

· 研究报告 ·

上海地区土壤碳汇功能评估

赵敏 胡静 汤庆合

(上海市环境科学研究院,上海 200233)

摘要: 利用上海市第二次土壤普查资料,2004年—2005年上海耕地地力调查资料,以及2009年实地调查采样、实验分析获得的数据,研究了3个时期上海土壤有机碳的变化特征。结果表明,20多年来上海土壤有机碳平均含量没有明显变化,土壤有机碳库逐渐减小,从而使得上海城市化过程中土壤成为一种碳源,而不是碳汇。城市郊区以扩大蔬菜、果树、苗木种植为特征的旱地作物种植方式代替水稻田,是城市化影响土地利用类型变化的明显特征,而水稻田土壤有机碳含量高于林地、菜地。种植结构的变化对土壤有机碳含量有重要影响,同时,耕作制度、耕作方式、施肥等农业管理方式也有一定影响。虽然园林绿地得到快速发展,但没有弥补城市化过程导致农田面积减少带来的有机碳损失。

关键词: 城市化;土壤碳汇;碳源;上海

中图分类号: X825

文献标识码: B

文章编号: 1006-2009(2012)05-0017-06

Evaluation of Soil Carbon Sinks in Shanghai

ZHAO Min, HU Jing, TANG Qing-he

(Shanghai Academy of Environmental Sciences, Shanghai 200233, China)

Abstract: With the rapid development of urbanization, the land use changes had been intensified, which affected soil organic carbon stock. To explore how urbanization effected on soil carbon sequestration, taking Shanghai as example, which was the most rapid development of urbanization in China, the second soil survey data of Shanghai, the farmland survey data in Shanghai between the year 2004 and the year 2005, and the field sampling in the year 2009 were used to analyze the variation characters of soil organic carbon. It was found that the average content of soil organic carbon did not change significantly, but the soil organic carbon pool decreased. Thereby, the soil worked as a kind of carbon source, rather than carbon. It was the obvious features of the urbanization to land use changes that the planting structure changed from rice fields to dry land crops for planting vegetable, fruit, and seedlings in some suburban areas. While the organic carbon contents of paddy soil were higher than that of forest and vegetable garden, so planting structure changes had a major impact on soil organic carbon content. Meanwhile, farming systems, tillage pattern, fertilizer and other agricultural management practices also influenced the changes of soil organic carbon content. As far as the urban green space, it did not make up the loss of soil organic carbon lead by urbanization.

Key words: Urbanization; Soil carbon sink; Carbon source; Shanghai

土壤有机碳的积累不仅可以提高土壤生产力,还能减缓大气CO₂浓度的上升。联合国气候变化政府间专家委员会(IPCC)第4次评估报告认为,全球农业(土壤)可以起到20%的减排份额^[1]。联合国在2009年批准的农业清洁发展机制(CDM)方法广泛应用^[2],表明农业除了解决全球人口的粮食问题之外,也能够为气候变化问题提供

解决方案。因此,研究农业土壤有机碳的储存与动态变化对于正确评价农业产业对全球气候变化的影响具有重要的理论意义和现实意义。

收稿日期: 2012-05-03; 修订日期: 2012-07-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40671177)

作者简介: 赵敏(1982—),女,山东济宁人,工程师,博士,主要从事低碳经济发展研究。

随着现代城市化进程的加快,人类活动对城市生态系统的干扰更为严重,极为强烈地改变城市生态系统碳储量特征。在全球尺度上,快速城市化导致每年 47.6 万 hm^2 的耕地转变为城市用地^[3]。土地利用类型的这种变化对区域尺度上的土壤有机碳库影响很大^[4]。

1 研究方法和数据

目前,估算土壤碳库的研究方法很多,概括起来有植被类型法、土壤类型法、生命带法和模型法等 4 种方法^[5]。其中,基于土壤类型法,利用全国土壤普查资料是我国学者研究土壤碳库常用的方法^[6-9]。现利用上海第二次土壤普查资料^[10]和 2004 年—2005 年上海市各区县(主要指奉贤、青浦、宝山、嘉定、松江和浦东等区)开展的耕地地力调查资料^[11-16]及实地采样数据评估上海土壤碳汇功能。

