

산불이 토양 미생물 군집과 효소 활성 변화에 미치는 영향

오주환¹⁾ · 이슬비^{[1)} · 박성은²⁾ · 이용복^{2)*} · 김필주^{1,3)*}

¹⁾경상대학교 응용생명과학부(BK 21 program), ²⁾농업과학기술원, ³⁾경상대학교 농업생명과학연구원

(2008년 6월 2일 접수, 2008년 6월 24일 수리)

Effect of Fire on Microbial Community Structure and Enzyme Activities in Forest Soil

Ju-Hwan Oh¹⁾, Seul-Bi Lee¹⁾, Sung-Eun Park²⁾, Yong-Bok Lee²⁾, and Pil-Joo Kim^{1,3)*} (¹⁾Division of Applied Life Science (BK 21 program), Graduate School, Gyeongsang National University, ²⁾National Institute of Agricultural Science & Technology, Suwon, Korea, ³⁾Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University)

ABSTRACT: Fire can affect microbial community structure of soil through altered environmental conditions, nutrient availability, and biotic source for microbial re-colonization. We examined the influence of fire on chemical properties and soil enzyme activities of soil for 10 months. We also characterized the soil microbial community structure through ester-linked fatty acid analysis (EL-FAME). For this study, we established five burned plots (1×1 m) and 5 unburned plots outside the margin of fire. Soil was sampled three soil cores in each plots and composited for analysis at 1, 3, 5, 8, and 10 month after fire. The fire caused an increase in soil pH, exchangeable Ca, and Mg, organic matter, available P₂O₅ compared to unburned sites. The content of NH₄-N in burned site was significantly higher than that of unburned site and this effect continued for 8 months after fire. There was no difference of NO₃-N content in soil between burned and unburned site. Fire caused no change in acid phosphatase and arylsulfatase activities but β -glucosidase and alkaline phosphatase activities in burned site were increased compared to unburned site. Microbial biomass as estimated by total concentration of EL-FAMEs in burned sites was significantly higher than that of unburned sites at one month after fire. Burned site decreased the EL-FAMEs indicative of gram-positive bacteria and tended to increase the fatty acid associated with gram-negative bacteria at one and three months after fire. The sum of EL-FAME compound 18:2 ω 6,9c and 18:1 ω 9c as served fungal biomarkers was decreased in burned site compared to unburned site.

Key Words: Forest fire, microbial community structure, enzyme activity

서 론

우리나라는 1970년대 초반부터 실시된 산림녹화사업과 화석연료 사용에 의한 연료용 벌목의 감소로 산림자원이 점점 풍부해지고 있다. 그리고 홍수조절, 온실가스 감소등과 같은 산림의 중요한 기능 때문에 산림보존의 중요성은 점점 높아지고 있다. 그러나 산불은 우리나라에서 산림훼손의 주요 원인 중 하나이며, 모든 산불은 사람에 의해서 발생하였고¹⁾, 2005년에는 516건이 발생하여 2,067 ha의 임야가 피해를 입었다²⁾.

산불은 여러 가지 측면에서 토양 환경에 많은 영향을 미

친다. 일반적으로 산불 발생 후 토양의 온도, 무기양분 및 pH는 증가 하지만^{3,4)}, 유기물 및 유기태질소 함량은 감소한다⁵⁾. 우리나라에도 산불 발생 후 초기 식물상변화^{6-9,19-21)}와 토양의 이화학적 특성 변화에^{9,20,22-24)} 관한 연구가 이미 많이 수행되어졌다.

산불은 토양 중 양분순환과 식물생육에 중요한 역할을 하는 토양 미생물의 양과 활성에 직간접적으로 큰 영향을 미친다. 특히, 산불에 의한 고온은 표층의 토양 미생물을 감소시키지만, 불완전 연소된 식물체는 미생물 증식에 영양원으로 작용한다^{10,11)}. 그리고 Vazquez¹²⁾등은 산불에 의해서 fungi가 급격히 감소하며, 시간이 경과함에 따라 fungi 보다는 bacteria 가 먼저 증식하는 것으로 보고 하였다. 이와 같이 산불이 토양 미생물 양과 활성에 미치는 영향에 대한 몇몇 연구가 수행 되어졌지만¹³⁻¹⁶⁾, 미생물 군집에 미치는 영향에 대한 연구는 미미하다. 특히, Bisset 와 Parkinson¹⁷⁾는 외부의 영향에

