

# Ce(Ⅲ)对UV-B辐射胁迫下大豆幼苗光化学反应的影响

李津津<sup>1</sup>, 李靖梅<sup>1</sup>, 周青<sup>1,2\*</sup>

(1. 江南大学环境科学实验室, 无锡 214036; 2. 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 无锡 214036)

**摘要:**用水培法研究Ce(Ⅲ)对UV-B辐射胁迫下大豆幼苗光化学反应的影响。结果表明, 20 mg·L<sup>-1</sup> CeCl<sub>3</sub>使大豆幼苗净光合速率(Pn)、Hill反应、Mg<sup>2+</sup>-ATPase活性与光合磷酸化活力4项指标较对照提高23.2%~14.3%;有效抑制UV-B辐射( $T_1 = 0.15 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ 和 $T_2 = 0.45 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ )胁迫下4项指标下降, 4项指标降幅[Ce(Ⅲ)+T<sub>1</sub>为36.6%~15.9%, Ce(Ⅲ)+T<sub>2</sub>为65.6%~33.2%]小于对应的UV-B辐射组( $T_1$ 为50.9%~23.3%,  $T_2$ 为77.3%~51.4%)。动态变化显示, Ce(Ⅲ)减缓了胁迫期4项指标的下降趋势, 促进了恢复期4项指标上升幅度。说明Ce(Ⅲ)通过减轻UV-B辐射对大豆幼苗光化学反应的伤害, 遏制UV-B辐射胁迫下大豆幼苗Pn下降。

**关键词:**稀土铈; UV-B辐射; 大豆幼苗; 净光合速率; 光化学反应

中图分类号:X173 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2007)06-1388-04

## Effect of Ce(Ⅲ) on Photochemical Reaction Activity in Soybean Seedlings Under Supplementary UV-B Radiation Stress

LI Jin-jin<sup>1</sup>, LI Jing-mei<sup>1</sup>, ZHOU Qing<sup>1,2</sup>

(1. Laboratory of Environmental Science, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract:** Effect of Ce(Ⅲ) on photochemical reaction activity in soybean seedlings exposed to ultraviolet-B radiation (UV-B, 280~320 nm) was studied with hydroponics under laboratory conditions. The results showed that CeCl<sub>3</sub> (20 mg·L<sup>-1</sup>) could improve photosynthesis action and net photosynthesis rate, the Mg<sup>2+</sup>-ATPase activeness, the photosynthetic phosphorylation active and stimulate the activity of Hill reaction (23.2%~14.3%). And Ce(Ⅲ) could alleviate the inhibition of UV-B ( $T_1 = 0.15 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$  and  $T_2 = 0.45 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ ) on the four indexes above in plants to a certain extent, and the decreasing degrees of the indexes under Ce(Ⅲ) and UV-B stress were lower than those only under UV-B stress, which were 36.6%~15.9% [Ce(Ⅲ)+T<sub>1</sub>], 65.6%~33.2% [Ce(Ⅲ)+T<sub>2</sub>], 50.9%~23.3% ( $T_1$ ), 77.3%~51.4% ( $T_2$ ) respectively. The dynamic data indicated that Ce(Ⅲ) could alleviate the inhibition of UV-B on the four indexes above while promoting without UV-B stress. The results showed that Ce(Ⅲ) could alleviate the decrease in the net photosynthesis rate by lightening the damage of the photochemical reaction activity on the soybean seedlings under UV-B stress.

