HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	噴火湾における全微小生物量の指標としてのATP濃度の時間変動
Author(s)	簗田, 満; 米田, 義昭; 工藤, 勲
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 50(2), 139-147
Issue Date	1999-08
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/24191
Type	bulletin (article)
File Information	50(2)_P139-147.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北 大 水 産 彙 報
50(2), 139-147, 1999.

噴火湾における全微小生物量の指標としてのATP濃度の時間変動

簗田　満[1)]・米田　義昭[1)]・工藤　勲[1)]

The Temporal Variation of ATP Concentration as an Indictor of Total Microorganism Biomass in Funka Bay

Mitsuru YANADA[1)], Yoshiaki MAITA[1)] and Isao KUDO[1)]

Abstract

The temporal variation of ATP concentration was elucidated in order to clarify the temporal variation of total microorganism (phytoplankton, microzooplankton and bacteria) biomass in Funka Bay, subarctic coastal region, from pre-bloom to post-bloom.

The ATP content during the pre-bloom showed nearly homogeneous vertical distribution with lower values. In contrast, the ATP concentration during spring bloom showed high values at the upper 50 m depth, and decreased with depth. The ATP concentration at the upper 50 m depth during the post-bloom were also comparable to those during the spring bloom. These results implied that the total microorganism biomass was remarkably varied both temporally and vertically in Funka Bay.

Judging from the combinations of Chl *a*/ATP ratio, POC/ATP ratio and POC/Chl *a* ratio, the high ATP contents during the spring bloom were mainly due to phytoplankton produced actively in the euphotic zone, and the high ATP concentration during the post-bloom were greatly caused by the biomass of living sub-micron organisms; *e.g.*, bacteria.

Key words: ATP, Chlorophyll *a*, POC, Temporal variation, Funka Bay, Total microorganism biomass, Subarctic coastal region

緒　　言

近年，海洋の物質循環あるいは食物連鎖に対するピコプランクトンおよびバクテリアを含む微小生物群集の役割が注目されている (Williams, 1981; Ducklow, 1983; Karl and Knauer, 1984; Cho and Azam, 1990)。一般に，富栄養海域では光合成で固定された炭素 (植物プランクトン) がその炭素プールあるいは物質循環に重要な役割を示し (Eppley and Peterson, 1979)，それに対して，貧栄養海域ではバクテリアの生物量が重要な役割を示している (Cho and Azam, 1988, 1990; Fuhrman et al., 1989)。

亜寒帯沿岸海域である噴火湾は生物生産の高い海域であり (Maita and Yanada, 1978)，その生物生産に係わる植物プランクトンおよび微小動物プランクトンの種組成およびそれらの生物量の時間変動は明らかとなっている (Maita and Odate, 1988; Odate and Maita, 1988)。しかしながら，噴火湾におけるバクテリアを含む全微小生物量に関する研究は現在まで行われていない。それゆえ，バクテリアを含む全微小生物群集の生物量に関する知見を加えることは，噴火湾におけ

[1)] 北海道大学水産学部化学海洋学講座
(*Laboratory of Chemical Oceanography, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate 041-8611, Japan*)

る物質循環あるいは食物連鎖を解明するために極めて重要である。

アデノシントリリン酸塩 (ATP) はすべての生きている微小生物 (植物プランクトン，微小動物プランクトン，バクテリア，原生生物) 中に一様に存在するため，海水中の ATP 量は生きている全微小生物の生物量を見積る上で極めて有効な指標となっている (Holm-Hansen and Booth, 1966; Karl, 1980; Hewes et al., 1990; Simon et al., 1990; Karl et al., 1991)。また，海水中のクロロフィル *a* (Chl *a*) 量は植物プランクトン生物量の見積る上で有効な指標であり (Redalje, 1983; Booth, 1988; Riemann et al., 1989; Cho and Azam, 1990; Simon et al., 1990; Kirchman et al., 1993)，海水中の粒状有機炭素 (POC) 量は全微小生物量およびデトライタス量を見積る上で有効な指標である (Eppley et al., 1977)。それゆえ，これらの 3 種の化合物の相対比 (Chl *a*/ATP, POC/ATP および POC/Chl *a*) は，海水中に存在するバクテリア，植物プランクトン，微小動物プランクトンおよびデトライタス量の存在割合を推定する指標となる。

