

南京秦淮河叶绿素 a 空间分布及其与环境因子的关系^{*}

周贝贝¹, 王国祥^{1**}, 徐 瑶¹, 杨 飞¹, 宋 康¹, 夏明芳²

(1:南京师范大学地理科学学院,江苏省环境演变及生态建设重点实验室,南京 210046)

(2:江苏省太湖污染防治办公室,南京 210024)

摘要:近年来,流动的河流开始陆续暴发藻类水华,河流的水华现象是继湖泊水华现象之后又一倍受关注的科学问题。秦淮河水体污染严重并于2010年8月和9月间暴发水华。采用2010年8月15日和9月8日的秦淮河野外调查数据,对秦淮河水体叶绿素a的空间分布特征及其与环境因子的相关关系进行研究。结果表明,从上游到下游,秦淮河水体叶绿素a含量的分布表现出一定的空间差异性,平均值为73.7 μg/L,其中马木桥样点的叶绿素a含量最高(184.52 μg/L);秦淮河水体氮磷比为26.86,水体叶绿素a浓度的对数与TP的对数呈正相关,与氮磷比的对数呈负相关,表明磷可能是秦淮河蓝藻生长的主要影响因子;河流水体叶绿素a浓度与pH和DO呈极显著正相关,与NO₂⁻-N呈显著相关,而与NH₄⁺-N、NO₃⁻-N和TN无显著相关。

关键词:秦淮河;叶绿素a;环境因子;相关分析

Spatial distribution of chlorophyll-a and its relationships with environmental factors in Qinhuai River, Nanjing

ZHOU Beibei¹, WANG Guoxiang¹, XU Yao¹, YANG Fei¹, SONG Kang¹ & XIA Mingfang²

(1: Jiangsu Key Laboratory of Environmental Change and Ecological Construction, College of Geographical Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, P. R. China)

(2: General Office of Lake Taihu Water Pollution Prevention and Control, Nanjing 210024, P. R. China)

Abstract: In recent years, algae bloom is common in the flowing waters, which has been one of the top scientific problems after the algae bloom in lakes. Due to the water pollution, phytoplankton blooms arose in Qinhuai River between August and September, 2010. Based on the conventional monitoring data in August 15 and September 8, 2010, this paper studied the spatial distribution characteristic of chlorophyll-a and its relationships with environmental factors. Results showed that chlorophyll-a concentration appeared obvious spatial difference from upstream to downstream, with a mean value of 73.7 μg/L and the maximum value occurred in Mamuqiao (184.52 μg/L). The ratio of TN/TP was 26.86, and the logarithmic correlation between chlorophyll-a and TP was positive, but the logarithmic correlation between chlorophyll-a and the TN/TP ratio was negative. It suggested that phosphorous might be the main impact factor for blue-green algae. Significantly positive correlation was found between chlorophyll-a and pH and DO, and significantly positive correlation was found between chlorophyll-a and NO₂⁻-N, but no significant correlation between chlorophyll-a and NH₄⁺-N, NO₃⁻-N and TN.

Keywords: Qinhuai River; chlorophyll-a; environmental factors; correlation analysis

随着社会经济的快速发展,各种水环境问题不断发生,尤其以富营养化和水华问题异常突出^[1-2]。我国湖泊的富营养化现状严峻,其中三大淡水湖(太湖、滇池、巢湖)常年暴发以微囊藻为优势种的蓝藻水华,部分水华蓝藻可以释放不同的蓝藻毒素,给人们健康带来潜在严重威胁,因此有关湖泊水华现象的研究成为

* 国家水体污染控制与治理科技重大专项项目(2009ZX07101-013-02)和江苏省太湖治理科研课题项目(TH2010303)联合资助。2011-04-05收稿;2011-07-11收修改稿。周贝贝,女,1986年生,硕士研究生;E-mail: huoxi456@126.com。

** 通信作者;E-mail:wangguoxiang@njnu.edu.cn。

人们关注的焦点^[3-7]。相对于湖泊水华研究来说,关于河流水华的研究比较滞后。近年来,流动的河流水体开始陆续暴发藻类水华,如我国长江最大支流——汉江下游汉口江段、松花江哈尔滨段等^[8-10]。河流的水华现象逐渐受到重视,浮游植物生物量的测定及其季节变化已经成为国际大型河流监控项目的一部分^[11]。为有效治理河流水华,很多学者对藻类水华的影响因子进行研究,但仍不够透彻^[12-14]。

