

朱砂叶螨成螨在水中的耐受力*

胡 智** 桂连友*** 罗 杰 华登科

(长江大学农学院, 荆州 434025)

摘 要 【目的】明确朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) 在雨水中的耐受能力, 为评价雨水对朱砂叶螨的控制作用提供理论依据。【方法】本文通过采用玻片浸渍法和录像技术, 对朱砂叶螨沉于水中的沉浮比例、耐受力以及足的摆动频率进行研究。【结果】在棉花叶片上接螨饲养 5 d 后 (92.79%±0.55%) 的朱砂叶螨沉于水中的比例极显著高于 2 d 后 (42.72%±2.37%) 的; 3 日龄的雌 (297.4±16.1) min、雄 (297.7±7.4) min 成螨之间在水中存活时间差异不明显。雌雄成螨在水中最短存活时间分别为 48 min 和 45 min; 雌雄成螨数量大约在 300 min 内死亡达到一半, 雌雄成螨在水中最长存活时间分别为 773 min 和 856 min; 雌雄成螨死亡数在时间上分布不均匀。沉在水中朱砂叶螨雌雄成螨死亡过程中表现为: 足的摆动频次由高到低, 足的摆动时间也非连续状态。【结论】朱砂叶螨成螨在水中有一定的耐受能力。

关键词 棉花, 朱砂叶螨, 耐受力, 摆动频率, 玻片浸渍法

Tolerance of adult *Tetranychus cinnabarinus* to submersion in water

HU Zhi** GUI Lian-You*** LUO Jie HUA Deng-Ke

(College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, China)

Abstract [Objectives] To clearly define the tolerance of adult *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) to submersion in water, and provide a theoretical basis for evaluating the effect of rainfall on Integrated Pest Management of this pest. [Methods] The proportion that sank, water survival, and leg sway frequency, of adult *T. cinnabarinus*, were determined using the slide dipping method and video technology. [Results] The proportion of mites that sank was significantly higher when these had fed on cotton leaves for 5 d (92.79%±0.55%) compared to those that had fed for just 2 d (42.72%±2.37%). The average survival time in water of 3 day old male (297.7±7.4) min and female (297.4±16.1) min adults was not statistically different. The shortest survival times recorded for 3 day old male and female adults were, respectively, 45 min and 48 min. Immersion for about 300 minutes was sufficient to kill half of all 3 day old male or female adults. The longest survival time in water of 3 day old male and female adults were 856 min and 773 min, respectively. The distribution of mortality among male and female adults was uneven in time. In the process of death, adult *T. cinnabarinus* generally displayed a reduction in leg swing frequency. The duration of leg swinging behavior was not continuous. [Conclusion] Adult *T. cinnabarinus* have some capacity to tolerate submersion in water.

Key words cotton, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval), tolerance capability, sway frequency, slide dipping method

朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) 属蜱螨亚纲 (Acari) 螨目 (Acariformes) 叶螨科 (Tetranychidae), 为世界性害螨, 也是我国长江流域棉区的重要害螨, 一年发生 15~18 代

(Pei *et al.*, 2012, 2013)。主要在棉花的叶片背面刺吸汁液, 使棉花植物叶片的正常生长和生理代谢受到抑制, 轻者危害造成红叶, 严重时导致落叶垮秆 (洪晓月, 2012)。

* 资助项目 Supported projects: 作物叶螨综合防控技术研究与示范推广 (国家公益性行业 (农业) 科研专项经费项目 201103020)

**第一作者 First author, E-mail: 425109430@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: guilianyou@126.com

收稿日期 Received: 2016-01-04, 接受日期 Accepted: 2016-01-09

降雨可以通过直接冲刷作用,来减轻朱砂叶螨对寄主植物的危害程度,特别大雨和暴雨对朱砂叶螨具有明显的抑制作用(张建萍等,2005;胡智等,2015),水分作为一种重要的非生物因子,既可直接影响昆虫的生长发育,也可对昆虫产生致死作用(谭椰等,2014)。杨燕涛等(2000)研究表明,土壤浸水超过1 d 棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 成虫和蛹的死亡率明显上升;樊焕碧(1992)研究表明,降雨量在25~50 mm 时,对各阶段的粘虫幼虫均有致死作用;Zhao 等(1999)和Wang 等(2006)研究发现,在酸雨直接作用下,朱砂叶螨的生长、发育和繁殖均受到不同程度抑制。

在5月中旬—7月中下旬期间,长江流域属于雨水较多地区(张永领等,2006),降雨对昆虫(螨类)的直接冲刷作用研究的较多,但朱砂叶螨在水中的耐受力的报道甚少,本文通过朱砂叶螨在水中的沉浮比例、耐受力以及足的摆动频次的研究,明确朱砂叶螨在雨水中的耐受能力,为评价雨水对朱砂叶螨的控制作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