そこで，本研究は，生物生産が高い亜寒帯沿岸域の噴火湾において，微小生物量が著しく変動する春季ブルームを中心に，プレブルーム期，ブルーム期およびポストブルーム期における POC 濃度，Chl *a* 濃度および ATP 濃度の時間変動を明らかにし，ATP 量の変動に及ぼす生物的要因を探る目的で行った。

試料および方法

1988 年 12 月から 1989 年 8 月にかけて，北海道南部に位置する噴火湾 (St.30: 水深 92 m) で北海道大学水産学部所属研究船“うしお丸”を用いてバンドン採水器で海水試料を採取した (Fig. 1)。海水試料は大型動物プランクトンを除去するために直ちに 690 μm のネットを通過させた。ATP 濃度の測定のための海水試料 (200～500 ml) を全微小生物量を明らかにするために孔径 0.2 μm のヌクレオポアフィルターでろ過し，現場で 3 ml の沸騰したトリスヒドロキシメチルアミノメタン溶液 (pH 7.75) 中で 3 分間 ATP を抽出した後，その抽出液を－30°C で凍結保存した。また，1,000 ml の海水試料を WhatmanGF/F フィルター (平均孔径: 0.7 μm) でろ過し，バクテリアサイズの生物粒子を排除した Chl *a* 濃度および POC 濃度の測定に供した。

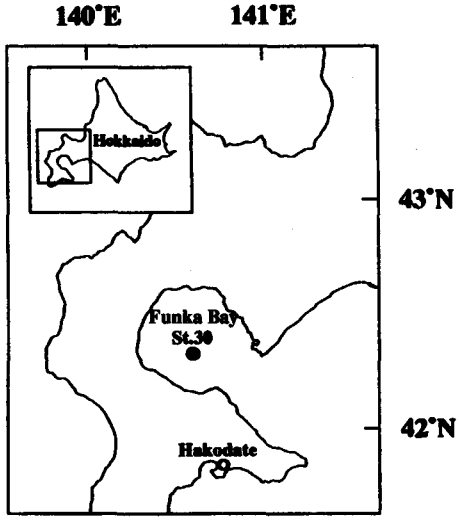

Fig. 1. Location of sampling station in Funka Bay (St. 30).

ATP 量の測定は，Parsons et al. (1984) に従い，ルミフォトメーター(ラボサイエンス社 TD-4000) を用いて行った。200 μl の抽出試料に 100 μl の発光酵素 (ルシフェリン—ルシフェラーゼ) を加え，Delay time 5 秒および Run time 10 秒の条件下で発光強度を測定した。なお，ATP の検量線作成のための標準物質としてアデノシン-5′-三リン酸二ナトリウム塩一水和物 (和光純薬工業 No. 017-09673) を用いた。この分析精度は，噴火湾海水試料を用いて求めた結果，8.8% ($n=5$) であった。また，Chl *a* 量は蛍光法 (ターナーデザイン社：モデル 01) で測定し，POC 量は CHN 元素分析計 (日立 026 型) で測定した。

結　　果

本研究における ATP 濃度は 0.1～3.7 μg·l^{-1} の範囲内にあった (Fig. 2)。2 月下旬以前 (12 月 3 日および 2 月 7 日) における ATP 濃度は 1 μg・l^{-1} 以下の値でほぼ均一な鉛直分布を示してい