秦淮河是南京的母亲河,南京城区面积的大部分都属于秦淮河流域,南京市的发展同秦淮河息息相关。随着城市规模的不断扩大及沿河经济的发展,秦淮河干流及上游河道水质已有不同程度的污染,河水变黑发臭,水面垃圾漂浮。据调查,在2010年8月和9月间,秦淮河蓝藻的平均密度为 4×10^4 cells/L,已达到水华暴发的密度($10^2 \sim 10^6$ cells/L)。在水体研究中,对浮游植物生物量一般都是以叶绿素a(Chl. a)来估算^[15]。本文以秦淮河为研究对象,用Chl. a来表征浮游植物生物量,分析秦淮河Chl. a的空间分布特征,并对Chl. a与环境因子进行相关分析,探讨秦淮河蓝藻水华的主要影响因子,以期为河流的藻类水华治理提供一定的科学依据。

1 研究区域与方法

1.1 研究区域概况

秦淮河全长110 km,是南京第一大河。秦淮河流域地处江苏省西南部,包括南京市市区的一部分及江宁区、溧水县和句容市的大部分,流域四周低山丘陵环绕,面积达2600多平方千米。秦淮河分内河和外河,内河进入老城区,经夫子庙于水西门涵洞再次汇入外秦淮,是十里秦淮最繁华之地。秦淮河的源头有两处,东部源头出自句容市宝华山,南部源头出自溧水县东庐山(天生桥下胭脂河),两个源头在江宁区的方山埭交汇,从东水关流入南京城。一般以七桥瓮为分界点,划分秦淮河的上游和下游。秦淮河自东向西横贯南京市区,在三汊河口注入长江。

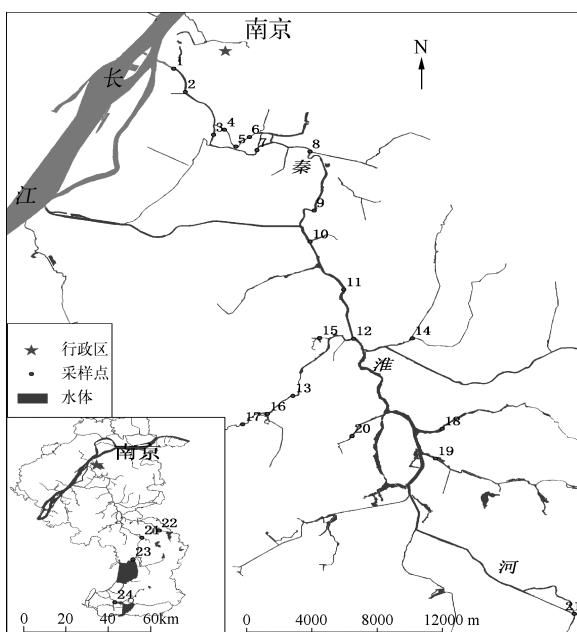


图1 秦淮河流域采样点(1 三汊河大桥,2 清凉门,3 集庆门,4 仙鹤桥,5 中华门内,6 夫子庙,7 雨花门,8 七桥瓮,9 宏运大道,10 马木桥,11 彩虹桥,12 方山大桥,13 云台山河,14 中国药科大学,15 杨山河桥,16 汤铜公路,17 俞庄桥,18 新潭村,19 二干河,20 乌刹桥,21 胭脂河,22 句容河,23 石臼湖,24 固城湖)

Fig. 1 Sampling sites in Qinhuai River valley

1.2 研究方法

2010年8月15日和9月8日,遵循由上游源头到下游入江口的采样原则,分别对秦淮河全流域进行了两次采样调查,共采集24个样点(图1)。样品采集取水体混合柱状水样,冷藏保存迅速带回实验室,进行叶绿素a与水质的测定分析。现场监测指标包括:溶解氧(DO)、酸碱度(pH)、总溶解固体(TDS)、电导率(EC)。实验室测定指标包括叶绿素a(Chl. a)、总磷(TP)、可溶性总磷(TDP)、溶解性活性磷(SRP)、总氮(TN)、氨氮(NH_4^+ -N)、硝酸盐氮(NO_3^- -N)和亚硝酸盐氮(NO_2^- -N)。

