

УДК 635.21; 58.035.4; 58.084.1

Т.Н. Лисина¹, О.А. Четина², О.В. Бурдышева¹, Е.С. Шолгин¹¹«Пермский НИИСХ» – филиал Пермского федерального научного центра
Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, Россия²Пермский государственный национальный исследовательский университет,
Пермь, Россия

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ДАЛЬНОГО КРАСНОГО СВЕТА НА РОСТ РАССАДЫ ОГУРЦА *CUCUMIS SATIVUS* L. СОРТА КУРАЖ

Дальний красный свет не входит в диапазон фотосинтетически активной радиации, но играет большую роль для растений как информационный показатель состояния окружающей среды. Эволюционно у растений сложились система рецепторов для регистрации количества дальнего красного света и комплекс ответных реакций на изменение соотношения красный/дальний красный. В данной работе описаны результаты эксперимента культивирования рассады огурца в разных световых условиях по фактору соотношения красного/дальнего красного. Выявлены достоверные отличия растений огурца, выращенных при добавочном освещении дальним красным, по сравнению с контролем по длине междоузлий.

Ключевые слова: спектральный состав света, дальний красный свет, фитохромы, огурец *Cucumis sativus*, длина междоузлий.

T.N. Lisina¹, O.A. Chetina², O.V. Burdysheva¹, E.S. Sholgin¹¹"Perm Research Institute of Agriculture" – branch of the Perm Federal Scientific
Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia²Perm State National Research University, Perm, Russia

THE INFLUENCE OF THE RATIO OF RED AND FAR RED ON THE GROWTH OF SEEDLINGS OF CUCUMBER *CUCUMIS SATIVUS* L. VARIETY COURAGE

Far red light is not included in the range of photosynthetically active radiation, but plays an important role for plants as an informational indicator of the state of the environment. Plants evolved a system of receptors for recording the amount of far red light and a set of responses to changes in the red/far red ratio. This paper describes the results of an experiment on cultivation of cucumber seedlings under different light conditions by the red/far red ratio factor. Significant differences in the length of internodes were revealed in cucumber plants grown under additional illumination with far red compared to the control.

Keywords: spectral composition of light, far red light, phytochromes, cucumber *Cucumis sativus*, length of internodes.

Введение

Дальний красный (FR) свет – это световые волны на границе спектра видимого света. Это свет длиной волны от 700 до 780 нанометров (нм). Человеческим глазам FR почти не виден, но он играет очень важную биологическую роль для растений, в том числе для сельскохозяйственных. Долгое время считалось, что FR вносит минимальный вклад в фотосинтез и исключается из определения фотосинтетически активной радиации (ФАР от 400 до 700 нм). Это связано с тем, что фотосинтетическая эффективность монохроматического FR света резко снижается с увеличением длины волны. Недавние исследования показали, что фотоны дальнего красного цвета взаимодействуют с фотонами с более короткой длиной волны красного света (R), повышая эффективность фотосинтеза [1, 2]. Известно, что затененная среда снижает соотношение красного и дальнего красного света (R/FR) в растительном покрове, изменяя морфологию, физиологию и биохимию растений. Увеличение дальнего красного света увеличивает длину междоузлий, высоту растения [3, 4]. FR увеличивает долю световой энергии, используемой в световой реакции, уменьшает рассеивание тепла и улучшает фотохимическую эффективность. Также FR способствует передаче энергии от фотосистемы II к фотосистеме I и увеличивает скорость циклического переноса электронов и активность фотофосфорилирования. Таким образом, дальний красный свет может увеличивать способность растений улавливать свет, повышать скорость переноса фотосинтетических электронов, увеличивать активность фотофосфорилирования и в конечном счете биомассу растений [5].