*연락처:

Tel: +82-55-751-5466, +82-31-290-0341 Fax: +82-55-757-0178
E-mail: pjkim@gnu.ac.kr, soiltest@daum.net

의한 토양 미생물 군집변화는 발아율, 식생회복 등과 같은 생태계 반응에 많은 영향을 미친다고 보고 하였다. 그리고 지금 까지 산불 발생 후 토양 미생물에 관한 연구는 산불 발생 후 어느 한 시점에서 산화지와 비산화지를 비교분석한 것으로 시간에 따른 미생물의 군집과 활성변화를 이해하는 데는 그 한계점을 가지고 있다.

따라서 본 연구는 산불 발생 후 시간에 따른 산화지와 비산화지 토양미생물 군집과 활성 변화를 비교 분석함으로써 산화지 토양미생물이 회복되는 과정을 이해하는데 기여하고자 한다.

재료 및 방법

시험지

본 연구에 이용된 시험지는 경남 진주시 내동면 신율리 ($35^{\circ}09'46''N$, $128^{\circ}05'75''E$)에 위치한 야산으로 소나무가 주종을 이루고 있었다. 산불은 2007년 1월 8일 발생하여 당일 진화되었으며, 지상부의 작은 나무는 전소되었으나, 대부분의 소나무는 큰 피해를 받지 않았다. 산불 진화 직후 산화지 (burned)와 채광조건, 고도 및 경사가 비슷한 비산화지 (unburned) 지역에 각각 $1\times1\text{ m}$ 시험구를 5반복으로 설치하여 토양시료를 채취하였다.

토양의 이화학적 특성

토양은 burned와 unburned 지역을 구분해서 각각 5곳에서 2, 4, 6, 9, 11월에 각각 표토(0-15 cm)를 채취하여 일부 분은 풍건하여 2 mm 체로 통과시켜 pH, 유기물, 치환성 양이온(Ca, Mg, K), 유효인산을 농축진홍청 토양분석법에 준하여 분석 하였다³⁶⁾. 토양의 질산태 및 암모니아태 질소는 습토를 분석하여서 건토중량으로 환산하였다. 그리고 일부분의 토양은 미생물 군집(microbial community structure)과 토양 enzyme 활성 변화를 조사하기 위해서 -80°C 에서 보관하였다.

토양 미생물 군집변화

미생물 군집 분석을 하기 위해서 ester-linked fatty acid methyl ester (EL-FAME) 방법을 이용하여 토양으로부터 지방산을 추출하였다²⁵⁾. 그리고 추출한 EL-FAME은 GC와 MIDI 프로그램을 이용해서 각각의 peak를 분석하였다. 여기서 미생물 군집 분석을 위해 이용된 EL-FAME의 biomarkers는 다음과 같다. Bacterial FAMEs³²⁾: 15:0, a15:0, i15:0, i16:0, 16:1ω7c, 16:1ω9c, 17:0, a17:0, i17:0, 17:0cyc, 17:1ω8c, 18:1ω5c, 18:1ω7c, 19:0cyc; fungal FAMEs³⁷⁾: 18:2ω6, 9c, 18:1ω9c; gram positive(+) bacterial FAMEs³²⁾: a15:0, i15:0, i16:0, a17:0, i17:0; gram negative(-) bacterial FAMEs³²⁾: 16:1ω7c, 18:1ω7c, 17:0cyc, 19:0cyc.

토양 enzyme 활성 변화

Acid(pH 6.5)와 alkaline(pH 11.0) phosphatase, β -

glucosidase (pH 6.0), arylsulfatase 활성 분석은 Tabatabai 방법²⁶⁾에 준하여 실시하였다. 간단히 요약하면, 토양에 일정량의 기질(substrate)과 buffer를 첨가하고 향온시킨 후 각각의 효소에 의해서 분리되는 *p*-nitrophenol 을 410 nm에서 측정하였다. 그리고 이때 이용된 Acid (pH 6.5)와 alkaline (pH 11.0) phosphatase, β -glucosidase (pH 6.0), arylsulfatase 분석용 기질은 각각 *p*-nitrophenyl phosphate, *p*-nitrophenyl- β -glucopyranosid, *p*-nitrophenyl sulfate였다.