DO采用美国YSI-5500型溶解氧仪于水下20 cm测定,pH采用HANNA便携式防水型pH计测定,TDS和EC采用HANNA便携式防水型EC/TDS测定仪测定。Chl. a的测定:样品用Whatman(GF/F)的滤膜过滤,滤膜低温干燥后,用90%丙酮萃取,采用《水和废水监测分析方法》中的方法进行测定^[16],TN、TP等水质指标经Skalar水质流动分析仪(荷兰)测定。

1.3 数据分析

主成分分析(PCA)是将多维因子纳入同一系统中进行定量研究的一种多元统计分析方法,其主要目的是在不损失变量太多信息的前提下尽可能地降低原变量的维数,其中对

主成分贡献大的变量其影响程度也大^[17]. 本文对环境因子进行主成分分析,筛选出对秦淮河水环境影响较大的因子,然后对 Chl. a 与环境因子进行相关分析,计算其相关系数,建立相应的回归方程,并进行显著性检验。以上操作均在 SPSS 统计软件中完成。

2 结果与分析

2.1 秦淮河水体 Chl. a 的空间变化特征

秦淮河各采样点的叶绿素 a 含量呈现一定的空间差异性,两次采样调查 Chl. a 的平均值为 73.7 μg/L,最高值出现在马木桥(184.52 μg/L),其次为杨山河桥(172.38 μg/L)和句容河(153.87 μg/L)(图 2). 这些样点河道的物理形态特征较特殊,岸边停放的船只,交错生长的芦苇、荇菜、水花生等水草形成阻流作用,再加上充足的营养盐,使得这些样点能截留和滋生浮游植物,因此水体中的 Chl. a 浓度较其他样点高。秦淮河的其中一个源头胭脂河的 Chl. a 含量为 49.41 μg/L,明显低于另外一个源头句容河,而其南面的固城湖和石臼湖的 Chl. a 含量也较低,分别为 65.48 和 43.55 μg/L。秦淮河流经市区后,随着两岸的开发建设程度的增加,Chl. a 含量呈升高的趋势,但是随着向河口的迁移,Chl. a 含量又逐渐下降。入江口样点三岔河大桥 Chl. a 为 70.20 μg/L,依然高于秦淮河的源头胭脂河。

2.2 秦淮河水体环境因子特征

秦淮河水体的 pH 值在 7.02 ~ 8.59 之间,偏碱性。DO 的最高值出现在马木桥,为 7.15 mg/L。EC 和 TDS 的平均值分别为 375.50 μS/cm 和 186.54 mg/L。SRP 和 TDP 的平均值分别为 0.10 和 0.12 mg/L,秦淮河水体中 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 的平均值分别为 1.13、0.87 和 0.13 mg/L。在总无机氮的组成中,NH₄⁺-N 所占百分比最高,平均为 56.71%。秦淮河水体 TP 平均值为 0.24 mg/L,其浓度范围为 0.07 ~ 0.72 mg/L,最高值出现在夫子庙样点处(0.72 mg/L)。水体 TN 的平均值为 5.25 mg/L,其浓度范围为 3.44 ~ 8.08 mg/L,最高值也出现在夫子庙样点处(8.08 mg/L),远远超过了地表水环境质量 V 类水标准(2 mg/L,GB3838—2002)。从上游到下游,秦淮河水体 TP 浓度逐渐升高,随着向河口的迁移,迁移和降解作用的增强,TP 浓度有降低的趋势。TN 含量的变化趋势与 TP 类似。秦淮河源头的胭脂河段和句容河段主要接纳溧水县和句容市的工业废水和生活污水,该段排污量占秦淮河全流域排污总量的比例较低。下游进入南京市区,汇集了全流域主要的生活污水和部分工业废水,特别是内秦淮夫子庙河段,该段人口稠密、经济发达,自古就是繁华的商业区,随着人口增长和经济发展,水质不断恶化。