2009 年的 11 月—12 月对上海市土壤进行了实地样品采集。由于宋云等^[17]对崇明岛、长兴岛和横沙岛的土壤有机质做了大量研究,为避免重复工作,该研究没有在这 3 个岛采样。采样布点采用网格法,因为网格布点法比随机布点的土壤类型间的变异系数小^[8],布点网格是 4 $\text{km} \times 4 \text{ km}$ 。以第二次土壤普查的土壤类型图为基础,上海市土壤类型和采样点分布见图 1。

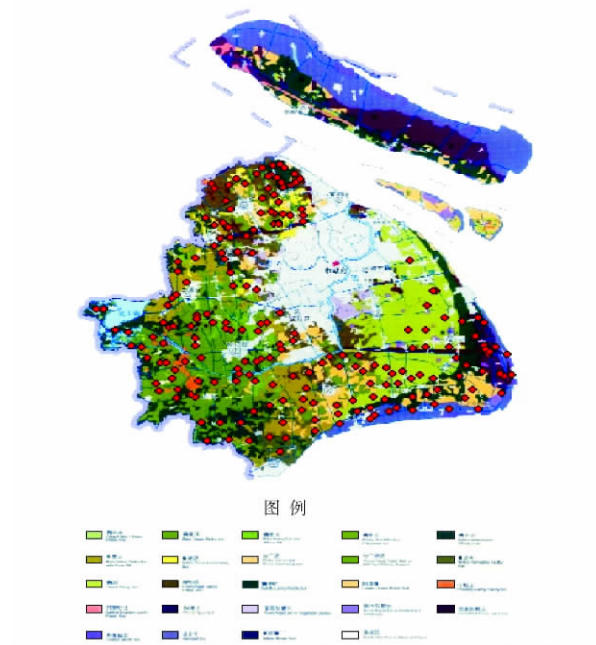


图 1 上海土壤类型图和采样点分布

Fig. 1 The map of soil type and the distribution of sampling sites (red dots) in Shanghai

采集样品 242 个,其中水稻田土壤样品 150 个,其他土壤(菜地、果园、林地和旱地)样品 92 个,采样深度为 20 cm (表层土壤的有机碳是直接和陆地生态系统碳循环动态耦合的,对环境变化和人类活动的响应最为活跃,该研究以表层土壤作为研究对象,我国表层土壤的一般深度为 20 cm),采样工具为自行加工的钢制采样管。另外,利用环刀法采集了土壤容重样品 216 个,其中水稻田土壤的容重样品 145 个。采集土样经室内风干,过 2 mm 筛,取约 50 g 样品进一步磨细过 0.15 mm 塑料筛,供有机碳测定,土壤有机碳含量采用重铬酸钾外加热法测定。实验数据的分析使用 SPSS 软件,对数据进行了 K-S 检验。

根据土壤普查资料和耕地地力调查资料中的各土属有机质质量比计算土壤有机碳质量比和土壤有机碳库,采用了以下公式:

(1) 面积加权平均有机碳质量比。

$$SOC = \frac{\sum_{i=1}^n SOM_i \times 10 \times 0.58 \times S_i}{\sum_{i=1}^n S_i} \quad (1)$$

式中: SOC —土壤有机碳质量比 g/kg ;

SOM_i — i 土壤有机质质量分数, %;

10—土壤有机质单位换算系数;

0.58—土壤有机质与有机碳换算系数;

S_i — i 土壤面积 hm^2 ;

n —土属数量, $n = 25$ 。

(2) 有机碳密度。

$$DOC_i = SOC_i \times \gamma_i \times H/10 \quad (2)$$

式中: DOC_i —表层土壤 i 的有机碳密度 $\mu\text{C}/\text{hm}^2$;

SOC_i —表层土壤 i 的有机碳质量比, g/kg ;