所有试验均在长江大学农学院昆虫生态实验室进行。

供养的植物为盆栽美国无架豇豆 *Vigna unguiculata* (Linn.), 基质为市场花用土壤(泥炭:砂:煤渣:蔗渣:蛭石=3:2:2:2:1)。待其长至3~5片真叶时,置于人工气候培养箱(温度 $(27\pm 1)^{\circ}\text{C}$,湿度75%~80%,光照14 L:10 D)内,供繁殖朱砂叶螨使用(螨源由洪晓月提供)。

取1张盆栽的带有朱砂叶螨卵的豇豆叶片,清除其中的成螨、若螨和幼螨,再将叶片背面朝上置入滤纸上(直径80 mm),并用卫生纸将叶片边缘覆盖,滤纸下垫同样大小海绵一块,加水使海绵浸润并使水面高度达到在培养皿(直径90 mm,高18 mm)高度的2/3处。每天上午9:00将上述豇豆叶片上刚孵化的幼螨转移到另外一

只同样饲养方法的培养皿中的新鲜豇豆叶片上,不同批次分别饲养,每2~3 d 换一次叶片,直到成螨为3日龄,确定性别,雌雄成螨各90头,供沉在水中的朱砂叶螨成螨存活时间和足摆动频次试验使用。

取1张新鲜无螨的盆栽的棉花 *Gossypium hirsutum* (Linn.) (品种:鄂杂棉24F₁) 叶片,叶片背面朝上置入滤纸上,并用卫生纸将叶片边缘覆盖,滤纸下垫同样大小海绵一块,加水使海绵浸润并使水面高度达到培养皿高度的2/3处。将盆栽的带有各种螨态朱砂叶螨的一张豇豆叶片剪成若干小块后,接到上述的1张棉花叶片上,分别饲养2 d 和5 d,各重复30次,供朱砂叶螨在水中的沉浮比例试验使用。

1.2 试验方法

1.2.1 朱砂叶螨在水中的沉浮比例 将上述分别饲养朱砂叶螨2 d 和5 d 的棉花叶片(去掉卫生纸)置入另外一只培养皿中(无海绵、滤纸),用圆形铁块(直径10 mm,高10 mm)压住棉花叶片边缘,并加水至培养皿高度的1/2处,使棉花叶片全部浸入水中,叶片距水面的距离不低于0.5 mm。加水1 min 之后,观察朱砂叶螨的卵、幼螨、若螨、雄成螨、雌成螨浮于水面的头数,之后每隔10 min 观察一次。两种处理各重复30次。

1.2.2 沉在水中的朱砂叶螨雌雄成螨存活时间 将双面胶黏于一张载玻片上,再将相同性别的朱砂叶螨成螨10头背面(腹面朝上)粘于双面胶的另一面,紧接着用滴管滴水3~4滴于朱砂叶螨上,使朱砂叶螨完全浸于水中,若螨的周围有气泡,用小号毛笔尖端轻轻排除气泡,若水分蒸发,及时补充。在体式显微镜(DMDZM,宁波舜宇仪器有限公司)下观察朱砂叶螨的存活时间,雌雄成螨各重复8次。另外在下述1.2.3实验中观察的雌雄成螨各10头,总计雌雄成螨各90头。朱砂叶螨的死亡标准是参照FAO推荐的玻片浸渍法(室内毒力测定)的标准(洪晓月,2012)并作补充:假如其足不摆动,间隔5 min,用软毛刷尖端拨动其足1次,假如摆动,继续观察;假如仍然不动,间隔5 min,再拨动1次,连续

两次均不摆动,则确认其死亡。观察并记录死亡时间。

1.2.3 沉于水中的朱砂叶螨足的摆动频率 观察朱砂叶螨成螨沉于水中的存活时间方法和判断死亡标准同上述 1.2.2,但是,观察朱砂叶螨的显微镜更换成 Leica 立体显微镜 (M205A),每次仅有 1 头成螨粘贴在载玻片上和被立体显微镜观察,并用 Sony 摄像机 (HXR-MC58C) 对连接立体显微镜的屏幕进行摄影 (图 1),记录朱砂叶螨死亡过程,雌雄成螨各重复 10 头。按照死亡判断标准,朱砂叶螨死亡后,停止录像。