У растений есть несколько рецепторов, которые воспринимают разные длины волн и реагируют соответствующим образом. Эти рецепторы активируются одним набором волновых диапазонов и деактивируются другим. Группа рецепторов, чувствительных к дальнему красному свету, называется фитохромами. Поглощение света FR превращает фитохром в форму, поглощающую красный свет (Pr). Поглощение красного света преобразует его обратно в форму, способную поглощать FR (Pfr). Это динамический процесс, и растение, выращенное при сбалансированном освещении, имеет обе формы. Форма Pfr преобразуется обратно в форму Pr в темноте. Это происходит медленно, поэтому растения могут использовать ту же систему для определе-

ния продолжительности периоды темноты. Фитохромы работают как переключатель, который включает и выключает многие биологические процессы в организме растения [1].

Дальний красный свет играет важную роль в регуляции цветения. В природе размножение растений должно следовать сезонам. Исключение составляют виды, произрастающие на экваторе. Многие виды растений регулируют время своего цветения в зависимости от продолжительности ночи. Виды и сорта, цветущие поздней весной и летом, когда ночи короткие, называются растениями длинного дня. Виды и сорта, цветущие с более продолжительной ночью, называются растениями короткого дня. Поскольку растения используют ту же систему для определения продолжительности ночи, что и для определения присутствия дальнего красного света, цветение чувствительных к фотопериоду растений можно регулировать с помощью светодиодов с различным соотношением красного и FR. Например, цветение растений короткого дня может подавляться за счет удлинения дня при освещении с высоким отношением красного к FR. Ночное прерывание светом только FR не препятствует цветению [2]. Есть предположение, что на растения будут влиять суточные колебания соотношения R/FR. Это может определять высоту растения и, возможно, другие агрономически значимые характеристики [6].

Сегодня большинство исследований сосредоточено на влиянии дальнего красного света на морфологические характеристики растений, содержание фотосинтетических пигментов, флуоресценцию хлорофилла и другие показатели при возделывании полей и сельском хозяйстве. Зафиксировано влияние дальнего красного на площадь листьев [7], длину черешка и угол листа [8, 9], длину междоузлий [3], толщину листа [5], устьичную проводимость [4]. Однако влияние дальнего красного света на регуляцию устьиц является спорным [10]. Добавление FR в освещение может увеличить биомассу растений [11]. Снижение соотношения R:FR способствует распределению сухого вещества растения по стеблю [12]. Ведутся работы по изучению влияния дальнего красного на количество и структуру хлоропластов [13]. В нескольких исследованиях [14] изучалось влияние дальнего красного света на фотосистему и фотосинтетический транспорт электронов. Выявление физиологических механизмов, с помощью которых дальний красный свет влияет на фотосинтетическую способность рас-

тений, может привести к увеличению урожайности сельскохозяйственных культур.

Цель данной работы – сконструировать экспериментальный гроубокс, в котором возможно в разных условиях освещения по фактору соотношения R/FR культивировать растения.

Экспериментальная часть

Сотрудниками лаборатории агробιοфотоники Пермского НИИСХ ПФИЦ УрО РАН сконструирован гроубокс. Для формирования достаточного количества экспериментальных секторов полки гроубокса разделялись отражающими экранами.

В качестве базового освещения использованы светодиодные светильники ECOLED-BIO-37-RF-D120-F-Trade IP65 (4000K). Для внесения дополнительной спектральной составляющей к базовому освещению реализованы светодиодные линейки со светодиодами длиной волны 730 нм. Диоды устанавливались на радиаторы в линейку. Светодиодные линейки закреплены рядом с основными лампами. Питание светодиодных линеек реализовано от блока питания “PM(P4) 350W” выходом 12V к 7 линейкам, параллельно соединенным в рамках одной полки.

Секторы гроубокса отличаются соотношением красного и дальнего красного света (R/FR). В первом секторе только базовое освещение (контроль), дополнительных светодиодов 730 нм не имеется (рис. 1, а). В секторе 2 соотношение R/FR = 1,1 (рис. 1, б), в секторе 3 соотношение R/FR = 0,8 (рис. 1, в), в секторе 4 соотношение R/FR = 0,5 (рис. 1, г).

