	20% 自然光	0.000 **
	10% 自然光	0.028 *
50% 自然光 Natural light 50%	100% 自然光	0.069
	20% 自然光	0.000 **
	10% 自然光	0.653
20% 自然光 Natural light 20%	100% 自然光	0.000 **
	50% 自然光	0.000 **
	10% 自然光	0.000 **
10% 自然光 Natural light 10%	100% 自然光	0.028 *
	50% 自然光	0.653
	20% 自然光	0.000 **

* 表示平均值差异的置信度为95%; ** 表示平均值差异的置信度为99%。

* The mean difference is significant at the 0.05 level; ** The mean difference is significant at the 0.01 level.

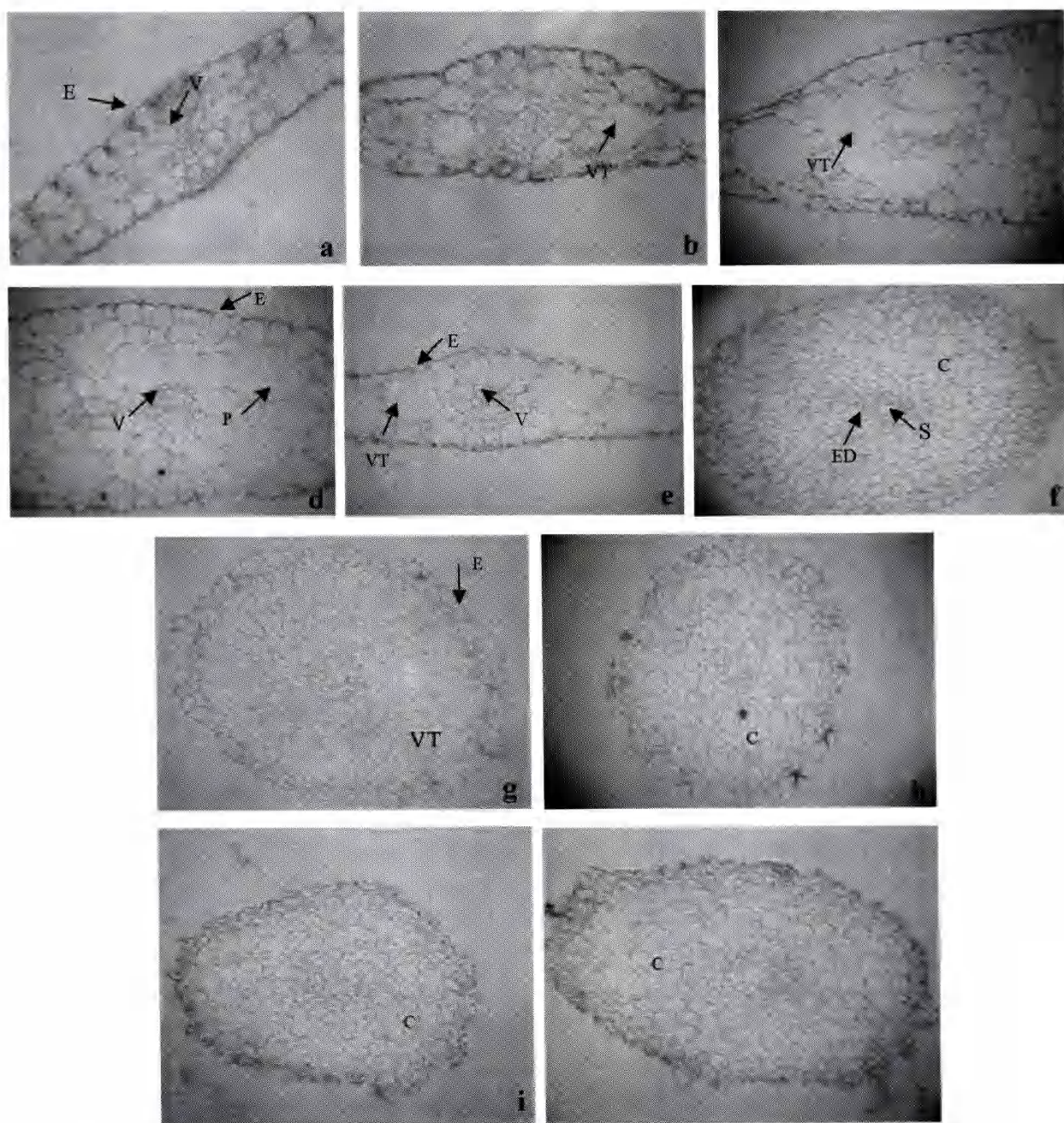
叶脉:在100%自然条件下,菹草叶片维管束不发达,导管小,但彼此之间排列紧密。3个处理维管束的排列方式与对照不同,中间形成一个较大的通气导管,许多小导管分布在中间导管周围(图4:a)。