**Key words:** cerium; UV-B radiation; soybean seedling; net photosynthesis rate; photochemical reaction activity

最新研究显示, 地球上空臭氧层衰减引发的UV-B辐射增强, 给陆地初级生产力的提高带来阻抑效应。微观研究表明, 初级生产力下降与UV-B辐射对植物光合作用的环境植物学效应密切相关<sup>[1~4]</sup>。显然, 若能减轻UV-B辐射对植物光合作用的损伤, 则有助于缓解UV-B辐射对陆地初级生产力的负面影响。前期研究证实<sup>[5,6]</sup>, 微量稀土铈Ce(Ⅲ)能够促进植物光合作用, 缓解UV-B辐射胁迫对植物光合作用功能造成的伤害。然而, 由于UV-B辐射降低植物光合作用的机制极为复杂, 涉及诸如光合原初反应、电子传递与光合磷酸化及光合暗反应多个环节<sup>[7~9]</sup>, 因而进一步澄清Ce(Ⅲ)对UV-B辐射胁迫下, 植物光合作用各环节的影响尤显必要。本研究以影响植物光合作用光化学反应的3个重要参数: 希

尔反应活力、Mg<sup>2+</sup>-ATPase活性与光合磷酸化活力为考察目标, 分析三者在UV-B辐射胁迫下的变化, 同时考察了Ce(Ⅲ)对UV-B辐射胁迫下光化学反应的影响, 借以判断Ce(Ⅲ)调控植物光合作用、减轻UV-B辐射伤害的机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 试材培养

大豆(*Glycine max*)“垦农-18”种子用0.1% HgCl<sub>2</sub>消毒5 min, 去离子水冲净后放入有3层纱布

收稿日期:2006-06-28; 修订日期:2006-08-11

基金项目:国家发展改革委员会稀土专项基金项目(IFZ20051210); 国家自然科学基金项目(30573023); 江苏省教育厅教改基金项目(518)

作者简介:李津津(1984~),女,主要研究方向为环境生态学。

\* 通讯联系人, E-mail: zhouqeco@yahoo.com.cn

的培养皿中,于恒温培养箱(25℃)中萌发,胚根达3 cm时移入塑杯( $\phi = 15$  cm,  $V = 400$  mL)中水培,每杯3株,室温25~30℃。待真叶长出,改用1/2 Hoagland营养液培养,每天光照12 h,光强10.0 klx,早晚通气各1次,3 d换1次营养液。第2枚三出复叶展开后,进行Ce(Ⅲ)与UV-B辐射处理。

## 1.2 试材处理

以预实验筛选的最适浓度 $CeCl_3$ (20 mg/L)喷洒大豆叶片,滴液为限,对照(CK)喷等量去离子水。48 h后进行UV-B辐射胁迫处理,UV-B辐射剂量选用2个强度, $T_1$ (0.15 W/m<sup>2</sup>)、 $T_2$ (0.45 W/m<sup>2</sup>)。将UV-B灯管(40 W,南京紫光电器厂)悬挂于植株上方,双通道UV-B辐照计(北京师范大学光电仪器厂)校

正。每天照射6 h(09:00~15:00),连续照射5 d。于UV-B辐照第1 d开始,每隔24 h取第2枚三出复叶测定下述指标,共测6次(全程11 d),所有数据均3次重复,差异显著性分析采用LSD方法。

## 1.3 指标测定

净光合速率(Pn)用CIRAS-1便携式光合系统(PPS system International Ltd, UK)测定,设光强400  $\mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$ ,闭合气路( $CO_2$  340  $\mu\text{L/L}$ )。希尔反应活力和 $Mg^{2+}$ -ATPase活性参照文献[10],光合磷酸化活力参照文献[11]的方法测定,Hill指标中 $\mu\text{mol}$ 代表2,6-DCIP的量, $Mg^{2+}$ -ATPase活性指标中 $\mu\text{mol}$ 代表Pi量,光合磷酸化活力中 $\mu\text{mol}$ 代表ATP的量,3项指标单位中的mg代表叶绿素量(表1)。

表1 Ce(Ⅲ)对UV-B胁迫下大豆幼苗净光合速率与光化学反应的影响<sup>1)</sup>

Table 1 Effect of Ce(Ⅲ) on photosynthesis rate and photochemical reaction activity in soybean seedlings under UV-B radiation stress

