

茶树根际与非根际土壤磷形态变化特征

杨君, 周卫军, 杨威, 苗霄霖, 刘长红

(湖南农业大学 资源环境学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 以茶树(*Camellia sinensis*)根际和非根际土壤为研究对象,选取湖南省石门、临澧、桃源、长沙、安化、资兴等 6 县(市)的茶园为采样点,对其根际和非根际土壤的全磷、有效磷及无机磷的不同化学形态进行了分析。结果表明,茶树根际土壤全磷和有效磷含量均高于非根际土壤,有效磷在根际富集明显;土壤无机磷含量及占全磷的比例差异都很大。不同母质发育土壤的无机磷组成也不同,板页岩母质发育的根际土壤中 Al—P 含量最高,Fe—P 其次,O—P 最少。花岗岩和第四纪红色黏土发育的根际土壤 Fe—P 最高,Al—P 其次,O—P 最少。3 种母质发育的非根际土壤中均为 Fe—P 含量最高。根际无机磷中的 Al—P,Fe—P 和 Ca—P 含量与有效磷呈极显著正相关,非根际 Al—P 和 Fe—P 与土壤有效磷显著正相关关系。根际、非根际土壤全磷和有效磷含量与 pH 值相关性不显著,根际、非根际土壤有效磷和全磷含量相关性极显著。

关键词: 磷;无机磷形态;根际土壤;茶树;分级

文献标识码: A

文章编号: 1000-288X(2013)04-0216-05

中图分类号: S158

Characteristics of Phosphorus Forms in Rhizosphere and Non-rhizosphere Soil of Tea Plantation

YANG Jun, ZHOU Wei-jun, YANG Wei, MIAO Xiao-lin, LIU Chang-hong

(College of Resources and Environment, Hu'nan Agricultural University, Changsha, Hu'nan 410128, China)

Abstract: The characteristics of soil total phosphorus(P), available P, different chemical form of inorganic P were studied in rhizosphere and non-rhizosphere soil that was collected from Shimen, Linli, Taoyuan and Changsha area in tea plantation. The results showed the content of total P and available P were higher in rhizosphere soil than non-rhizosphere soil, and the apparent enrichment of available P was observed, while the difference was greater in the content of inorganic P, the ratio of available P to total P in tea plantation soil. In the rhizosphere soils derived from plate shale, the content of Al—P was the highest, Fe—P second and O—P was the least; in rhizosphere soils derived from granite and quaternary red clay, the content of Fe—P was the highest, Al—P second and O—P was the least. In all three types of non-rhizosphere soil the content of Fe—P was the highest. The correlation between Al—P, Fe—P, Ca—P of inorganic P in rhizosphere soil and the available P was extremely positive significant, but between Al—P, Fe—P in non-rhizosphere soil and the available P was positive significant. The P and the available P got no significant correlation with pH value in both rhizosphere and non-rhizosphere soils while the available P had significant correlation with the total P.

Keywords: phosphorus; inorganic P forms; rhizosphere soil; tea plantation; fractionation

磷是作物生长发育所必需的重要营养元素,参与作物体内蛋白质、糖类和丹宁等主要成分的合成和转化,与作物产量和品质的形成密切相关。土壤中无机磷的形态与土壤类型关系密切。根际化学和根际过程的研究对于认识植物对土壤中养分的利用及适应

非常重要^[1]。磷在土壤中易被固定,导致有效磷含量较低,低磷经常是植物生长的主要限制因子^[2]。施入土壤中的磷肥很快转化成其他形态的无机磷酸盐,它们在土壤中的化学性质和对植物的有效性不同^[3]。因此,土壤中不同形态磷对植物的有效性一直被关

收稿日期:2012-10-10

修回日期:2012-11-22

资助项目:国家自然科学基金项目“茶树根际土壤铝、磷形态特征及其相互作用机理”(41071204)

作者简介:杨君(1976—),女(汉族),湖南省邵东县人,博士,副教授,硕士生导师,主要从事土地资源利用与管理。E-mail: yangjun_ly@163.com。

通信作者:周卫军(1966—),男(汉族),湖南省临澧县人,博士,教授,博士生导师,主要从事农业资源利用与管理。E-mail: wjzh0108@163.com。