결과 및 고찰

토양의 이화학적 특성

일반적으로 산불 발생 후 토양의 이화학적 특성변화는 토양의 성질, 산불의 강도, 재의 집적 정도에 따라 다르게 나타난다. 본 연구에서 산화지 토양의 pH, 유효인산, 치환성 양이온은 비산화지에 비해서 크게 증가되었다(Table 1). 이는 토양의 표층에 집적된 유기물과 수목의 재에서 유래된 것으로 우리나라에서 실시된 많은 연구결과²²⁻²⁴⁾와도 일치하는 경향이다. 산불 발생 후 증가된 토양 pH는 주요 양분의 유효도를 증진시켜 새로 침입된 식생 및 식재된 임목의 생장과 활착에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 판단된다.

산불발생 후 산화지와 비산화지 사이의 $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 함량은 큰 차이가 없었지만 $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 함량은 산화지에서 비산화지 보다 높았다(Fig. 1). 그리고 산화지와 비산화지의 토양 중 $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 함량차이는 산불 발생 후 1, 3, 5, 8개월 각각 3.8, 4.7, 2.2, 1.5 mg kg⁻¹으로 그 차이가 점점 감소하였다. 이와 같은 산화지의 초기 $\text{NH}_4\text{-N}$ 함량 증가는 재에 의한 pH 증가가 무기화를 촉진 시킨 결과 때문이다^{27,28)}. Grogan 등²⁷⁾에 의하면 산불 발생지에서 산불 발생 직후 토양표면의 재를 제거 하였을 때 토양 pH 및 $\text{NH}_4\text{-N}$ 함량은 제거하지 않은 곳에 비해 현저히 낮았다고 보고하였다.

Enzyme 활성

토양 enzyme 활성과 microbial biomass는 토양의 주요 양분의 저장과 순환에 중요한 역할을 담당하고 있으며 토양 환경변화에 빠르게 반응한다. 산불 발생 후 토양의 비옥도 변화는 토양 enzyme 활성 변화에 큰 영향을 미쳤다(Table 2). 특히, 산화지의 β -Glucosidase 활성이 비산화지에 비해 월등히 증가되었다. β -Glucosidase는 토양 pH 변화에 가장 민감한 효소로서³⁰⁾ 산화지의 토양 pH 증가와 유기물 함량증가가 이 enzyme의 활성을 증진시킨 것으로 판단된다. 산불 발생 후 토양 pH 변화는 acid 및 alkaline phosphatase 활성에도 큰 영향을 미쳤다. 일반 농경지 토양의 pH 증가는 acid phosphatase의 활성을 감소시키고, alkaline phosphatase 활성을 증가 시킨다^{29,30)}. 본 연구에서 산불 발생 후 5개월까지 산화지의 alkaline phosphatase 활성이 비산화지보다 높은 것은 위와 같은 원인으로 해석 할 수 있다.