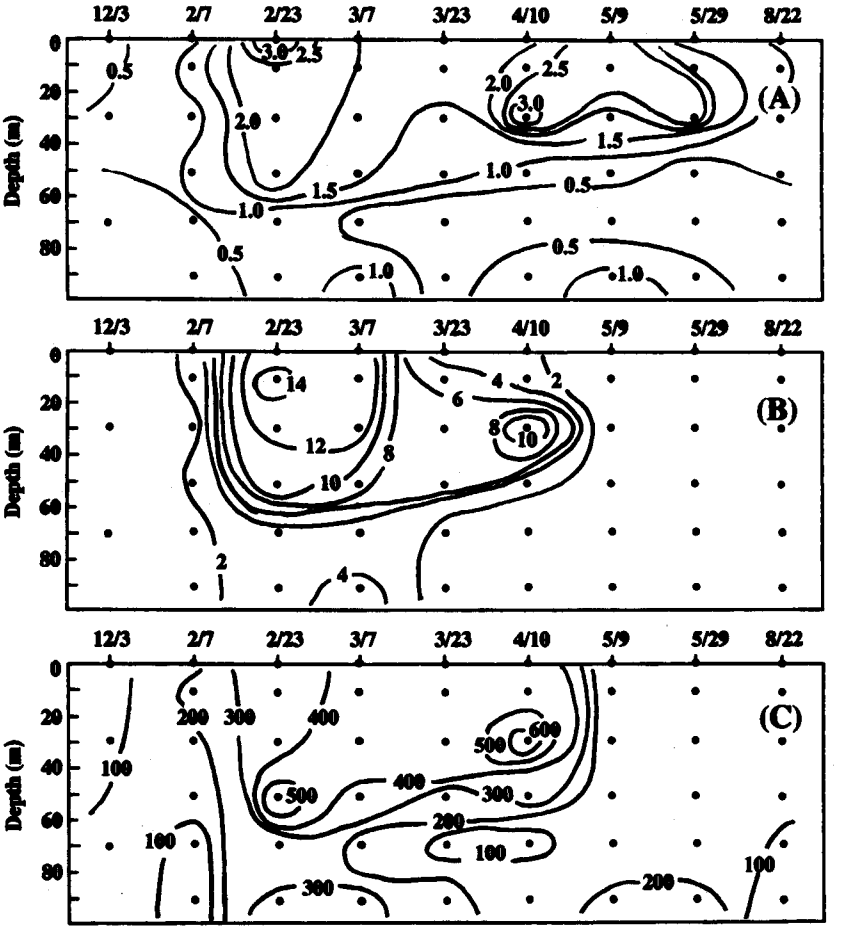

Fig. 2. Temporal and vertical variations of the concentrations of ATP (A), Chl *a* (B) and POC (C) in Funka Bay (St. 30), the subarctic coastal regions. The units are expressed as μg·l^{-1}.

た。2月下旬 (2月23日) になると，ATP濃度は，50 m以浅で2 μg・l^{-1}以上に増加し，深度とともに減少する鉛直分布を示していた。その後，30 m以浅おけるATP濃度は，3月 (3月7日および3月23日) に2 μg・l^{-1}以下に減少するが，4月 (4月10日) および5月 (5月9日および5月29日) に再び2 μg・l^{-1}以上に増加した。これらの時期におけるATP濃度は深度とともに減少する鉛直分布を示した。8月 (8月22日) におけるATP濃度は1 μg・l^{-1}以下の値でほぼ均一な鉛直分布を示していた。一方，Chl *a* 濃度は，ATP濃度が高い値を示す2月23日から3月7日の50 m以浅および4月10日の30 m層で極めて高い値 (>10 μg・l^{-1}) であった。しかし，高いATP濃度が認められた5月9日から5月29日の30 m以浅におけるChl *a* 濃度は，1 μg・l^{-1}以下の低い値であり，ATP濃度の様相と異なっていた。また，POC濃度は，ATP濃度が高い値を示す2月23日から3月7日の50 m以浅および4月10日の30 m層で高い値 (>300 μgC・l^{-1}) であった。しかし，高いATP濃度が認められた5月9日から5月29日の30 m以浅におけるPOC濃度は，200 μgC・l^{-1}以下の低い値であった。POC濃度の鉛直的および時間的変動は，ATP濃度のその変動よりもむしろChl *a* 濃度のその変動とほぼ一致していた。