处理	Pn/ $\mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$	Hill反应速率/ $\mu\text{mol} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$	$Mg^{2+}$ -ATPase活性/ $\mu\text{mol} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$	光合磷酸化活力/ $\mu\text{mol} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$
CK	5.4 ± 0.3e(100.0)	49.4 ± 0.2d(100.0)	176.0 ± 2.7d(100.0)	16.3 ± 0.1d(100.0)
Ce(Ⅲ)	6.3 ± 0.1f(116.6)	56.5 ± 1.3e(114.3)	207.1 ± 2.2e(117.7)	20.1 ± 0.8e(123.2)
$T_1$	2.7 ± 0.1c(49.1)	27.1 ± 1.1b(54.9)	135.0 ± 0.1c(76.7)	12.0 ± 0.9bc(73.3)
$T_2$	1.2 ± 0.1a(22.7)	21.7 ± 0.3a(43.9)	85.5 ± 4.8a(48.6)	7.84 ± 0.1a(48.1)
Ce(Ⅲ) + $T_1$	3.9 ± 0.2d(71.8)	31.3 ± 0.7c(63.4)	147.4 ± 9.1c(83.8)	13.7 ± 0.8c(84.1)
Ce(Ⅲ) + $T_2$	1.9 ± 0.1b(34.4)	28.2 ± 0.1b(57.1)	107.3 ± 7.3b(61.0)	10.9 ± 0.1b(66.8)

1)同一列中带相同字母表示处理间差异不显著( $p < 0.05$ ),括号中为相对值

## 2 结果与讨论

### 2.1 Ce(Ⅲ)对UV-B胁迫下大豆幼苗光化学反应活性影响

与CK相比,Ce(Ⅲ)组Pn、Hill反应速率、 $Mg^{2+}$ -ATPase活性与光合磷酸化活力4项指标分别提高16.6%、14.3%、17.7%与23.2%;UV-B辐射组4项指标则分别下降50.9%、45.1%、23.3%、26.7%( $T_1$ )和77.3%、56.1%、51.4%、51.9%( $T_2$ );对应的Ce(Ⅲ)+UV-B组4项指标分别下降28.2%、36.6%、16.2%、15.9%[Ce(Ⅲ)+ $T_1$ ]和65.6%、42.9%、39.0%、33.2%[Ce(Ⅲ)+ $T_2$ ]。以上数据表明,Ce(Ⅲ)通过促进大豆叶片光化学反应提高光合作用速率,缓解UV-B辐射对其光化学反应的抑制,继而减轻其对光合作用功能伤害,且Ce(Ⅲ)减轻低剂量UV-B辐射的伤害效果好于高剂量。

Ce(Ⅲ)促进光化学反应机理可能同其影响叶绿体PSI与PSII发育、增强Hill反应活力<sup>[12]</sup>与PSII活性;提高光合电子传递速率,驱动整个光能转换和光化学反应相关<sup>[13]</sup>。

### 2.2 Ce(Ⅲ)对UV-B胁迫下Pn的动态影响

与CK相比[图1(a)],Ce(Ⅲ)组Pn在整个实验时段皆高于CK,至11 d仍高于CK 10.1%;UV-B组Pn在1~5 d(胁迫期)呈下降趋势,6~11 d(恢复期)虽恢复抬升,但程度有限。至11 d, $T_1$ 和 $T_2$ 的Pn仍低于CK 21.6%和44.5%。 $T_1$ 与 $T_2$ 的胁迫期和恢复期变化显示,UV-B辐射与Pn间存在明显的剂量效应关系;Ce(Ⅲ)+UV-B组Pn变化规律与UV-B组相近,唯胁迫期降幅和恢复期升幅小或大于对应的UV-B组。至11 d,Ce(Ⅲ)+ $T_1$ 和Ce(Ⅲ)+ $T_2$ 的Pn低于CK 9.2%和21.0%。