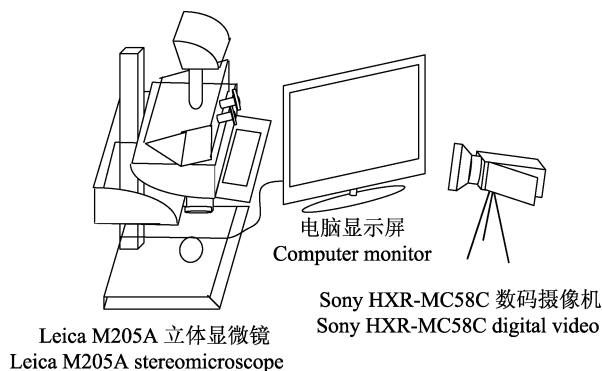


图 1 沉于水中朱砂叶螨足的摆动频率测定示意图

Fig. 1 Schematic diagram of frequency of leg sway duration for adults *Tetranychus cinnabarinus* submerged in the water

足的摆动频次分布分析参照 Boiteau 等 (2005) 的方法并做部分修改:将拍摄的朱砂叶螨死亡过程的视频每间隔 5 min 截取一段,每段选择其中一只 10 s 内摆动频次最高的足,并记录其摆动频次,作为 5 min 内的足的摆动频次。若 5 min 之内所有的足都不动,则用小号毛笔轻轻触动足,10 s 之内的摆动认为非自然摆动,不作有效摆动记录,10 s 之后足的摆动,则认为有效摆动。

1.4 数据分析

试验所有的数据采用 DPS 数据处理系统进行分析 (唐启义和冯明光, 2002)。对于接螨 2 d 和 5 d 后沉在水中的总朱砂叶螨数比例、沉在水中的朱砂叶螨各螨态的比例以及同一螨态在水中的比例的数据,先进行反正弦平方根转换,再

进行方差分析;雌雄成螨平均存活时间数据不转换,直接进行方差分析。平均数之间的差异比较采用 Tukey 法;沉于水中的朱砂叶螨死亡过程录像中的足摆动频次采用 Adobe Premiere Pro CC 软件 (Adobe 公司) 分析。

2 结果与分析

2.1 朱砂叶螨在水中的沉浮比例

在棉花叶片上接螨饲养 5 d 后 ($92.79\% \pm 0.55\%$) 的朱砂叶螨沉在水中的比例极显著高于 2 d 后 ($42.72\% \pm 2.37\%$) 的 ($F=2180.1$; $df=1,290$; $P<0.001$; 图 2)。

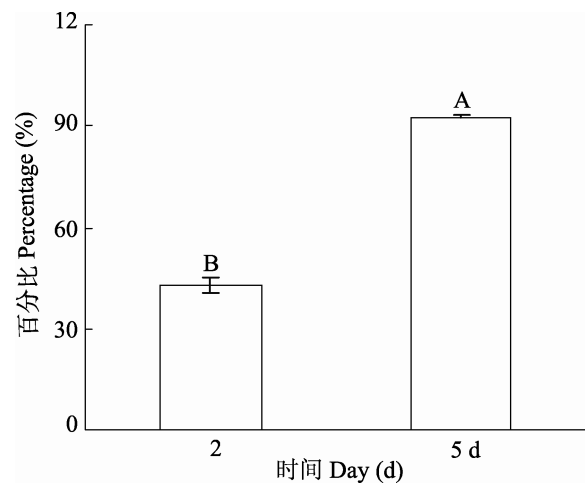


图 2 在棉花叶片上饲养 2 d 后和 5 d 后的朱砂叶螨沉在水中的比例

Fig. 2 Proportion of total mites *Tetranychus cinnabarinus* submerged in the water over 2 d and 5 d raised mites in cotton leaves

柱上标有相同字母表示在 0.01 水平上差异不显著 (Tukey 检验: $P>0.01$)。图 5 同。

Hsitograms with the same letters are not statistically different (Tukey test: $P>0.01$). The same with Fig. 5.

同样在棉花叶片上接螨饲养 2 d 后,卵 ($99.11\% \pm 0.35\%$) 沉在水中的比例分别极显著高于 ($F=939.9$; $df=4,145$; $P<0.001$; 图 3) 幼螨 ($29.45\% \pm 0.12\%$)、若螨 ($25.6\% \pm 0.11\%$)、雌成螨 ($28.14\% \pm 0.13\%$) 和雄成螨 ($31.29\% \pm 0.13\%$)。雄成螨沉在水中的比例显著高于若螨。其它螨态之间差异不明显。

同样在棉花叶片上接螨饲养 5 d 后,卵

($98.56\% \pm 0.36\%$) 沉在水中的比例分别极显著高于 ($F = 14.7$; $df = 4, 145$; $P < 0.001$, 图 3) 幼螨 ($91.93\% \pm 0.88\%$)、若螨 ($91.99\% \pm 1.46\%$)、雌成螨 ($89.97\% \pm 0.54\%$) 和雄成螨 ($91.51\% \pm 0.17\%$)。其它螨态之间差异不明显。