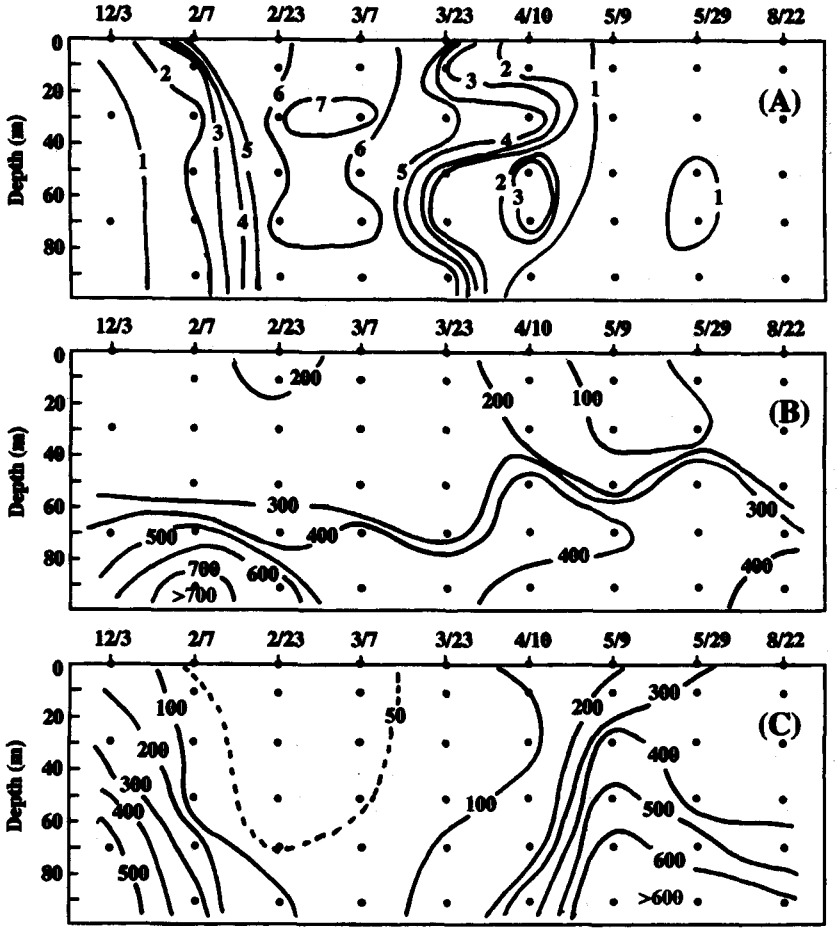

Fig. 3. Temporal and vertical variations of Chl *a*/ATP (A), POC/ATP (B) and POC/Chl *a* (C) in Funka Bay (St. 30).

各化合物の量的関係，すなわち Chl *a*/ATP 比，POC/ATP 比および POC/Chl *a* 比は，それぞれ 0.2～7.2, 35～910 および 27～1,300 の範囲内で著しい鉛直的および時間的変動を示していた (Fig. 3)。Chl *a*/ATP 比は，2 月下旬以前で 2 以下の低い値であり，2 月 23 日から 3 月 7 日の全層において 5 以上 (最大値 7.8；3 月 7 日の 30 m 層) と高く，5 月 9 日以降では 1 以下の低い値を示した。一方，POC/ATP 比は，12 月 3 日から 3 月 23 日までの 50 m 以浅において 200～300 であったのに対して，それ以降の 30 m 以浅において 200 以下の低い値を示した。また，POC/Chl *a* 比は，2 月 23 日から 3 月 7 日の 50 m 以浅において 50 以下の低い値を示し，5 月 9 日以降では高い値 (200 以上) を示していた。

考　　察

本研究において，海水中の ATP, Chl *a* および POC 濃度は鉛直的にも時間的にも著しい変動を示した。このことは，本調査期間中，微小生物群あるいはデトライタスの現存量が鉛直的にも時間的にも著しく変動することを暗示している。噴火湾における春季ブルーム時期は，年によって若干変動するが，2 月中旬から 4 月中旬であると考えられている (例えば，Maita and Yanada, 1978；Maita and Odate, 1988)。我々が調査を行った 1989 年の場合，植物プランクトンの指標化学物質である Chl *a* 濃度の時間変動から判断すると (Fig. 2), 春季ブルーム期は 2 月下旬～3 月上旬であったと考えられる。従って，2 月下旬前 (12 月 3 日～2 月 7 日) はプレブルーム期に相当し，4 月中旬以降 (5 月 9 日～8 月 22 日) はポストブルーム期に相当すると考えられる。