В качестве объекта исследования была выбрана культура огурца сорта Кураж. Рассада огурца на стадии сформировавшегося первого настоящего листа перемещена в 4 сектора гроубокса, отличающиеся освещением по доле в спектре дальнего красного света. Растения выращивали в контейнерах размером 90,0×90,0×90,5 мм в универсальном грунте на основе торфа при температуре 25 °С. Полив ежедневный по 65 мл воды для поддержания уровня влажности 60 % от полной влагоемкости почвы. Продолжительность эксперимента 20 дней. Необходимый 14-часовой фотопериод внутри гроубокса реализован при помощи механического таймера Systec. Обработку данных проводили с использованием пакета программ Microsoft Office Excel. Полученные данные достоверны при $p < 0,05$.

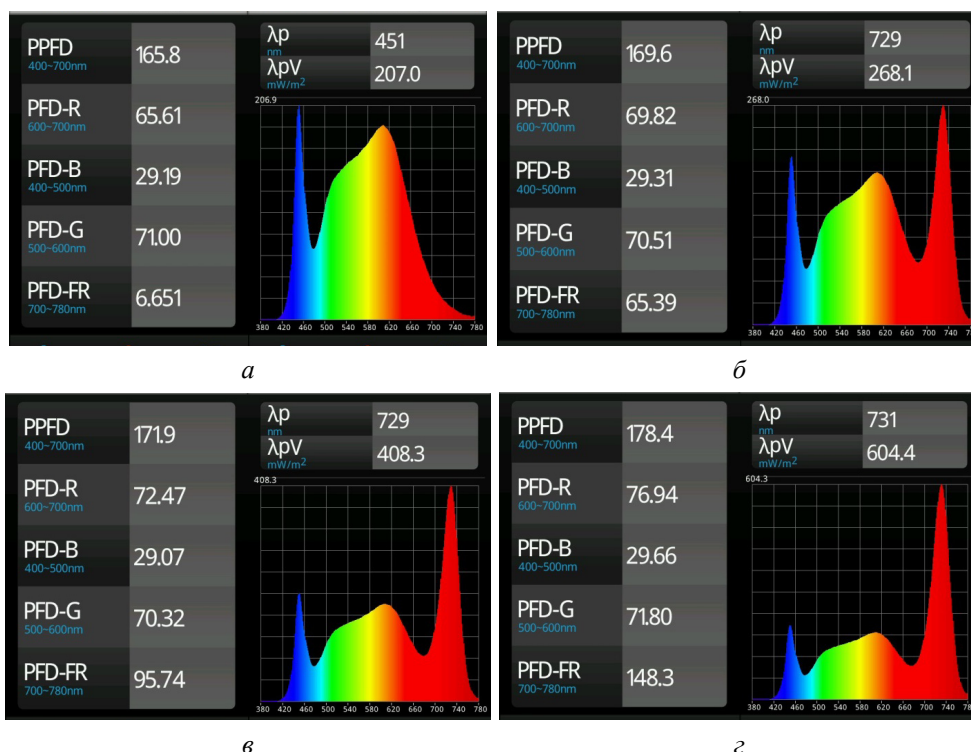


Рис. 1. Спектральный состав освещения в секторах гроубокса: *а* – сектор 1; *б* – сектор 2; *в* – сектор 3; *г* – сектор 4; примечание: PPFD – фотосинтетический поток фотонов, мкмоль/(м²*с). Это плотность потока фотосинтетических фотонов, определяемая в диапазоне 400 ~ 700 нм; PFD-R – фотосинтетический поток фотонов в «красной зоне», мкмоль/(м²*с). Это плотность потока фотосинтетических фотонов, определяемая в диапазоне 600 ~ 700 нм; PFD-B – фотосинтетический поток фотонов в «синей зоне», мкмоль/(м²*с). Это плотность потока фотосинтетических фотонов, определяемая в диапазоне 400 ~ 500 нм; PFD-G – фотосинтетический поток фотонов в «зеленой зоне», мкмоль/(м²*с). Это плотность потока фотосинтетических фотонов, определяемая в диапазоне 500 ~ 600 нм; PFD-FR – фотосинтетический поток фотонов в «дальней красной зоне», мкмоль/(м²*с). Это плотность потока фотосинтетических фотонов, определяемая в диапазоне 700 ~ 780 нм

Результаты и их обсуждение

На 20-й день эксперимента проведены морфометрические измерения, зафиксированы общая длина растений и длина каждого междоузлия (таблица, рис. 2).