Table 1. Changes of soil chemical properties after fire

Sampling date	Treatment	pH (1:5)	OM (g kg ⁻¹)	Av.P ₂ O ₅ (mg kg ⁻¹)	Ex.-cations (cmol ⁺ kg ⁻¹)		
					K	Ca	Mg
Feb. 14	Unburned	4.2 (0.1) [†]	26.6 (4.9)	34.3 (5.3)	0.19 (0.01)	2.8 (0.3)	1.31 (0.10)
	Burned	4.6 (0.2)	34.5 (5.1)	39.3 (8.1)	0.20 (0.03)	3.5 (0.5)	2.56 (0.32)
Apr. 14	Unburned	4.3 (0.1)	22.8 (3.2)	28.5 (5.0)	0.17 (0.01)	2.8 (0.4)	1.50 (0.03)
	Burned	4.7 (0.3)	38.2 (6.2)	30.2 (3.1)	0.19 (0.01)	2.9 (0.5)	2.87 (0.46)
June. 22	Unburned	4.4 (0.1)	27.7 (2.1)	29.9 (6.1)	0.16 (0.02)	2.3 (0.2)	1.86 (0.24)
	Burned	4.4 (0.1)	35.4 (4.5)	35.5 (8.9)	0.19 (0.03)	3.2 (0.5)	2.47 (0.39)
Sep. 4	Unburned	4.4 (0.1)	28.1 (3.2)	37.7 (3.8)	0.22 (0.02)	2.5 (0.3)	1.21 (0.11)
	Burned	4.5 (0.1)	33.0 (5.7)	42.4 (8.6)	0.24 (0.04)	3.4 (0.5)	2.84 (0.24)
Nov. 12	Unburned	4.3 (0.1)	27.6 (8.7)	31.8 (2.3)	0.18 (0.01)	2.7 (0.2)	1.43 (0.12)
	Burned	4.3 (0.2)	32.8 (5.6)	35.6 (7.8)	0.19 (0.01)	3.1 (0.6)	2.78 (0.54)

[†] standard deviation.

Table 2. Changes of soil enzyme activities after fire

Sampling date	Treatment	β -Glucosidase	Acid phosphatase	Alkaline phosphatase	Arylsulfatase
			-----mg p-nitrophenol kg ⁻¹ h ⁻¹ -----		
Feb. 14	Unburned	165 (10) [†]	144 (12)	33.3 (2.5)	22.2 (5.6)
	Burned	213 (23)	136 (22)	42.4 (7.1)	21.7 (7.6)
Apr. 14	Unburned	155 (13)	113 (13)	34.4 (6.8)	21.8 (2.3)
	Burned	170 (15)	114 (35)	48.7 (9.6)	25.4 (5.3)
June. 22	Unburned	242 (34)	217 (34)	69.1 (7.8)	53.6 (7.8)
	Burned	262 (28)	184 (34)	78.6 (7.3)	65.9 (6.5)
Sep. 4	Unburned	253 (35)	175 (12)	112.9 (8.9)	71.5 (4.3)
	Burned	256 (23)	195 (11)	109.4 (12.6)	89.3 (6.9)
Nov. 12	Unburned	151 (25)	167 (22)	80.6 (12.2)	50.6 (3.4)
	Burned	161 (45)	184 (27)	78.8 (17.6)	55.8 (2.3)

[†] standard deviation.

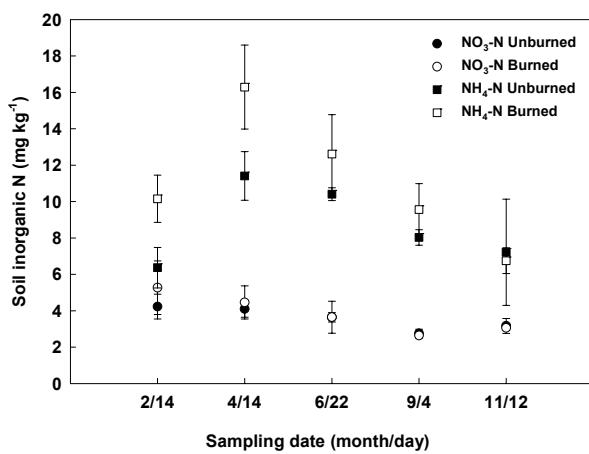


Fig. 1. Changes of soil inorganic nitrogen (NH_4 and $\text{NO}_3\text{-N}$) after fire.

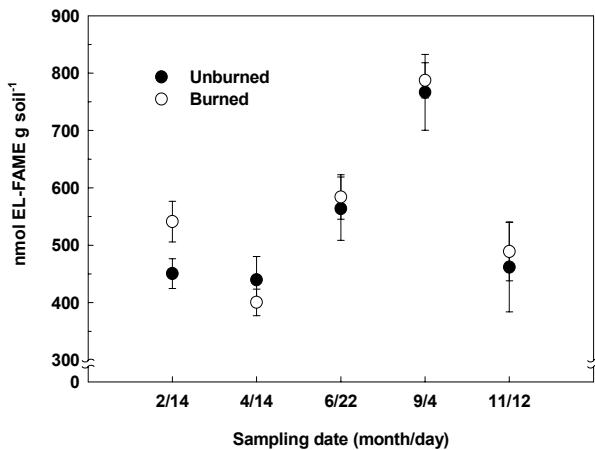


Fig. 2. Changes of total EL-FAMEs concentration in soil after fire.

