

ผลของการจัดการสวนมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองในระยะก่อนเก็บเกี่ยวที่มีต่อการเกิดโรคแอนแทรกโนส  
ของมะม่วงหลังเก็บเกี่ยว

Effect of preharvest system management in 'Nam Dok Mai Si Thong' mango orchard on postharvest  
anthracnose decay of mango

รัฐพล พรประสิทธิ์<sup>1</sup>, วิชชา สอาดสุด<sup>1</sup> และ ปริญญา จันทร์ศรี<sup>2</sup>  
Rattapol Pornprasit<sup>1</sup>, Vicha Sardsud<sup>1</sup> and Parinya Chantrasri<sup>2</sup>

Abstract

Management of anthracnose disease control in mango is mainly based on orchard sanitation, preharvest fungicide applications and postharvest treatments like hot water and prochloraz applications. During the growing season of 2008-2009, the use of some fungicides such as copper, mancozeb, carbendazim and prochloraz, with specifically timed azoxystrobin in routine preharvest spray program, were evaluated in 'Nam Dok Mai Si Thong' mango orchard at Prao district, Chiang Mai province. Additionally the effect of these preharvest programs in combination with postharvest treatments was also investigated. The objective of this study was to evaluate the effect of different chemicals, strategically placed in preharvest spray programs and postharvest hot water treatment, on postharvest anthracnose decay of mango fruits in commercial trials. The duration time of a specific fungicide application affected to program management, other factors such as disease pressure, climate and fungicidal spray played an important role also. The result revealed that low postharvest anthracnose decay was strongly associated with effective protection plan of fruit through out the growing season, rather than that of the postharvest control strategy.

**Key word:** management, anthracnose, mango

บทคัดย่อ

การจัดการทั่วไปในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงประกอบด้วยการทำความสะอาดภายในสวน การใช้สารเคมีในระยะก่อนเก็บเกี่ยว และกรรมวิธีหลังการเก็บเกี่ยว เช่น การจุ่มในน้ำร้อน และโปรคลอราซ ระหว่างปี 2551 ถึง 2552 ในช่วงฤดูการผลิตมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองของอำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ ได้นำสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรากลุ่มสารประกอบทองแดง แมนโคเซบ คาร์เบนดาซิมและโปรคลอราซ เข้ามาเพิ่มเติมจากการใช้สารอะซอกซิสโตรบินที่มีการใช้เป็นประจำในพื้นที่ ประเมินผลที่ได้จากการพ่นสารเคมีในระยะก่อนเก็บเกี่ยวร่วมกับการใช้กรรมวิธีหลังการเก็บเกี่ยวกับผลผลิตมะม่วงจากสวนที่ทำการทดลองดังกล่าว วัตถุประสงค์ของการศึกษาคือครั้งนี้เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราแต่ละชนิดและการวางแผนระยะเวลาการฉีดพ่นสารเคมีในระยะก่อนเก็บเกี่ยวและการจุ่มในน้ำร้อนของมะม่วงหลังเก็บเกี่ยวว่า มีผลต่อการเน่าเสียของมะม่วงที่เกิดจากโรคแอนแทรกโนสในเชิงพาณิชย์ พบว่าช่วงเวลาการฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรามีผลต่อประสิทธิภาพของการวางแผนบริหารจัดการ และยังพบว่าปัจจัยอื่น เช่น สภาพความรุนแรงของโรค สภาพภูมิอากาศ และวิธีการฉีดพ่นสารเคมี ในพื้นที่เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญด้วยเช่นกัน แสดงให้เห็นว่า การวางแผนโปรแกรมฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่เหมาะสมตลอดระยะเวลาพัฒนาการของผล มีความสำคัญต่อการลดการเน่าเสียที่เกิดจากโรคแอนแทรกโนสของผลมะม่วงได้เทียบเท่ากับการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวเช่นเดียวกัน

**คำสำคัญ** การจัดการ, แอนแทรกโนส, มะม่วง

<sup>1</sup> สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว/ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

<sup>1</sup> Postharvest Technology Research Institute/ Postharvest Technology Innovation Center, Chiang Mai University

<sup>2</sup> สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี/ ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

<sup>2</sup> Science and Technology Research Institute/ Postharvest Technology Innovation Center, Chiang Mai University

