郑 雪,李兴勇,陈晓燕,等. 番茄斑萎病毒与传毒蓟马发生流行的相关性[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):118-121. doi:10.15889/i.issn.1002-1302.2015.05.039

番茄斑萎病毒与传毒蓟马发生流行的相关性

郑雪1,李兴勇2,陈晓燕1,陈永对1,吴阔1,刘春明3,肖俊华2,李宏光3,张洁1,董家红1

(1. 云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所/云南省农业生物技术重点实验室/农业部西南作物资源与新种质创制 重点实验室,云南昆明 650223;2. 云南省红河州烟草公司泸西分公司,云南泸西 652400;3. 云南省烟草公司红河州公司,云南弥勒 652300)

摘要:对云南红河州烟田番茄斑萎病毒与传毒蓟马的发生流行动态进行了调查研究,共鉴定出西花蓟马、花蓟马和烟蓟马等3种蓟马为烟田传毒蓟马,其中以西花蓟马种群数量最多。对不同时期传毒蓟马百株虫量和TSWV发病率进行回归分析,结果表明传毒蓟马虫口数量与烟田TSWV发病率呈正相关关系,即传毒蓟马种群数量高会导致烟田TSWV的发生流行。

关键词:烟田;传毒蓟马;番茄斑萎病毒;相关性

中图分类号: S436.412 文献标志码: A 文章编号:1002-1302(2015)05-0118-03

番茄斑萎病毒(tomato spotted wilt virus, TSWV)属布尼亚病毒科(Bunyaviridae)番茄斑萎病毒属(Tospovirus),是该属病毒中的代表成员。TSWV为世界性分布,寄主范围广,是一类对农业生产具有严重破坏作用的植物病毒,每年在世界范围内造成数亿美元的经济损失,被列为世界危害最大的10种植物病毒之一[1-3]。

近年来,随着全球气候变暖和国际贸易的增加,番茄斑萎病毒的发生范围日益扩大,且不断有新种和新株系发生流行危害^[4-7]。目前,该属病毒已报道了 25 种^[8-9],其中在云南地区发现 10 种,包括 5 个新种,3 种新株系^[10-13]。笔者所在实验室前期调查结果显示,番茄斑萎病毒(TSWV)为该属病毒在云南的优势种之一,在云南分布广泛,寄主植物包含茄科、菊科、藜科、豆科、葱科、鸢尾科等 7 科的 25 种植物^[10,14-15]。

TSWV 主要由蓟马以持久增殖方式传播,仅在若虫期获毒的蓟马成虫才可传毒,获毒蓟马终生带毒,且病毒可在蓟马体内复制^[16-18]。在田间可传播 TSWV 的蓟马有缨翅目(Thysanoptera)蓟马科(Thripidae)的花蓟马属(Frankliniella)和蓟马属(Thrips),主要有西花蓟马(F. occidentalis)、首花蓟马(F. cephalica)、梳缺花蓟马(F. schultzei)、花蓟马(F. bispinosa)、烟草褐蓟马(F. fusca)、台湾花蓟马(F. intonsa)、棕榈蓟马(T. palmi)、烟蓟马(T. tabaci)、日本烟草蓟马(T. setosus)等^[4,18-22]。郑雪等的研究结果表明,西花蓟马、花蓟马、烟蓟马和棕榈蓟马等4种蓟马为云南地区 TSWV 的主要传毒介体^[15]。传毒蓟马通过传播 TSWV 对寄主植物构成间接危害引起的经济损失远大于其直接取食所造成的损失。

收稿日期:2014-06-10

基金项目:国家自然科学基金(编号:31360430);云南省烟草公司 2013 年度科技计划(编号:云烟司 2013186);中国博士后科学基金 (编号:2013M531992);云南省科技计划(编号:2012CH007)。

作者简介:郑 雪(1980—),女,博士,助理研究员,从事植物病虫害防控研究。Tel:(0871)65123133;E-mail;zhengxue05@163.com。通信作者:张 洁,博士,助理研究员,从事植物病虫害防控研究。Tel:(0871)65123133;E-mail;zhengjun2314@126.com。