上述变化说明,UV-B辐射解除后,大豆幼苗Pn虽可自我恢复,但程度有限。比较而言, $T_1$ 的自我恢复效果好于 $T_2$ 。Ce(Ⅲ)的介入,改变了UV-B辐射胁迫下大豆幼苗Pn变化进程,即Ce(Ⅲ)减缓了UV-B辐射胁迫期Pn下降,促进其恢复期回升,有减轻UV-B辐射抑制大豆光合作用的效应,且对 $T_1$ 效果好于 $T_2$ 。Ce(Ⅲ)减轻UV-B辐射伤害Pn的机理,与其对光化学反应影响有关(见以下2.3~2.5)。

### 2.3 Ce(Ⅲ)对UV-B胁迫下Hill反应速率的动态影响

与 CK 相比[图 1(b)], Ce(Ⅲ)组 Hill 反应速率变化规律与 Pn 近同, 至 11 d 仍高于 CK 9.9%; UV-B 组 Hill 反应在胁迫期呈降势, 但降幅小于 Pn. 恢复期抬升, 至 11 d 时 T<sub>1</sub> 和 T<sub>2</sub> 的 Hill 反应速率尚低于 CK 8.1% 和 19.8% (T<sub>1</sub> < T<sub>2</sub>). 同样, 在整个实验期间, UV-B 辐射与大豆 Hill 反应速率间存在明显的剂量效应关系; Ce(Ⅲ) + UV-B 组 Hill 反应速率变化规律与 UV-B 组相近, 仅胁迫期降幅和恢复期升幅小或大于对应的 UV-B 组. 至 11 d, Ce(Ⅲ) + T<sub>1</sub> 和 Ce(Ⅲ) + T<sub>2</sub> 的 Hill 反应速率低于 CK 24.9% 和 38.4%.

UV-B 辐射解除后, 大豆幼苗 Hill 反应可在一定程度实现自我恢复, 且 T<sub>1</sub> 恢复效果明显好于 T<sub>2</sub>, T<sub>2</sub> 轻度背离 CK, 恢复受限. Ce(Ⅲ)促进 Hill 反应活力<sup>[13]</sup>, 因此 Ce(Ⅲ)的介入, 减缓了大豆幼苗 UV-B 辐射胁迫 Hill 反应活力下降, 促进其恢复期上升, 且对 T<sub>1</sub> 效果好于 T<sub>2</sub>. 说明 Ce(Ⅲ)减轻 UV-B 辐射伤害 Hill 反应活力是其缓解 Pn 下降原因之一.

#### 2.4 Ce(Ⅲ)对 UV-B 胁迫下 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性的动态影响

与 CK 相比[图 1(c)], Ce(Ⅲ)组 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活

性变化规律与前 2 个参数近同, 至 11 d 仍高于 CK 11.1%; UV-B 组 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性在胁迫期下降, 且降幅小于 Pn, 恢复期 T<sub>1</sub> 上升趋势小于 T<sub>2</sub>. 第 11 d, T<sub>1</sub> 和 T<sub>2</sub> 的 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性低于 CK 21.6% 和 30.2% (T<sub>1</sub> < T<sub>2</sub>). 说明 UV-B 辐射与大豆 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性间存在剂量效应关系; Ce(Ⅲ) + UV-B 组 Hill 反应速率变化规律与 UV-B 组相近, 仅胁迫期降幅和恢复期升幅小或大于对应的 UV-B 组. 至 11 d, Ce(Ⅲ) + T<sub>1</sub> 和 Ce(Ⅲ) + T<sub>2</sub> 的 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性低于 CK 9.5% 和 22.2%.