2.5 不同弱光环境对菹草营养器官根结构的影响

从根的横切面(图4:f~j)可以看出,菹草根结构可分为:表皮、皮层、中柱3部分。

表皮:由一层或几层排列紧密、形状不规则的细胞组成;靠近最外层里面细胞排列紧密,具有潜在的分裂能力,在20%自然光的表皮细胞中还可以发现四端尖锐的晶体存在。

皮层:皮层是根的主要组成部分,位于表皮和维管束之间,主要由薄壁细胞组成,除50%自然光处理组外,其它处理组皮层都是由6~8层排列紧密的薄壁细胞组成,没有形成通气结构。在50%自然光处理组中,皮层薄壁细胞裂解形成发达的通气结构,占整个皮层体积的绝大部分,在通气细胞周围,分布一些体积较小的薄壁细胞,经过一段时间以后,通气组织会彼此相连,形成大的通气结构。引起这种现象的原因可能是由于在50%自然光条件下,菹草没



E:表皮; P:薄壁细胞; V:维管组织; VT:通气组织; C:皮层; ED:内皮层; S:中柱
a~e:不同光照下菹草叶的横切显微结构($\times 400$)。a. 100%自然光照叶横切(CK); b. 50%自然光叶横切; c. 20%自然光叶横切; d. 20%自然光叶横切; e. 10%自然光叶横切。f~j:不同光照下菹草根的横切显微结构($\times 400$)。f. 100%自然光根横切(CK); g. 50%自然光根横切; h. 20%自然光根横切; i. 10%自然光根横切; j. 暗处理根横切

E: Epidermis; P: Parenchyma; V: Vascular tissue; VT: Ventilating tissue; C: Cortex; ED: Endodermis; S: Stele
a~e: Effect of different light condition on structure of leaf ($\times 400$). a. Leaf's transverse section under natural light 100% (control); b. Leaf's transverse section under natural light 50%; c. Leaf's transverse section under natural light 20%; d. Leaf's transverse section under natural light 20%; e. Leaf's transverse section under natural light 10%. f~j: Effect of different light condition on structure of root ($\times 400$). f. Root's transverse section under natural light 100% (control); g. Root's transverse section under natural light 50%; h. Root's transverse section under natural light 20%; i. Root's transverse section under natural light 10%; j. Root's transverse section under dark treatment

图4 不同光环境对菹草叶和根结构的影响

Fig. 4 Effect of different light condition on structure of leaf and root

有受到强光抑制和弱光胁迫。从上面的实验结果已经了解到,50%自然光更能适合菹草的生长,通气组织发达是为了能更好地进行气体和物质运输。菹草根内皮层排列紧密,细胞大小均一,排成非常有规则的圆形。菹草为单子叶植物,没有中柱鞘,无形成层,不能进行次生生长。

中柱:维管束位于根中部,在中央有一大的导管,在中央导管周围韧皮部和木质部相间排列,维管束3~4层细胞。对照组与处理组之间差异不大。

3 讨论

生物量是植物生长最主要的参数,植物生长的好坏可以通过生物量变化直接表现出来。在外界环境改变或受到干扰的情况下,植物能够通过改变自身生物量分配方式来适应环境变化^[2,3]。从本实验结果看,在4个处理组中,20%和10%自然光处理与100%和50%自然光处理比较,菹草总生物量显著下降,表明20%以下的自然光对菹草生长产生了一定的抑制作用。从菹草生物量分配结果看,100%自然光抑制了茎叶生长,但地下部分生物量增加,提高了根重/植株总重比值(RMR)。分析其原因,可能是因为沉水植物类似阴生植物,在光照过强条件下,植物冠层的光合系统内出现了光抑制现象,限制了植物茎叶的进一步发展;其次,植物根系统生物量增加可以作为一种补偿机制,使植物从底泥中吸取更多的代谢物质,维持植物地上部分因强光所引起的生命活动的加强与消耗的増加^[4-6],提高资源竞争能力。20%和10%自然光条件下的菹草的根冠比(R/S)高于50%自然光条件下的R/S,说明在光线较弱的环境中,菹草茎叶部分的生长所受到的限制大于对根系统的影响,这样不利于植物地上部分生物量的积累与光能捕获,影响种群增长与扩张。

不同的分枝格局影响着植物对空间和光资源的利用^[7],而不同的光环境可能会影响根冠氮的分布格局,进而影响着植物整个植冠对氮的获取^[8]。通常枝条长度和分枝率是决定植物分枝格局的主要参数。在本研究中,不同光照影响着菹草植株的株高、植株叶片数、节间数、顶端叶片数。在50%自然光条件下,植株的株高、叶片数、顶端叶片分枝数明显高于其它3个光照环境下的对应参数,说明适当的遮荫会促进菹草植株的生长发育。在100%自然光下,菹草减少株高、节间距、叶片数目和顶端叶片数是对环境变化的一种自我调节机制,这样在强光下牺牲部分叶片的光合能力可以避免整株水平上碳积