注。研究植物对土壤磷的活化,提高磷的利用率成为国内外研究的热点。

关于农业方面的根际土壤磷形态研究较多,对于经济林根际土壤磷形态的研究也有少量报道。齐龙波等^[4]在研究稻草覆盖和间作白三叶草对亚热带红壤茶园土壤磷素营养特征的影响中发现,不同管理措施对土壤磷素营养有明显影响。陈隆升等^[5]研究了磷胁迫条件下不同油茶无性系 Apase 活性的比较,揭示磷素胁迫条件下油茶无性系 Apase 的变化规律和筛选磷高效利用型油茶无性系。张汉荣^[6]对“琯溪蜜柚”主产区福建省平和县典型果园剖面土壤磷特性进行了研究,提出了土壤管理措施。我国南方大面积的酸性土壤(红壤、砖红壤、赤红壤等)由于风化程度高,磷肥施入以后大部分被土壤中大量游离铁、铝氧化物和水化氧化物所固定,很快转化成 Fe—P 和 Al—P,两者总量可达 80%~90%,并向闭蓄态磷转化,Ca—P 在这些土壤中所占比重很小^[7]。随着时间的延长,Al—P 含量减少,Fe—P 含量增加,大约一年后无机磷基本转化为 Fe—P^[8-10]。石灰性土壤由于风化程度低,土壤中还有大量 Ca,当水溶性磷酸一钙施入土壤后,可以通过沉淀作用很快生成磷酸二钙,并逐步向磷酸八钙转化,最后转化成磷酸十钙^[7,11]。黄运湘等^[12]研究了菜园土无机磷组成,认为土壤无机磷组成因成土母质不同而不同,第四纪红土母质发育的菜园土 O—P 含量最高,无机磷是土壤有效磷的主要来源。从研究区域的植被来看,关于根际土壤磷素形态的研究主要集中在南方的蔬菜^[12]、果树^[6]、杉木和马尾松混交林^[13],及北方旱生植物^[1]等。林木

根际是其与土壤物质直接交换的场所,植物根系能够直接活化和利用根系附近的难溶性固相养分,使其根际微域的营养状况与非根际产生差异^[13]。齐龙波等^[4]也是以亚热带红壤茶园为对象,但主要集中在长沙县的湘丰茶厂东西山茶园的土壤全磷、有效磷和微生物量磷。

茶树是聚铝性植物。磷是茶树生长发育的必需营养元素,且铝与磷在一定的条件下可以相互作用,形成不溶性的 Al—P。高铝低磷是限制某些作物生长发育的主要土壤养分障碍因子之一。但是,对茶园土壤高铝低磷的根际营养特征有待于进一步了解,茶树根际土壤磷形态特征及其变化规律值得深入研究。本研究选择湖南省不同地区不同母质发育,不同种植年份,不同茶树品种的茶园根际和非根际土壤磷形态为研究对象,对比分析其含量、富集率、形态变化、pH 值的影响及其相互关系,旨在为优化茶园施肥模式,提高土壤磷的有效利用率提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

土样分别取自湖南省的石门县的东山峰茶厂、临澧县的九里茶厂、桃源县的盘塘茶厂、长沙县的湘丰茶厂、安化县的马路口茶厂、资兴市汤溪镇的狗脑贡茶厂等 6 个茶厂的茶园,除石门县采样点海拔较高以外,其他均在 280 m 以下。成土母质主要有板页岩风化物、第四纪红色黏土、花岗岩风化物。在同一个茶园,依土壤母质与茶树种植年份分别采集根际与非根际土壤(表 1)。

