

黑河流域高山草甸湿地土壤 CO₂ 通量日变化特征

孟好军¹, 赵维俊¹, 雷军¹, 罗龙发², 苗毓鑫¹

(1. 甘肃省祁连山水源涵养林研究院 甘肃省森林生态与冻土水文水资源重点实验室,
甘肃 张掖 734000; 2. 张掖市林业科学技术推广站, 甘肃 张掖 734000)

摘要:采用 Li-6400 便携式光合作用测量系统连接 Li-6400-09 土壤呼吸室, 在 2013 年生长季节对黑河流域高山草甸湿地土壤 CO₂ 通量进行了野外定位试验, 统计分析了水热因子对高山草甸湿地土壤 CO₂ 通量特征的影响。结果表明, 高山草甸湿地不同层次土壤的日平均温度差值由土壤表层(0 cm)的 14.5℃ 骤降到土壤 20 cm 层的 5.8℃, 对土壤呼吸有较大的影响; 土壤 CO₂ 通量日变化特征明显, 早晨 8:00—10:00 维持在较低水平, 土壤 CO₂ 通量在 0.81~1.10 μmol/(m²·s), 在 11:00 开始升高, 13:00 达到峰值, 峰值为 3.26 μmol/(m²·s), 18:00 开始下降, 整个过程呈单峰曲线; 高山草甸湿地土壤 CO₂ 通量与 10 cm 土壤温度、土壤含水量存在不同程度的正相关关系, 表明土壤 CO₂ 通量的变化受温度和水分所控制。

关键词:CO₂ 通量; 温度; 水分; 高山草甸湿地; 黑河流域

中图分类号:S154

文献标识码:A

文章编号:1005-3409(2016)02-0189-05

Daily Variation Process of Soil CO₂ Flux of Alpine Meadow Wetland in Heihe River Basin

MENG Haojun¹, ZHAO Weijun¹, LEI Jun¹, LUO Longfa², MIAO Yuxin¹

(1. Academy of Water Resources Conservation Forests in Qilian Mountains of Gansu Province, Key Laboratory of Hydrology and Water Resources of Forest Ecology and Frozen Soil of Gansu Province, Zhangye, Gansu 734000, China; 2. Zhangye Forestry Science and Technology Extension Station, Zhangye, Gansu 734000, China)

Abstract: We used measuring system of Li-6400 portable photosynthesis to connect soil respiration chamber of Li-6400-09 in the growing season in 2013 to carry out the positioning trial about CO₂ flux of alpine meadow wetland soil in Heihe Basin. We analyzed the effect of hydrothermal factors on characteristic of CO₂ flux of alpine meadow wetland soil. Results showed that daily average temperature difference of different depth of soil in alpine meadow wetland area went immediately down from 14.5℃ of soil surface to 5.8℃ 20 cm depth, having further effect on soil respiration. Daily variation characteristic of soil CO₂ flux is obvious, and keeping in a lower standard at 8:00—10:00 am, CO₂ flux of soil is 0.81~1.10 μmol/(m²·s), beginning to rise at 11:00, reaching to the peak at 13:00, and the peak is 3.26 μmol/(m²·s), beginning to descend at 18:00, the whole process was single-peak curve; soil CO₂ flux and soil temperature, soil moisture content in 10 cm depth exist different degrees of positive correlation in alpine meadow wetland areas, showing that the change of soil CO₂ flux is controlled by temperature and moisture.

Keywords: CO₂ flux; temperature; moisture; alpine meadow wetland; Heihe River Basin

土壤呼吸是陆地生态系统碳循环极重要的环节之一, 通过土壤呼吸排放到大气中的 CO₂ 仅次于植被冠层总光合作用固定的碳量^[1], 土壤 CO₂ 通量是土壤中最易变化的因素, 要对其量化存在着相当大的困难^[2], 如能够确定特定生态系统土壤 CO₂ 通量的

时空变异特征及其与影响因子之间的关系, 就可以通过这些因子来估测土壤中 CO₂ 的排放量^[3-4]。土壤碳通量的变化与环境因子密切相关, 土壤碳通量的变化主要受水分和温度的共同调控^[5], 其中温度与土壤呼吸之间普遍采用一个指数模型来表示土壤呼吸随