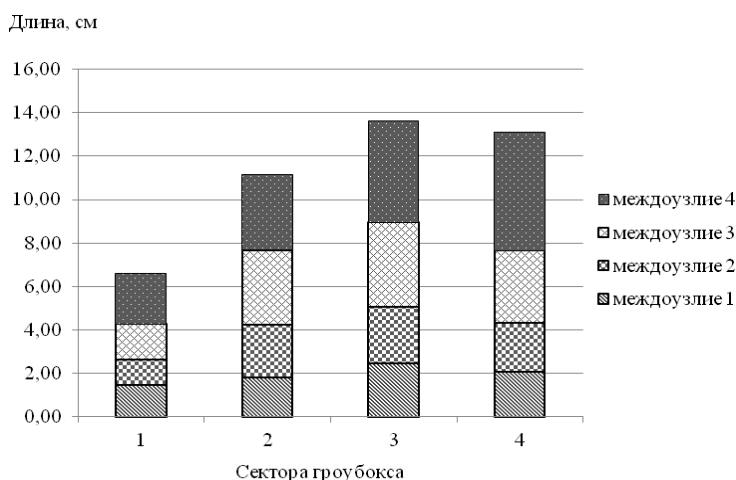


Рис. 2. Длина междоузлий растений огурца сорта Кураж при культивировании в условиях освещения с разным соотношением красного и дальнего красного света R/FR

Длина междоузлий растений огурца сорта Кураж при культивировании в условиях освещения с разным соотношением красного и дальнего красного света R/FR

Наименование	Сектор 1 (контроль)	Сектор 2	Сектор 3	Сектор 4
Междоузлие 4	1,50±0,01	1,83±0,17*	2,50±0,29*	2,07±0,29*
Междоузлие 3	1,17±0,09	2,43±0,30*	2,60±0,29*	2,27±0,68*
Междоузлие 2	1,63±0,23	3,43±0,07*	3,87±0,21*	3,33±0,07*
Междоузлие 1	2,30±0,49	3,50±0,29*	4,67±0,13*	5,47±0,03*
Общая длина	6,10±1,19	11,20±0,40*	13,63±0,71*	13,13±0,52*

*отличия достоверны по отношению к контролю.

Растения из секторов с добавочным дальним красным освещением имели достоверно большую длину всех междоузлий относительно контрольного сектора. По общей длине растения сектора 3 и сектора 4 (соотношения R/FR 0,8 и 0,5) статистически значимо не отличаются. Но растения сектора 2 (соотношение R/FR 1,1) статистически значимо отличаются от растений сектора 3 и 4 и от растений в контрольном секторе 1.

Такое «поведение» растений можно объяснить «синдромом избегания тени» (shade avoidance syndrome, SAS), при инактивации Pr за счет повышения в спектре падающего света доли FR и снижения доли R при-

водит у взрослых растений к удлинению черешков, междоузлий, появлению гипонастических листьев и бледно-зеленой окраске, вызванной неполным формированием фотосинтетического аппарата [15]. В природе интенсивный свет, обогащенный FR, бывает под пологом других растений. В нижних ярусах довольно много FR, тогда как красные кванты поглощают листья более высоких растений в процессе фотосинтеза. Много дальнего красного – это сигнал о том, что рядом есть более высокие соседи. Но в то же время есть надежда, что где-то рядом обнаружится свободный (еще не занятый другими растениями) участок. Теневыносливые растения не проявляют подобной реакции [16].

Таким образом, добавочное освещение рассады дальним красным светом достоверно увеличивает общую длину и длину междоузлий растений огурца сорта Кураж. Эффект увеличения скорости роста наблюдается при любом из изученных количествах досветки дальним красным, но усиливается к соотношению $R/FR = 1,1$. Дальнейшее уменьшение соотношения R/FR к статистически значимым отличиям по длине растений не привело.