大豆幼苗 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性在恢复期有限恢复, 且 T<sub>1</sub> 恢复不及 T<sub>2</sub>. Ce(Ⅲ)促进了 PSI 与 PSⅡ发育和 Hill 反应<sup>[12]</sup>, 加快了电子传递速率, 驱动 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 合成<sup>[13]</sup>. 继而抑制 UV-B 辐射胁迫 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活力下降, 促进其恢复期上升, 且对 T<sub>1</sub> 效果好于 T<sub>2</sub>. Ce(Ⅲ)减轻 UV-B 辐射伤害 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 功能是其缓解 Pn 下降的又一原因.

#### 2.5 Ce(Ⅲ)对 UV-B 胁迫下光合磷酸化活力的动态影响

图 1(d)显示, Ce(Ⅲ)组光合磷酸化活力变化与

△ Ce(Ⅲ)+T<sub>1</sub> ● T<sub>2</sub> ○ Ce(Ⅲ)+T<sub>2</sub>

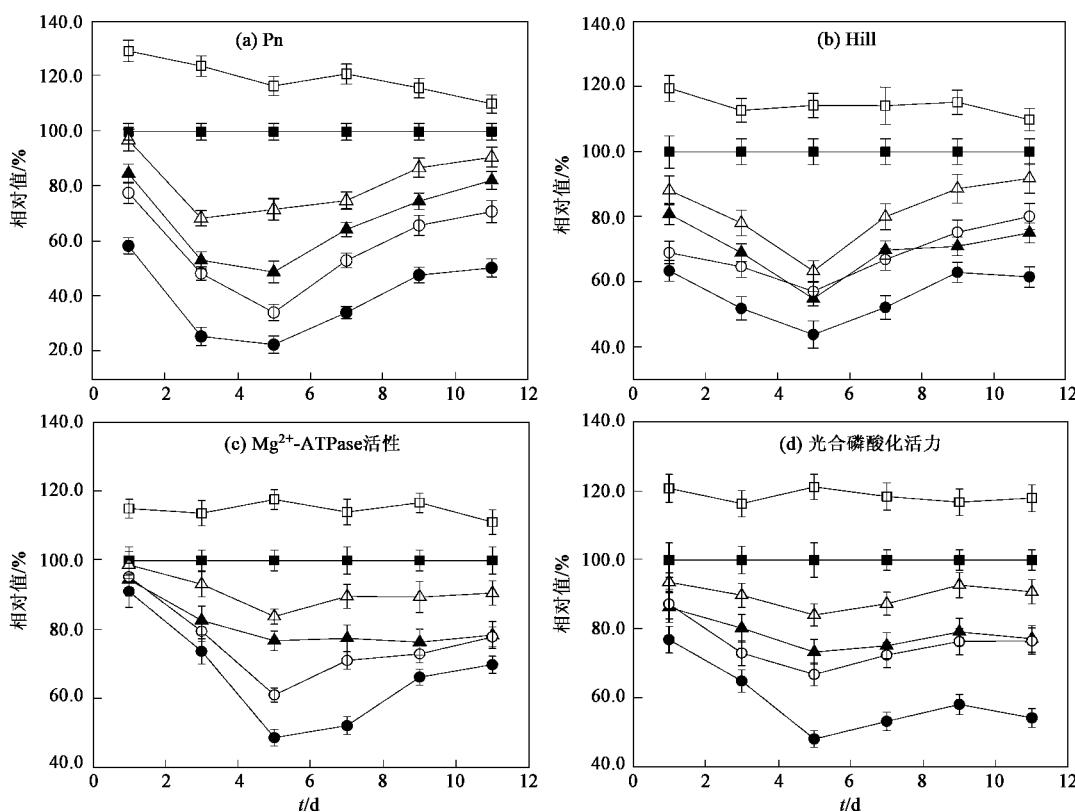


图 1 Ce(Ⅲ)对 UV-B 胁迫下大豆幼苗 Pn 与光化学反应的影响

Fig. 1 Effect of Ce(Ⅲ) on photosynthesis rate and photochemical reaction activity in soybean seedlings under UV-B radiation stress