表 1 采样点概况

采样地点	地理位置	母质	海拔/m	品种	种植年份	采样点数量
石门县东山峰	29°54'31"—110°42'17"	板页岩	1 101~1 288	橘叶齐,群体种	1968—2008	6
临澧县九里茶场	29°42'10"—111°35'46"	第四纪红色黏土	106~133	白毫早,橘叶齐,群体种	1995,2008	3
桃源县盘塘乡、青林乡	28°55'50"—111°30'51"	第四纪红色黏土	85~119	白毫早,湘波 4 号	1988,1996	4
长沙县金井镇	28°33'02"—113°20'22"	花岗岩	100~119	福建白毫早,白毫早,群体种,福鼎大白	1974—1999	4
长沙县双江镇	28°32'15"—113°25'48"	花岗岩	108~118	白毫早,湘波绿,群体种	1965—2008	5
安化县马路口乡	28°20'55"—111°00'29"	板页岩	215~280	群体种,橘叶齐,福云六号	1968—2005	5
资兴市汤市杨梅坪	26°14'31"—113°39'41"	板页岩	140	福田大白	1994,1995	2
资兴市汤市秧田学校	26°11'50"—113°40'58"	花岗岩	124~137	九龙大白,福云六号,群体种	1999	2

1.2 研究方法

1.2.1 土样采集 土壤样品于 2011 年 3 月 7 日至 4 月 23 日在各个茶厂进行。

(1) 根际土壤。采用林业上使用的抖落法采样。选择好合适的茶树,去除表层枯枝落叶层,然后用小锄头和铲锹挖开茶树周边的土壤,用小刀慢慢剥离土

壤,沿主根系的生长方向剥除根系上附着的土壤,离根系 1 cm 的土壤抖落下来为根际土壤。每个样品采集 5 株茶树根际土壤混合,样品采集重约 200 g。带回实验室,风干,磨碎,过 10 目和 60 目筛,保存备用。

(2) 非根际土壤。在采集根际土壤的茶园基地,采用 S 形多点采样法,采集 0—20 cm 土壤样品 500 g,带

回实验室,风干,磨碎,过 10 和 60 目筛,保存备用。

1.2.2 样品分析 土壤全磷采用 NaOH 熔融—钼锑抗比色法^[14];土壤有效磷次用 0.5 mol/L NaHCO₃ 提取,钼锑抗比色法^[14];土壤有机质用 K₂Cr₂O₇ 容量法^[14];土壤 pH 值用电位法(水土比 1:1)^[14];土壤无机磷分级采用张守敬—JACKSON 法。做 2 个平行,相对误差在 ±5% 范围内,数据结果取其平均值。

1.2.3 数据处理 运用 Excel 整理数据。采用 SPSS 16.0 统计分析软件对茶树根际、非根际土壤的全磷、有效磷、4 种形态无机磷进行方差分析和相关分析。采用相关性分析确定土壤全磷、有效磷和 pH 值,根际土壤有效磷与无机磷,非根际土壤有效磷与无机磷之间的关系。采用富集率表示根际土壤对全磷和有效磷的富集程度。

$$\text{富集率} = \left[\frac{\text{根际 P 含量} - \text{非根际 P 含量}}{\text{非根际 P 含量}} \right] \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 全磷与有效磷含量

2.1.1 不同母质土壤全磷与有效磷含量 由表 2 可知,不同母质发育的茶树根际土壤全磷和有效磷含量均高于非根际土壤。根际土壤全磷含量为 0.18~0.87 g/kg,平均 0.42 g/kg,非根际土壤为 0.12~0.86 g/kg,平均 0.34 g/kg;根际土壤有效磷含量为 3.57~58.45 mg/kg,平均 20.00 mg/kg,非根际 2.68~21.68 mg/kg,平均 9.22 mg/kg。相对于土壤中的全磷含量,绝大多数土壤的有效磷含量都很低。不同采样点同种母质的根际、非根际的同一测试项目差异不

显著。这与其他报道中的“根际与非根际全磷含量差异多不显著”^[15-16]一致。

不同母质根际的全磷、有效磷富集率均大于 0,说明根际土壤对全磷和有效磷有富集作用。但是,不同母质的富集程度差异很大。(1)全磷。根际全磷含量大小依次为:板页岩>花岗岩>第四纪红色黏土;非根际全磷含量大小依次为:板页岩>第四纪红色黏土>花岗岩;富集率大小依次为:花岗岩>第四纪红色黏土>板页岩。(2)有效磷。根际有效磷含量大小依次为:板页岩>第四纪红色黏土>花岗岩;非根际有效磷含量大小依次为:板页岩>第四纪红色黏土>花岗岩;富集率大小依次为:第四纪红色黏土>花岗岩>板页岩。

