

Evaluation of Efficiency the Parasitoid *Trichogramma evanescens* Westwood and Parasitoid *Bracon hebetor* Say for Controlling Immature Stages for Potato Tuber Moth .

تقييم كفاءة المتطفل *Trichogramma evanescens* Westwood والمتطفل *Bracon hebetor* Say للسيطرة على الأعداء غير الكاملة لعثة درنات البطاطا

حامد كاظم سعود العبيدي
وزارة التربية

الخلاصة

أجريت الدراسة لتقييم كفاءة طفيل اليرقات *Bracon hebetor* في يرقات الطور الثاني والرابع وكفاءة طفيل البيض *Trichogramma evanescens* عند ظروف المختبر في الأدوار غير الكاملة لحشرة عثة درنات البطاطا *Phthorimaea operculella* (Zeller) PTM ، بمدد تعرض مختلفة تراوحت بين (24، 48، 72، 120) ساعة، أظهرت نتائج الدراسة فعالية كبيرة لكلا الطفيلين في نسب الإصابة وخفض مجتمع العثة مع زيادة مدة التعرض ، أذ تميزت جميع مدد التعرض للطفيل اليرقي ولطفيل البيض بأحداث نسب إصابة ازدادت بتقدم مدة التعرض أذ تحققت نسبة إصابة لليرقات المشلولة بلغت 80.33% ، 92.40% للطور الثاني والرابع على التوالي عند مدة تعرض 120 ساعة كما انخفضت نسبة بزوغ كاملات العائل الى 0.00% عند نفس المدة ومن ثم ازدادت أعداد عذارى وكاملات الطفيل المتطورة على هذه اليرقات، فضلاً عن ازدياد عدد البيض غير الفاقس بفعل الطفيل *T. evanescens* وازداد عدد عذارى وكاملات الطفيل الناتجة أذ كانت أعلى نسب هلاك للبيض 68.52% ، 62.30% بعمر (1-2) ، (3-4) يوم على التوالي عند مدة التعرض 120 ساعة كما انخفضت نسبة بزوغ العائل الى 18.12% عند نفس المدة ، كما أظهرت النتائج كفاءة عالية لصالح الطفيل *B. hebetor* في نسب الهلاك وخفض مجتمع الآفة أذ بلغ معدل كاملات العائل الناتجة 0.00% عند مدة تعرض 120 ساعة بالمقارنة مع 18.33% للطفيل *T. evanescens* عند نفس المدة .
الكلمات المفتاحية : مقاومة أحيائية ، عثة درنات البطاطا، بيض و يرقات .

Abstract

This study was conducted to evaluate the efficiency of larva parasitoid *B. hebetor* in second and fourth stage of larva and the efficiency of eggs parasitoid *T. evanescens* in lab. Condition in immature stage for Potato Tuber Moth (PTM) *Phthorimaea operculella* (Zeller) ، at different periods of treatment ranged (24, 48, 72 , 120) hours . The study results demonstrates high effectiveness for both parasitoids in rates of the mortality and the decrease of moth population with increasing time of treatment in all periods for larval parasitoid and eggs parasitoid causing mortality which increased with progress the period of treatment ، it were the rates mortality of larval that was 80.33% , 92.40 % for second and fourth stage respectively at period of treatment 120 hours ، and also decreasing the rates of emergence hosts to 0.00 % of the same period.

Then the numbers of pupae and adults parasitoid were increased ، which developed on this larva ، and increase the numbers of eggs which non- hatching by effects of parasitoid *T. evanescens* ، and the number of pupa and the percentage of parasitoids emerging from parasitized eggs were increased. It was the highest rates of eggs mortality 68.52% , 62.30 % at the age (1-2),(3-4) days respectively at the period treatment 120 hours ، and also decreased the emergence host to 18.12% at the same period . The results demonstrates high efficiency for the parasitoid *B. hebetor* in mortality rates and decreased moth population ، and reached the rate host adults to 0.00% at the period of treatment 120 hours in comparing with the rate 18.33% for *T. evanescens* at the same period .

Key Words: Biological Control ، Potato Tuber Moth ، Eggs and Larva .

المقدمة

يعد الإنتاج الزراعي بشقيه الحيواني والنباتي مصدراً أساسياً لإدامة الحياة طالما أستمروا الوجود الإنساني ، إذ مارست التجمعات البشرية منذ الخليقة الأولى مهنة الزراعة ولعلّ التحدي الأكبر لها ولايزال تأمين الاحتياجات الغذائية ومشكلة الآفات الزراعية التي تسبب خسارة ورياءة الإنتاج . لقد بذلت جهود ومساعي حثيثة ومستمرة للسيطرة على تلك الآفات ولاسيما عثة درنات البطاطا (*Phthorimaea operculella* (Zeller) التي تتواجد في مساحات واسعة من العالم، طالما يزرع هناك أحد نباتات العائلة الباذنجانية، إذ أصابت هذه الدودة أكثر من خمسة الاف دونم من محصول البطاطا في العراق خلال العام 1973 كما يلاحظ وجود هذه الحشرة طوال فصول السنة [1].