温度的变化情况^[6],湿度与土壤呼吸之间的具体关系却各不相同^[7-8],至今已有很多学者对土壤 CO₂ 通量的时间动态与影响因子之间的关系做了大量的研究^[9-13]。然而,在区域尺度上,特别是内陆河—黑河流域探讨湿地环境条件下土壤呼吸强度的变化与环境要素关系方面的研究鲜见报道。黑河流域分布有高山湿草甸湿地 113 678.68 hm²,本研究对象高山草甸湿地是黑河流域上游分布面积最大的天然湿地类型,也是位于冰川下限以下的重要水源涵养区。本研究以草甸湿地为对象,基于草甸湿地土壤 CO₂ 通量及其环境要素的观测,探讨草甸湿地土壤 CO₂ 通量的日变化特征,在这种独特的环境条件下对湿地土壤呼吸的影响规律进行研究,对进一步探索土壤呼吸的机理具有重大意义,也将对区域湿地土壤碳通量变化及其影响因素的变化特征提理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验地点

试验地点位于黑河流域中上游的排露沟流域,流域面积 2.95 km²,其中草地面积约占该流域面积的 55%,林地面积约 40%。气候类型属于高寒半干旱、半湿润山地森林草原气候,年均气温 0.5℃,年均降水 435 mm,年可能蒸发量 1 051 mm。试验区域的主要林木为青海云杉,零星分布有金露梅(*Potentilla fruticosa*)、银露梅(*Potentilla glabra*)、鲜黄小檗(*Berberis diphava*)、苔草(*Carex*)、大针茅(*Stipa grandis*)、黄花棘豆(*Oxytropis ochrocephala*)、萎陵菜(*Potentilla*)、乳白香青(*Anaphalis lactea*)、珠芽蓼(*Polygonum viviparum*)、西北利亚早熟禾(*Poa sibirica*)、冰草(*Agropyron cristatum*)等。研究对象高山草甸湿地位于流域海拔 3 500 m 处,土壤类型为山地灰褐土,土壤厚度 1.0~1.2 m,土壤容重 0.76 g/cm³,孔隙度 51.2%,有机质 79.8 g/kg,人为干扰较小,是开展土壤 CO₂ 通量变化特征理想场所。分布植物主要有金露梅、银露梅、吉拉柳(*Salix gilashanica*)、高山锈线菊(*Spiraea alpina*)、鬼箭锦鸡儿(*Caragana jubata*)、苔草、矮生蒿草(*Kobresia humilis*)、乳白香青、马蔺(*Iris lactea* Pall)、珠芽蓼等。

1.2 试验方法

2013 年 5—9 月份植物生长季,采用美国 Li-COR 公司生产的 Li-6400 便携式光合作用测量系统和 Li-6400-09 土壤呼吸室进行数据的采集和测量,在选定的草甸湿地样地内随机放置 3 个土壤隔离圈(80 cm²,高度 4.4 cm),于每月 25—26 日进行连续 2 d 的土壤 CO₂ 通量测定,每小时对 3 个测点分别测定 1

次,每个测点记录 3 个观测数据。为了减小安放土壤隔离圈对土壤 CO₂ 通量的影响,在土壤 CO₂ 通量测定的前 1 周将土壤隔离圈埋入土壤大约 2 cm 左右,并且在每次测定前 1 d,将测定点土壤隔离圈内的地表植被自土壤表层彻底剪除,不破坏土壤,以减少土壤扰动及根系损伤对测量结果的影响。