我々が行った全調査期間における各化合物濃度間の関係をみると (Fig. 4)，いずれの関係も有意な正の相関関係が認められたが ($P<0.05$)，ATP 量との間の相関係数 (Chl *a* 対 ATP および POC 対 ATP) は POC 対 Chl *a* の相関係数よりも低くかった。それに対して，プレブルーム期から春季ブルーム期 (12 月 3 日～4 月 10 日) における ATP 量との間の相関係数は比較的良い相関性を示した。このことは，プレブルーム期から春季ブルーム期までの ATP 濃度の変動が Chl *a* 濃度および POC 濃度の変動と一致するが，ポストブルームにおける ATP 濃度の変動は必ずしも Chl *a* 濃度および POC 濃度の変動と同調していないことを意味している。そこで，我々は，プレブルーム期 (12 月 3 日～2 月 3 日), 春季ブルーム期 (2 月 23 日～4 月 10 日) およびポストブルーム期 (5 月 9 日～8 月 22 日) の 50 m 以浅における各化合物濃度の平均値を Table 1 に示す。プレブルーム期における各化合物の平均値は，明らかに春季ブルーム期におけるそれらの値よりも低い。一方，ポストブルーム期において，Chl *a* 濃度および POC 濃度の平均値が春季ブルーム期におけるそれらの値の一桁以下および 1/3 程度に減少するのに対して，ATP 濃度の平均値は春季ブルーム期のその値に匹敵する高い値を示している。これらの結果は，2 月下旬～3 月上旬の 50 m 以浅で認められた高い ATP 濃度がその高い Chl *a* 濃度および POC 濃度に対応しているが，4 月中旬～5 月下旬の 50 m 以浅で認められた高い ATP 濃度が必ずしもその Chl *a* 濃度あるいは POC 濃度と対応していないことを意味している。

各化合物の相対比 (Chl *a*/ATP 比，POC/ATP 比および POC/Chl *a* 比) は，時間的および鉛直的にも著しい変動を示していた (Fig. 3)。これらの変動は海水中の各微小生物群の存在割合の変動を暗示する。春季ブルーム期の 50 m 以浅における POC/Chl *a* 比は平均で 35±6 であった (Table 1)。植物プランクトン生体における C/Chl *a* 比は，植物プランクトンの種あるいはそれらの生理状態によって 25-100 の範囲で変動すると考えられている (Redalje and Laws, 1981；Sakshaug et al., 1989；Cota et al., 1990)。我々は，噴火湾のこの時期における植物プランクトン生体の C/Chl *a* 比を決定するための根拠あるデータをまだ持っていない。しかし，噴火湾で認められた春季ブルーム期における現場の POC/Chl *a* 比は，Hewes et al. (1990) による現場のブルーム