红河州位于云南省东南部,生物资源丰富,气候类型丰富 多样。2012 年来,该州由 TSWV 引起的主要经济作物烟草、番茄、辣椒等作物斑萎病暴发流行,给当地的农业经济生产造成了严重损失。基于此,笔者于 2013 年对红河州烟区 TSWV 发生情况与传毒蓟马的种类及数量动态进行了调查研究,旨在摸清 TSWV 与传毒蓟马发生流行的相关性,为建立有效的番茄斑萎病毒-传毒蓟马综合防控体系提供理论与实践依据。

1 材料与方法

1.1 试验调查地点

在云南省红河州泸西县烤烟种植田选择 3 块试验小区进行(每个小区面积约 60 m^2)。该地区海拔 1 823.00 m ,年平均气温 14.70 $\mathbb C$,年降水量 983.00 mm 。

1.2 调查方法

自 2014 年 5 月 5 日烟草团棵期始,至 6 月 2 日烟草旺长期止,每隔 7 d 调查 1 次蓟马虫口数量及烟草发病情况,共调查 5 次。调查采用五点式取样法,每试验小区每次调查 5 个样点,每点选择 5 株烟株,且保证样点至少与烟田边缘有 5 m距离,以减少边缘效应对取样结果的影响。用小棒击振烟株的叶和花,使栖息其上的蓟马振落到下方承接的白色托盘上,用吸虫器吸入酒精瓶内带回实验室鉴定种类并统计数量,折算成百株虫口数量。

百株虫量(头)=(调查总虫数/调查总株数)×100株。

结合蓟马虫口数量的调查同时进行感染 TSWV 烟株的发病率调查,每点选取 5 株烟株,将疑似感病烟草的叶片带回实验室经 ELISA 检测,确定是否带毒。记录总株数、病株数,计算烟株发病率。

烟株发病率 = (发病株数/调查总株数)×100%。

1.3 标本鉴定

标本的制作参考张宏瑞等^[23]、Mirab - Balou 等^[24]的方法并稍加修改,将采集到的蓟马从离心管中挑出,放在5% KOH溶液中,冷浸12~24 h(按虫体大小、颜色深浅而定),除去体内脂肪等影响形态观察的内含物,并适度褪色。待标本的翅及附肢都伸展后,即可制成玻片,以供鉴定。鉴定采用

Priesner 建立的2亚目、3总科、5科的分类系统。

1.4 TSWV 发生与传毒蓟马种群动态相关性

根据调查结果,分析烟田 TSWV 发生流行与传毒蓟马种 群动态的相关性。

1.5 数据分析

采用 SPSS 11.5 软件进行数据分析。本研究中数据均为 "平均数 ± 标准误"。

2 结果与分析

2.1 传毒蓟马种类鉴定

通过制作蓟马的玻片标本,对采集的蓟马样本进行镜检, 共鉴定出3种蓟马,分别为蓟马科(Thripidae)花蓟马属 (Franlliniella)的西花蓟马、花蓟马,蓟马属(Thrips)的烟蓟 马。其中,西花蓟马所占比例最大,分别占 5 次调查收集蓟马 虫口总量的 92.40%、88.89%、94.66%、92.47%、94.27% (表1)。对所鉴定的 3 种蓟马种类,根据其成虫特征,编写了 加下检索表。

红河泸西烟田传毒蓟马检索表

- 1. 触角 7 节,前胸背片有 2 对长鬃 ········ 烟蓟马 T. tabaci 触角 8 节,前胸背片有 4 对长鬃 ········ 2
- 2. 复眼后鬃长,最长的与单眼间鬃等长,单眼间鬃位于前、后单眼外缘连接线上,后胸盾片具1对钟形感受孔......