## คำนำ

มะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองของประเทศไทย ที่ได้รับความนิยมของผู้บริโภคในตลาดต่างประเทศ แต่การผลิตมะม่วงเพื่อการส่งออกยังประสบปัญหาเกิดการเกิดโรคแอนแทรกคโนส ซึ่งเกิดจากการทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz and Sacc. สาเหตุที่ทำให้การควบคุมโรคนี้อย่างไม่ประสบผลสำเร็จในปัจจุบัน เนื่องจากพื้นที่ปลูกมะม่วงแต่ละแห่ง ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ปลูกมะม่วงต่อเนื่องกันมานาน จนกลายเป็นแหล่งสะสมของโรค หากเกษตรกรยังไม่มีการจัดการที่ดีในการควบคุมโรคแอนแทรกคโนสตั้งแต่ต้น ก็จะมีผลกระทบไปถึงผลผลิตหลังเก็บเกี่ยว ทำให้ได้มะม่วงคุณภาพต่ำไม่เป็นที่ต้องการของตลาด และยังมีผลต่อความจำเป็นในการหากรรมวิธีหลังการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม เพื่อชะลอการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค หากสามารถผลิตมะม่วงที่มีคุณภาพดีในแปลงได้แล้ว จะสามารถช่วยลดกรรมวิธีการจัดการโรคแอนแทรกคโนสในผลมะม่วงระยะหลังเก็บเกี่ยวลงได้

## อุปกรณ์และวิธีการ

**การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา** แยกเชื้อจากตัวอย่างมะม่วงที่เก็บจากพื้นที่ปลูกอำเภอพร้าว จังหวัด เชียงใหม่ ให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อดังกล่าวทดสอบบนอาหารพิษ (poisoned food technique) โดยเตรียมสารเคมี คอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์ แมนโคเซ็บ คาร์เบนดาซิม อะซ็อกซีสโตรบิน และโปรคลอราซ ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ให้มีความเข้มข้น  $\frac{1}{2}$  อัตราแนะนำ, อัตราแนะนำ และ 2 เท่าของอัตราแนะนำในผลของสารเคมีแต่ละชนิด เพื่อใช้เลี้ยงเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ นำมาเปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยบนอาหารชุดควบคุมที่ไม่ผสมสารเคมีในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราของบนอาหารที่มีความเข้มข้นของสารเคมีระดับต่างๆ ทำวิธีการละ 10 ซ้ำ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ( $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) บันทึกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเส้นใย นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยจากสูตร  $I = 100 \times (C - T) / C$  โดย I = เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง, C = เส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเส้นใยในชุดควบคุม และ T = เส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเส้นใยในชุดทดสอบ