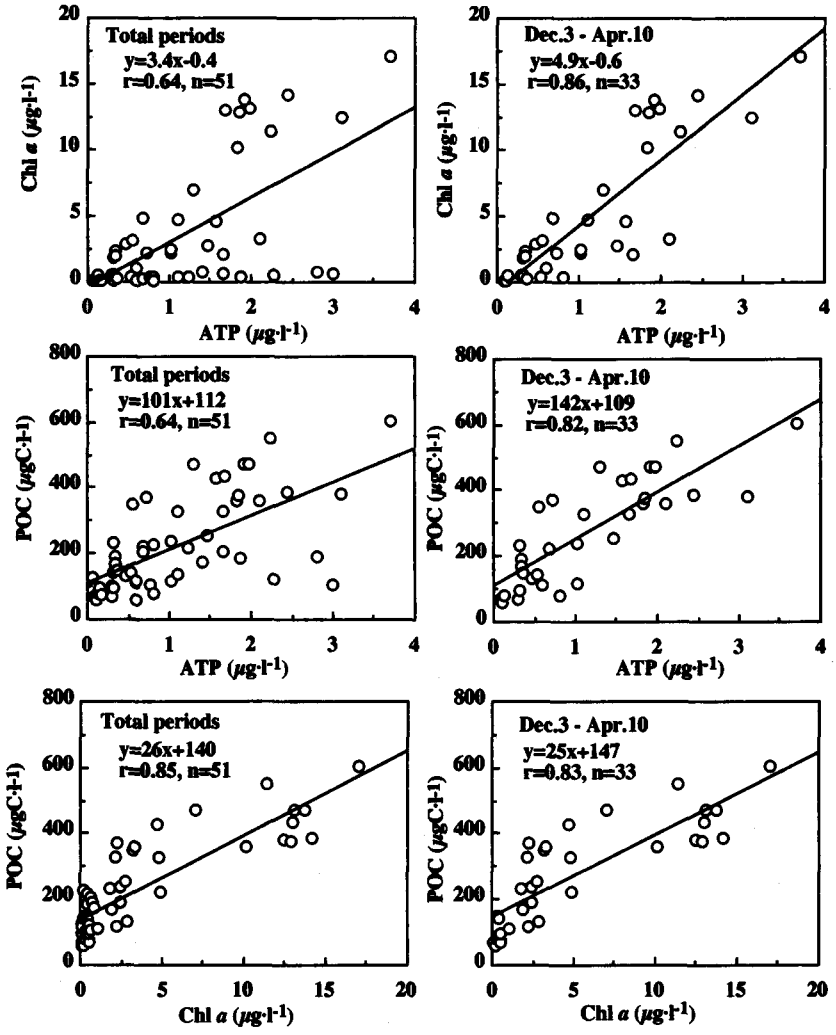

Fig. 4. The relationships between respective parameters during total observation periods (left) and the spring bloom period (right) in Funka Bay (St. 30).

水のその値 (46) や多くの研究者によって採用されている植物プランクトン炭素生物量の変換係数 (40-50; Eppley et al., 1977; Redelje, 1983; Fuhrman et al., 1986; Booth, 1988; Cho and Azam, 1990; Simon et al., 1990; Holm-Hansen and Mitchell, 1991; Simon et al., 1992; Kirchman et al., 1993) にほぼ近い値である。すなわち，春季ブルーム期の 50 m 以浅において得られた POC/Chl *a* 比は，噴火湾における春季ブルーム期の POC の大部分が植物プランクトン生体で占められていることを示唆している。POC の大部分が植物プランクトン生物量であると考えられた春季ブルーム期の 50 m 以浅における POC/ATP 比は，平均で 203±45 であり (Table 1)，通常用いられている植物プランクトンの C/ATP=250 (Holm-Hansen, 1969, 1970; Karl, 1980; Laws et al., 1984) 値よりもやや低い値である。また，この炭素変換係数と ATP 濃度から全微小生物炭素生物量を計算すると，その生物量は 580 μgC・l^{-1} と見積られ，現場の POC 濃度 (450 μgC・l^{-1}) をや

Table 1. The mean values of content and ratio for respective biological active compounds in the upper layer (<50 m) in Funka Bay (St. 30) during pre-bloom, spring bloom and post-bloom.

Periods	ATP content ($\mu g \cdot l^{-1}$)	Chl *a* content ($\mu g \cdot l^{-1}$)	POC content ($\mu g \cdot l^{-1}$)	Chl *a* /ATP	POC /ATP	POC /Chl *a*
Pre-bloom	0.7±0.3	1.6±1.1	125±61	2.4±1.9	191±74	110±65
Spring bloom	2.3±0.7	13±2	448±79	6.0±1.2	203±45	35± 6
Post-bloom	2.2±0.6	0.7±0.1	164±37	0.3±0.2	83±33	265±99

や超えている。しかし，全微小生物量に対する植物プランクトン生物量の割合を示す指標となる Chl *a*/ATP 比は，春季ブルーム期の 50 m 以浅で平均 6.0±1.2 であり，植物プランクトン中の C/ATP 比および C/Chl *a* 比がそれぞれ 250 および 35-50 であると仮定して見積られた植物プランクトンの Chl *a*/ATP 比の理論値 (5〜7 程度) にほぼ等しい。このことは，春季ブルーム期の 50 m 以浅における現場の ATP 濃度が植物プランクトンの ATP 量でほぼ説明できることを示唆している。