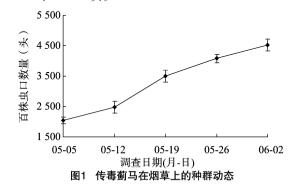
······ 花蓟马 F. intonsa

表 1 烟田蓟马种类、数量及所占比例

蓟马种类	5月5日		5月12日		5月19日	
	百株虫量 (头/百株)	所占比例 (%)	百株虫量 (头/百株)	所占比例 (%)	百株虫量 (头/百株)	所占比例 (%)
西花蓟马	1 886.32 ± 25.33	92.40 ± 1.64	2205.15 ± 18.6	88.89 ± 1.55	3 314.42 ± 24.15	94.66 ± 1.04
花蓟马	95.21 ± 15.65	4.66 ± 0.25	147.20 ± 22.14	5.93 ± 0.38	112.64 ± 11.58	3.22 ± 0.52
烟蓟马	59.87 ± 18.24	2.93 ± 0.44	128.35 ± 16.50	5.17 ± 0.28	74.45 ± 9.86	2.13 ± 0.25
蓟马种类	5月26日		6月6日			
	百株虫量 (头/百株)	所占比例 (%)	百株虫量 (头/百株)	所占比例 (%)		
西花蓟马	3 774.95 ± 26.14	92.47 ±1.56	4 262.40 ± 34.25	94.27 ±1.34		
花蓟马	160.75 ± 21.82	3.94 ± 0.41	146.44 ± 19.56	3.24 ± 0.25		
烟蓟马	146.55 ± 18.52	3.59 ± 0.22	112.72 ± 22.48	2.49 ± 0.12		

2.2 传毒蓟马种群动态

由图 1 可以看出,自 5 月 5 日起,传毒蓟马种群数量呈逐渐上升的趋势。调查初始日 5 月 5 日,百株虫口数量达 2 041.40头,之后 5 月 12 日、5 月 19 日、5 月 26 日、6 月 2 日,百株虫口数量直线上升,分别为 2 480.70、3 501.51、4 082.25、4 521.56头。

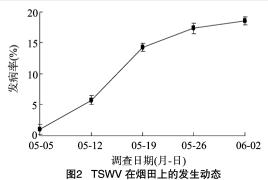


2.3 TSWV 发生动态

如图 2 所示,5 月 5 日田间烟草斑萎病发病率为 1.00%, 之后烟草斑萎病的发病率随着调查的延续呈逐渐上升趋势,5 月 12 日、5 月 19 日、5 月 26 日、6 月 2 日的发病率分别为 5.74%、14.19%、17.33%、18.52%。

2.4 蓟马与 TSWV 发生流行的相关性

由图 1 和图 2 可以看出,当传毒蓟马种群数量较高时, TSWV 发病率也处于较高水平。通过对不同时期传毒蓟马百 株虫量和TSWV发病率的动态进行回归分析,得出TSWV发



病率(y) 与传毒蓟马种群数量(x) 回归方程 y = 0.000 07x = 0.125 7(r = 0.980 2)。r > 0.90, 说明传毒蓟马虫口数量与烟田 TSWV 发病率呈正相关关系, 即传毒蓟马种群数量高会导致烟田 TSWV 的发生流行。

3 讨论

TSWV 可侵染 80 多个科 1 100 多种植物,且该病毒能由 西花蓟马 F. occidentalis、烟蓟马 T. tabaci 等 8 种以上的蓟马 进行传播^[4,25]。云南地处低纬高原,生态类型多样,植物种类丰富多样,为 TSWV 和传毒蓟马提供了丰富的寄主资源,是导致近年云南地区 TSWV 暴发流行的主要原因之一。

蓟马传播 TSWV 方式独特,蓟马若虫通过取食带病毒植株感染病毒,然后通过携带病毒的若虫和成虫转移取食在寄主植物之间进行传播^[26];蓟马能否成功地传播病毒,从而导致病毒的发生流行,通常取决于蓟马在寄主植物间的行为和

扩散能力,受到蓟马的种类、性别、龄期、寄主植物种类、环境条件等多种因素的影响^[27-28]。西花蓟马是 TSWV 最主要的传播媒介,一般可导致作物损失 30%~50%,严重时可达到70%,甚至有可能导致绝收^[29]。本研究通过 2013 年对泸西烟田蓟马种类、数量的调查,发现西花蓟马、烟蓟马、花蓟马等3种传毒蓟马。其中以西花蓟马为烟田传毒蓟马优势种,5次调查分别占所收集标本总量的92.40%、88.89%、94.66%、92.47%、94.27%。这与郑雪等报道的2012 年在泸西烟田中共发现西花蓟马、烟蓟马、花蓟马和棕榈蓟马等4种传毒蓟马略有不同^[15],这种差异可能是由于调查时间(月份)不同,温度、湿度等环境条件的变化所导致。调查发现,烟田 TSWV 发病率的动态趋势与传毒蓟马种群数量变化的趋势基本一致,均在烟草旺长初期达到最高峰,发病率为18.52%。经相关性分析,传毒蓟马虫口数量与 TSWV 发病情况呈正相关关系,表明传毒蓟马虫口数量越大,越容易造成 TSWV 的暴发流行。