在测定土壤 CO₂ 通量的同时,利用便携式光合作用测量系统的温度探针测定 10 cm 土壤温度,同时在每个样地用 TDR 测定土壤 10 cm 含水量;土壤 CO₂ 通量与温度之间的关系采用 SPSS 12.0 统计分析软件进行分析。土壤碳通量与距地表 10 cm 处温度之间关系采用非线性回归程序分析,所用的指数模型如下:

$$R_s = ae^{bT}$$

式中: R_s ——土壤呼吸; T ——气温; a ——温度为 0℃ 时的土壤呼吸,也有些研究者称为基础呼吸; b ——温度反应系数。

2 结果与分析

2.1 草甸湿地不同层次土壤温度变化

土壤呼吸速率大小受温度变化的影响较大,不同土壤层次的日均温度有一定的差异。由图 1 可以看出,高山草甸湿地区不同层次土壤的日平均温度差值由土壤表层(0 cm)的 14.5℃ 骤降到土壤 20 cm 层的 5.8℃,随土层深度的增加呈明显的递减趋势,表明由于高山草甸湿地所处海拔较高,加之祁连山特殊的地理环境,导致土壤层的温度在日观测期间变化差值较大。因此,也将给土壤 CO₂ 通量的变化造成了较大的影响。

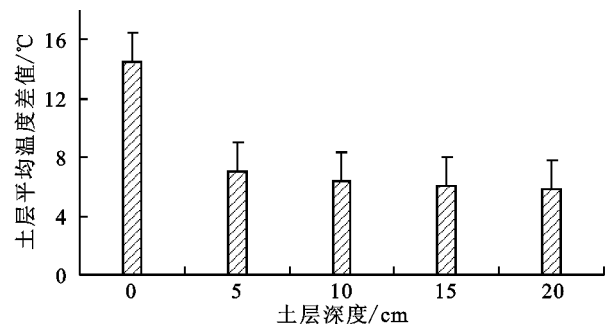


图 1 不同土层平均温度差异变化

2.2 草甸湿地土壤呼吸速率和地表温度的日变化

土壤呼吸速率和地表温度的变化有密切的关系。从图 2 可以看出,草甸湿地土壤呼吸和地表温度呈不规则的峰值曲线,土壤呼吸的高峰值出现在地表温度最高的 13:00—15:00,其低峰值点也是温度最低的 8:00—9:00,由此说明,土壤呼吸日变化与地表温度的变化基本一致。

2.3 土壤 CO₂ 通量日动态变化

土壤呼吸是湿地生态系统中向大气释放 CO₂ 的源,是湿地生态系统碳素循环的主要环节。在森林或

其他植被条件下,受气温日变化的影响,土壤呼吸常常表现出明显的日变化特点^[14]。常宗强等人^[15]在对海拔 2 500~3 000 m 范围祁连山高山草甸土壤 CO₂ 通量的时空变化及其影响分析,研究结果表明,土壤呼吸的日变化程整个过程呈单峰曲线。本研究选取 6 月份 8:00—20:00 的观测数据同样表明,地处祁连山海拔 3 500 m 处的草甸湿地土壤呼吸具有较明显的特征,对于自然湿地,其土壤 CO₂ 通量的日变化趋势为明显的单峰曲线(见图 3)。