春季ブルーム期に匹敵する高い ATP 濃度を示すポストブルーム期の 50 m 以浅において，POC/Chl *a* 比の値は高い値 (平均 265) であった (Table 1)。もし噴火湾のポストブルーム期の植物プランクトン生体中の C/Chl *a* 比が 25-100 の範囲内にあると仮定すると，ポストブルーム期の 50 m 以浅における POC に占める植物プランクトン炭素生物量の割合は 10-40% と見積られる。この結果は，春季ブルーム期と比較すると，明らかに POC に占める植物プランクトン生体の寄与が小さいことを意味している。また，現場の Chl *a*/ATP 比は平均で 0.3±0.2 であり (Table 1)，この極めて低い Chl *a*/ATP 比は全微小生物量に対する植物プランクトン生物量の割合が極めて低いことを示唆している。一方，現場の POC/ATP 比は平均で 83±33 であり，この値は春季ブルーム期における現場の値あるいは微小生物の値よりも低い。しかも，その ATP 濃度から算出された全微小生物炭素生物量は，550 $\mu gC \cdot l^{-1}$ と見積られ，現場の POC 濃度 (164 $\mu gC \cdot l^{-1}$) をはるかに超えている。すなわち，現場の ATP 濃度から算出された全微小生物炭素生物量が植物プランクトン，微小動物プランクトンおよびデトライタスを含めた POC 濃度をはるかに超える理由で，微小動物プランクトンに由来する ATP 量の寄与は小さいと考えられる。本研究における ATP 濃度は操作上孔径 0.2 μm のフィルターを使用した値であり，それに対して，POC 濃度は平均孔径 0.7 μm のフィルターを使用した値である。すなわち，この ATP 濃度は植物プランクトンおよび微小動物プランクトンの生物量にバクテリアなどのサブミクロン (<0.7 μm) 生物量を加えた生物量であり，それに対して，この POC 濃度はそのサブミクロン生物量を除外した値となる。それゆえ，ATP 濃度から算出された全微小生物炭素生物量が現場の POC 濃度を超える結果は，現場のバクテリアなどのサブミクロン生物の生物量に起因すると考えられる。

結論を言うと，噴火湾における ATP 濃度は鉛直的にも時間的にも著しく変動した。その ATP 濃度は，植物プランクトンの生産が活発な春季ブルーム期の 50 m 以浅において極めて高く，また，植物プランクトンの生産が終了したポストブルーム期の 50 m 以浅においても春季ブルーム時期に匹敵する高い値を示した。この春季ブルーム期の高い ATP 濃度の多くは活発に生産している植物プランクトン生物量によるものであり，このポストブルーム期における高い ATP 濃度の多くはバクテリアなどのサブミクロン生物量によるものと考えられた。

謝　　辞

本研究の際にご協力いただいた北海道水産学部付属研究船「うしお丸」の船長ならびに部員の方々に心から感謝いたします。

文　　献

Booth, B.C. (1988). Size classes and major taxonomic groups of phytoplankton at two locations in the subarctic Pacific Ocean in May and August, 1984. *Mar. Biol.*, **97**, 275-286.

Cho, B.C. and Azam, F. (1988). Major role of bacteria in biogeochemical fluxes in the ocean's interior. *Nature*, **332**, 441-443.

Cho, B.C. and Azam, F. (1990). Biogeochemical significance of bacteria biomass in the ocean's euphotic zone. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **63**, 253-259.

Cota, G.F., Kottmeier, S.T., Robinson, D.H., Smith, W.O. Jr. and Sullivan, C.W. (1990). Bacterioplankton in the marginal ice zone for the Weddel Sea: biomass, production and metabolic activities during austral autumn. *Deep-Sea Res.*, **37**, 1145-1167.

Ducklow, H.W. (1983). Production and fate of bacteria in the oceans. *Bioscience*, **33**, 494-501.

Eppley, R.W. and Peterson, B.J. (1979). Particulate organic matter flux and planktonic new production in the deep ocean. *Nature*, **282**, 677-680.

Eppley, R.W. Harrison, W.G., Chisholm, S.W. and Stewart, E. (1977). Particulate organic matter in surface waters off Southern California and its relationship to phytoplankton. *J. Mar. Res.*, **35**, 671-696.

Fuhrman, J.A., Ducklow, H.W., Kirchman, D.L., Hudak, J., Mcmanus, G.B. and Kramer, J. (1986). Does adenine incorporation into nucleic acids measure total microbial production ?. *Limnol. Oceanogr.*, **31**, 627-636.

Fuhrman, J.A., Sieeter, T.D., Carlson, C.A. and Proctor, L.M. (1989). Dominance of bacterial biomass in the Sargasso Sea and its ecological implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **57**, 207-217.

