

潘家荃,周桦楠,于 涛. 8 种杀菌剂对甘薯匍枝根霉的室内毒力及贮藏期药效评价[J]. 江苏农业科学,2023,51(14):141-145.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.14.019

8 种杀菌剂对甘薯匍枝根霉的室内毒力 及贮藏期药效评价

潘家荃,周桦楠,于 涛

(辽宁省农业科学院作物研究所,辽宁沈阳 110161)

摘要:甘薯软腐病是贮藏期的一种重要真菌病害,发生普遍,为害严重,匍枝根霉为软腐病的主要致病菌。为测定不同药剂对匍枝根霉的毒力水平,明确药剂对甘薯软腐病的防治效果,对实际生产提供有效指导,采用平皿分析法测定 8 种杀菌剂对匍枝根霉的毒力并进行了贮藏期药效试验。毒力测定结果表明,8 种杀菌剂 EC_{50} 由低到高分别为:50% 咯菌腈、10% 苯醚甲环唑、50% 异菌脲、32.5% 苯甲·嘧菌酯、12.5% 腈菌唑、80% 烯酰吗啉、50% 咪鲜胺锰盐、25% 溴菌·多菌灵, EC_{50} 分别为 0.142 2、7.513 3、8.478 6、11.310 4、16.359 5、62.633 1、78.668 4、91.160 5 $\mu\text{g/mL}$ 。其中 50% 咯菌腈 EC_{50} 值显著低于其他 7 种药剂,毒力最强,抑制效果最好。贮藏期药效试验结果表明,贮藏 45 d 时,50% 咯菌腈处理薯块发病率最低,为 3.33%,防效最高,为 90.63%,显著高于其他各处理,10% 苯醚甲环唑、50% 异菌脲、32.5% 苯甲·嘧菌酯和 12.5% 腈菌唑处理防效均在 60%~80% 间;贮藏 90 d 时,50% 咯菌腈处理薯块发病率仍最低,为 5.56%,防效仍最高,为 86.49%,显著高于其他各处理。10% 苯醚甲环唑、50% 异菌脲、32.5% 苯甲·嘧菌酯和 12.5% 腈菌唑处理防效均在 60%~75% 间。在甘薯软腐病的防治中,生产上可推广使用 50% 咯菌腈可湿性粉剂对贮藏期甘薯软腐病进行防治。

关键词:杀菌剂;匍枝根霉;毒力测定;甘薯软腐病;贮藏期药效

中图分类号:S435.313⁺.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)14-0141-05

甘薯是世界排名第 7 的粮食作物^[1],具有极高的营养价值和保健价值^[2-6]。中国是世界第一大甘薯生产国,种植面积和总产均居于世界首位^[7-8]。近年来,许多地区已将甘薯列为特色作物和优势扶贫作物,经济效益显著增加。目前,全国甘薯的种植面积稳定在 400 万 hm^2 左右^[9]。甘薯块根对低温敏感且含水量高、组织脆嫩,从收获到贮藏极易受到损伤,生理机能减弱,提高了病原菌的侵染概率。甘薯软腐病作为贮藏期的主要真菌病害之一,在我国各大薯区均有发生,破坏力极强。软腐病主要致病菌为匍枝根霉(*Rhizopus stolonifera*)^[10],该病原菌广泛存在于空气中,可附着于薯块和贮藏窖内

越冬,菌丝体产生的孢子可从薯块伤口进行侵染,利用伤口的营养物质进行繁殖,产生的果胶酶、淀粉酶、纤维素分解酶,破坏细胞壁^[11],导致发病组织变软,显著影响薯块品质,发病后蔓延迅速,易造成成片性大面积腐烂,造成巨大的经济损失。目前,甘薯软腐病研究仅对部分传统杀菌剂的室内抑菌率和毒性进行了测定,对于毒力测定结合贮藏期药效试验的研究尚较少,且对于甘薯软腐病的化学药剂防治尚未明确^[12-14],实际生产上多采用传统化学药剂多菌灵和甲基硫菌灵等进行防控,长期使用容易导致病原菌产生抗药性进而降低防控效果。因此,为了更好地防控甘薯软腐病,筛选出更多低毒高效的新药剂,进行交替使用,降低产生抗药性的风险势在必行。本研究采用室内毒力测定试验与贮藏期药效防治试验相结合的方法筛选出对甘薯软腐病防治效果良好的低毒高效型杀菌剂,以期为实际生产中病害的科学防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