由表 3 可知,根际有效磷与根际全磷,非根际有效磷与非根际全磷呈极显著正相关。说明这 3 种母质发育土壤中茶树根系可以通过自身作用将各自根际的土壤磷活化,从而使有效磷含量增加,以供自身生长需要。同时也说明在南方茶园,土壤有效磷含量受全磷影响较大。

土壤中磷的移动性很小,土壤有效磷是植物可以吸收利用的磷素,因此,在根际土壤中经常出现亏缺^[13]。本研究结果显示,根际土壤有效磷含量显著大于非根际,说明茶树根系分泌物、根系微生物的活动、菌根等因素都有可能促使根际土壤磷的活化,提高磷的有效性,活化作用产生的有效磷大于茶树对磷的吸收所产生的亏缺,从而使得根际土壤有效磷浓度增加。这与前人研究结果中“根际土壤有效磷含量高于非根际”^[1,17-18]一致。

表 2 不同母质根际与非根际土壤全磷和有效磷含量特征

测试项目	板页岩	第四纪红色黏土	花岗岩
根际全磷/(g·kg ⁻¹)	0.598±0.218	0.288±0.111	0.363±0.125
非根际全磷/(g·kg ⁻¹)	0.567±0.273	0.247±0.0451	0.233±0.090
全磷富集率/%	3.51	16	56.52
根际有效磷/(mg·kg ⁻¹)	26.395±21.605	17.075±15.605	12.526±8.350
非根际有效磷/(mg·kg ⁻¹)	14.050±10.037	7.953±1.7782	6.547±2.699
有效磷富集率/%	87.83	114.84	91.30

注:表中数值为平均值±标准差。

表 3 土壤全磷、有效磷与 pH 相关系数

项目	根际 pH 值	根际全磷	根际有效磷	非根际 pH	非根际全磷	非根际有效磷
根际 pH 值	1					
根际全磷	-0.038	1				
根际有效磷	0.156	0.809**	1			
非根际 pH	-0.323	0.272	0.348	1		
非根际全磷	0.138	-0.581	-0.398	-0.194	1	
非根际有效磷	0.053	-0.833**	-0.595	-0.061	0.811**	1

注:*,** 分别表示显著差异水平为 0.05,0.01。下同。

2.1.2 不同母质土壤全磷、有效磷与 pH 值的关系

根际土壤 pH 值的变化对土壤磷有重要意义。树木根际 pH 值的变化将对磷的有效性产生一定的影响^[13]。由于 pH 值增加导致了磷酸铁和铝盐溶解度的增加,北方碱性土壤中,根际的酸化可以显著增加土壤磷的有效性^[2],南方酸性土壤中磷的有效性随着 pH 值的增加而增加^[19],即,南方根际土壤酸度的增加,会降低土壤磷的有效性。本研究结果显示,根际、非根际土壤的 pH 差异不大,均处于 4.1~4.4。对土壤全磷、有效磷与 pH 进行相关性分析,结果显示(表 3),在显著水平为 0.01 时,根际全磷、根际有效磷与根际 pH 值,非根际全磷、非根际有效磷与非根际 pH 值的正负相关性均不显著。而试验结果显示,根际土壤有效磷高于非根际,有效磷富集率很大,说明茶树根际没有出现明显的酸化现象,而且 pH 值在此范围内,酸度的微弱变化对磷活性的降低没有显著影响,或者说这些影响不足以抑制根系分泌有机酸活化磷的作用。

2.2 无机磷形态

土壤无机磷含量及其占全磷的比例差异都很大,根际无机磷占全磷比例的变动范围 21.8%~74.2%,

非根际的为 23.3%~92.5%。与其他农业、林业根际土壤、自然土壤无机磷含量不同^[1,12],是茶园土壤无机磷含量特色。其中石门、资兴地区的以无机磷形态为主,说明可能与茶树品种、成土母质、采样地点的地域差异等相关,也与人为耕作措施密切相关。