γ_i —表层土壤 i 的容重 g/cm^3 ;

H —表层土壤的厚度,中国表层土壤有机碳研究的厚度一般取 20 cm ,为了便于比较,上海表层土壤的厚度取平均值 20 cm ;

10—面积转换系数。

(3) 有机碳库。

$$C = \sum_{i=1}^n DOC_i \times S_i \quad (3)$$

式中: C —土壤有机碳库 μC 。

2 结果分析

2.1 土壤有机碳含量的变化

不同土属的土壤有机碳含量不同,耕层土壤有机碳质量比介于25.4 g/kg和6.5 g/kg之间,面积加权平均值为14.78 g/kg。而上海各区开展的耕地地力调查资料表明,上海耕层土壤面积加权平均有机碳质量比为14.61 g/kg,较第二次土壤普查土壤有机碳含量有所下降。

实地采样表明,土壤样品的有机碳含量频率分布符合正态分布,有机碳最高值是30 g/kg,最低值是3.23 g/kg,均值14.54 g/kg,标准偏差5 g/kg,样本数据通过了K-S检验,见图2。

为检验第二次土壤普查资料、耕地地力调查资

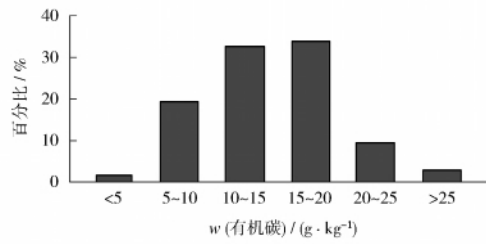


图2 上海农田土壤有机碳含量的频率分布

Fig. 2 The frequency distribution of soil organic carbon content in Shanghai

料和实地采样数据等3组数据的均值是否有显著性差异,采用SPSS软件进行两两独立样本t检验,汇总结果见表1。

表1 第二次土壤普查、耕地地力调查和实地采样三组数据两两t检验结果汇总

Table 1 Results of pairwise t-test between three sets of data, the Second National Soil Surveys, Farmland surveys and field sampling data

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
第二次土壤普查、耕地地力调查	Equal variances assumed	21.259	.000	1.141	44	.260	1.454 76	1.275 50	-1.115 83	4.025 36
	Equal variances not assumed			1.212	33.994	.234	1.454 76	1.200 57	-.985 11	3.894 64
耕地地力调查、实地采样	Equal variances assumed	11.150	.001	.114	275	.909	.127 47	1.116 51	-2.070 52	2.325 46
	Equal variances not assumed			.211	37.506	.834	.127 47	.604 98	-1.097 78	1.352 71
第二次土壤普查、实地采样	Equal variances assumed	1.021	.313	1.482	279	.140	1.582 23	1.067 92	-.519 98	3.684 44
	Equal variances not assumed			1.401	28.247	.172	1.582 23	1.129 51	-.730 56	3.895 02

表中3组数据的均值均无显著性差异,3组数据两两t检验结果分别看第四、六、七行数据, Sig值0.234、0.834和0.14都>0.05,且两两总体差的95%置信区间上限和下限(倒数第一和二列)跨0,也从另一个角度证实3组数据的均值无显著性差异,说明上海农田土壤的有机碳含量没有明显变化。宋云等^[17]对崇明三岛的有机质研究认为第二次土壤普查以来,土壤有机质也没有上升。

大多研究认为水稻田具有一定的碳汇功能^[18],为此深入研究分析了水稻田土壤的有机碳特征。水稻田土壤样品的有机碳含量频率分布也符合正态分布,见图3。

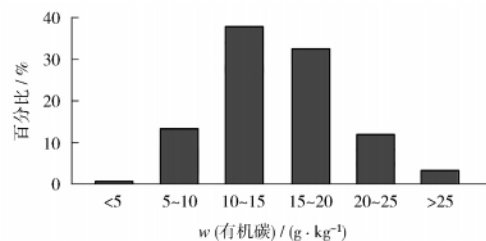


图3 上海水稻田土壤有机碳含量的频率分布

Fig. 3 The frequency distribution of paddy soil organic carbon content in Shanghai