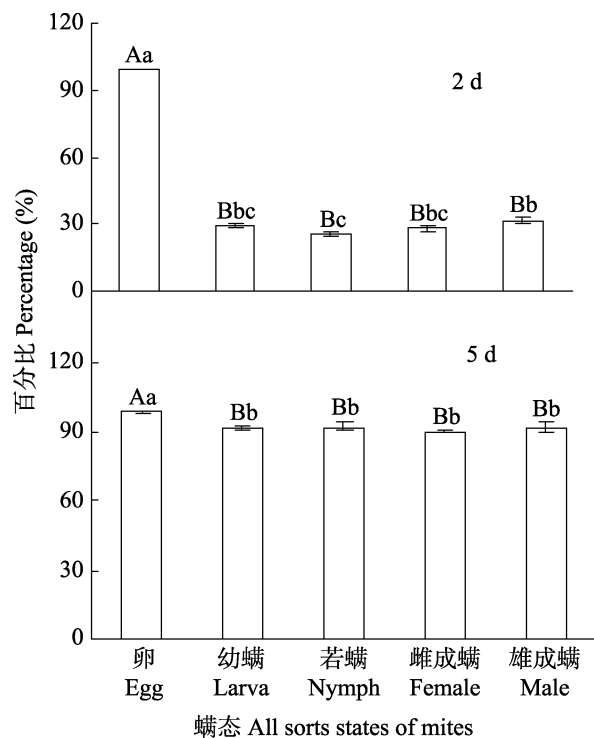


图 3 在棉花叶片上饲养 2 d 后和 5 d 后各螨态的朱砂叶螨沉在水中的比例

Fig. 3 Proportion of all sorts states of mites *Tetranychus cinnabarinus* submerged in the water over 2 d and 5 d after raised mites in cotton leaves.

柱上标有相同大写或小写字母分别表示在 0.01 或 0.05 水平上差异不显著 (Tukey 法检验: $P > 0.01$ 或 $P > 0.05$)。Histograms with the same uppercase or lowercase letters are not statistically different at 0.01 or 0.05 level, respectively (Tukey test: $P > 0.01$ or $P > 0.05$).

同一螨态下, 在棉花叶片上接螨饲养 2 d 后和 5 d 后的卵沉在水中的比例之间的差异不明显 (图 4)。其它螨态 (幼螨、若螨、雌成螨和雄成螨) 接螨 5 d 后沉于水中的比例极显著高于接螨 2 d 的 ($F = 340.278$; $df = 4, 290$; $P < 0.001$; 图 4)。

2.2 朱砂叶螨沉于水中的耐受力

3 日龄的雌雄成螨 (雌: (297.4 ± 16.1) min, 雄: (297.7 ± 7.4) min) 之间在水中存活时间差异

不明显 ($F = 0$; $df = 1, 16$; $P = 0.988$; 图 5)。雌雄成螨在水中最短存活时间分别为 48 min 和 45 min; 雌雄成螨大约在 300 min 死亡数量达到一半, 雌雄成螨在水中最长存活时间分别为 773 min 和 856 min; 雌雄成螨死亡数在时间上分布不均匀, 其中雌成螨在沉入水中 120 min 至 150 min 内死亡数最高 ($n = 12$), 雄成螨在沉入水中 60 min 至 90 min 内死亡数最高 ($n = 15$) (图 6, 图 7)。

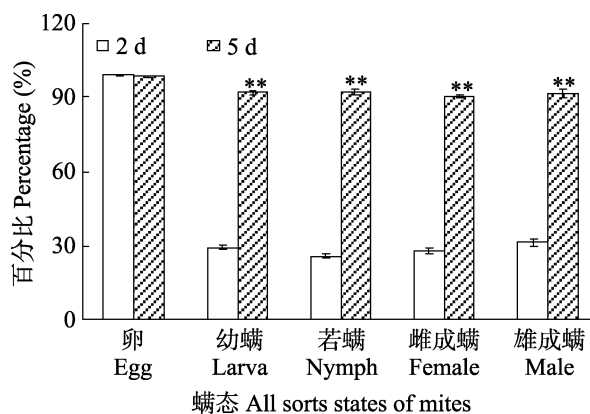


图 4 在棉花叶片上饲养 2 d 和 5 d 后同一螨态的朱砂叶螨沉在水中的比例

Fig. 4 Proportion of the same sort states of mites *Tetranychus cinnabarinus* submerged in the water over 2 d and 5 d after raised mites in cotton leaves

** 表示在 0.01 水平上差异极显著

(Tukey 法检验: $P < 0.01$)