**การจัดการระบบการควบคุมโรคแอนแทรกคโนสในสภาพสวน** เลือกลงแปลงทดสอบมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง ที่มีอายุต้นประมาณ 5 ปี จำนวน 25 ต้น/แปลง ของสมาชิกกลุ่มผู้ผลิตมะม่วงเพื่อการส่งออก อ.พร้าว 78 ม.4 ต.ป่าไผ่ อ.พร้าว จ. เชียงใหม่ ซึ่งโดยที่มีประวัติการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรกคโนส ฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราประเภทสารสัมผัส ได้แก่ คอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์ คิวพริกไฮดรอกไซด์ และแมนโคเซ็บ สารประเภทดูดซึม ได้แก่ คาร์เบนดาซิม โปรคลอราซ และอะซ็อกซีสโตรบิน(ซึ่งใช้เป็นประจำในพื้นที่) โดยฉีดพ่นสลับกันระหว่างสารสัมผัสและสารชนิดดูดซึมในอัตราที่แนะนำข้างฉลาก ทุก 2 สัปดาห์ รวม 15 ครั้ง ตั้งแต่ระยะหลังตัดแต่งกิ่ง (ตุลาคม 2551) จนถึงระยะห่อผล (มีนาคม 2552) ด้วยเครื่องพ่นสารแบบเครื่องยนต์(High pressure engine sprayer) ใช้ปริมาณน้ำเฉลี่ย 5 ลิตรต่อต้น กำหนดเกณฑ์ในการประเมินโรคแอนแทรกคโนส คิดจากพื้นที่ที่ตลอดทรงพุ่มของต้นที่แสดงอาการของโรคแอนแทรกคโนส ซึ่งให้ระดับคะแนน 0-10 ตามเกณฑ์ ดังนี้ ระดับ 0 ไม่พบการเกิดโรค หรือไม่มีรอยแผล ระดับ 1 มีรอยแผล กินบริเวณพื้นที่ทรงพุ่ม 10% จนถึงระดับ 10 คือมีรอยแผล กินบริเวณพื้นที่ทรงพุ่ม 100% โดยนำมาใช้ประเมินการเกิดโรคในแปลงทดสอบ และแปลงที่มีการปฏิบัติดูแลตามปกติของเกษตรกร เพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ ตรวจสอบผลการประเมินอาการของโรคทุก 2 สัปดาห์ก่อนการพ่นสารเคมีครั้งต่อไป จนกระทั่งระยะอายุผล 110 วันหลังดอกบาน ในสวนทดสอบได้มีการปฏิบัติดูแลหลังจากการตัดแต่งกิ่ง โดยกำจัดเศษซากกิ่งใบ รวมทั้งวัชพืชออกไปจากแปลง ตลอดระยะเวลาทดลอง ตรวจสอบผลโดยประเมินอาการของโรคทุก 2 สัปดาห์ก่อนการพ่นสารเคมีครั้งต่อไป นำข้อมูลที่ได้อาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test เมื่อถึงระยะเก็บผลผลิต นำผลมะม่วงส่งไปตรวจสอบที่ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด (สาขาจังหวัดเชียงใหม่) เพื่อตรวจวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดโรคชนิดดูดซึม ที่ตกค้างในผลมะม่วงจากแปลงทดสอบ

**การจัดการในระยะหลังเก็บเกี่ยวเพื่อควบคุมโรคแอนแทรกคโนสในผลมะม่วง** ผลมะม่วงจากแปลงทดสอบและแปลงเปรียบเทียบ อ.พร้าว จ. เชียงใหม่ นำมาแช่ผิวร่วมกับน้ำร้อน อุณหภูมิ  $55^{\circ}\text{C}$  และการแช่ในโปรคลอราซ 1000 ppm เป็นเวลา 5 นาทีใช้กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ผล นำไปบ่มมะม่วงในสภาพอุณหภูมิ  $25^{\circ}\text{C}$  จนผลมะม่วงสุกเต็มที่ ตรวจนับจำนวนผลที่แสดงอาการโรคแอนแทรกคโนส

## ผล

เชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลต PR 118 ที่ได้จากตัวอย่างมะม่วงที่เก็บจากพื้นที่ปลูกอำเภอพร้าว จังหวัด เชียงใหม่ เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยบนอาหาร ในอาหาร พบว่า โปรคลอราซ

ทุกระดับความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยได้ดีที่สุด คือ 100 % ในขณะที่อะซอกซีสโตรบินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำที่สุด (Table 1)

แปลงทดสอบ อ.พร้าว จ.เชียงใหม่ ที่มีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคตามระบบการควบคุมโรค หลังการตัดแต่งกิ่งจนถึงระยะเก็บเกี่ยวมีการเกิดโรคแอนแทรกคโนลดลงตามลำดับ คือตั้งแต่หลังการตัดแต่งกิ่งจนถึงมะม่วงอายุ 110 วันหลังดอกบาน พบการเกิดโรคหรือความเสียหายของโรคที่เกิดขึ้น จากการให้คำแนะนำโดยการประเมิน พบว่าลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่มีการปฏิบัติดูแลตามปกติของเกษตรกร (Table 2)

**Table 1** Fungicidal effect in different concentration on mycelia growth of *C. gloeosporioides* PR 118 using poisoned food techniques