有机碳含量最高值 30 g/kg, 最低值 4.04 g/kg, 均值 15.17 g/kg, 标准偏差 4.8 g/kg, 样本数据通过了 K-S 检验。

水稻田土壤的有机碳质量比高于林地 (14.22 g/kg)、果园 (14.17 g/kg) 和菜地 (13.36 g/kg), 这与其他研究的结论一致^[19-20]。

2.2 土壤有机碳密度和碳库的变化

土壤有机碳密度除了与土壤有机碳含量有关, 还受土壤容重大小的影响。研究利用环刀法测定的上海土壤容重平均值 1.2 g/cm³, 最大值 1.5 g/cm³, 最小值 0.84 g/cm³, 标准偏差 0.14 g/cm³, 样本数据通过了 K-S 检验。见图 4。

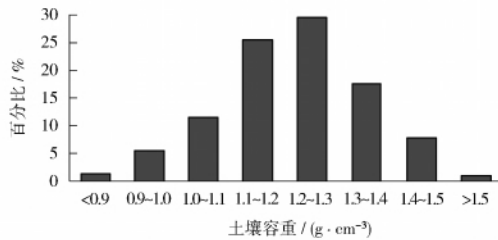


图 4 上海土壤容重频率分布

Fig. 4 The frequency distribution of soil bulk density in Shanghai

第二次土壤普查时的土壤容重数据较为缺乏, Liao 等^[8]应用 Song 根据全国表层土壤有机碳与土壤容重建立的回归方程计算了江苏省的土壤容重。

利用这一方程计算得到上海土壤容重为 1.22 g/cm³ ~ 1.33 g/cm³。全国土壤类型复杂, 根据全国土壤有机碳与容重的回归方程估算土壤类型相对简单的上海土壤容重难免会产生较大误差。为此, 根据实地采样获得的土壤有机碳含量和土壤容重数据, 建立上海土壤有机碳和土壤容重的回归方程。

$$\gamma = 1.5241 \times e^{(-0.0161 \times SOC)} \quad (R^2 = 0.6441) \quad (4)$$

式中: γ —土壤容重 g / cm³;

SOC—土壤有机碳质量比 g/kg。

基于上海市土壤容重与土壤有机碳的回归方程计算得到上海第二次土壤普查时土壤的平均碳密度为 34.6 t C / hm², 土壤有机碳库为 13 Tg C (1 Tg = 10¹² g)。上海土壤有机碳和土壤容重的相关关系见图 5。

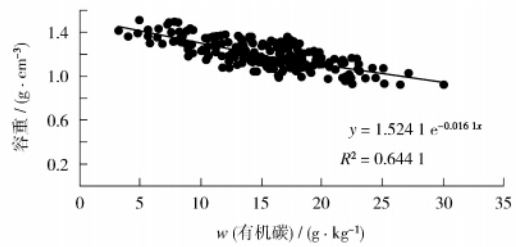


图 5 上海土壤有机碳与容重的相关关系

Fig. 5 The correlation between soil organic carbon and soil bulk density in Shanghai

2009 年土壤有机碳密度平均值为 34.98 t C/hm², 略高于第二次土壤普查时的土壤有机碳密度(土壤有机碳密度可能受土壤容重推算过程中产生误差的影响)。但近年来快速城市化导致土壤面积快速下降, 据研究 1994 年—2006 年间, 上海农业用地(包括农田、林地和园地)减少约 9 万 hm²^[19], 由于无法精确获得 2009 年上海土壤面积, 经估算, 第二次土壤普查以来上海土壤的有机碳库是下降的。