** are statistically different at 0.01 level (Tukey test: $P < 0.01$).

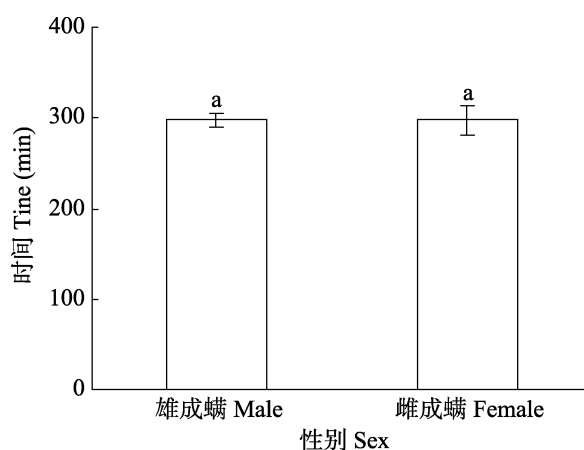


图 5 沉在水中的朱砂叶螨雌雄成螨平均存活时间
Fig. 5 Average survival time of male and female 3 days instars adults *Tetranychus cinnabarinus* submerged in the water ($n = 90$)

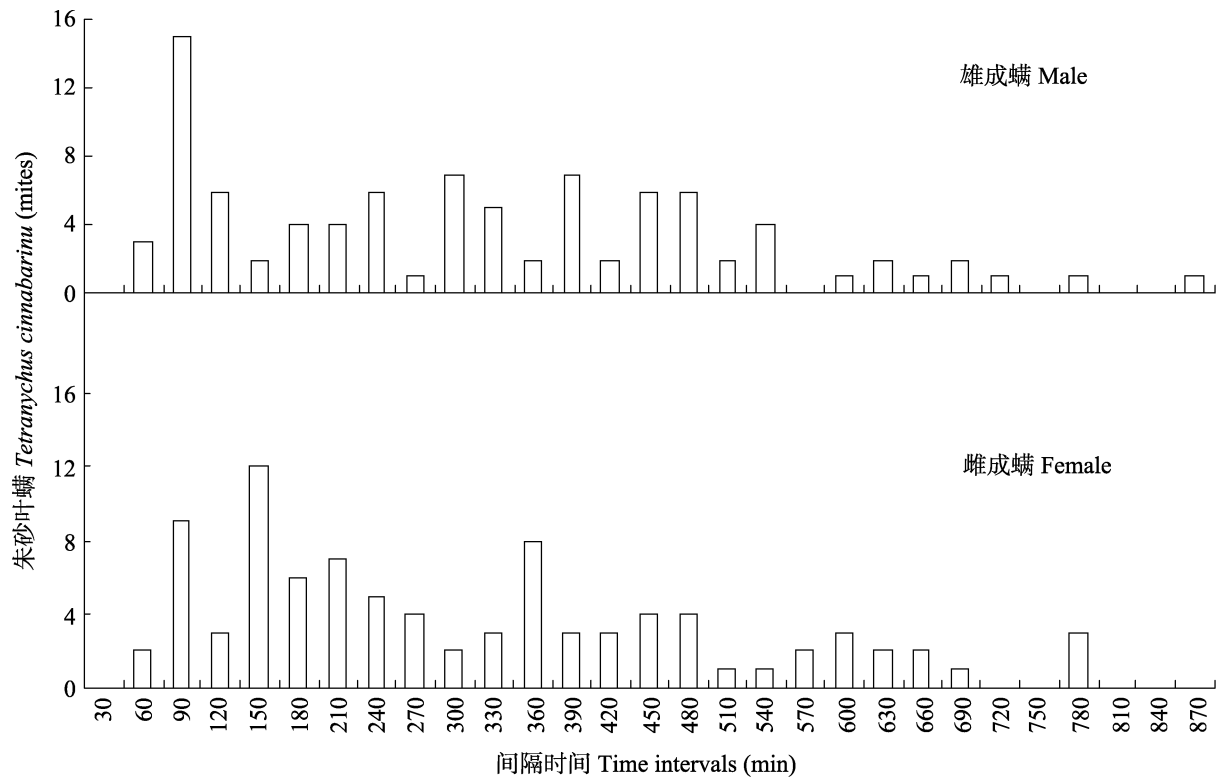


图 6 沉在水中的朱砂叶螨雌雄成螨存活数量的时间分布图 ($n=90$)

Fig. 6 Time distribution of survival number for 3 days instars male and female adult mites *Tetranychus cinnabarinus* submerged in the water ($n=90$)