对秦淮河水体的 11 个环境因子进行主成分分析(表 1),其解释的方差累积为 87.6%。其中第一主成分 W₁对方差的贡献最大,为 62.6%,第二主成分 W₂ 为 13.8%,第三主成分 W₃ 为 11.2%。W₁ 与 DTP、TP、SRP、TN 和 NH₄⁺-N 具有绝对值较大的相关系数,反映的是秦淮河水体磷盐和部分氮盐的特征,和氮盐相比,磷盐的因子负荷较大,说明对环境因子降维后,磷盐的影响程度最大。W₂ 与 NO₃⁻-N、NO₂⁻-N、TDS 和 EC 具有绝对值较大的相关系数,反映的是秦淮河水体悬浮物、离子属性及部分氮盐的特征。W₃ 与 pH 和 DO 具有绝对值较大的相关系数,反映的是水体生物光合作用特征。主成分分析结果表明,磷盐对秦淮河水环境的影响程度最大,这对分析秦淮河水华发生的主要限制因子极为重要。

2.3 秦淮河水体 Chl. a 与环境因子的相关分析

2.3.1 水体 Chl. a 的含量变化与营养盐的相关分析 浮游植物是水体的初级生产者,通过光合作用将水体中的无机物转化为有机物。在这种物质的转化过程中,营养元素含量的多寡是影响浮游植物光合作用的重要因素,而浮游植物的生长状况又是营养盐含量变化的主要条件^[18]。在大型河流中,浮游植物生物量的变化规律和营养盐变化的关系非常复杂^[19-20]。营养盐含量的变化可以影响浮游植物的生长状况,从而影响水体

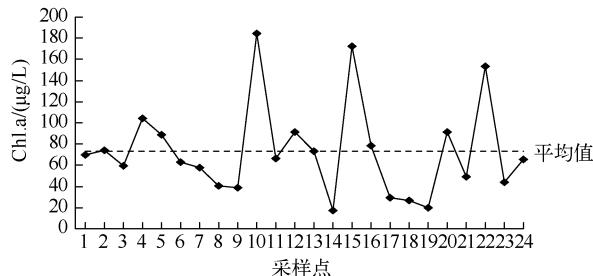
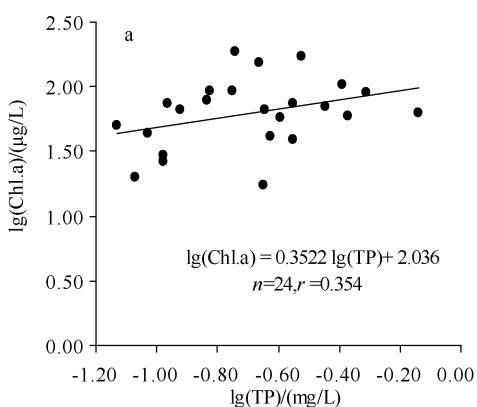


图 2 各样点 Chl. a 浓度及平均值

Fig. 2 The Chl. a values and averages of sampling sites

表 1 秦淮河水体环境因子旋转后载荷矩阵
Tab. 1 Rotated component matrix of environmental factors in Qinhuai River

环境因子	公因子		
	W_1	W_2	W_3
TDP	0.906	0.292	-0.190
TP	0.901	0.205	-0.169
SRP	0.883	0.319	-0.243
TN	0.837	0.475	-0.012
$\text{NH}_4^+ \text{-N}$	0.709	0.471	-0.315
$\text{NO}_3^- \text{-N}$	0.289	0.864	-0.110
$\text{NO}_2^- \text{-N}$	0.396	0.832	0.190
TDS	0.274	0.804	-0.426
EC	0.266	0.785	-0.255
pH	-0.052	-0.160	0.931
DO	-0.414	-0.076	0.820



Chl. a 含量的变化.