Fungicide / concentration	Fungal growth* (cm) ± s.e.	Growth inhibition* (%) ± s.e.
azoxystrobin		
½ x Recommendation rate	6.06±0.005 <sup>e</sup>	28.05±2.788 <sup>b</sup>
1 x Recommendation rate	6.41±0.008 <sup>e</sup>	23.81±0.817 <sup>b</sup>
2 x Recommendation rate	6.13±0.000 <sup>e</sup>	27.37±1.648 <sup>b</sup>
carbendazim		
½ x Recommendation rate	0.59±0.173 <sup>ab</sup>	92.74±2.658 <sup>f</sup>
1 x Recommendation rate	0.53±0.329 <sup>ab</sup>	93.65±6.103 <sup>f</sup>
2 x Recommendation rate	0.61±0.233 <sup>ab</sup>	92.74±4.178 <sup>f</sup>
prochloraz		
½ x Recommendation rate	0.00±0.000 <sup>a</sup>	100.00±0.000 <sup>g</sup>
1 x Recommendation rate	0.00±0.000 <sup>a</sup>	100.00±0.000 <sup>g</sup>
2 x Recommendation rate	0.00±0.000 <sup>a</sup>	100.00±0.000 <sup>g</sup>
copper oxychloride		
½ x Recommendation rate	2.95±0.522 <sup>d</sup>	64.85±4.725 <sup>c</sup>
1 x Recommendation rate	2.41±0.153 <sup>d</sup>	71.28±4.398 <sup>d</sup>
2 x Recommendation rate	1.48±0.255 <sup>c</sup>	82.45±9.896 <sup>e</sup>
mancozeb		
½ x Recommendation rate	0.91±0.007 <sup>ab</sup>	89.18±1.602 <sup>f</sup>
1 x Recommendation rate	0.85±0.001 <sup>b</sup>	89.85±0.119 <sup>f</sup>
2 x Recommendation rate	0.00±0.293 <sup>a</sup>	100.00±0.748 <sup>g</sup>
control	8.40±0.009 <sup>f</sup>	

\*Data are the mean of three replicates for each concentration. Within columns, values followed by different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ). The percentage growth inhibition was calculated using the formula,  $I = 100 \times (C - T)/C$  where I is percentage inhibition, C is growth of fungus in the control and T is growth of fungus in the treatment.

**Table 2.** Anthracnose disease in “Nam Dok Mai” mango orchard by visual rating

Growth stage of mango	damage of anthracnose by visual rating (%)	
	managed orchard	controlled orchard
after pruning	11.88 <sup>b</sup>	57.5 <sup>e</sup>
branching	3.75 <sup>a</sup>	40.0 <sup>d</sup>
blooming	19.38 <sup>bc</sup>	44.95 <sup>d</sup>
fruit setting	27.5 <sup>c</sup>	35.0 <sup>d</sup>
50 days after blooming	25.0 <sup>c</sup>	52.63 <sup>e</sup>
80 days after blooming	13.63 <sup>b</sup>	48.27 <sup>de</sup>
100 days after blooming	14.75 <sup>b</sup>	40.38 <sup>d</sup>
110 days after blooming	16.63 <sup>b</sup>	55.33 <sup>e</sup>

Means within a column followed by the same letter are not significantly different ( $p > 0.05$ ) by DMRT

และจากรายงานการตรวจวิเคราะห์ผลตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราโดยห้องปฏิบัติการกลาง ประเทศไทย (โดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ QuEChERS method by LC-MS/MS) ไม่พบคาร์เบนดาซิมีม ตกค้างในผลมะม่วงจากแปลงทดสอบ ในขณะที่พบโปรคลอราซ น้อยกว่า 0.01 mg/kg และอะซ็อกซีสโตรบิน 0.04 mg/Kg ซึ่งเป็นระดับที่ต่ำมาก และไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด (ข้อมูลจากใบรายงานผลการวิเคราะห์เลขที่ TR(CM) 52/06339 ลงวันที่ 26 พฤษภาคม 2552) ผลมะม่วงจากแปลงที่ใช้เปรียบเทียบกับไม่ผ่านกรรมวิธีใดๆ หลังเก็บเกี่ยว เมื่ออบมสุก ให้ผลการเกิดโรคแอนแทรกคโนสในระดับที่สูงถึง 83.3 % ในขณะที่ผลมะม่วงจากแปลงทดสอบที่ไม่ผ่านกรรมวิธี แสดงอาการของโรคเพียง 23.3 % และการใช้กรรมวิธีแช่ผลมะม่วงจากแปลงทดสอบและแปลงเปรียบเทียบ ในน้ำร้อนและโปรคลอราซ ให้ผลในการควบคุมโรคแอนแทรกคโนสได้ดีกว่าผลมะม่วงที่ไม่ผ่านกรรมวิธีใดๆ หลังเก็บเกี่ยว ดังผลที่แสดงไว้ใน Table 3