3 讨论

3.1 上海土壤有机碳含量特征

与全国农业土壤相比, 上海表层土壤有机碳密度略低, 但与周边地区相比, 上海土壤有机碳含量略高于太湖平原地区^[20]。土壤有机碳含量的高低既受土壤形成条件、土壤类型等自然因素的影响, 也受土壤利用类型、耕作方式等人为活动的制约。就上海而言, 尽管地域不大, 但土壤形成过程非常复杂, 地貌类型既有湖沼平原, 也有滨海平原和沙岛平原等, 不同的土壤类型呈现明显的地域分布和复杂的镶嵌分布, 分布范围最广的水稻土, 其发育程度也很不平衡^[10]。上海土壤有机碳含量的地域分布呈以下特点: 西部地区的青浦、松江、金山、嘉定土壤有机碳含量普遍高于奉贤、宝山、浦东等区, 崇明三岛土壤有机碳含量最低。快速城市化导致大量的农业用地转变为城市用地, 从保护耕地以及提高土壤碳汇作用的角度, 上海城市化应该向土壤有机碳含量低的地区发展, 保护有机碳含量高的土壤。

20 世纪 80 年代以来, 上海土壤有机碳含量没有明显变化。这一结论有别于潘根兴研究得出的 20 世纪 80 年代以来全国土壤有机碳总体上出现了稳定和增加的趋势^[18]。也有大量研究表明我国

东南和南部的红壤地区或水稻土地区土壤有机碳总体呈增加的趋势^[8 21-24]。上海土壤类型多样,就水稻田土壤而言,其有机碳含量是增加的,茅国芳^[25]通过对上海7个主要水稻土类型0 cm ~ 20 cm 耕层土壤有机质的研究,也认为土壤有机质全面回升。

3.2 林地土壤的有机碳特征

上海土地资源稀缺,为了提高林地面积,大量农田转化为林地。这些林地土壤有机碳含量普遍低于农田土壤。

在由农地转为林地时,土壤碳含量的上升需要较长的时间,Johnson^[26]对一些原来为农地的森林进行追踪调查,发现表层土壤有机碳在1983年造林后增加80%。

可见,上海大部分林地土壤还没有到有机碳恢复的时期。除农地转化来的林地外,还有部分林地分布在河道两侧,虽然森林凋落物有利于土壤有机碳含量的提高,但这部分土壤多为挖掘的河底沉积物,有机碳含量本底值很低。

3.3 种植业结构调整对土壤有机碳含量的影响

种植业结构的调整,特别是在城市郊区以扩大蔬菜、果树、苗木种植为特征的旱地作物种植方式代替水稻田,是上海农田土壤整体有机碳含量下降的主要原因之一。

该研究与其他研究均表明水稻田土壤的有机碳含量明显高于其他农业用地类型^[19-20]。淹水环境下,土壤的还原性强,有机质的分解速率低,所以灌溉及其水耕熟化作用是我国大面积农业土壤保持有机碳的主要途径。据计算,我国灌溉农业的发展相当于增加有机碳固定达 $0.3 \text{ pg}^{[27]}$ 。

3.4 耕作方式对土壤有机碳含量的影响

耕作制度和耕作方式对土壤有机碳含量的影响也非常显著。20世纪90年代后,上海郊区农业耕作制度由二熟制代替了20世纪80年代的三熟制,采取二熟制后土壤有机碳年积累量显著提高^[25],这也是水稻田土壤有机碳含量上升的原因之一。

同期推广的少耕免耕的农业耕作制度也有利于土壤有机碳的固定,据研究保护性土壤耕作10年比翻耕耕作的碳储量增加 $2.8 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{a})^{[28]}$ 。菜地的土壤有机碳含量较低与人为的翻耕次数较多有关,为了提高产量,菜地的土壤都翻耕得很疏松,而这种环境有利于土壤有机质的分解。