累的减少,同时可以缓解叶片的光抑制。较弱的光环境影响了菹草的正常生长代谢,植株得不到生长所需的适宜光照强度,只有通过减少分枝,并通过增加株高向高空发展来截获更多的光能(如20%自然光条件下);但光照进一步减弱,如在10%自然光下,由于植物获取的光能不足以维持其增加植株向高空发展,这时植物生长被进一步限制。

在自然光照条件下,叶肉组织不发达,只有几层细胞,无栅栏和海绵组织的分化,这些结构有利于气体以及矿质营养盐的进出,便于细胞间物质的传递,能使矿质营养和光合作用产物很快地输送到植物各个部位。100%自然光条件下的菹草通气组织不发达,这与水生植物的结构特点相差较大,但经过遮光处理的菹草叶片通气组织发达。原因之一可能是通气组织可以提高叶片的浮力,使植物叶片向水体上层生长,能更好的吸收水中散射的光;另一方面,通气组织有利于气体在植物体内的交换和贮存,提高在弱光下的光合效率。

通过对菹草根结构的观察发现,在50%自然光条件下,菹草根通气组织特别发达,与呼吸根的结构很相似,这与其它处理相比较差异非常明显。呼吸根具有发达细胞间隙表皮,呈海绵状的皮层,它们共同构成了许多相互连接的大大小小的气室,具有显著的气体贮藏和气体交换能力。呼吸根的一个重要作用就是增强植株的氧气供给^[9]。在本实验中已经了解到,在50%自然光条件下,菹草光合能力和生长达到较佳状态,光合效率高,能产生大量的氧气,满足植物根部需要,这就促进了通气组织的形成;在100%自然光条件下,叶片受到光抑制,光合作用下降;20%、10%弱光环境中,光照强度不能满足菹草的生长需求,植物只有通过根系吸收生长所需营养物质,满足植物的生长。薄壁细胞相互紧密排列,能更有利于细胞之间物质的运输。此外,菹草在生长过程中,可能是由于某种物质的积累造成细胞解体而形成大的通气组织。陈维培在莲的根茎发育中发现细胞中草酸钙结晶的积累造成细胞的解体,重复出现的这种细胞破坏形式导致气道的形成和扩大^[10]。

综上所述,水下不同光照条件可以对菹草生物量积累、分配以及形态与结构产生较大影响,100%、20%和10%自然光处理均对菹草生长产生不同程度的不利影响,而50%自然光照条件下的菹草生长可处于较佳状态,其结果可以为湖泊的沉水植被恢复与管理提供一定参考,也可以为加深认识沉水植

物适应环境所产生的内部结构变化提供依据。

参考文献:

- [1] 肖春旺,周广胜,马风云.施水量变化对毛乌素沙地优势植物形态与生长的影响[J].植物生态学报,2002,26(1):69-76.
- [2] Genard M, Pages L, Kervella J. A carbon balance model of peach tree growth and development for studying the pruning response[J]. *Tree Physiol*, 1998, 18(1):351-362.
- [3] 孙书存,陈灵芝.辽东栎幼对干旱和去叶的生态反应的初步研究[J].生态学报,2000,20(5):893-897.
- [4] 孟金柳,曾波,叶小齐,付天飞,何兴兵.不同光照水平下叶损失对樟(*Cinnamomum camphora*)生物量分配的影响[J].西南师范大学学报(自然科学版),2004,29(3):439-443.
- [5] 何维明,钟章成.攀援植物绞股蓝幼苗对光照强度的形态和生长反应[J].植物生态学报,2000,24(3):375-378.
- [6] Poorter H, Nagel O. The role of biomass allocation in the growth response of plant to different levels of light, CO₂, nutrient, sand, water: a quantitative review[J]. *Australian Journal of Plant Physiology*, 2000, 27:595-607.
- [7] Barker M G, Booth W E. Vertical profiles in a Brunei rain forest: II. Leaf characteristics of *dryobalanops lanceolata* [J]. *Journal of Tropical Forest Science*, 1996, 9:52-66.
- [8] Hirose T, Werger M J A. Maximizing daily canopy photosynthesis with respect to the leaf nitrogen allocation pattern in the ecanopy [J]. *Oecologia*, 1998, 72:520-526.
- [9] 常福辰,施国新,丁小余,解凯彬,常若雯,李金祥,周丽娜.水龙营养器官的形态结构与生态适应[J].南京师大学报(自然科学版),2003,26(1):102-103.
- [10] 陈维培,张四美.莲的生态解剖学研究[J].生态学报,1988,3(3):277-282.