Microbial community structure

지금까지 미생물 군집변화를 조사하는데 있어 평판배양 방법이 주로 이용되고 있지만, 토양 중 대부분의 미생물(80~99%)은 실험실에서 배양 할 수 없다³¹⁾. Phospholipids는 살아있는 미생물의 세포벽을 구성하는 필수 성분으로 죽은 세포에는 존재하지 않는다. 따라서 이 방법은 토양 중에 살아있는 미생물의 군집변화를 조사하는데 널리 이용되고 있다. 특히, 토양 중 microbial biomass를 추정하는데 있어 효과적인 방법이다³²⁾. 본 연구에서 산불 발생 1달 후 총 EL-FAMEs 양은 산화지 541 nmol g⁻¹으로 비산화지 450 nmol g⁻¹ 보다 현저히 높았다(Fig. 2). 그러나 1개월 이후 산화지와 비산화지의 EL-FAMEs 은 큰 차이를 보이지 않았다. 그리고 산불 발생 후 초기 산화지의 fungal biomarkers 양이 비산화지에 비해 감소하는 경향을 보였으며, gram+/gram- 비는 비산화지가 산화지보다 높았다(Table 3). 이는 fungi가 bacteria 보다 산불에 영향을 많이 받기 때문이다³³⁾. 그리고 gram+/gram- 비의 변화는 gram- bacteria가 gram+ bacteria 보다

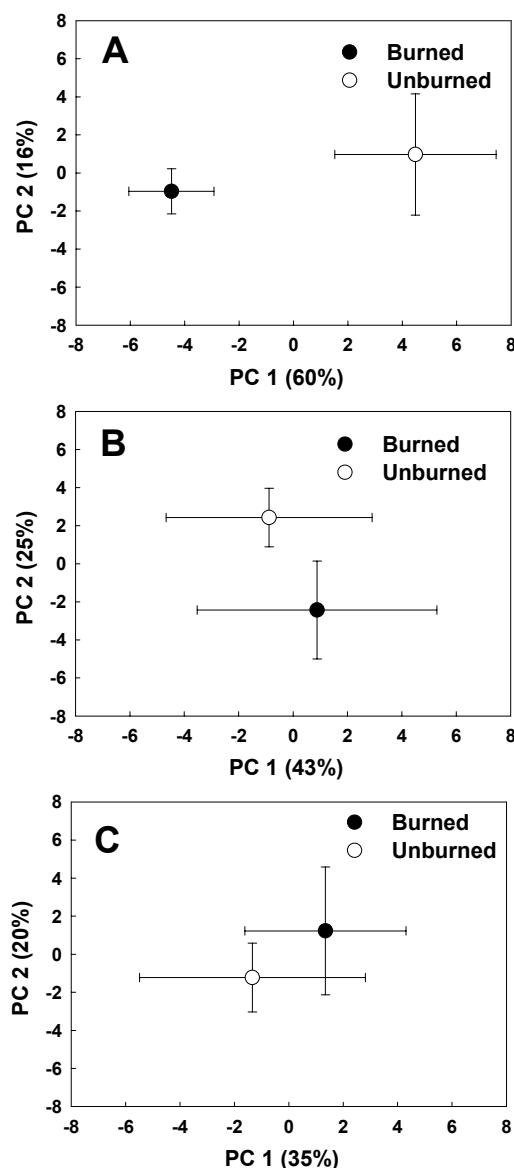


Fig. 3. Principal components analyses of whole EL-FAMEs profiles from burned and unburned soil. A, B, and C in the figure indicate the sampling time of 1, 5, and 10 month after fire, respectively.

열에 저항성을 가지고 더 많이 살아남은 것이 아니라, 산불 발생 후 생성된 영양물질에 의해서 gram- bacteria가 gram+ bacteria보다 빨리 생육했기 때문이다³⁴⁾.