Hewes, C.D., Sakshaug, E., Reid, F.M.H. and Holm-Hansen, O. (1990). Microbial autotrophic and heterotrophic eucaryotes in Antarctic waters: relationships between biomass and chlorophyll, adenosine triphosphate and particulate organic carbon. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **63**, 27-35.

Holm-Hansen, O. (1969). Determination of microbial biomass in ocean profiles. *Limnol. Oceanogr.*, **14**, 740-747.

Holm-Hansen, O. (1970). ATP levels in algal cells as influenced by environmental condition. *Plant. Cell. Physiol.*, **11**, 689-700.

Holm-Hansen, O. and Booth, C.R. (1966). The measurement of adenisine triphosphate in the ocean and its ecological significance. *Limnol. Oceanogr.*, **11**, 510-519.

Holm-Hansen, O. and Mitchell, B.G. (1991). Spatial and temporal distribution of phytoplankton and primary production in the western Bransfield Strait region. *Deep-Sea Res.*, **38**, 961-980.

Karl, D.M. (1980). Cellular nucleotide measurements and applications on microbial ecology. *Microbiol. Revi.*, **44**, 739-796.

Karl, D.M., and Knauer, G.A. (1984). Vertical distribution, transport, and exchange of carbon in the northeast Pacific Ocean: evidence for multiple zones of biological activity. *Deep-Sea Res.*, **31**, 221-243.

Karl, D.M., Holm-Hansen, O., Taylor, G.T., Tien, G. and Bird, D.F. (1991). Microbial biomass and productivity in the western Bransfield Strait, Antarctica during the 1986-87 austral summer. *Deep-Sea Res.*, **38**, 1029-1055.

Kirchman, D.L., Keil, R.G., Simon, M. and Welschmeyer, N.A. (1993). Biomass and production of heterotrophic bacterioplankton in the oceanic subarctic Pacific. *Deep-Sea Res.*, **40**, 967-988.

Laws, E.A., Redalje, D.G., Haas, L.W., Bienfang, P.K., Eppley, R.W., Harrison, W.G., Karl, D.M. and Marra, J. (1984). High phytoplankton growth and production rates in oligotrophic Hawaiian coastal waters. *Limnol. Oceanogr.*, **29**, 1161-1169.

Maita, Y. and Odate, T. (1988). Seasonal changes in size-fractionated primary production and nutrient concentrations in the temperate neritic water of Funka Bay, Japan. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **44**, 268-279.

Maita, Y. and Yanada, M. (1978). Particulate protein in coastal waters, with special reference to seasonal variation. *Mar. Biol.*, **44**, 329-336.

Odate, T. and Maita, Y. (1988). Seasonal changes in the biomass of zooplankton and their food requirement in Funka Bay. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **44**, 228-230.

Parson, T.R., Maita, Y. and Lalli, C.M. (1984). *A manual of chemical and biological methods for seawater analysis*. Pergamon Press, New York, 301 pp.

Redalje, D.G. (1983). Phytoplankton carbon biomass and specific growth rates determined with the labeled chlorophyll *a* technique. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **11**, 217-225.

Redalje, D.G. and Laws, E.A. (1981). A new method for estimating phytoplankton growth rates and carbon biomass. *Mar. Biol.*, **62**, 73-79.

Riemann, B., Simonsen, P. and Stensgaard, L. (1989). The carbon and chlorophyll content of phytoplankton from various nutrient regions. *J. Plank. Res.*, **11**, 1037-1045.

Sakshaug, E., Andreson, K. and Kiefer, D.A. (1989). A steady state description of growth and light absorption in the marine planktonic diatom *Skeletonema costatum*. *Limnol. Oceanogr.*, **34**, 198-205.

Simon, M., Alldredge, A.L. and Azam, F. (1990). Bacterial carbon dynamics on marine snow. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **65**, 205-211.

Simon, M., Cho, B.C. and Azam, F. (1992). Significance of bacterial biomass in lakes and the ocean. comparison to phytoplankton biomass and biogeochemical implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **86**, 103-110.

Williams, P.J. LeB (1981). Incorporation of microheterotorophic process into the classical paradigm of the planktonic food web. *Kieler Meeresforschungen Sonderh*, **5**, 1-28.