前述3个参数相近,至11 d仍高于CK 18.0%;UV-B组光合磷酸化活力在胁迫期下降,降幅小于Pn,恢复期T<sub>1</sub>优于T<sub>2</sub>.第11 d的T<sub>1</sub>和T<sub>2</sub>低于CK 22.8%和45.8%(T<sub>1</sub><T<sub>2</sub>).UV-B辐射与光合磷酸化活力间存在剂量效应关系;Ce(Ⅲ)+UV-B组光合磷酸化活力变化规律与UV-B组相近,仅胁迫期降幅和恢复期升幅小或大于对应的UV-B组.至11 d,Ce(Ⅲ)+T<sub>1</sub>和Ce(Ⅲ)+T<sub>2</sub>的光合磷酸化活力低于CK 9.2%和23.5%.

恢复期大豆光合磷酸化的恢复效果是T<sub>1</sub>好于T<sub>2</sub>,T<sub>2</sub>有远离CK倾向,揭示此后光合磷酸化功能恢复难以完成.Ce(Ⅲ)促进Hill反应活力并加快光合电子传递速率,有益于光合磷酸化功能提高<sup>[13,14]</sup>.换言之,Ce(Ⅲ)减轻UV-B辐射抑制光合磷酸化活力也是其缓解Pn下降的因素.

## 2.6 UV-B辐射胁迫下Ce(Ⅲ)与大豆Pn及光化学反应参数的关系

分析Ce(Ⅲ)介入后Pn与光化学反应参数的关系(表2),有助于认识光化学反应对Pn影响.不同处理显示,Pn与Hill反应和Mg<sup>2+</sup>-ATPase活性关联紧密,与光合磷酸化仅在高剂量[T<sub>2</sub>,Ce(Ⅲ)+T<sub>2</sub>]组显著;同一处理得知,低剂量[T<sub>1</sub>,Ce(Ⅲ)+T<sub>1</sub>]和Ce(Ⅲ)+T<sub>2</sub>组Pn-Hill反应相关系数>Pn-Mg<sup>2+</sup>-ATPase>Pn-光合磷酸化,高剂量(T<sub>2</sub>)组Pn-光合磷酸化相关系数>Pn-Hill反应>Pn-Mg<sup>2+</sup>-ATPase.上述相关分析说明:3个光化学反应参数对Pn影响不一,Hill反应和Mg<sup>2+</sup>-ATPase活性是限制Pn的主要因素,且前者影响大于后者;随辐射剂量增加(T<sub>2</sub>)限制因素发生转换,光合磷酸化成为Pn的重要限制因子<sup>[15]</sup>,同化力匮乏阻碍Pn提高;Ce(Ⅲ)组相关系数(r)小于对应UV-B组(低剂量组光合磷酸化除外),反映出Ce(Ⅲ)可缓解UV-B辐射对大豆光化学反应的抑制.而Ce(Ⅲ)介入后,大豆Pn与光化学反应的非同步改变则暗示,Ce(Ⅲ)改善大豆光合功能机制复杂,不局限于3个调节位点.

表2 UV-B辐射胁迫下Ce(Ⅲ)与大豆Pn及光化学反应参数的相关关系<sup>1)</sup>

Table 2 Effect of Ce(Ⅲ) on photosynthesis rate and photochemical reaction activity in soybean seedlings under UV-B radiation stress

处理	T <sub>1</sub>	Ce(Ⅲ)+T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	Ce(Ⅲ)+T <sub>2</sub>
Pn-Hill反应活力	0.955 <sup>**</sup>	0.918 <sup>**</sup>	0.851 <sup>*</sup>	0.810 <sup>*</sup>
Pn-Mg <sup>2+</sup> -ATPase活性	0.829 <sup>*</sup>	0.768 <sup>*</sup>	0.841 <sup>*</sup>	0.735 <sup>*</sup>
Pn-光合磷酸化活力	0.632	0.684	0.972 <sup>**</sup>	0.728 <sup>*</sup>

1)<sup>\*</sup>p<0.05; <sup>\*\*</sup>p<0.01

## 3 结论

(1)20 mg/L Ce(Ⅲ)通过增强大豆幼苗Hill反应活力、Mg<sup>2+</sup>-ATPase活性及光合磷酸化活力提高Pn,在一定程度上减缓了UV-B辐射抑制光化学反应而导致的光合功能下降.