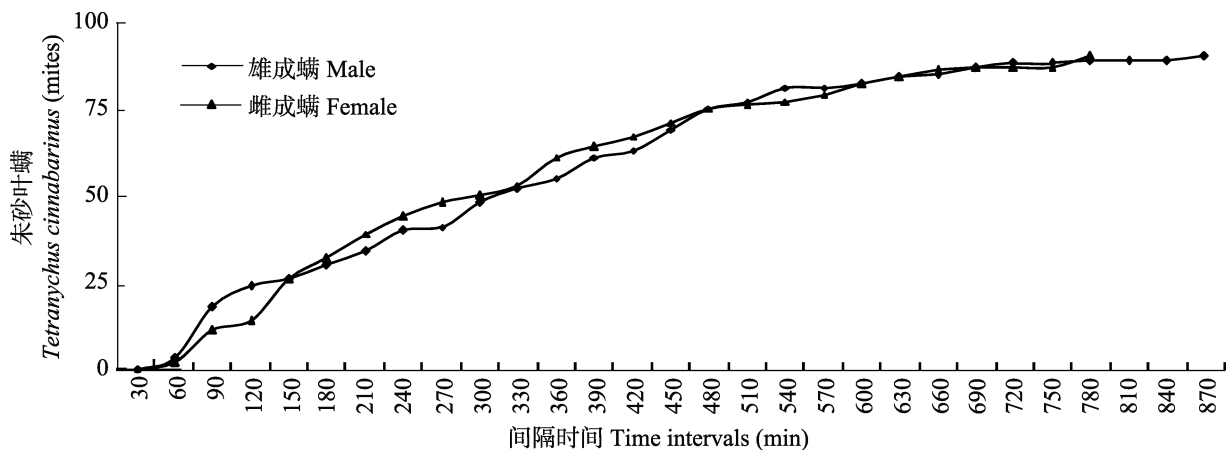


图 7 沉在水中的朱砂叶螨雌雄成螨累计死亡数量时间动态 ($n=90$)

Fig. 7 Time dynamic of accumulative mortality number for 3 days instars male and female adult mites *Tetranychus cinnabarinus* submerged in the water ($n=90$)

2.3 沉于水中的朱砂叶螨足的摆动频率

沉在水中朱砂叶螨雌雄成螨足的摆动频次不是一致的,总趋势是由高到低,足的摆动也不是连续的,部分螨类有时候存在停顿现象(图8,图9)。雌雄成螨摆动时间与不摆动时间的比

分别为 4.15 与 0.21。雌成螨最长的摆动时间为 390.05 min,最长停顿时间为 106.08 min,最高摆动频次为 30 次/10 s;雌成螨最长的摆动时间为 66.33 min,最长停顿时间为 212.32 min,最高摆动频次为 30 次/10 s。

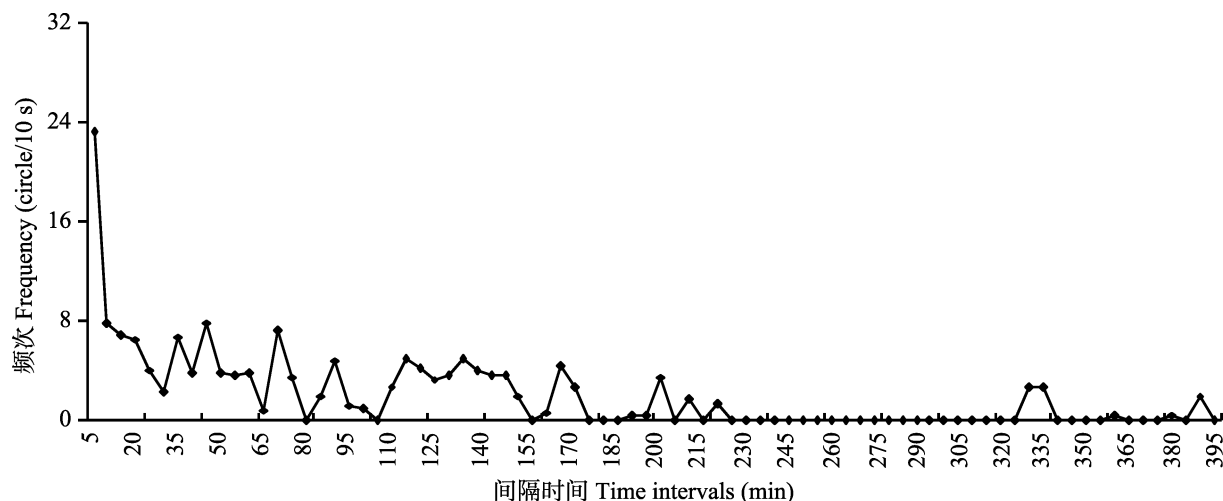


图 8 沉于水中的朱砂叶螨雄成螨足的摆动频次分布图 ($n=9$)

Fig. 8 Frequency distribution of leg sway duration for male adult mites *Tetranychus cinnabarinus* submerged in the water ($n=9$)