Table 3. Efficacy of hot water and prochloraz treatment on anthracnose disease incidence of mango fruits

Treatment	Mean of disease incidence (%)
Mango from managed orchard, without treatment	23.3 <sup>c</sup>
Mango from managed orchard, dipped in hot water 50 °C for 5 min	13.3 <sup>d</sup>
Mango from managed orchard, dipped in prochloraz for 5 min	15.0 <sup>d</sup>
Mango from controlled orchard, without treatment	83.3 <sup>a</sup>
Mango from controlled orchard, dipped in hot water 50 °C for 5 min	50.0 <sup>b</sup>
Mango from controlled orchard, dipped in prochloraz for 5 min	53.3 <sup>b</sup>

Means within a column followed by the same letter are not significantly different ( $p > 0.05$ ) by DMRT

### วิจารณ์และสรุป

เชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลต PR 118 ที่แยกจากตัวอย่างมะม่วงในพื้นที่ปลูกอำเภอพร้าวกว้าง แสดงอาการต้านทานต่ออะซ็อกซีสโตรบิน ซึ่งเป็นสารที่ใช้ควบคุมโรคแอนแทรกคโนสอย่างต่อเนื่องในพื้นที่ปลูกอำเภอพร้าวกว้าง ซึ่งตรงกับรายงานของ Kumar et al. (2007) เกี่ยวกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดเดียวติดต่อกันอย่างต่อเนื่อง มีผลต่อการพัฒนาความต้านทานของเชื้อราก่อโรค สำหรับผลของการจัดการสวนมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองในระยะก่อนเก็บเกี่ยวโดยการรักษาความสะอาดภายในสวนเพื่อลดแหล่งสะสมของเชื้อและการเพิ่มโปรแกรมการฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในสวนมะม่วงที่มีประวัติการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรกคโนส พบว่าสามารถลดการเกิดโรคแอนแทรกคโนสในมะม่วงทุกระยะการเจริญเติบโตอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่มีการปฏิบัติดูแลตามปกติของเกษตรกร จากการศึกษาวิเคราะห์ผลตกค้างในผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยว แสดงให้เห็นว่าการวางโปรแกรมการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่เพิ่มขึ้นโดยการใช้สารชนิดดูดซึมฉีดพ่นสลับกับสารชนิดสัมผัสทุก 2 สัปดาห์ตั้งแต่ระยะหลังตัดแต่งกิ่งจนถึงระยะห่อผล ไม่ทำให้ปริมาณสารตกค้างในผลเกินมาตรฐาน และการใช้กรรมวิธีหลังการเก็บเกี่ยวโดยการแช่ในน้ำร้อนและโปรคลอราซ สามารถช่วยลดการเกิดโรคแอนแทรกคโนสในผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยวได้ดียิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามในระยะเวลาที่ทำการทดลองพบสภาวะการเกิดโรคแอนแทรกคโนสในแปลงทดสอบ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศ โดยมีฝนตกนอกฤดู ส่วนในฤดูหนาวมีสภาพอากาศเย็นและมีหมอกลงจัดในตอนเช้า แต่ในช่วงกลางวันมีอุณหภูมิที่สูงขึ้น ทำให้เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค การเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศเป็นสภาวะที่ไม่สามารถควบคุมได้ และเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อระบบการจัดการ ดังนั้นวิธีการฉีดพ่นสารเคมีที่มีประสิทธิภาพและการวางโปรแกรมฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่เหมาะสมตลอดระยะเวลาการเจริญและพัฒนากาของผลมะม่วง จึงยังคงมีความจำเป็น ต้องปฏิบัติอย่างต่อเนื่องในฤดูปลูกต่อไป

### คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

Kumar, A. S., N. P. E. Reddy, K. H. Reddy, and M. C. Devi 2007. Evaluation of fungicidal resistance among *Colletotrichum gloeosporioides* isolates causing mango anthracnose in Agri Export Zone of Andhra Pradesh, India. Plant Pathol. Bull. 16: 157-160.