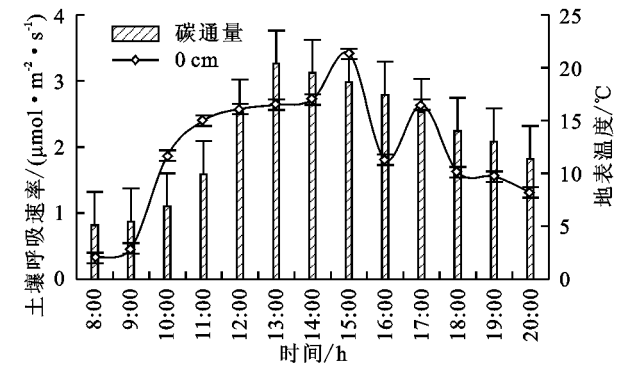


图 2 土壤呼吸速率和地表温度日变化

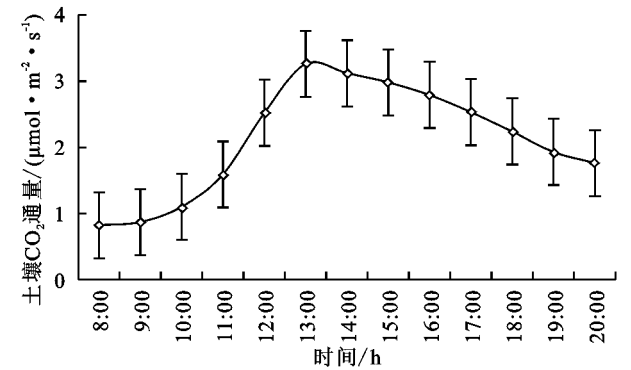


图 3 土壤 CO₂ 通量日变化过程

从图 3 可以看出,祁连山高山草甸湿地土壤 CO₂ 通量日变化呈如下特征:早晨 8:00—10:00 维持在较低水平,土壤 CO₂ 通量在 0.81~1.1 μmol/(m²·s),在 11:00 开始升高,13:00 达到峰值,峰值为 3.26 μmol/(m²·s),18:00 开始下降,整个过程呈单峰曲线。这样的变化格局与祁连山早—午—晚温差大的特点相吻合。土壤 CO₂ 通量主要取决于土壤温度变化,日出后随着气温和地温的升高,微生物活动加强,消耗大量的活性碳,生化反应和有机质分解开始加速^[16],CO₂ 释放增加,在中午 13:00 时出现峰值;14:00 时土壤温度过高,致使植物根系呼吸作用和微生物活动减弱,土壤 CO₂ 通量也随之受到抑制;下午 18:00 时后,随着温度的降低,土壤微生物活性减弱,土壤呼吸速率逐渐降低,这与大多数相关研究结论是一致的^[17-18]。

2.4 土壤 CO₂ 通量与土壤温度的关系

为了探讨土壤温度与土壤 CO₂ 通量的相关关

系,我们分别对土壤 0,5,10,15,20 cm 土层深度的温度与土壤 CO₂ 通量进行了模拟分析,通过非线性回归分析表明,指数模型同样能够较好地描述高山草甸湿地土壤 CO₂ 通量与土壤温度(10 cm)之间的关系见图 4。经统计分析,草甸湿地土壤 CO₂ 通量(R_s)与温度(T)的相关性显著($p<0.001$),其回归关系为:

$$R_s=0.9258e^{0.1232T} \quad R^2=0.6149(p<0.001)$$

从以上分析可以看出,土壤温度与土壤呼吸速率之间存在着显著的指数关系^[19],结果与常建国等^[20]、杨金艳等^[21]的研究结论相一致,也就是说,土壤温度在黑河流域高山草甸湿地内对土壤 CO₂ 通量空间变化有直接的影响。

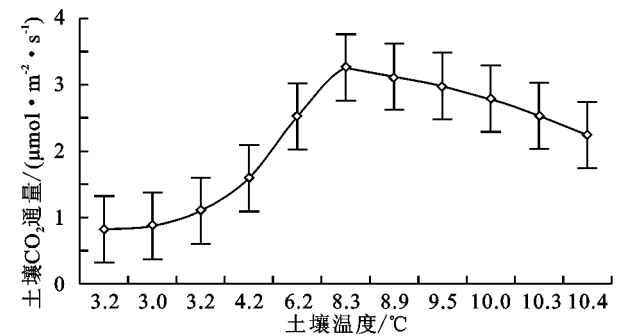


图 4 土壤温度与土壤 CO₂ 通量的关系

2.5 土壤 CO₂ 通量与土壤水分(10 cm)之间的关系

黑河流域高山草甸湿地土壤 CO₂ 通量与土壤含水量(10 cm)之间的变化趋势并不一致(图 5),随着土壤水分含量的增加,土壤 CO₂ 通量也随着增加,但是当土壤水分含量增加到一定程度时,土壤 CO₂ 通量的增加比较缓慢。分析的结果表明,当高山草甸湿地土壤水分含量小于 30% 时,土壤 CO₂ 通量随水分含量的增加而增加,其拟合回归方程为 $y=0.8247x^{0.7728}$, $R^2=0.9973$,式中 y 表示 CO₂ 通量, x 表示土壤水分含量,下同;当土壤水分含量大于 30% 时,随土壤水分含量的增加土壤 CO₂ 通量呈缓慢增长的趋势,其拟合回归方程为: $y=3.2123e^{0.0095x}$, $R^2=0.944$ 。从以上分析可以看出,土壤水分状况在黑河流域高山草甸湿地内对土壤 CO₂ 通量空间变化有一定的影响。