具有较强致病性的匍枝根霉菌株 LN-2 由辽

收稿日期:2023-02-06

基金项目:辽宁省沈阳市康平县北四家子乡地瓜产业科技特派团项目(编号:21-116-3-17);辽宁省沈阳市种业创新专项(编号:22-318-2-18);辽宁省沈阳市专家工作站项目(编号:20220105)。

作者简介:潘家荃(1989—),女,辽宁沈阳人,硕士,助理研究员,从事甘薯新品种选育、病虫害防治及安全贮藏技术研究。E-mail: pjqamy1001@163.com。

通信作者:于 涛,硕士,研究员,从事薯类分子遗传育种研究。
E-mail:18802421111@139.com。

宁省农业科学院作物研究所薯类研究室于 2021 年 3 月上旬从烟薯 25 发病薯块分离纯化获得,于实验室 4 ℃ 冰箱中保存备用。

1.2 供试培养基

采用马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基对匍枝

根霉菌株进行保存、活化和接种。

1.3 供试药剂

选取 8 种化学药剂,分别为苯醚甲环唑、咪鲜胺锰盐、异菌脲、咯菌腈、苯甲·嘧菌酯、烯酰吗啉、腈菌唑和溴菌·多菌灵,供试药剂信息见表 1。

表 1 供试药剂信息

药剂有效成分名称	药剂剂型	生产厂家
10% 苯醚甲环唑	水分散粒剂	先正达作物保护有限公司
50% 咪鲜胺锰盐	可湿性粉剂	富美实植物保护有限公司
50% 异菌脲	可湿性粉剂	富美实植物保护有限公司
50% 咯菌腈	可湿性粉剂	先正达作物保护有限公司
32.5% 苯甲·嘧菌酯	悬浮剂	先正达作物保护有限公司
80% 烯酰吗啉	水分散粒剂	河北冠龙农化有限公司
12.5% 腈菌唑	水乳剂	青岛瀚生生物科技股份有限公司
25% 溴菌·多菌灵	可湿性粉剂	江西正邦生物化工有限责任公司

1.4 供试甘薯品种及贮藏设施

供试甘薯品种为烟薯 25,试验于 2021 年 9 月下旬至 12 月下旬在辽宁省农业科学院甘薯恒温气调贮藏窖展开,贮藏温度为 12 ℃,湿度为(85 ± 5)%。

1.5 室内毒力测定

试验于 2021 年 3 月中旬在辽宁省农业科学院作物研究所实验室展开,将表 1 中 8 种药剂用无菌水配制成表 2 中相对应的 5 个浓度梯度,将其与 PDA 培养基按体积比例 1 : 9 进行混合,倒入培养皿中制成不同浓度的含药平板,空白对照用无菌水进行处理。在活化好的 LN-2 菌株旁,利用灭菌的打孔器打出直径为 5 mm 的菌碟,用灭菌过的接种针将菌碟移动到相应的含药平板内,菌丝面朝下接种于平板正中央,每个浓度重复 3 次。26 ℃ 恒温条件下培养 3 d。采用十字交叉法垂直测量菌落直径,取平均值,计算抑菌率。

表 2 供试药剂浓度

药剂有效成分名称	供试浓度 (μg/mL)
10% 苯醚甲环唑	100、50、10、5、1
50% 咪鲜胺锰盐	100、50、25、5、1
50% 异菌脲	24.0、12.0、6.0、3.0、1.5
50% 咯菌腈	500.0、100.0、10.0、1.0、0.1
32.5% 苯甲嘧菌酯	100、50、20、10、1
80% 烯酰吗啉	100、80、60、40、20
12.5% 腈菌唑	100、50、25、5、1
25% 溴菌·多菌灵	200、100、50、20、10

抑菌率 = (对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (对照菌落直径 - 菌饼直径) × 100%。