(2)Ce(Ⅲ)对UV-B辐射胁迫下大豆幼苗Pn与3个光化学反应参数的动态影响可知,Ce(Ⅲ)减缓了3项指标在胁迫期的下降,促进了恢复期的上升,最终呈现较好恢复效果,且对低剂量优于高剂量.

(3)Pn与光化学活性相关性分析表明,除高剂量UV-B辐射(T<sub>2</sub>)胁迫下,光合磷酸化活力是Pn的限制因素外,多数条件下Hill反应对Pn的影响最大,Mg<sup>2+</sup>-ATPase活性次之.Ce(Ⅲ)降低Pn与光化学反应参数间的相关系数,是其缓解UV-B辐射抑制光化学反应的结果.也暗示Ce(Ⅲ)改善光合功能机制很复杂,有多个调节位点.

## 参考文献:

- Van T K, Garrard L A, West S H. Effects of UV-B radiation on net photosynthesis of some crop plants[J]. Crop Sci, 1976, **16**: 715~718.
- Lingakumar K, Amudha P, Kulandavelu G. Exclusion of solar UV-B(280~315 nm) radiation on vegetative growth and photosynthetic active in *Vigna unguiculata* L.[J]. Plant Science, 2003, **148**: 97~103.
- 郑有飞,简慰民,李秀芬,等.紫外辐射增强对大豆影响的进一步分析[J].环境科学学报,1998, **18**(5): 549~552.
- 侯扶江,贲桂英,颜景义,等.田间增加紫外线辐射对大豆幼苗生长和光合作用的影响[J].植物生态学报,1998, **22**(3): 256~261.
- 梁婵娟,黄晓华,周青.Ce对UV-B胁迫下油菜光合与保护酶的影响[J].农业环境科学学报,2005, **24**(3): 620.
- 梁婵娟,黄晓华,陶文沂,等.Ce(Ⅲ)对UV-B胁迫下油菜幼苗生长及光合作用影响[J].中国稀土学报,2005, **23**(3): 351~356.
- Sharma P K, Anand P, Sankhalkar S, et al. Photochemical and biochemical changes in wheat seedlings exposed to supplementary UV-B radiation [J]. Plant Science, 1998, **132**: 21~30.
- Allen D J, Nogs S, Baker N R. Ozone depletion and increase UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis[J]. Journal of Experimental Botany, 1998, **49**(328): 1775~1788.
- Jansen M A K, Gaba V, Greenberg B M. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation [J]. Trends in Plants Sciences, 1998, **3**(4): 131~135.
- 汤章城.现代植物生理学试验指南[M].北京:科学出版社,2004.104~106.
- 袁晓华,杨中汉.植物生理生化试验[M].北京:高等教育出版社,1983.182~189.
- 中国稀土学会.中国稀土科技进展[M].北京:冶金工业出版社,2000.334~340.
- 沈博礼,戴新宾.稀土对小麦叶绿体光化学反应的效应[J].稀土,1994, **15**(2): 71~72.
- 陈为钧,魏正贵,陶治,等.镧对烟草叶绿体光化学反应的影响[J].作物学报,2001, **27**(4): 506~511.
- 攀登奎,王国雨,张金桐.LaCl<sub>3</sub>和PrCl<sub>3</sub>对菠菜离体叶绿体光合磷酸化作用的影响[J].中国稀土学报,2003, **21**(1): 77~80.