土壤无机磷的存在形态和数量与土壤磷的有效性有关。土壤无机磷主要分为磷酸铁、铝类、钙类和闭蓄态磷(Fe—P, Al—P, Ca—P, O—P)。3 种母质根际和非根际土壤无机磷含量详见表 4。结果显示,测试土样中, O—P 含量最低, Fe—P 和 Al—P 最多,其中,板页岩、花岗岩根际土壤无机磷的 Fe—P, Al—P, Ca—P 高于非根际, O—P 稍低于非根际;第四纪红色黏土根际各无机磷形态含量均高于非根际。说明茶园的植物最难利用的无机磷形态(O—P)活化,转化为 Fe—P, Al—P 或 Ca—P,其中根际活化能力较强。这与前文根际有效磷含量明显高于非根际的结果一致。但是相对菜园土研究结果^[12]差异很大,说明不同耕作制度和施肥方式、剖面深度对植物土壤无机磷分组含量影响很大,这与张健等^[20]研究得到的菜地的全磷、有效磷高于林地,而且变异系数很大相一致。同时也说明茶树根际聚铝、铁性强。

表 4 不同母质根际与非根际土壤无机磷分组含量特征

mg/kg

母质种类	样本数	Al—P	Fe—P	O—P	Ca—P	
板页岩	根际	10	148.3	133.8	5.2	44.3
	非根际	3	86.0	110.2	5.8	43.5
第四纪 红色黏土	根际	4	59.2	67.4	8.1	26.5
	非根际	3	12.3	32.6	6.0	24.8
花岗岩	根际	7	60.5	82.3	6.4	37.0
	非根际	4	24.4	59.4	8.8	32.8

同一母质类型的不同茶园的无机磷和形态也有差异。同为板页岩的石门县东山峰的根际、非根际的无机磷含量(469.9, 391.8 mg/kg)明显高于安化县马路口乡(190.2, 107.2 mg/kg)。前者 Al—P(206.4, 157.4 mg/kg), Fe—P(194.1, 150.9 mg/kg)含量也明显高于后者。

2.3 土壤有效磷和各形态无机磷含量之间的关系

通过对根际土壤有效磷和无机磷各组分含量的相关分析结果显示(表 5),在显著水平为 0.01 时,根际土壤有效磷与 Al—P, Fe—P, Ca—P 含量呈极显著相关,而与 O—P 含量相关不明显。说明在根际微域中, Al—P, Fe—P, Ca—P 含量虽小,但对土壤磷素的有效性起到了重要作用。

表 5 根际土壤有效磷与无机磷组分相关系数

项目	有效磷	Al—P	Fe—P	O—P	Ca—P
有效磷	1				
Al—P	0.782**	1			
Fe—P	0.908**	0.877**	1		
O—P	0.392	0.261	0.385	1	
Ca—P	0.602**	0.573**	0.671**	0.181	1

对非根际土壤有效磷和无机磷各组分含量的相关分析结果显示(表 6),在显著水平为 0.01 时,非根际土壤有效磷与 Al—P 含量极显著相关;在显著水平为 0.05 时,非根际土壤有效磷与 Fe—P 显著相关。Ca—P 与土壤有效磷呈正相关。说明在非根际土壤中 Al—P, Fe—P 含量对磷的有效性显著。对比分析

根际、非根际的有效磷含量与 Al—P, Fe—P 含量的相关性可知, 茶园土壤的 Al—P, Fe—P 不仅比例相对高, 而且相关性大, 今后的施肥模式应该针对聚铝性植物茶树根际的这一肥力特征, 以提高肥效。

表 6 非根际土壤有效磷与无机磷组分的相关系数

项 目	有效磷	Al—P	Fe—P	O—P	Ca—P
有效磷	1				
Al—P	0.857**	1			
Fe—P	0.797*	0.905**	1		
O—P	-0.286	-0.007	0.187	1	
Ca—P	0.424	0.737*	0.715*	0.547	1

3 结 论

(1) 茶树根际是一个高铝低磷的特殊环境, 研究结果对改善根际环境、提高茶园土壤养分的有效性有很大帮助, 为合理施肥提供科学依据。

(2) 茶树根际、非根际土壤全磷和有效磷含量与 pH 值相关性不显著, 而根际、非根际土壤有效磷和全磷含量相关性极显著。

(3) 土壤无机磷含量及其占全磷的比例差异都很大。不同母质发育的土壤无机磷组成特征也不同。O—P 均为最低。茶园中植物最难利用的无机磷形态 (O—P) 活化, 转化为 Fe—P, Al—P 或 Ca—P, 其中根际的活化能力较强。