أصبح الاستخدام المكثف وغير العلمي للمبيدات أحد المشاكل التي يتعرض لها النظام البيئي فضلاً عن اكتساب أنواع كثيرة من الآفات لصفة المقاومة تجاه المركبات المستعملة وهذا انعكس سلباً على كمية الإنتاج وتحسين نوعيته [11] ، فقد تنبه العالم لها وتزايد معه الاعتراض على وجود بقايا المبيدات في المنتجات الزراعية وبان هذا التميز من خلال ارتفاع أسعار تلك المنتجات غير المعاملة بالمواد الكيماوية ، لذلك كانت الاتجاهات الحديثة للسيطرة على الآفات اعتماد أساليب وطرائق صديقة للبيئة منها استخدام الطفيليات كأحد العوامل الأساسية للمكافحة الحيوية إذ انها تنتشر في النظام البيئي الزراعي بصورة جيدة كما يعد سلوك الإناث منها له الدور الأبرز إذ يتوقف عليها إيجاد العائل وانتخاب الأفضل منه لوضع البيض وتطور الأفراد الناتجة [10].

يعد الطفيل اليرقي (*Bracon hebetor* Say (Hymenoptera : Braconidae) من الطفيليات اليرقية الخارجية وتهاجم أنث هذا الطفيل يرقات أنواع كثيرة من الآفات التابعة لحرشيفية الأجنحة ولاسيما في المنتجات المخزونة [12]، كما اعتمدت طفيليات البيض بشكل واسع في تطبيقات مكافحة الحيوية للآفات التي تصيب محاصيل مهمة اقتصادياً [4]، ولاسيما طفيل البيض *T. evanescens* الذي يعد من الأنواع واسعة الانتشار في كثير من بلدان العالم إذ جرت عمليات عدة لإكثاره مختبرياً وأطلقه في البيئة للسيطرة على العديد من الآفات الزراعية إذ استطاع أن يحقق نجاحات واضحة في هذا المجال [8]، اختبر [14] بيض عثة درنات البطاطا من بالغات معرّضة الى جرعة من أشعة كما تراوحت بين 150 - 300 كراي وقدمها الى ثلاث أنواع من الطفيل *Trichogramma spp.* فكان كل البيض مناسباً لتطور الطفيل ومتوسط أعداد الزنابير البازغة لم يتأثر معنوياً بين أنواع الطفيل الثلاثة وأن إطلاق ذكور العثة المعرضة الى أشعة كما بجرعة 300 كراي مع اطلاق الطفيل قد خفض مجتمع العثة الى 95%، وذكر [9] ان اطلاق متطفل البيض *Copidosoma koehleri* (Blanchard) للسيطرة على عثة درنات البطاطا داخل المخزن عمل على خفض مجتمع الآفة بشكل كبير وملحوظ مع تزايد في مجتمع الطفيل مقارنةً مع اطلاق الطفيل على البطاطا المصابة بالعثة الموجودة خارج المخزن ، إذ تعد هذه الطفيليات من وسائل المكافحة الفعالة كونها تهاجم بيض العائل وتتغذى يرقاتها على محتويات البيضة وبذلك تمنع ظهور اليرقات وتجنب الخسارة المتوقعة على المحصول، كما أن وجود هذه الطفيليات في الحقل أو إطلاقها بكميات كبيرة سوف يؤدي حتماً الى خفض مستوى الإصابة وبالتالي السيطرة على الآفة دون الضرر الاقتصادي [3].

المواد وطرائق العمل

وضعت خمسة أزواج (5 ذكور + 5 أنث) من بالغات حشرة عثة درنات البطاطا حديثة الأزوغ داخل زجاجة فانوس ارتفاع 20 سم ووضع في أحد طرفيها المفتوح قطعة قطن مشبعة بمحلول سكري تركيز 10 % لتغذية البالغات وفي الطرف الآخر صحن بتري قطر 9 سم يحتوي ورقة ترشيع مرطبة بالماء المقطر لوضع البيض عليها ، تم جمع بيض عثة درنات البطاطا يومياً بواسطة فرشاة ناعمة ومرطبة ، وقسم البيض الى مجموعتين أحدها بعمر (1-2) يوماً والأخرى بعمر (3-4) يوماً ، وضعت 20 بيضة من كل فئة عمرية داخل صحن بتري قطر 9 سم يحتوي على ورقة ترشيع مرطبة من أجل المحافظة على حيوية العينات ، وضع كل صحن بتري داخل دورق حجمي قطر (20 × 40) سم مغطى من الأعلى بقماش الململ تحتوي في وسطها على فتحة وضع فيها قطعة قطن مشبعة بمحلول سكري تركيز 10 % لتغذية بالغات الطفيل، تم إطلاق زوجين (2 ذكر + 2 أنثى) من الطفيل *T. evanescens* حديثة الأزوغ ، وبواقع 5 مكررات لكل معاملة فضلاً عن معاملة السيطرة التي لم تعامل بأطلاق الطفيل ، وبمدد تعرض مختلفة تراوحت بين (24 ، 48 ، 72 ، 120) ساعة ، تم سحب الطفيل بعد انقضاء مدة التعرض ، أضيفت 20 غم من البطاطا لتغذية يرقات العثة بعد فقس البيض ، كما استمرت عملية متابعة البيض حتى فقسه أو ظهور بالغات المتطفل منه، حسب أعداد الطفيل والعائل البازغة في كل طبق، كما حسبت النسبة المئوية للتطفل اعتماداً على العدد الكلي للمتطفلات البازغة فقط تبعاً لمعادلة [5] :

$$\text{النسبة المئوية للتطفل} = (\text{عدد البيض المتطفل عليه} / \text{عدد البيض المفحوص}) \times 100\%$$