Заключение

В данной работе сконструирован и апробирован гроубокс как площадка для исследования влияния и роли дальнего красного спектра для роста и развития растений. Зафиксированные достоверные отличия в длине междоузлий растений огурца сорта Кураж могли быть опосредованы влиянием дальнего красного на фотосинтетическую активность растений, на состояние устьиц, на работу фитохромов. Механизм влияния актуален к изучению.

Исследования воздействия дальнего красного света на развитие растений интересны с точки зрения сельскохозяйственного производства, определение того, насколько дальний красный свет может быть использован для повышения урожайности сельскохозяйственных культур за счет оптимизированной конфигурации посевов, оптимизации освещения в защищенном грунте [6].

Благодарности

Благодарим компанию «ЭКОЛЕД-Трейд» за предоставленные для исследования светодиодные светильники ECOLED-BIO-37-RF-D120-F-Trade IP65 (4000K).

Список литературы

1. Zhen S., Bugbee B. Far-red photons have equivalent efficiency to traditional photosynthetic photons: implications for re-defining photosynthetically active radiation // *Plant, Cell & Environ.* – 2020. – Vol. 43, № 5. – P. 1259–1272.
2. Far-red light: A regulator of plant morphology and photosynthetic capacity / Tingting T., Shenglan L., Yuanfang F. [et al.] // *The Crop Journal.* – 2022. – Vol. 10, № 2. – P. 300–309.
3. Growth and ethylene evolution by shade and sun ecotypes of *Stellaria longipes* in response to varied light quality and irradiance / L.V. Kurepin, L.J. Walton, D.M. Reid [et al.] // *Plant Cell Environ.* – 2006. – Vol. 29, № 4. – P. 647–652.
4. Hayashi Potential photosynthetic advantages of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings grown under fluorescent lamps with high red: far-red light / T. Shibuya, R. Endo, Y. Kitamura [et al.] // *HortScience.* – 2010. – Vol. 45, № 4. – P. 553–558.
5. Lee M.J., Park S.Y., Oh M.M. Growth and cell division of lettuce plants under various ratios of red to far-red light-emitting diodes. // *Hortic. Environ. Biotechnol.* – 2015. – Vol. 56, № 2. – P. 186–194.
6. Dubois P.G., Brutnell T.P. Topology of a maize field: Distinguishing the influence of end-of-day far-red light and shade avoidance syndrome on plant height // *Plant Signal. Behav.* – 2011. – Vol. 6, № 4. – P. 467–470.
7. Kasperbauer M.J., Peaslee D.E. Morphology and photosynthetic efficiency of tobacco leaves that received end-of-day red and far red light during development // *Plant Physiol.* – 1973. – Vol. 52, № 5. – P. 440–442.
8. Effects of continuous or end-of-day far-red light on tomato plant growth, morphology, light absorption, and fruit production / P. Kalaitzoglou, W. van Ieperen, J. Harbinson, M. van der Meer, S. Martinakos, K. Weerheim, C.C.S. Nicole, L.F.M. Marcelis // *Front Plant Sci.* – 2019. – Vol. 10. – P. 322.
9. Morphological response of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars to light intensity and red to far-red ratio / T. Hitz, J. Hartung, S. Graeff-Hoenninger, S. Munz // *Agronomy.* – 2019. – Vol. 9, № 8. – P. 428.
10. Karlsson P.E. Phytochrome is not involved in the red-light-enhancement of the stomatal blue-light-response in wheat seedlings // *Physiol. Plant.* – 1988. – Vol. 74, № 3. – P. 544–548.

11. Morphological and physiological properties of indoor cultivated lettuce in response to additional far-red light / J. Zou, Y.T. Zhang, Y.Q. Zhang, Z.H. Bian, D. Fanourakis, Q.C. Yang, T. Li // *Sci. Hortic.* – 2019. – Vol. 257. – P. 108725.