(4) 无机磷是土壤有效磷的主要来源, 根际 Al—P, Fe—P, Ca—P 对土壤磷素的有效性起到了非常重要作用。非根际的 Al—P 和 Fe—P 对土壤磷素的有效性作用也很大。

(5) 茶树根际无机磷含量与前人研究的其他植物根际无机磷含量不同, 这可能与研究对象、茶树品种、成土母质、采样地点的地域差异等相关, 今后还可以就此进行进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 薛梓瑜, 周志宇, 詹媛媛, 等. 干旱荒漠区旱生灌木根际土壤磷变化特征[J]. 生态学报, 2010, 30(2): 341-349.
- [2] Hinsinger P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: A review[J]. Plant and Soil, 2001, 237(2): 173-195.
- [3] 冯跃华, 张杨珠, 黄运湘. 不同稻作制、有机肥用量及地下水深度对红壤性水稻土无机磷形态的影响[J]. 中国农业科学, 2009, 42(10): 3551-3558.
- [4] 齐龙波, 周卫军, 郭海彦, 等. 覆盖和间作对亚热带红壤茶园土壤磷营养的影响[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(3): 593-597.
- [5] 陈隆升, 陈永忠, 王瑞, 等. 磷胁迫对不同油茶优良无性 Apase 活性的影响[J]. 中国农学通报, 2011, 27(31): 58-63.
- [6] 张汉荣. 平和“琯溪蜜柚”果园剖面土壤磷特性及其改善措施[J]. 中国农学通报, 2011, 27(33): 98-10.
- [7] 陆文龙, 张福锁, 曹一平. 磷土壤化学行为研究进展[J]. 天津农业科学, 1998, 4(4): 1-7.
- [8] 赵海涛, 封克, 汪晓丽, 等. 磷在不同土壤和无机磷组分间的转化研究[J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2006, 27(3): 50-55.
- [9] 张俊平, 朱峰, 张新明, 等. 酸性土壤固磷机理研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(1): 231-235.
- [10] Li Fuyong, Luo Ancheng, Wei Xinghua, et al. Changes in phosphorus fractions, pH, and phosphatase activity in rhizosphere of two rice genotypes[J]. Pedosphere, 2008, 18(6): 785-794.
- [11] 沈仁芳, 蒋柏藩. 石灰性土壤无机磷的形态分布及其有效性[J]. 土壤学报, 1992, 29(1): 80-86.
- [12] 黄运湘, 张杨珠, 王翠红, 等. 菜园土肥力特征及蔬菜硝酸盐污染的控制技术 I: 长沙市郊专业蔬菜基地土壤磷素状况及无机磷形态的分级[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2004, 30(2): 110-114.
- [13] 张鼎华, 林开森, 李宝福. 杉木、马尾松及其混交林根际土壤磷素特征[J]. 应用生态学报, 2011, 22(11): 2815-2821.
- [14] 中国土壤学会农业化学委员会. 土壤农业化学常规分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [15] 张彦东, 白尚斌, 王政权, 等. 落叶松根际土壤磷的有效性研究[J]. 应用生态学报, 2001, 12(1): 31-34.
- [16] 苏永中, 赵哈林, 张铜会. 几种灌木、半灌木对沙地土壤肥力影响机制的研究[J]. 应用生态学报, 2002, 13(7): 802-806.
- [17] Ma Bin, Zhou Zhiyu, Zhang Caiping, et al. The character of phosphorus concentrations in rhizosphere soil of super-xerophytic shrubs[J]. Acta Pratacuhurae Sinica, 2005, 16(3): 106-110.
- [18] Owen A G, Godboid D L, Jones D L. Organic acid mediated P mobilization in the rhizosphere and uptake by maize roots[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(5): 703-710.
- [19] Jones D L, Daah P R. Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere[J]. Plant and Soil, 1994, 166(2): 247-257.
- [20] 张健, 陈凤, 濮励杰, 等. 区域土地利用变化对土壤磷含量的影响评价研究[J]. 生态环境, 2007, 16(3): 1018-1023.