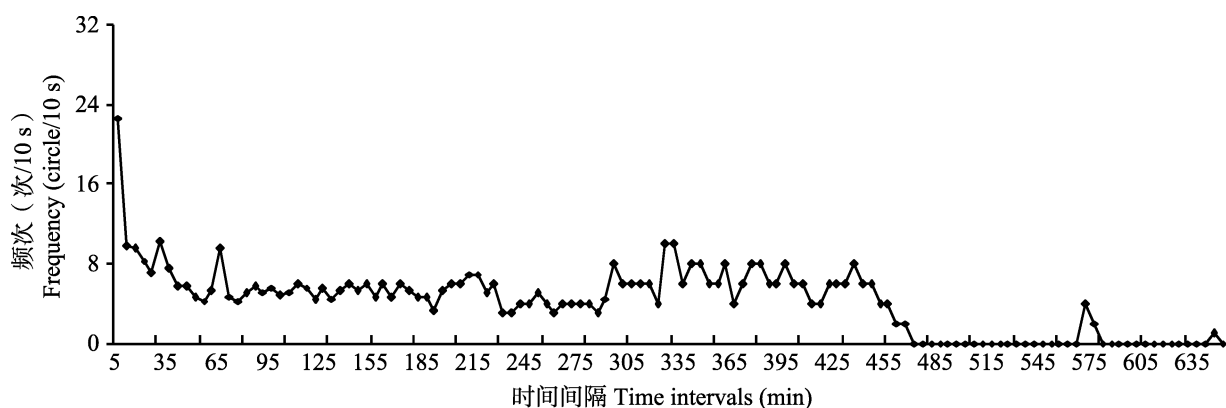


图 9 沉于水中的朱砂叶螨雌成螨足的摆动频次分布图 ($n=9$)

Fig. 9 Frequency distribution of leg sway duration for female adult mites *Tetranychus cinnabarinus* ($n=9$) submerged in the water ($n=9$)

3 结论与讨论

实验结果表明: 在棉花叶片上, 接螨 5 d 沉于水中的朱砂叶螨比例极显著高于 2 d 的, 这可能与接螨 5 d 比 2 d 的棉花叶片上朱砂叶螨吐丝结网的数量多有关; 另外, 实验中观察到少数的朱砂叶螨处于半沉状态, 可能与朱砂叶螨吐丝粘连行为有关 (吴孔明, 1990); 同时, 可能浮出水面的朱砂叶螨均在 1 min 之内完成。极少的卵浮出水面, 这可能因为成螨产卵时留下的胶状物质将卵与棉花叶片表面粘连。

降雨对昆虫的死亡机制主要原因是因为缺氧导致幼虫和蛹的窒息死亡 (杨燕涛, 2000; 常

晓娜等, 2008)。本文研究结果表明, 50%沉于水中的朱砂叶螨在大约在 5 h 内不会死亡, 因此, 在自然条件下, 连续降雨低于 5 h 的情况下, 降雨对朱砂叶螨的致死作用有限。沉于水中的朱砂叶螨短时内不会死亡可能主要因为朱砂叶螨具有类似水螨的腺毛, 能在水中进行气体交换 (金道超和李隆术, 1997), 或者其具有类似于水蜘蛛“物理肺”的气门, 能够存储水中的氧气 (Kang *et al.*, 2014)。

本文判断朱砂叶螨的死亡标准是参照 FAO 推荐的玻片浸渍法 (室内毒力测定) 的标准 (洪晓月, 2012), 但是该标准没有考虑时间限制。我们认为针对螨类沉在水中的忍受力测定时使

用录像观察判断朱砂叶螨死亡标准需补充时间因素,即假如其足不摆动,间隔 5 min,用软毛刷尖端拨动其足 1 次,假如摆动,继续观察;假如仍然不动,间隔 5 min,再拨动 1 次,连续两次均不摆动,则确认其死亡。观察并记录死亡时间。本研究结果还表明:沉在水中朱砂叶螨雌雄成螨死亡过程中表现为螨足的摆动频次由高到低,足的摆动时间也非连续状态,这可能与氧气的供给量与代谢有关。实验中各有 1 只雌雄成螨足的摆动频次录像画面有部分不清晰,没有进行足的摆动频次分析。

沉在水中未死亡的螨类(如 5 h 内)生长发育是否受到影响,需要进一步饲养判断。

参考文献 (References)