3.5 园林绿地土壤的碳汇功能探讨

园林绿地土壤作为一种特殊的土壤类型,近年来,随着城市绿化覆盖率的提升得到快速增加,2008年上海城市园林绿地面积近 $3.5 \text{ 万 hm}^2^{[29]}$ 。据刘为华对上海园林绿地土壤有机碳的研究,0 cm ~ 30 cm 土层平均有机碳质量比为 15.52 g/kg ,且具有建造时间越早,土壤有机碳含量越高的特征。1960年以前建造的公园,其土壤有机碳平均质量比为 20.1 g/kg ,90年代建造的为 14.6 g/kg ,2000年以后建造的为 $10.7 \text{ g/kg}^{[30]}$ 。方海兰等^[31]对上海18块新建绿地土壤有机质的研究,得出相似结论,新建绿地土壤有机质平均值为 17.68 g/kg ,折合有机碳 10.25 g/kg 。

年代越早的绿地土壤有机碳含量越高,某种程度上表明园林绿地土壤是有固碳能力的。但就城市化过程而言,2000年以后建造的园林绿地土壤有机碳含量远低于城市化前农田土壤有机碳含量,而2000年以来是建造的园林绿地占总量的三分之二以上,同时,城市建设过程中造成不同程度的土壤破坏,土壤有机质分解加速。因此,快速增加的园林绿地建设并没有弥补城市化过程导致农田土壤减少带来的有机碳损失。

上海绿化进程快,绿化土壤需求量大,一些不适合种植的深层土、建筑垃圾土也被用于绿化^[32]。土壤有机碳含量低会影响植被的长势,进而对凋落物的量产生影响。

凋落物的多少是补偿土壤有机碳的主要来源之一,凋落物少将减缓土壤有机碳的积累,进而影响土壤的固碳能力。在上海园林绿地的很多区域,特别是道路绿地,植物的枯枝落叶被及时清除,不能进入土壤,也是造成土壤有机碳含量低的原因。

4 结语

在上海城市化快速发展进程中,土壤有机碳平均含量没有明显变化,土壤有机碳库逐渐减小,从而使得上海城市化过程中土壤成为一种碳源,而不是碳汇。

城市化对土壤有机碳的影响表现在几个方面:一是种植结构调整,城市郊区以扩大蔬菜、果树、苗木种植为特征的旱地作物种植方式代替水稻田,而园地和林地的土壤有机碳含量明显低于水稻田;二是农业用地面积减少,特别是有机碳含量最高的水稻田面积大幅减少,导致土壤有机碳库明显下降;

三是城市园林绿地虽然发展很快,但用于绿化的土壤有机碳本底值低,加上不合理的管理方式,导致新增园林绿地土壤有机碳含量低于原农业土壤。总体而言,上海城市化过程中土壤的碳汇功能不明显。

致谢: 特别感谢在采样和实验中给予帮助的张卫国老师!

[参考文献]