氮磷比(TN/TP)可以用来判断水体的营养限制因子,不同的研究者用不同的标准来定义营养限制,一般情况下,如果 TN/TP 低于 9~13,那么氮就可能是限制因子;如果 TN/TP 高于 17~21,那么磷就可能是限制因子^[21]. 秦淮河水体的 TN/TP 为 26.86,表明磷可能是秦淮河浮游植物生长的限制因子. 关于浮游植物生物量和磷浓度的相关性研究很多,一般来说,Chl. a 夏季的平均浓度和 TP 的春季循环有关,或者与夏季的 TP 浓度相关^[22]. 对水体 Chl. a 和 TP 以及 TN/TP 一般先进行对数转换,再进行相关分析. 进行对数转换的目的是使误差标准化,对数转换可以帮助确定数据的趋势,但也可能会增加二次错误的概率^[23]. Chl. a 含量的对数与 TP 对数呈一定的正相关,相关系数为 0.354(图 3a),而与 TN/TP 的对数呈负相关,相关系数为 -0.239(图 3b),表明磷可能是秦淮河 Chl. a 的主要影响因子.

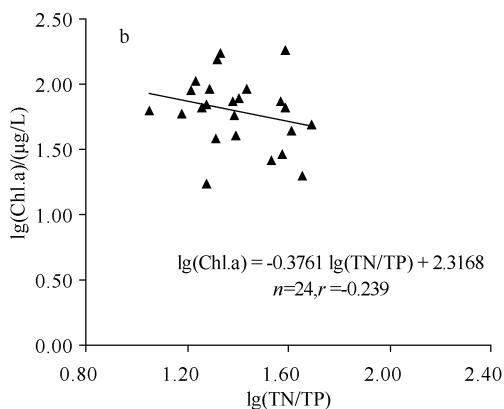


图 3 Chl. a 与 TP(a)、TN/TP(b) 的相关关系
Fig. 3 Correlations between Chl. a and TP(a), TN/TP(b)

水体中的氮主要包括有机氮和无机氮,其中无机氮中的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 是氮在水体中的主要存在形态. 浮游植物有选择地利用水体中氮的不同形态,通过光合作用合成自身所需要的氨基酸等物质. 对秦淮河水体 Chl. a 与不同形态氮进行相关分析,结果发现 Chl. a 含量只与 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 浓度呈显著相关,与其他形态的氮无显著相关(表 2),这说明浮游植物的生长与 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 浓度有着密切的联系.

表 2 叶绿素 a 含量与不同形态氮的相关关系^{*}
Tab. 2 Correlations between Chl. a and different forms of nitrogen

各形态氮	回归方程	r	n	P
TN	Chl. a = 10.35 TN + 19.38	0.356	24	>0.05
$\text{NH}_4^+ \text{-N}$	Chl. a = 1.5386 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ + 71.633	0.041	24	>0.05
$\text{NO}_3^- \text{-N}$	Chl. a = 0.0023 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ + 0.7003	0.152	24	>0.05
$\text{NO}_2^- \text{-N}$	Chl. a = 0.0012 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ + 0.0403	0.504	24	<0.05

* P < 0.05 为显著相关; P < 0.01 为极显著相关.

2.3.2 Chl. a 含量的变化与 pH 和 DO 的相关分析 水体的 pH 值与浮游植物的生长密切相关。对秦淮河水体 Chl. a 与 pH 进行相关分析,结果表明,Chl. a 与 pH 呈极显著正相关,相关系数为 0.676(图 4a)。水体 pH 对浮游植物的物种丰富度、种类组成以及优势种的变化都有重要的影响^[24]。碱性环境有利于藻类的光合作用,因为碱性系统易于捕获大气中的 CO₂^[25],因而较高的生产力往往出现在碱性水体中^[26]。浮游植物的光合作用能显著提高水体的 pH 水平,因而 pH 是 Chl. a 变化的被动因子^[27],由此可知秦淮河水体的 pH 虽然与水体 Chl. a 呈显著正相关,但并不是浮游植物生长的限制因子。

水体的溶解氧往往是反映该水体生物生长状况和污染状态的重要指标。秦淮河水体 Chl. a 含量与 DO 的相关分析表明,二者的相关关系显著,相关系数为 0.583(图 4b)。有关研究表明,Chl. a 含量与 DO 具有正相关关系^[28-29]。随着浮游植物生物量的急剧上升,由于充足的光合作用,DO 会不断增加到饱和状态^[30]。水体 DO 的变化和 pH 类似,随着水体浮游植物生物量的增加,光合作用释放的氧分子增加,从而使水体 DO 水平增加。同样,DO 也是水体 Chl. a 含量变化的被动因子。