寄主植物周边的杂草和寄主植物的间作组合方式、寄主植物在田间种植的时间也影响传毒蓟马对 TSWV 的传播,如杂草和间作的农作物是介体蓟马或病毒的寄主,寄主植物主要生长期的温度适宜传毒蓟马的生长发育等因素都有利于TSWV 的发生流行^[30-32]。明确 TSWV 与传毒蓟马种群发生动态,分析 2 者之间的相关性,将为建立 TSWV - 传毒蓟马综合防控体系与预警、控制策略提供理论依据。

参考文献:

- [1] German T L, Ullman D E, Moyer J W. Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships [J]. Annual Review of Phytopathology, 1992, 30:315 – 348.
- [2] Ullman D E, Whitfield A E, German T L. Thrips and tospoviruses come of age; mapping determinants of insect transmission [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102 (14):4931-4932.
- [3] Scholthof KBG, Adkins S, Czosnek H A, et al. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology [J]. Molecular Plant Pathology, 2011, 12 (9):938-954.
- [4] Pappu H R, Jones R A, Jain R K. Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems; successes achieved and challenges ahead [J]. Virus Research, 2009, 141(2):219 236.
- [5] Hanssen I M, Lapidot M, Thomma B P. Emerging viral diseases of tomato crops [J]. Molecular Plant – Microbe Interactions, 2010, 23 (5):539-548.
- [6] Zhou J, Kantartzi S K, Wen R H, et al. Molecular characterization of a new tospovirus infecting soybean [J]. Virus Genes, 2011, 43 (2): 289-295.
- [7] Torres R, Larenas J, Fribourg C, et al. Pepper necrotic spot virus, a new tospovirus infecting solanaceous crops in Peru[J]. Archives of Virology, 2012, 157(4):609-615.
- [8] Fauquet C M, Mayo M A, Maniloff J, et al. Virus taxonomy 8th reports of the international committee on taxonomy of viruses [M]. new york; academic press, 2005;712 –713.
- [9] Cheng Y H, Zheng Y X, Tai C H, et al. Identification, characterisation and detection of a new tospovirus on sweet pepper [J]. Annals of Applied Biology, 2014, 164(1):107-115.
- [10] Dong J H, Zhang Z K, Yin Y Y, et al. Natural host ranges of tomato