- [1] IPCC. Climate change 2007: mitigation of climate change. contribution of working group III to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change [M]. Cambridge, UK and New York, USA: Cambridge University Press, 2007.
- [2] 人民日报海外版. 联合国将农业认定为应对二氧化碳排放量剧增的解决方案之一 批准首个农业 CDM 方法 [EB/OL]. [2009-07-28]. <http://sannong.newssec.org/system/2009/07/28/012202765.shtml>.
- [3] World Resource Institute. World resources: A guide to the global environment [M]. New York: Oxford University Press, 1996.
- [4] POUYAT R, GROFFMAN P, YESILONIS I, et al. Soil carbon pools and fluxes in urban ecosystems [J]. Environment Pollution 2002, 116: 107-118.
- [5] 金峰, 杨浩, 蔡祖聪, 等. 土壤有机碳密度及储量的统计研究 [J]. 土壤学报, 2001, 38(4): 522-528.
- [6] SONG G H, LI L Q, PAN G X, et al. Topsoil organic carbon storage of China and its loss by cultivation [J]. Biogeochemistry 2005, 74: 47-62.
- [7] PAN G X, LI L Q, ZHANG Q, et al. Organic carbon stock in topsoil of Jiangsu province, China, and the recent trend of carbon sequestration [J]. Journal of Environmental Sciences 2005, 1(17): 1-7.
- [8] LIAO Q L, ZHANG X H, LI Z P, et al. Increase in soil organic carbon stock over the last two decades in China's Jiangsu province [J]. Global Change Biology 2009, 15: 861-875.
- [9] 王绍强, 周成虎, 李克让, 等. 中国土壤有机碳库及空间分布特征分析 [J]. 地理学报, 2000, 55(5): 534-544.
- [10] 侯传庆. 上海土壤 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1992: 97-163.
- [11] 程秋华, 朱建忠. 嘉定区耕地地力调查与可持续发展研究 [M]. 上海: 上海科学普及出版社, 2008: 26-102.
- [12] 封坚强, 孙连飞. 松江区耕地地力调查与质量评价 [M]. 上海: 上海科学普及出版社, 2008: 35-68.
- [13] 陈锦年, 林明, 钱莉, 等. 宝山区耕地地力与农田环境研究 [M]. 上海: 上海科学普及出版社, 2007: 87-98.
- [14] 薛循革, 陆建忠, 姚愚, 等. 浦东新区耕地地力与质量研究 [M]. 上海: 上海科学普及出版社, 2006: 69-75.
- [15] 钱非凡, 李伯才. 上海市奉贤区耕地地力调查与质量评价 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2007: 52-89.
- [16] 陈龙娟, 胡胜昌, 金燕, 等. 上海市青浦区耕地地力调查与质量评价 [M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2008: 68-89.
- [17] 宋云, 李德志, 周燕, 等. 崇明三岛土壤主要养分的时空变异特征 [J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 2009, 55(5): 85-93.
- [18] 潘根兴, 李恋卿, 张旭辉, 等. 中国土壤有机碳库量与农业土壤碳固定动态的若干问题 [J]. 地球科学进展, 2003, 18(4): 609-618.
- [19] 史利江. 基于遥感和 GIS 的上海土地利用变化与土壤碳库研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2009.
- [20] 侯鹏程, 徐向东, 潘根兴. 不同土地利用方式对农田表土有机碳库的影响—以太湖地区吴江市为例 [J]. 南京农业大学学报, 2007, 30(2): 68-72.
- [21] 李忠佩, 吴大付. 红壤水稻土有机碳库的平衡值确定及固碳潜力分析 [J]. 土壤学报, 2006, 43(1): 46-52.
- [22] 彭佩钦, 刘强, 黄道友, 等. 湖南典型农田土壤有机碳含量及其演变趋势 [J]. 环境科学, 2006, 27(7): 1319-1322.
- [23] 秦静, 孔祥斌, 姜广辉, 等. 北京典型边缘区 25 年来土壤有机质的时空变异特征 [J]. 农业工程学报, 2008, 24(3): 124-130.
- [24] 徐艳, 张凤荣, 汪景宽. 20 年来我国潮土区与黑土区土壤有机质变化的对比研究 [J]. 土壤通报, 2004, 35(2): 102-105.
- [25] 茅国芳. 上海市农田土壤基础肥力元素演变特征 [J]. 上海农业学报, 2001, 17(3): 38-44.
- [26] JOHNSON D W. Effects of forest management on soil carbon storage. In Wisniewski J and Ligo A E eds. National sinks of CO₂ [J]. Kluwer Academic Publisher, Dordrech, 1992: 83-120.
- [27] 潘根兴. 农业土壤固碳与缓解气候变化 [J]. 国际学术动态, 2009, 27(6): 25-27.
- [28] WOOD C W, EDWARDS J H. Agro-ecosystem management effects on soil carbon and nitrogen [J]. Agricultural Ecosystem and Environment, 1992, 39(3-4): 123-138.
- [29] 国家统计局. 上海统计年鉴 2009 [M]. 北京: 中国统计出版社, 2009.
- [30] 刘为华. 上海城市绿地土壤碳储量格局与理化性质研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2009.
- [31] 方海兰, 陈玲, 黄懿珍, 等. 上海新建绿地的土壤质量现状和对策 [J]. 林业科学, 2007, 43(增刊): 89-94.
- [32] 项建光. 上海典型新建绿带的土壤质量评价 [J]. 土壤, 2004, 36(4): 424-429.