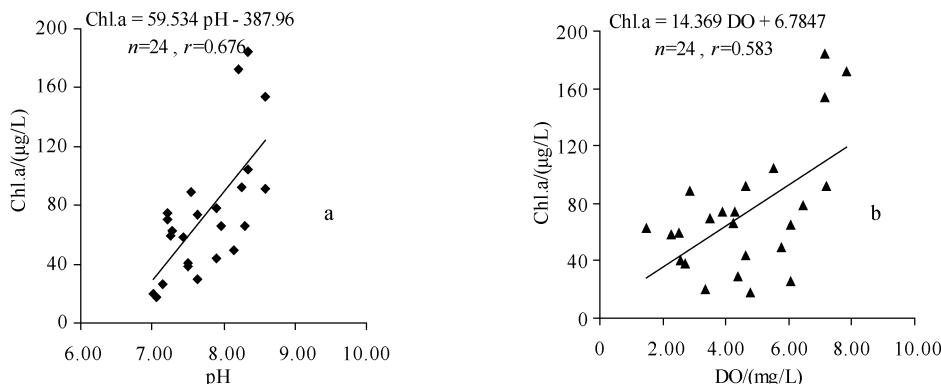


图 4 Chl. a 与 pH(a)、DO(b) 的相关关系

Fig. 4 Correlations between Chl. a and pH(a), DO(b)

3 结论

1) 秦淮河夏季水体叶绿素 a 的空间分布表现出一定的空间差异性,其平均值为 73.7 μg/L,最高值出现在马木桥样点(184.52 μg/L)。叶绿素 a 含量较高的断面,水草杂生,生境特殊,能截留和滋生浮游植物。

2) 通过对环境因子进行主成分分析发现,磷盐对水环境的影响程度最大。秦淮河水体氮磷比为 26.86,表明磷可能是浮游植物生长的营养限制因子。水体 Chl. a 含量的对数与 TP 的对数呈正相关,与 TN/TP 的对数呈负相关,说明磷可能是影响秦淮河蓝藻水华的主要影响因子。水体 Chl. a 与 NO₂⁻-N 呈显著相关,而与 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和 TN 无显著相关。秦淮河水体 Chl. a 与 pH 和 DO 呈极显著正相关,但 pH 和 DO 是 Chl. a 含量变化的被动因子,并非限制因子。

4 参考文献

- [1] Bachmann RW, Cloern JE, Hecky RE et al. Eutrophication of freshwater and marine ecosystems. *Limnology and Oceanography*, 2006, **51**: 351-355.
- [2] Roksana J, Saleha K, Md Mahfuzul H et al. Study of harmful algal blooms in a eutrophic pond, Bangladesh. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2010, **170**: 7-21.
- [3] Steven WW, Sarah EF, Gary RL et al. The relationships between nutrients, cyanobacterial toxins and the microbial community in Taihu (Lake Tai), China. *Harmful Algae*, 2011, **10**: 207-215.
- [4] Du LN, Li Y, Chen XY et al. Effect of eutrophication on molluscan community composition in the Lake Dianchi (China, Yunnan). *Limnologica*, 2010, **9**: 1-7.
- [5] Thomas K, Claudia W, Li K et al. More and more toxins around-analysis of cyanobacterial strains isolated from Lake Chao