1.6 贮藏期药效试验

将表 1 中的 8 种杀菌剂于薯块收获后喷施于薯皮表面,以表面喷无菌水作为空白对照,每个处理重复 3 次,每次重复挑选表皮光滑无损伤,单薯质量约 200 g 的薯块 30 个。晾干后将薯块放于 50 × 35 × 30 cm 纸盒箱中,纸箱四周各面中间开设 3 个 2 cm × 2 cm 的透气孔,于入窖后 45、90 d 后调查各重复全部薯块的软腐病发病情况,根据公式计算各处理发病率和防效,采用 DPS 软件对防效进行差异显著性分析。

调查各重复全部薯块的发病率,薯块变软,呈水渍状,发黏即算病薯^[15]。

发病率 = 发病薯块数 / 调查薯块数 × 100% ;

防治效果 = (对照发病率 - 药剂处理发病率) / 对照发病率 × 100%。

1.7 数据处理

采用 SPSS 软件,以浓度对数值为 *x*,抑菌率为 *y*,计算不同药剂的回归方程和有效抑制中浓度(EC₅₀)。采用 DPS 软件对各处理储藏期防效进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同杀菌剂对匍枝根霉菌丝的抑制作用

由表 3 可以看出,培养 3 d 后,对照的菌落直径为 8.97 cm,各药剂处理的菌落直径均在 0.95 ~ 8.25 cm 间,因此,不同药剂处理均对菌丝具有一定

表 3 不同杀菌剂对菌丝的抑制作用

供试药剂	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	菌落直径 (cm)	抑菌率 (%)
10% 苯醚甲环唑	100	0.95	94.69
	50	1.85	84.06
	10	4.30	55.14
	5	6.57	28.37
	1	7.35	19.13
50% 咪鲜胺锰盐	100	3.58	63.60
	50	5.68	38.80
	25	6.63	27.59
	5	7.53	16.96
	1	8.25	8.50
50% 异菌脲	24	2.43	77.17
	12	4.05	58.09
	6	5.78	37.62
	3	6.77	26.01
	1.5	7.90	12.63
50% 咯菌腈	500	0.95	94.69
	100	1.18	91.93
	10	1.43	88.98
	1	2.93	71.27
	0.1	5.75	38.02
32.5% 苯甲·嘧菌酯	100	1.60	87.01
	50	3.38	65.96
	20	4.25	55.73
	10	5.82	37.23
	1	6.98	23.46
80% 烯酰吗啉	100	3.23	67.73
	80	4.23	55.92
	60	4.95	47.46
	40	5.97	35.46
	20	7.52	17.16
12.5% 腈菌唑	100	2.33	78.35
	50	3.90	59.86
	25	4.45	53.36
	5	6.53	28.77
	1	7.08	22.27
25% 溴菌·多菌灵	200	3.78	61.24
	100	4.27	55.53
	50	5.85	36.84
	20	6.52	28.96
	10	7.83	13.42
CK		8.97	

抑制作用。各药剂处理随着药剂浓度的升高,对匍枝根霉的抑制率也呈上升趋势。其中 50% 咯菌腈

抑菌效果最佳,除最低处理浓度外,抑菌率范围为 70% ~ 90%。10% 苯醚甲环唑浓度为 100、50 $\mu\text{g/mL}$ 时抑菌率分别为 94.69% 和 84.06%; 50% 异菌脲浓度为 24 $\mu\text{g/mL}$ 时,抑菌率为 77.17%; 32.5% 苯甲·嘧菌酯浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 时抑菌率为 87.01%; 12.5% 腈菌唑浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 时抑菌率为 78.35%。50 咪鲜胺锰盐、80% 烯酰吗啉和 25% 溴菌·多菌灵各浓度抑菌率均低于 70%。由此可见,50% 咯菌腈抑菌效果最好,10% 苯醚甲环唑、50% 异菌脲、32.5% 苯甲·嘧菌酯、12.5% 腈菌唑抑菌效果次之,50% 咪鲜胺锰盐、80% 烯酰吗啉、25% 溴菌·多菌灵抑菌效果最差。