12. Effects of red/far red ratio on morphological index, leaf area and dry matter partitioning of cut chrysanthemum flower / Z.Q. Yang, J.B. Zhang, Y.X. Li, X.D. Peng, T.H. Zhang, J. Zhang // *Acta Ecol. Sin.* – 2012. – Vol. 32, № 8. – P. 2498–2505.

13. Arabidopsis FHY3/CPD45 regulates far-red light signaling and chloroplast division in parallel / N. Chang, Y.F. Gao, L. Zhao, X.M. Liu, H.B. Gao // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol. 5, № 1. – P. 9612.

14. Structural analysis of photosystem II in far-red-light-adapted thylakoid membranes: New crystal forms provide evidence for a dynamic reorganization of light-harvesting antennae subunits / S. Stoylova, T.D. Flint, R.C. Ford, A. Holzenburg // *Eur. J. Biochem.* – 2000. – Vol. 267, № 1. – P. 207–215.

15. Casal J.J. Photoreceptor signaling networks in plant response to shade // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2013. – Vol. 64. – P. 403–427.

16. Войцеховская О.В. Фитохромы и другие (фото)рецепторы информации у растений // *Физиология растений.* – 2019. – Т. 66, № 3. – С. 163–177.

References

1. Zhen S., Bugbee B. Far-red photons have equivalent efficiency to traditional photosynthetic photons: implications for re-defining photosynthetically active radiation. *Plant, Cell & Environ.*, 2020, vol. 43, no. 5, pp. 1259-1272.

2. Tingting T., Shenglan L., Yuanfang F. et al. Far-red light: A regulator of plant morphology and photosynthetic capacity. *The Crop Journal*, 2022, vol. 10, no. 2, pp. 300-309.

3. Kurepin L.V., Walton L. J., Reid D.M. et al. Growth and ethylene evolution by shade and sun ecotypes of *Stellaria longipes* in response to varied light quality and irradiance. *Plant Cell Environ.*, 2006, vol. 29, no. 4, pp. 647-652.

4. Shibuya T., Endo R., Kitamura Y. et al. Potential photosynthetic advantages of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings grown under fluorescent lamps with high red: far-red light. *HortScience*, 2010, vol. 45, no. 4, pp. 553-558.

5. Lee M.J., Park S.Y., Oh M.M. Growth and cell division of lettuce plants under various ratios of red to far-red light-emitting diodes. *Hortic. Environ. Biotechnol.*, 2015, vol. 56, no. 2, pp. 186-194.
6. Dubois P.G., Brutnell T.P. Topology of a maize field: Distinguishing the influence of end-of-day far-red light and shade avoidance syndrome on plant height. *Plant Signal. Behav.*, 2011, vol. 6, no. 4, pp. 467-470.
7. Kasperbauer M.J., Peaslee D.E. Morphology and photosynthetic efficiency of tobacco leaves that received end-of-day red and far red light during development. *Plant Physiol.*, 1973, vol. 52, no. 5, pp. 440-442.
8. Kalaitzoglou P., Ieperen W., Harbinson J., Meer M., Martinakos S., Weerheim K., Nicole C.C.S., Marcelis L.F.M. Effects of continuous or end-of-day far-red light on tomato plant growth, morphology, light absorption, and fruit production. *Front Plant Sci.*, 2019, vol. 10, p. 322.
9. Hitz T., Hartung J., Graeff-Hoenninger S., Munz S. Morphological response of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars to light intensity and red to far-red ratio. *Agronomy*, 2019, vol. 9, no. 8, p. 428.
10. Karlsson P.E. Phytochrome is not involved in the red-light-enhancement of the stomatal blue-light-response in wheat seedlings. *Physiol. Plant.*, 1988, vol. 74, no. 3, pp. 544-548.
11. Zou J., Zhang Y.T., Zhang Y.Q., Bian Z.H., Fanourakis D., Yang Q.C., Li T. Morphological and physiological properties of indoor cultivated lettuce in response to additional far-red light. *Sci. Hortic.*, 2019, vol. 257, p. 108725.
12. Yang Z.Q., Zhang J.B., Li Y.X., Peng X.D., Zhang T.H., Zhang J. Effects of red/far red ratio on morphological index, leaf area and dry matter partitioning of cut chrysanthemum flower. *Acta Ecol. Sin.*, 2012, vol. 32, no. 8, pp. 2498-2505.
13. N. Chang N., Gao Y.F., Zhao L., Liu X.M., Gao H.B. Arabidopsis FHY3/CPD45 regulates far-red light signaling and chloroplast division in parallel. *Sci. Rep.*, 2015, vol. 5, no. 1, p. 9612.
14. Stoylova S., Flint T.D., Ford R.C., Holzenburg A. Structural analysis of photosystem II in far-red-light-adapted thylakoid membranes: New crystal forms provide evidence for a dynamic reorganization of light-harvesting antennae subunits. *Eur. J. Biochem.*, 2000, vol. 267, no. 1, pp. 207-215.
15. Casal J.J. Photoreceptor signaling networks in plant response to shade. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2013, vol. 64, pp. 403-427.
16. Voitsekhovskaya O.V. Phytochromes and other (photo)receptors of information in plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2019, vol. 66, no. 3, pp. 163-177.