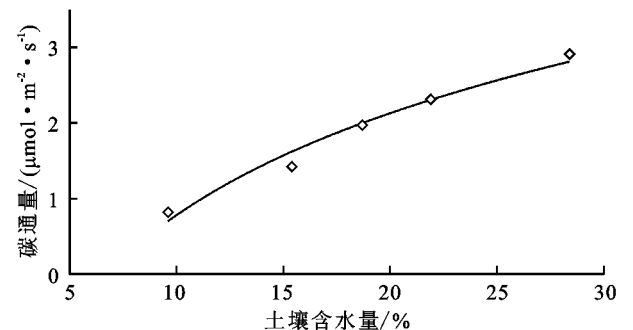


图 5 土壤含水量与土壤 CO₂ 通量的关系

3 讨论

土壤呼吸是一个十分复杂的土壤生态学过程,受多种因素的影响,而温度和土壤水分是土壤呼吸的主要限制因子^[22-23]。在土壤水分充足的地区,土壤含水量不是土壤呼吸的主要限制因子;只有在干旱或半干旱地区和土壤含水量过饱和的情况下,温度和土壤水分才对土壤呼吸共同起作用^[24]。黑河流域中上游的高山草甸湿地所处的区域,鉴于黑河流域中上游地区的自然特点:海拔每升高 100 m 温度下降 0.58℃,降水量增加 4.3%^[25],本研究将温度作为本地区土壤呼吸的主要限制因子进行了分析,黑河流域高山草甸湿地所处海拔 3 500 m,各层土壤温度变化差值很大(从 0 cm 土层的 14.5℃骤降到土壤 20 cm 层的 5.8℃),对土壤呼吸有较大的影响。在该区域土壤 CO₂ 通量的变化与土壤 0,5,10,15,20 cm 和大气温度呈正相关关系,这与诸多学者^[15,26-27]的研究结果基本一致,CO₂ 排放通量与大气温度、地表温度、5 cm 地温和 10 cm 地温呈显著正相关。以上研究结果表明,温度是影响土壤呼吸的主要因子。而王妮等^[28]指出:冬季土壤呼吸可能不受温度限制,而是受其他因素控制。因此,究竟温度在冬季对高山草甸湿地土壤呼吸是否起关键作用还有待进一步探讨。

温度和水分是与土壤呼吸关系最密切的两个环境因子,其中温度与土壤 CO₂ 通量间的关系比较清楚,相对而言,水分对土壤呼吸的影响仍然不够清晰,虽然室内试验已经证明了水分作为土壤呼吸影响因子的重要性,但在野外研究中,不同的研究者得到的结论确千差万别^[29],即使在同一气候区,结果也会大相径庭^[30-31],在不同的地点、不同的时段以及不同的时空尺度上,居于主导地位的因素可能不一样,而且,当土壤的湿度不同时,影响和决定土壤呼吸的机制也会有所变化^[27]。本研究结果表明:黑河流域高山草甸湿地土壤 CO₂ 通量与土壤含水量(10 cm)之间的变化趋势并不一致,当高山草甸湿地土壤水分含量小于 30%时,土壤 CO₂ 通量随水分含量的增加而增加;当土壤水分含量大于 30%时,随土壤水分含量的增加土壤 CO₂ 通量呈缓慢增长的趋势。这一结论与当土壤水分含量小于 30.2%和 28.0%时,高山草甸土壤呼吸速率随水分的增加而增加,当土壤水分含量大于 30.2%和 28.0%时,随土壤水分的增加土壤呼吸速率增加的程度减弱或呈递减趋势基本一致^[15,32]。而张金霞等^[33]人认为高寒草甸土壤水分不是主要矛

盾,不如温度表现得敏感,土壤 CO₂ 释放速率与土壤水分没有显著相关关系。因此,土壤水分量的变化对土壤呼吸影响的准确量化还有待于进一步深入研究。

4 结论

(1)黑河流域高山草甸是地区不同层次高山草甸湿地区土壤的日平均温度差值由土壤表层(0 cm)的 14.45℃骤降到土壤 20 cm 层的 5.8℃,随土层深度的增加呈明显的递减趋势,对土壤呼吸有较大的影响。