전체 EL-FAMEs를 이용해서 산불 발생 1, 5, 10 개월 후 principal component analyses를 한 결과는 Fig. 3과 같다. 산불 발생 1개월 후 산화지와 비산화지의 미생물 군집 구조는 유의성 있는 차이를 보였고, 이때 전체 변이의 약 75%를 설명할 수 있었다. 그러나 산불 발생 후 시간이 경과함에 따라 산화지와 비산화지의 미생물 군집 구조는 서로 비슷해져서 10개월 후는 큰 차이를 보이지 않았다. 일반적으로 산불 발생에 의해 변화된 산림토양의 이화학적 성질은 산화 후

2-3년 이내에 산불 이전의 상태로 회복된다³⁵⁾. 그리고 Hamman 등³³⁾에 의하면 산불 발생 14개월 후 산화지와 비산화지 사이의 미생물 군집 차이는 산불의 강도에 따라서 다르게 나타나며, 약하게 피해를 받은 곳은 큰 차이가 없는 것으로 보고하였다. 따라서 본 연구지의 경우, 토양 미생물 군집이 빠르게 회복된 것은 지상부의 작은 식생만이 산불의 피해를 받고 주요 수목인 소나무는 대부분 영향을 받지 않아 식생이 빠르게 회복되었기 때문인 것으로 판단된다.

감사의 글

오주환, 이슬비는 교육인적자원부 BK 21 Program에 의해 지원 받았으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Korea Forest Service. 2003. The characteristics of forest fires.
2. Forest Fire Information System. 2007. 산불발생현황.
3. Hamman, S.T., Burke, I.C., and Stromberger, M.E. 2007. Relationships between microbial community structure and soil environmental conditions in recently burned systems. *Soil Biology & Biochemistry*. 39: 1703-1711.
4. Raison, R.J. 1979. Modification of the soil environment by vegetation fires, with particular reference to nitrogen transformations: a review. *Plant Soil*. 51: 73-108.
5. Carballas, T. 2003. Los incendios forestales. In: reflexiones sobre el medio ambiente en Galicia. Xunta de Galicia, Santiago de Compostela, Spain, pp. 362 -415.
6. Choung, Y. and Kim, J.H. 1987. Effects of fire on chemical properties of soil and runoff, and phytomass in *Pinus densiflora* forest. *Korean Journal of Ecology*. 10:129-138.
7. Kang, S.J. and Lee, J.T. 1982. Ecological studies on vegetation recovery of burned field after forest fire. *Korean Journal of Ecology*. 5:54-62.
8. Kim, W. 1989. The secondary succession and species diversity at the burned area of the pine forest. *Korean Journal of Ecology*. 12:285-295.
9. Sim, H.B. and Kim, W. 1993. Comparison of the community structure in the burned and unburned areas in Seobje-Gol. *Korean Journal of Ecology*. 16:429-438.
10. Smith, J.E., McKay, W., Brenner, G., McIver, J., and Spatafora, J.W. 2005. Early impacts of forest restoration treatments on the ectomycorrhizal fungal community and fine root biomass in a mixed conifer forest. *Journal of Applied Ecology*. 42:526 -535.
11. Visser, S. 1995. Ectomycorrhizal fungal succession in jack pine stands following wildfire. *New Phytologist*. 129:389-401.
12. Vazquez, F.J., Acea, M.J., and Carballas, T. 1993. Soil microbial populations after wildfire. *FEMS Microbiology Ecology*. 13:93-104
13. Fritze, H., Pennanen, T., and Pietikainen, J. 1993. Recovery of soil microbial biomass and activity from prescribed burning. *Canadian Journal of Forest Research*. 23:1286-1290
14. Pietikainen, J. and Fritze, H. 1995. Clear-cutting and prescribed burning in coniferous forest: comparison of effects on soil fungal and total microbial biomass, respiration activity and nitrification. *Soil Biology & Biochemistry*. 27(1): 101-105.
15. Dumontet, S., Dinel, H., Scopa, A., Mazzatorta, A., and Saracino, A. 1996. Post-fire soil microbial biomass and nutrient content of a pine forest soil from a Dunal Mediterranean environment. *Soil Biology & Biochemistry*. 28:1467-1475
16. Villar, M.C., Petrikova, V., Diaz-Ravina, M., and Carballas, T. 2004. Changes in soil microbial biomass and aggregate stability following burning and soil rehabilitation. *Geoderma*. 122:73-82.
17. Bisset, J. and Parkinson, D. 1980. Long-term effects of fire on the composition and activity of the soil microflora of a subalpine, coniferous forest. *Canadian Journal of Botany*. 58:1704-1721.
18. Cho, Y.H. and Kim, W. 1992. Secondary succession and species diversity of *Pinus densiflora* forest after fire. *Korean Journal of Ecology*. 15:337-344
19. Je, S.H. and Kim, W. 1997. Comparison of plant community structures in cut and uncut area at burned area of Mt. Gumo-san. *Journal of Korean Forestry Society*. 86:509-520.
20. Kim, W., Park, J.H., and Cho, Y.H. 1999. Effects of fire on forest vegetation in Mt. Samma. *Korean Journal of Ecology*. 22:145-153
21. Sim, H.B. and Kim, W. 1996. Dynamics of the plant community structure and soil properties in the burned and unburned areas of the Mt. Cholye -san. *Korean Journal of Ecology*. 19:417-430