- zonate spot virus in Yunnan [J]. Journal of Insect Science, 2010, 166(10):12-18.
- [11] Dong J H, Yin Y Y, Fang Q, et al. A new tospovirus causing chlorotic ringspot on *Hippeastrum* sp. in China[J]. Virus Genes, 2013,46(3):567-570.
- [12] Zhang Z K, Dong J H, Yin Y Y, et al. Occurrence and genetic diversity of tospoviruses in Yunnan [J]. Journal of Insect Science, 2010: 57
- [13] Liu Y T, Lu X P, Zhi L, et al. Calla lily chlorotic spot virus from spider lily (*Hymenocallis litteralis*) and tobacco (*Nicotiana tabacum*) in the Southwest of China[J]. Journal of Phytopathology, 2012, 160 (4):201-205.
- [14] 尹跃艳,董家红,方 琦,等. 番茄环纹斑点病的发生流行特点 初步研究[C]//植物保护科技创新与发展——中国植物保护学会 2008 年学术年会论文集. 北京:中国植物保护学会,2008:358-359.
- [15]郑 雪,刘春明,李宏光,等.云南省红河地区传播番茄斑萎病 毒属病毒的蓟马及其寄主植物种类调查[J].中国植保导刊, 2013.33(3):41-44.
- [16] Wijkamp I, van Lent J, Kormelink R, et al. Multiplication of tomato spotted wilt virus in its insect vector, frankliniella occidentalis [J]. Journal of General Virology, 1993, 74:341-349.
- [17] van de Wetering F, Goldbach R, Peters D. Transmission of tomato spotted wilt virus by Frankliniella occidentalis after viral acquisition during the first larval stage [J]. Acta Horticulturae, 1996, 431: 350-358.
- [18] Whitfield A E, Ullman D, German T L. Tospovirus thrips interactions [J]. Annual Review of Phytopathology, 2005, 43:459 489.
- [19] Persley D M, Thomas J E, Sharman M. Tospoviruses an Australian perspective [J]. Australasi Plant Path, 2006, 35:161 180.
- [20] 张友军, 吴青君, 徐宝云, 等. 危险性外来入侵生物——西花蓟 马在北京发生危害[J]. 植物保护, 2003, 29(4):58-59.
- [21]吴青君,徐宝云,张治军,等. 京、浙、滇地区植物蓟马种类及其分布调查[J]. 中国植保导刊,2007,27(1):32-34.
- [22] Dong J H, Cheng X F, Yin Y Y, et al. Characterization of tomato zonate spot virus, a new tospovirus species in China[J]. Archives of Virology, 2008, 153(5):855-864.
- [23]张宏瑞, Okajima S J, Laurence A M. 蓟马采集和玻片标本的制作 [J]. 昆虫知识, 2006, 43(5):725-728.
- [24] Mirab Balou M, 陈学新. 一种用于显微观察的蓟马标本的制片新方法[J]. 环境昆虫学报, 2010, 32(1):115-121.
- [25] Ohnishi J, Katsuzaki H, Tsuda S, et al. Frankliniella cephalica, a new vector for Tomato spotted wilt virus [J]. Plant Disease, 2006;685.
- [26] Jones D R. Plant viruses transmitted by thrips[J]. European Journal of Plant Pathology, 2005, 113:119-157.
- [27] Mauck K E, De Moraes C M, Mescher M C. Deceptive chemical signals induced by a plant virus attract insect vectors to inferior hosts [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(8):3600-3605.
- [28] Huang L, Ren Q, Sun Y, et al. Lower incidence and severity of tomato virus in elevated CO₂ is accompanied by modulated plant induced defence in tomato [J]. Plant Biology, 2012, 14(6):905-913.
- [29] Biology R S. Ecology of the western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae): the making of a pest[J]. Florida Entomologist, 2009,

蒙春蕾,王勇勇,黄 敏,等. 不同氮源对海洋真菌 BH0531 发酵液杀线虫活性的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):121-123. doi:10.15889/j. issn. 1002-1302.2015.05.040

不同氮源对海洋真菌 BH0531 发酵液杀线虫活性的影响

蒙春蕾',王勇勇',黄 敏',蔡 爽1,孟庆恒2,孙建华2

(1. 天津师范大学生命科学学院, 天津 300387; 2. 天津市动植物抗性重点实验室, 天津 300387)

摘要:海洋来源的枝顶孢霉(Acremnium, BH0531)是一株以松材线虫为靶标筛选出的杀线虫真菌。氮源的化合态和种类对该菌株的生长以及代谢产物的活性有显著影响。研究结果显示,不同氮源对菌体生长量的影响差异显著,有机氮优于无机氮;代谢物的杀线虫活性则表现为无机氮优于有机氮,其中以 NaNO₃ 为氮源的发酵液对松材线虫的杀线率以及 NH₄Cl 为氮源的发酵液对根结线虫的杀线率分别高达 95.67% 和 96.60%,均高于有机氮源中最高的蛋白胨。根结线虫对各种无机氮源发酵液的敏感性普遍高于松材线虫。此外,经高温处理的代谢物仍观察到较强的杀线虫活性,显示出良好的热稳定性。