2.2 室内毒力测定结果

EC_{50} 用来表示药剂毒力的大小,其值越小,毒力越大。由表 4 数据可以看出,8 种杀菌剂 EC_{50} 由低到高分别为:50% 咯菌腈、10% 苯醚甲环唑、50% 异菌脲、32.5% 苯甲嘧菌酯、12.5% 腈菌唑、80% 烯酰吗啉、50% 咪鲜胺锰盐、25% 溴菌·多菌灵, EC_{50} 分别为 0.142 2、7.513 3、8.478 6、11.310 4、16.359 5、62.633 1、78.668 4、91.160 5 $\mu\text{g/mL}$ 。其中 50% 咯菌腈 EC_{50} 值显著低于其他 7 种药剂,说明其对软腐病病原菌菌丝抑制作用最佳,室内毒力最强。10% 苯醚甲环唑、50% 异菌脲、32.5% 苯甲嘧菌酯和 12.5% 腈菌唑 EC_{50} 值均小于 20 $\mu\text{g/mL}$,说明其对病原菌菌丝也具有良好的抑制效果,但毒力低于 50% 咯菌腈。50% 咪鲜胺锰盐、80% 烯酰吗啉、25% 溴菌·多菌灵 3 种药剂 EC_{50} 值均高于 60 $\mu\text{g/mL}$,说明其对病原菌菌丝抑制效果不佳,毒力较弱。

2.3 储藏期药效试验结果

由表 5 可见,储藏 45、90 d 后,处理发病率均低于空白对照发病率,说明各药剂对贮藏期甘薯软腐病均有一定防治效果,但不同药剂间防治效果存在差异。贮藏 45 d 时,50% 咯菌腈处理薯块发病率最低,为 3.33%,防效最高,为 90.63%,显著高于其他各处理。10% 苯醚甲环唑、50% 异菌脲、32.5% 苯甲·嘧菌酯和 12.5% 腈菌唑处理防效均在 60% ~ 80% 间,虽然略低于咯菌腈处理,但对储藏期甘薯软腐病仍具有一定防治效果。50% 咪鲜胺锰盐、80% 烯酰吗啉和 25% 溴菌·多菌灵处理,防治效果不佳,防效均低于 40%,且与其他各处理差异显著。贮藏 90 d 时,各处理及空白对照薯块发病率均比储藏 45 d 时有所上升,表明储藏时间的延长与甘薯软腐病的发病率呈正相关。其中 50% 咯菌腈处理薯

块发病率仍最低,为 5.56%,防效仍最高,为 86.49%,显著高于其他各处理。10% 苯醚甲环唑、50% 异菌脲、32.5% 苯甲·嘧菌酯和 12.5% 腈菌唑处理防效均在 60%~75% 间,虽然略低于咯菌腈处理,但对储藏期甘薯软腐病仍具有一定防治效果。

表 4 8 种杀菌剂对甘薯软腐病菌菌丝生长的毒力回归方程

供试药剂	毒力回归方程	相关系数	EC ₅₀ (μg/mL)	EC ₅₀ 的 95% 置信区间 (μg/mL)
10% 苯醚甲环唑	$y = 1.277\ 3x + 3.881\ 3$	0.975 0	7.513 3	4.844 9~11.694 4
50% 咪鲜胺锰盐	$y = 0.776\ 4x + 3.528\ 1$	0.957 5	78.668 5	35.014 5~176.761 5
50% 异菌脲	$y = 1.536\ 1x + 3.574\ 0$	0.996 9	8.478 6	7.732 2~9.297 8
50% 咯菌腈	$y = 0.503\ 4x + 5.426\ 4$	0.960 7	0.142 2	0.026 6~0.761 1
32.5% 苯甲·嘧菌酯	$y = 0.863\ 9x + 4.089\ 9$	0.939 8	11.310 4	5.798 9~22.065 6
80% 烯酰吗啉	$y = 1.940\ 0x + 1.514\ 2$	0.996 3	62.633 1	59.073 4~66.407 2
12.5% 腈菌唑	$y = 0.749\ 4x + 4.090\ 4$	0.965 8	16.359 5	9.852 2~27.171 4
25% 溴菌·多菌灵	$y = 1.049\ 9x + 2.942\ 4$	0.981 0	91.160 3	68.458 7~121.408 0