(2)黑河流域高山草甸湿地土壤 CO₂ 通量日变化特征明显,早晨 8:00—10:00 维持在较低水平,土壤 CO₂ 通量在 0.81~1.1 μmol/(m²·s),在 11:00 开始升高,13:00 达到峰值,峰值为 3.26 μmol/(m²·s),18:00 开始下降,整个过程呈单峰曲线。这样的变化格局与祁连山早—午—晚温差大的特点相吻合。

(3)黑河流域高山草甸湿地区土壤 CO₂ 通量的变化受温度和水分所控制。

参考文献:

- [1] Raich J W, chlesinger W H. The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate[J]. *Tellus*, 1992,44(2):81-99.
- [2] 吴建国,张小全,徐德应. 六盘山林区几种土地利用方式土壤呼吸时间格局[J]. *环境科学*, 2003,24(6):23-32.
- [3] Raich J W, Potter C S. Global patterns of carbon dioxide emissions from soils[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 1995,9(1):23-36.
- [4] Davidson E C, Belk E, Boone R D. Soil water content and temperature as independent or confounded factors controlling soil respiration in a temperate mixed hardwood forest[J]. *Global Change Biology*, 1998,4(2):217-227.
- [5] Singh J S, Gupta S R. Plant decomposition and soil respiration in terrestrial ecosystems[J]. *The Botanical Review*, 1977,43(4):449-528.
- [6] Grace J, Rayment M. Respiration in the balance[J]. *Nature*, 2000,404(6780):819-820.
- [7] 刘颖,韩士杰,胡艳玲. 土壤温度和湿度对长白松林土壤呼吸速率的影响[J]. *应用生态学报*, 2005,26(9):1581-1585.
- [8] 常宗强,史作民,冯起. 黑河流域山区牧坡草地土壤呼吸的时间变化及水热因子影响[J]. *应用生态学报*, 2005,16(9):1603-1606.
- [9] 刘绍辉,方精云. 土壤呼吸的影响因素及全球尺度下温度的影响[J]. *生态学报*, 1997,17(5):469-476.
- [10] 宋长春,杨文燕,徐小锋,等. 沼泽湿地生态系统土壤 CO₂ 和 CH₄ 排放动态及影响因素[J]. *环境科学*, 2004,25(4):1-6.
- [11] 王跃思,纪宝明,黄耀,等. 农垦与放牧对内蒙古草原