关键词:海洋枝顶孢霉;氮源;杀线活性;松材线虫;根结线虫

中图分类号: Q939.9; S432.4 *5 文献标志码: A 文章编号: 1002 - 1302(2015) 05 - 0121 - 03

植物寄牛线虫是一类世界性分布的重要植物病原物,其 寄生范围广,环境适应性强,几乎每种作物都受到植物线虫的 侵害,其危害程度仅次于真菌,已超过细菌、病毒,成为第二大 植物病害,防控形势严峻[1]。真菌杀线剂(具杀线活性的代 谢产物)是一类环境友好型生防因子,越来越受到广泛重 视[2]。已经报道的具有杀线虫活性的真菌种类超过700种, 已分离得到的杀线虫活性代谢产物多达230余种[3]。这些杀 线虫真菌及其代谢物的研究主要集中在陆生性真菌(包括病 原菌和内生真菌),如淡紫拟青霉活菌剂[2]和总状共头霉 (Sr18 菌)^[4]等。海洋来源的枝顶孢霉(Acremnium, BH0531) 是一株已被证实具有较好杀线虫作用的海洋真菌[5]。不同 于陆生性真菌,该菌在添加海水的培养基中的生长情况和杀 线虫活性均优于普通察氏培养基[6],且其代谢活性物具有含 氮化合物属性[1];因此,探究不同化合态的氮源对该菌在察 氏培养基生长及其代谢物杀线虫活性的影响,将有助干活性 代谢产物发酵条件的优化,克服海水高盐组分对发酵设备的 影响。据此,本试验以松材线虫、黄瓜根结线虫二龄幼虫 (J2)为对象,以杀线虫效果(杀线率)为指标,测定了 NaNO。、 KNO3、NH4NO3、(NH4)2SO4、NH4Cl 等不同氮源对 BH0531 菌

收稿日期:2015-01-12

基金项目:国家自然科学基金(编号:31272019)。

作者简介:蒙春蕾(1990—),女,贵州三都人,硕士,主要从事微生物的活性物质研究。E-mail:977785854@ qq. com。

通信作者:孟庆恒,副教授,主要从事应用微生物研究。E-mail: jbv3139@163.com。

株生长状况及其活性代谢产物的影响,旨在为进一步优化该 菌的发酵条件提供试验依据。

1 材料与方法

- 1.1 试验材料
- 1.1.1 供试菌株 海洋枝顶孢霉(Acremnium, BH0531),菌种保藏号 CGMCC 5445;灰葡萄孢霉(Batrytis cinerea, BC 菌),以上菌种由天津师范大学生命科学学院微生物实验室提供。
- 1.1.2 供试线虫 松材线虫(Bursaphelenchus xylophilus),中国农业科学院植物保护研究所提供;黄瓜根结线虫(Meloidogyne incognita)取自天津市宝坻区黄瓜大棚基地。
- 1.1.3 供试培养基 (1)活化培养基: 去皮马铃薯 200 g/L 煮汁,葡萄糖 20 g/L,琼脂 20 g/L,蒸馏水定容至 1 000 mL;用于活化 BH0531 菌株。(2)发酵培养基: 2 g/L 氮源,1 g/L KH₂PO₄,0.5 g/L MgSO₄,0.5 g/L KCl,0.01 g/L Fe₂(SO_4)₃· $SH_2O_2O_3$ g/L 葡萄糖,pH 值自然。氮源分别为 NaNO₃、KNO₃、NH₄NO₃、(NH₄)₂SO₄、NH₄Cl、蛋白胨、牛肉膏、酵母膏。(3)大麦仁培养基: 10 g 大麦仁,8 mL 去离子水,大试管浸泡3~6 h,灭菌,用于 BC 菌培养。
- 1.2 试验方法
- 1.2.1 BH0531 菌株的培养 将保藏的 BH0531 菌种接种至活化培养基斜面试管,26 ℃培养 5~7 d。
- 1.2.2 灰葡萄孢霉的培养 将灰葡萄孢霉接入大麦仁培养基,21 ℃生化培养箱内培养7 d,用于松材线虫的培养。
- 1.2.3 松材线虫的培养 将松材线虫接种于培养好的 BC 菌上,25 ℃下避光培养 7 d;通过贝尔曼漏斗法收集松材线

92:7-13.

- [30] Murakami A, Gallo Meagher M, Gorbet D W, et al. Utilizing immunoassays to determine systemic tomato spotted wilt virus infection for elucidating field resistance in peanut [J]. Crop Protection, 2006, 25 (3):235-243.
- [31] Morsello S C, Kennedy G G. Spring temperature and precipitation affect tobacco thrips, Frankliniella fusca, population growth and toma-
- to spotted wilt virus spread within patches of the winter annual weed Stellaria media[J]. Entomologia Experimentalis et Applicata,2009, 130(2):138-148.

[32] Ramkat R C, Wangai A W, Ouma J P, et al. Cropping system influences tomato spotted wilt virus disease development, thrips population and yield of tomato (*Lycopersicon esculentum*) [J]. Annals of Applied Biology, 2008, 153(3):373 – 380.