- Boiteau G, 2005. Role of vision throughout the flight initiation sequence of the Colorado potato beetle. *The Canadian Entomologist*, 137(4): 420–427.
- Chang XN, Gao HJ, Chen FJ, Zhai BP, 2008. Effect of environmental moisture and precipitation on insect. *Chinese Journal of Ecology*, 27(4): 619–625. [常晓娜, 高慧璟, 陈法军, 翟保平, 2008. 环境湿度和降雨对昆虫的影响. *生态学杂志*, 27(4): 619–625.]
- Fan HB, 1992. Lethal effect of raining to *Leucania separata* Walker larva. *Journal of Guizhou Agricultural Science*, (2): 28. [樊焕碧, 1992. 降雨对粘虫幼虫的致死作用. *贵州农业科学*, (2): 28.]
- Hong XY, 2012. Agricultural Acarology. Beijing: China Agriculture Press. 169–170. [洪晓月(主编), 2012. 农业螨类学. 北京: 中国农业出版社. 169–170]
- Hu Z, Gui LY, Hua DK, Luo J, 2015. Effect of simulated rainfall on laboratory population dynamics of *Tetranychus cinnabarinus*. *Journal of Environmental Entomology*, 38(3). in published. [胡智, 桂连友, 华登科, 罗杰, 2015. 模拟降水对朱砂叶螨实验种群数量的干扰作用. *环境昆虫学报*, 38(3). 出版中.]
- Jin DC, Li LS, 1997. On glandular morphology of water mites (Acari, Actinedida, Hydrchnellae) and evolutionary theory of the soma. *Acta Entomologica Sinica*, 40(3): 231–246. [金道超, 李隆术, 1997. 论水螨腺毛形态学与螨类体躯进化(蜱螨亚纲:水螨群). *昆虫学报*, 40(3): 231–246.]
- Kang JH, Lee YJ, Oh BK, Lee Sk, Hyun BR, Lee BW, Choi YG, Nam KS, Lim JD, 2014. Microstructure of the water spider (*Argyroneta aquatica*) using the scanning electron microscope. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 7(4): 484–488.
- Pei YF, Gui LY, Wang WK, 2013. Effect of low-lying land environment on abundance of cotton spider mites and total phenolic content of leaves and their relationship. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 5(4): 430–435.
- Pei YF, Gui LY, Wang WK, 2012. Effect of transgenic Bt cotton on abundance of cotton spider mites and total phenolic content of leaves and their relationship. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 4(6): 393–397.
- Pei YF, Huang XQ, Wang WK, Gui LY, 2013. Effect of cotton over paddy land on quantitative dynamics of cotton spider mites and total phenolic content of leaves and their relationship. *Journal of Environmental Entomology*, 35(6): 753–758. [裴艳芳, 黄秀琴, 王文凯, 桂连友, 2013. 稻改棉后对棉叶螨数量动态和棉总酚的影响及其相关性. *环境昆虫学报*, 35(6): 753–758.]
- Tan Y, Xu WY, Shang HW, Zhu ZR, 2014. The influence of water stress on the plant-herbivore interactions. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 51(04): 871–880. [谭椰, 徐文彦, 商晗武, 祝增荣, 2014. 水分胁迫对植物与植食性昆虫互作的影响. *应用昆虫学报*, 51(04): 871–880.]
- Tang QY, Feng GM, 2002. DPS data Processing System for Practical Statistics. Beijing: Science Press. 104–111. [唐启义, 冯明光, 2002. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社. 104–111.]
- Wang JJ, Zhang JP, He L, Zhao ZM, 2006. Influence of long-term exposure to simulated acid rain on development, reproduction and acaricide susceptibility of the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Journal of Insect Science*, 19 (6): 1–8.
- Wu KM, 1990. Study on density effect of *Tetranychus cinnabarinus*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 27(4): 213–216. [吴孔明, 1990. 朱砂叶螨密度效应研究. *昆虫知识*, 27(4): 213–216.]
- Yang YT, 2000. Effects of raining on the pupation and emergence of cotton bollworm and its occurrence. Master dissertation. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [杨燕涛, 2000. 降雨对棉铃虫化蛹和羽化的影响机制及对发生程度的抑制作用研究. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学.]
- Zhang JP, Wang JJ, Zhou ZM, Chen Y, Dou W, 2005. Effects of simulated acid rain on physiological and biochemical characters of eggplant, the host plant of *Tetranychus cinnabarinus*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 16(3): 450–454. [张建萍, 王进军, 赵志模, 陈洋, 豆威. 模拟酸雨对朱砂叶螨寄主植物三月旱茄生理生化的影响. *应用生态学报*, 2005, 16(3): 450–454.]
- Zhang YL, Gao QZ, Ding YG, Jiang T, 2006. Analysis of time-spatial characteristics and evolutionary trends of summer precipitation in the Yangtze River catchment. *Journal of Tropical Meteorology*, 22(2): 161–168. [张永领, 高全洲, 丁裕国, 姜彤, 2006. 长江流域夏季降水的时空特征及演变趋势分析. *热带气象学报*, 22(2): 161–168.]
- Zhao ZM, Luo HY, Wang JJ, 1999. Effects and mechanisms of simulated acid rain on plant-mite interactions in agricultural systems I. direct effects of simulated acid rain on carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Systematic and Applied Acarology*, 4: 83–89.