22. Jang, I.S. 1999. Influence on the buried soil seed population effected on processes of initial vegetation change in the burned areas at Kosung. PhD Thesis. Daejon University, Korea.
23. Lee, W.K., Kim, C., Cha, S.H., Kim, Y.K., Byun, J.K., Koo, K.S., and Park, J.W. 1997. Fire effects on soil physical and chemical properties following the forest fire in Kosung. Korean Journal of Ecology. 20:157-162.
24. Mun, H.T. and Choung, Y. 1996. Effects of forest fire on soil properties in pine forests in Kosung. Kangwon Province. Korean Journal of Ecology. 19: 357-383
25. Schutter, M.E. and Dick, R.P. 2000. Comparison of fatty acid methyl ester (FAME) methods for characterizing microbial communities. Soil Science Society of America Journal. 64:1659-1668.
26. Tabatabai, M.A. 1994. Soil enzyme. In Methods of soil analysis Part 2. Microbiological and biochemical properties. ed. J.M. Bigham. pp. 775-843. SSSA, Inc. Madison. WI.
27. Grogan, P., Bruns, T.D., and Chapin, F.S. 2000. Fire effects on ecosystem nitrogen cycling in a Californian bishop pine forest. Oecologia. 122:537 -544.
28. Raison, R.J. 1979. Modification of the soil environment by vegetation fires, with particular reference to nitrogen transformations. Plant Soil 51:73-108
29. Juma, N.G. and Tabatabai, M.A. 1978. Distribution of phosphomonoesterases in soils. Soil Science. 126:101-108.
30. Acosta-Martinez, V. and Tabatabai, M.A. 2000. Enzyme activities in a limed agricultural soil. Biology and Fertility of Soils. 31:85-91.
31. Amann, R., Ludwig, W., and Schleifer, K.H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiology. 59:143-149.
32. Zelles, L. 1999. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. Biology and Fertility of Soils. 29:111-129
33. Hamman, S.T., Burke, I.C., and Stromberger, M.E. 2007. Relationships between microbial community structure and soil environmental conditions in a recently burned system. Soil Biology & Biochemistry. 39:1703-1711.
34. Diaz-Ravina, M. Prieto, A., Acea, M.J., and Carballas, T. 1992. Fumigation-extraction method to estimate microbial biomass in heated soils. Soil Biol. Biochem. 24:259-264.
35. 우보명, 권태호, 마호섭, 이현호, 이종학. 1985. 황폐산지에서의 산불이 삼림식생 및 토양에 미치는 영향에 관한 연구(II). 한국임학회지. 68:37-45.
36. RDA. 1988. Methods of soil chemical analysis. National Institute of Agriculture Science and Technology, RDA, Suwon.
37. Kaur, A., Chaudhary, A., Choudhary, R., and Kaushik, R. 2005. Phospholipid fatty acid- bioindicator of environment monitoring and assessment in soil ecosystem. Current Science. 89:1103-1112.