表 5 8 种药剂防治甘薯软腐病的储藏期药效试验

编号	处理	储藏 45 d		储藏 90 d	
		发病率(%)	防效(%)	发病率(%)	防效(%)
1	10% 苯醚甲环唑	7.78	78.13b	11.11	72.97b
2	50% 咪鲜胺锰盐	23.33	34.38d	26.67	35.13d
3	50% 异菌脲	8.89	75.00b	12.22	70.27bc
4	50% 咯菌腈	3.33	90.63a	5.56	86.49a
5	32.5% 苯甲·嘧菌酯	11.11	68.75bc	13.33	67.57bc
6	80% 烯酰吗啉	22.22	37.51d	24.44	40.54d
7	12.5% 腈菌唑	13.33	62.50c	15.56	62.16c
8	25% 溴菌·多菌灵	25.56	28.13d	31.11	24.32e
9	空白对照	35.56		41.11	

注:同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

3 结论与讨论

软腐病作为甘薯贮藏期破坏力极强的真菌性病害之一,近年来在全国各大薯区广泛发生,造成严重经济损失。为了指导生产实践中甘薯软腐病的防治,本研究通过室内毒力测定试验筛选出对甘薯软腐病主要致病菌匍枝根霉毒力大、抑菌活性强的药剂。但由于作用方式、吸收传导活性、持效期等因素均可影响药剂的贮藏期药效,所以,除室内毒力测定外,还需要通过贮藏期药效试验进行验证,最后得到对甘薯软腐病有较好防效的药剂^[16]。

对于甘薯软腐病的防治,抗病品种的选育和推广是有效控制该病的根本手段,但目前还没有有完全抵抗软腐病的甘薯品种^[17]。因此,生产上常用的

防治方法仍为化学药剂防治辅以栽培措施管理。

在本研究中,对比室内毒力测定和贮藏期药效试验的结果发现,8 种不同药剂对甘薯软腐病主要致病菌匍枝根霉毒力差异较大,对贮藏期甘薯软腐病的防治效果也有明显差异。室内毒力测定试验表明 50% 咯菌腈对匍枝根霉的毒力最大,抑菌活性较高,EC₅₀ 仅为 0.142 2 μg/mL。10% 苯醚甲环唑、50% 异菌脲、32.5% 苯甲嘧菌酯、12.5% 腈菌唑 EC₅₀ 均小于 20 μg/mL,对匍枝根霉也具有一定毒力和抑菌活性。储藏期试验结果表明,在毒力测定中 EC₅₀ 低于 20 μg/mL 的 5 种药剂在储藏期药效试验中也均表现出一定防治效果,其中以毒力最大的咯菌腈可湿性粉剂防治效果最佳,45 d 和 90 d 防效均高于 85%。目前常用的防治药剂多为甲基硫菌灵、

多菌灵等传统苯并咪唑类杀菌剂药剂,随着使用时间的加长容易引起抗药性。本研究通过室内毒力测定试验结合贮藏期药效试验筛选出 5 种对于甘薯软腐病有相当防治效果的杀菌剂,其中以咯菌腈可湿性粉剂效果最佳。咯菌腈是一种新兴的非内吸性苯基吡咯类杀菌剂^[18],1996 年在美国上市,它属于假单胞菌不同种分泌的次生代谢产物硝吡咯菌素的类似物,比天然抑菌物质硝吡咯菌素对光敏感性更低,不易分解^[19],它通过抑制病原菌的孢子萌发、芽管伸长和菌丝的生长达到抑菌效果^[20],具有高效、低毒的特点,被美国环保局(EPA)列为低风险杀菌剂^[21],现已广泛应用于农业生产中多种果蔬真菌病害的防治^[22-24]。因此,生产上可推广使用 50% 咯菌腈可湿性粉剂对贮藏期甘薯软腐病进行防治。

参考文献:

- [1] Tan S L. Sweetpotato – Ipomoea batatas – a great health food[J]. Utar Agricultural science Journal, 2015, 1(3): 15–28.
- [2] 蒯定运, 李 炜, 刘晓阳. 甘薯块根类胡萝卜素与薯肉色的研究[J]. 作物学报, 1989, 15(3): 260–266.
- [3] 谢一芝, 郭小丁, 贾赵东, 等. 中国食用甘薯育种现状及展望[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(6): 1419–1424.
- [4] 周志林, 唐 君, 曹清河, 等. 淀粉专用型甘薯品质形成规律及其与主要农艺性状的相关性[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(2): 277–283.
- [5] 项 超, 沈升法, 季志仙, 等. 浙薯系列鲜食及食品加工型甘薯品种系谱和品质性状分析[J]. 核农学报, 2020, 34(1): 36–44.
- [6] Wang S N, Nie S P, Zhu F. Chemical constituents and health effects of sweet potato[J]. Food Research International, 2016, 89: 90–116.
- [7] 马代夫, 李 强, 曹清河, 等. 中国甘薯产业及产业技术的发展与展望[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(5): 969–973.
- [8] 王 欣, 李 强, 曹清河, 等. 中国甘薯产业和种业发展现状与未来展望[J]. 中国农业科学, 2021, 54(3): 483–492.
- [9] 马代夫, 刘庆昌, 张立明. 中国甘薯[M]. 南京: 江苏凤凰科学技术出版社, 2021: 6.
- [10] 刘晨霞, 乔勇进, 黄宇斐, 等. 酸性硫酸钙处理对水蜜桃采后匍枝根霉致病力的影响[J]. 核农学报, 2019, 33(7): 1377–1385.
- [11] Tang B, Pan H B, Tang W J, et al. Fermentation and purification of cellulase from a novel strain *Rhizopus stolonifer* var. *reflexus* TP–02[J]. Biomass and Bioenergy, 2012, 36: 366–372.
- [12] 岳 瑾, 杨丽梅, 董 杰, 等. 控制窖藏甘薯软腐病室内药剂筛选试验[J]. 中国农技推广, 2019, 35(8): 76–78.
- [13] 钟丽娟, 赵新海, 张庆华, 等. 甘薯软腐病菌的分离鉴定及室内抑菌试验[J]. 山东农业科学, 2009, 41(7): 87–88, 108.
- [14] 周 锋, 郭镇华, 郭子灏, 等. 甘薯软腐病病原的 rDNA – ITS 分子鉴定及其对 11 种杀菌剂的敏感性测定[J]. 中国植保导刊, 2020, 40(2): 22–25.
- [15] 陆漱韵. 甘薯育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [16] 薄 鑫, 罗大成, 李海静, 等. 6 种杀菌剂对辣椒炭疽病病菌室内毒力测定及田间药效评价[J]. 西北农业学报, 2021, 30(7): 1100–1105.
- [17] 杨冬静, 徐 振, 赵永强, 等. 甘薯软腐病抗性鉴定方法研究及其对甘薯种质资源抗性评价[J]. 华北农学报, 2014, 29(S1): 54–56.
- [18] 杨娟侠, 张雪丹, 倪世杰, 等. 咯菌腈与二氧化氯复合杀菌对甜樱桃的贮藏效果[J]. 落叶果树, 2019, 51(2): 12–14.
- [19] 杨玉柱, 焦必宁. 新型杀菌剂咯菌腈研究进展[J]. 现代农药, 2007, 6(5): 35–39.
- [20] 杨雪梅, 冯立娟, 张锦超, 等. 不同浓度咯菌腈处理对泰山红石榴冷藏品质的影响[J]. 保鲜与加工, 2022, 22(12): 24–30.
- [21] Errampalli D, Crnko N. Control of blue mold caused by *Penicillium expansum* on apples ‘Empire’ with fludioxonil and cyprodinil[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2004, 26(1): 70–75.
- [22] 何振明, 许永锋, 高宜明, 等. 日光温室茄子灰霉病防治药剂筛选[J]. 中国植保导刊, 2019, 39(12): 79–80.
- [23] 高杨杨, 禾丽菲, 李北兴, 等. 山东省辣椒炭疽病病原菌的鉴定及高效防治药剂的筛选[J]. 中国农业科学, 2017, 50(8): 1452–1464.
- [24] 刘晓芸, 杨 兰, 王会君, 等. 甘薯黑痣病防治药剂的筛选[J]. 河南农业科学, 2014, 43(11): 93–96.