- N₂O、CO₂ 排放和 CH₄ 吸收的影响[J]. 环境科学, 2001, 22(6): 7-13.
- [12] 徐世晓, 赵新全, 李英年, 等. 青藏高原高寒灌丛 CO₂ 通量日和月变化特征[J]. 科学通报, 2005, 50(5): 481-485.
- [13] 张徐源, 闫文德, 马秀红, 等. 模拟氮沉降对樟树人工林土壤呼吸的短期效应[J]. 中南林业科技大学学报, 2012, 32(3): 109-113.
- [14] Wu J, Guan D, Wang M, et al. Year-round soil and ecosystem respiration in a temperate broad-leaved Korean Pine forest[J]. Forest Ecology and Management, 2006, 223(1): 35-44.
- [15] 常宗强, 史作民, 冯起, 等. 祁连山高山草甸土壤 CO₂ 通量的时空变化及其影响分析[J]. 环境科学, 2007, 28(10): 1603-1606.
- [16] Newman D K, Banfield J F. Geomicrobiology: how molecular-scale interactions underpin biogeochemical systems[J]. Science, 2002, 296(5570): 1071-1077.
- [17] 杨青, 吕宪国. 三江平原湿地生态系统土壤呼吸变化的初探[J]. 土壤通报, 1999, 30(6): 254-256.
- [18] 江长胜, 郝庆菊, 宋长春, 等. 垦殖对沼泽湿地土壤呼吸速率的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(17): 4539-4548.
- [19] 闫照刚, 闫文德, 李树战, 等. 亚热带马尾松与樟树林土壤呼吸速率特征比较[J]. 中南林业科技大学学报, 2011, 31(5): 229-233.
- [20] 常建国, 刘世荣, 史作民. 北亚热带—南暖温带过渡区典型森林生态系统土壤呼吸及其组分分离[J]. 生态学报, 2007, 27(5): 1791-1802.
- [21] 杨金艳, 王传宽. 土壤水热条件对东北森林土壤表面 CO₂ 通量的影响[J]. 植物生态学报, 2006, 30(2): 286-294.
- [22] 陈全胜, 李凌浩, 韩兴国, 等. 典型温带草原群落土壤呼吸温度敏感性与土壤水分的关系[J]. 生态学报, 2004, 24(4): 831-836.
- [23] Smith V R. Soil respiration and its determinants on a sub-Antarctic island[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35(1): 77-91.
- [24] 杨晶, 黄建辉, 詹学明, 等. 农牧交错区不同植物群落土壤呼吸的日动态观测与测定方法比较[J]. 植物生态学报, 2004, 28(3): 318-325.
- [25] 张虎, 温娅丽. 祁连山北坡中部气候特征及垂直气候带的划分[J]. 山地学报, 2001, 19(6): 497-502.
- [26] 李东, 曹广民, 胡启武, 等. 高寒灌丛草甸生态系统 CO₂ 释放的初步研究[J]. 草地学报, 2005, 13(2): 144-148.
- [27] 孙步功, 龙瑞军, 孔郑, 等. 青海果洛黄河源区高寒草甸 CO₂ 释放速率研究[J]. 草地学报, 2007, 15(5): 449-453.
- [28] 王妮, 汪涛, 彭书时, 等. 冬季土壤呼吸: 不可忽视的地气 CO₂ 交换过程[J]. 植物生态学报, 2007, 31(3): 394-402.
- [29] 骆士寿, 陈步峰, 李意德, 等. 海南岛尖峰岭热带山地雨林土壤和凋落物呼吸研究[J]. 生态学报, 2001, 21(12): 2013-2017.
- [30] 陈全胜, 李凌浩, 韩兴国, 等. 水分对土壤呼吸的影响及机理[J]. 生态学报, 2003, 23(5): 972-978.
- [31] 王如松, 方精云. 现代生态学的热点问题研究[M]. 北京: 中国科技出版社, 1989.
- [32] 常宗强, 冯起, 吴雨霞, 等. 祁连山亚高山灌丛林土壤呼吸速率的时空变化及其影响分析[J]. 冰川冻土, 2005, 27(5): 666-672.
- [33] 张金霞, 曹广民, 周党卫, 等. 草毡寒冻锥形土 CO₂ 释放特征[J]. 生态学报, 2001, 21(4): 544-549.

~~~~~

(上接第 188 页)

- [14] 武辉, 戴海芳, 张巨松, 等. 棉花幼苗叶片光合特性对低温胁迫及恢复处理的响应[J]. 植物生态学报, 2014, 38(10): 1124-1134.
- [15] 杨富军, 赵长星, 闫萌萌, 等. 栽培方式对夏直播花生叶片光合特性及产量的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(3): 747-752.
- [16] Boccalandro H E, Giordano C V, Ploschuk E L, et al. Phototropins but not cryptochromes mediate the blue light-specific promotion of stomatal conductance, while both enhance photosynthesis and transpiration under full sunlight[J]. Plant Physiology, 2012, 158(3): 1475-1484.
- [17] Lombardozzi D, Levis S, Bonan G, et al. Predicting photosynthesis and transpiration responses to ozone: decoupling modeled photosynthesis and stomatal conductance[J]. Biogeosciences, 2012, 9(8): 31-38.
- [18] Schurgers G, Lagergren F, Mölder M, et al. The importance of micrometeorological variations for photosynthesis and transpiration in a boreal coniferous forest[J]. Biogeosciences, 2015, 12(1): 237-256.
- [19] 郎莹, 汪明. 春、夏季土壤水分对连翘光合作用的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(9): 3043-3051.
- [20] 梁文斌, 聂东伶, 吴思政, 等. 遮荫对短梗大参苗木光合作用及生长的影响[J]. 生态学杂志, 2015, 34(2): 413-419.