- (Anhui Province, China). *Toxicon*, 2010, **56**: 1520-1524.
- [6] Yoshimasa Y, Hiroyuki N. Seasonal variation in the morphology of bloom-forming cyanobacteria in a eutrophic pond. *Limnology*, 2009, **10**:185-193.
- [7] 潘晓洁,常锋毅,沈银武.滇池水体中微囊藻毒素含量变化与环境因子的相关性研究. *湖泊科学*,2006, **18**(6): 572-578.
- [8] 王红萍,夏军,谢平.汉江水华水文因素作用机理—基于藻类生长动力学的研究. *长江流域资源与环境*,2004, **13**(3):282-285.
- [9] 栾卓,范亚文,门晓宇.松花江哈尔滨段水域硅藻植物群落及其水质的初步评价. *湖泊科学*,2010, **22**(1):86-92.
- [10] 边归国,陈宁,胡征宇等.福建某河流甲藻水华与污染指标的关系. *湖泊科学*,2010, **22**(3):405-410.
- [11] Friedrich G, Müller D. The River Rhine. In: Whitton BA ed. *Ecology of European rivers*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1984: 265-315.
- [12] Erwin E, Van N, John RJ. Phosphorus-chlorophyll relationship in temperate streams and its variation with stream catchment area. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1996, **53**: 99-105.
- [13] Rita BD, Cristina S, Helena G. Impact of reservoir filling on phytoplankton succession and cyanobacteria blooms in a temperate estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2007, **74**: 31-43.
- [14] Hutchins MG, Johnson AC, Deflandre-Vlandas A et al. Which offers more scope to suppress river phytoplankton blooms: Reducing nutrient pollution or riparian shading? *Science of the Total Environment*, 2010, **408**: 5065-5077.
- [15] Dartory DP, Grobbelaar JU. Extraction of chlorophyll-a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia*, 1984, **114**:177-187.
- [16] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会.水和废水监测分析方法:第4版.北京:中国环境科学出版社,2002:12.
- [17] 郭笃发,王秋兵.主成分分析法对土壤养分与小麦产量关系的研究. *土壤学报*,2005, **42**(3):253-257.
- [18] 韩新芹,叶麟,徐耀阳等.香溪河库湾春季叶绿素a浓度动态及其影响因子分析. *水生生物学报*,2006, **30**(1):89-94.
- [19] Reynolds CS, Descy JP. The production, biomass and structure of phytoplankton in large rivers. *Archiv für Hydrobiologie Supplementband*, 1996, **113**(1/2/3/4): 161-187.
- [20] Riedler P, Schagerl M. Pelagic primary production and related parameters in the River Danube near Vienna (Austria). *Archiv für Hydrobiologie Supplementband*, 1998, **115**(2): 139-151.
- [21] Veljo K, Lea T, Tiina N. Role of phosphorus and nitrogen for bacteria and phytoplankton development in a large shallow lake. *Hydrobiologia*, 2001, **457**: 187-197.
- [22] Vojtěch V, Jan F, Jiří K. Chlorophyll-phosphorus relationship in acidified lakes of the High Tatra Mountains (Slovakia). *Hydrobioplogy*, 1994, **274**:171-177.
- [23] Alicia P, Donald JM, Norman DY et al. Zooplankton biomass rarely improves predictions of chlorophyll concentration in Canadian Shield lakes that vary in pH. *Aquatic Ecology*, 2000, **34**: 127-136.
- [24] Pál B. Changes in the volume and composition of phytoplankton after experimental acidification of a humic lake. *Environment International*, 1996, **22**(5): 619-628.
- [25] Imhoff JF, Sahl HG, Soliman GSH et al. The Wadi Natrun: chemical composition and microbial mass developments in alkaline brines of Eutrophic Desert Lakes. *Geomicrobiology Journal*, 1979, **1**(3): 219-234.
- [26] Melack JM. Photosynthetic activity of phytoplankton in tropical African soda lakes. *Hydrobiologia*, 1981, **81**: 71-85.
- [27] 阮晓红,石晓丹,赵振华等.苏州平原河网区浅水湖泊叶绿素a与环境因子的相关关系. *湖泊科学*,2008, **20**(5): 556-562.
- [28] 王正方,张庆,吕海燕等.长江口溶解氧赤潮预报简易模式. *海洋学报*,2000, **22**(4):125-129.
- [29] 刘镇盛,王春生,倪建宇等.抚仙湖叶绿素a的生态分布特征. *生态学报*,2003, **23**(9):1773-1780.
- [30] Kyong H, Eun-Ah C, Hyun-Woo K et al. *Microcystis* bloom formation in the lower Nakdong River, South Korea: importance of hydrodynamics and nutrient loading. *Marine and Freshwater Research*, 1995, **50**(1): 89-94.