Сведения об авторах

ЛИСИНА Т.Н.

e-mail: *atea2@yandex.ru*

Кандидат биологических наук, заведующая лабораторией агробиофотоники «Пермского НИИСХ» – Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь.

ЧЕТИНА О.А.

e-mail: *chetoks@gmail.com*

Кандидат биологических наук, заведующая кафедрой физиологии растений и экологии почв биологического факультета Пермского государственного национального исследовательского университета, г. Пермь.

БУРДЫШЕВА О.В.

e-mail: *burdyshevaolga@gmail.com*

Младший научный сотрудник лаборатории агробиофотоники «Пермского НИИСХ» – Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь.

ШОЛГИН Е.С.

e-mail: *faler01@yandex.ru*

Младший научный сотрудник лаборатории агробиофотоники «Пермского НИИСХ» – Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь.

About the authors

LISINA T.N.

e-mail: *atea2@yandex.ru*

Ph.D. in Biological Sciences, headlab, AgroBioPhotonics Laboratory of Perm Scientific Centre of Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm.

CHETINA O.A.

e-mail: *chetoks@gmail.com*

Ph. D. in Biological Sciences, Head of the Department of Plant Physiology and Soil Ecology, Faculty of Biology, PSU, Perm.

BURDYSHEVA O.V.

e-mail: *burdyshevaolga@gmail.com*

Junior researcher, AgroBioPhotonics Laboratory of Perm Scientific Centre of Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm.

SHOLGIN E.S.

e-mail: *faler01@yandex.ru*

Младший научный сотрудник лаборатории агробиофотоники «Пермского НИИСХ» – Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания, номер государственной регистрации НИОКТР 122031100058-3.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Получена: 23.09.2023

Одобрена: 27.09.2023

Принята к публикации: 28.09.2023

Financing. The work was carried out within the framework of a state assignment, state registration number R&D 122031100058-3.

Conflict of Interest. The authors declare no conflict of interest.

Author Contributions. All authors have made an equivalent contribution to the publication.

Received: 23/09/2023

Approved: 27/09/2023

Accepted for publication: 28/09/2023

Просьба ссылаться на эту статью в русскоязычных источниках следующим образом: Изучение влияния дальнего красного света на рост рассады огурца *Cucumis sativus* L. сорта Кураж / Т.Н. Лисина, О.А. Четина, О.В. Бурдышева, Е.С. Шолгин // Прикладная фотоника. – 2023. – Т. 10, № 6. – С. 66–77.

Please cite this article in English as: Lisina T.N., Chetina O.A., Burdysheva O.V., Sholgin E.S. The influence of the ratio of red and far red on the growth of seedlings of cucumber *Cucumis sativus* L. variety Courage // Applied photonics, 2023, no. 6, pp. 66-77.