تم اتباع الخطوات السابقة ونفس الأعداد إذ تم عزل مجموعتين عمريتين من يرقات العثة احداها من الطور الثاني والأخرى للطور الرابع ، تم إطلاق زوجين (2 ذكر + 2 أنثى) من بالغات الطفيل *B. hebetor* حديثة الأزوغ ، وضعت جميع المكررات فضلاً عن معاملة السيطرة التي لم تعامل بأطلاق الطفيل داخل الحاضنة بدرجة حرارة 27 ± 2 م° ورطوبة نسبية 60 ± 5 % . تم تحليل نتائج الدراسة إحصائياً وفق نموذج التجارب العاملية وبتصميم تام التعشبية وتم استعمال أقل فرق معنوي (L.S.D.) على مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ لبيان معنوية النتائج عدلت النسب المئوية للهلاك حسب Schneider-Orelli's formula .

$$\% \text{ للموت المصححة} = \frac{\text{نسبة \% للموت في المعاملة} - \text{نسبة \% للموت في المقارنة}}{100 - \text{نسبة \% للموت في المقارنة}} \times 100$$

وحولت القيم المعدلة إلى قيم زاوية لإدخالها في التحليل الإحصائي [2].

النتائج والمناقشة

يعد الطفيل *B. hebetor* أحد أبرز عوامل مكافحة الأحيائية أذ يعمل على خفض مجتمع الآفة دون مستوى الضرر الاقتصادي في الأجيال اللاحقة ، وكما هو ملاحظ من نتائج الدراسة الحالية التي أشارت إلى حدوث انخفاض في معدل عدد الأفراد الناتجة من العثة مقارنة بتجربة معاملة السيطرة أذ عملت أنثا الطفيل على إصابة معظم يرقات العثة ومنعها من إتمام دورة حياتها فضلاً عن قيام إناث الطفيل بألقاء بيضها على اليرقات المشلولة حيث عملت هذه اليرقات كعوامل أساسية في زيادة كثافة الطفيل ، أظهرت نتائج الجدول (1) تأثير كفاءة أنثا الطفيل *B. hebetor* في إصابة يرقات العثة، ازدياد معدل اليرقات المشلولة مع زيادة مدة التعرض كما أرتفع معدل يرقات الطور الرابع المشلولة بالمقارنة مع معدل يرقات الطور الثاني المشلولة عند جميع مدد التعرض للطفيل، أذ بلغت 80.33 %، 92.40% ليرقات الطور الثاني والرابع على التوالي عند مدة تعرض 120 ساعة بالمقارنة مع 0.00% في معاملة السيطرة ، أذ ان التأثير الناجم عن فعل الطفيلات في الحشرات يختلف بحسب نوع الحشرة والطور ومدة التعرض للطفيل فضلاً عن حجم اليرقات فكلما زادت مدة التعرض وحجم يرقات العائل ازدادت فرصة الإصابة وازداد عدد البيض الملقى من قبل أنثا الطفيل أذ ارتفع الأداء الحيوي لدى أنثا الطفيل من حيث معدل أعداد البيض الملقى من قبل تلك الإناث ومعدل اليرقات المشلولة كما انخفض معدل كاملات العائل الناتجة من يرقات الطورين الثاني والرابع الى 18.33%، 0.00 % على التوالي ولنفس المدة ، فضلاً عن تزايد نسب معدلات بزوغ كاملات الطفيل من اليرقات المشلولة مع تزايد مدد التعرض أذ كان المعدل ليرقات الطورين الثاني والرابع 52.65 %، 66.42% عند مدة التعرض 120 ساعة ، أن ارتفاع نسب معدلات الطفيل الناتجة مع زيادة مدد التعرض تعزى الى ارتفاع نسب البيض الذي تلقىه الأنثا على اليرقات المصابة ، اتفقت نتائج البحث مع نتائج [6] الذي أشار إلى ان كفاءة أنثا الطفيل *B. hebetor* تزيد من نشاطها كلما زادت المدة الزمنية للتعرض ليرقات العائل ، أما نشاط أنثا الطفيل *T. evanescens* وكفاءتها في هلاك البيض فقد أظهرت نتائج الجدول (2) ارتفاع نسب هلاك البيض في العمرين (2-1)، (3-4) يوم مع زيادة مدة التعرض وكانت معدلات هلاك البيض في العمر (2-1) يوم أكثر من معدلات هلاك البيض في العمر (3-4) يوم ولجميع مدد التعرض وقد يعود السبب في ذلك الى ان غشاء البيضة في العمر (2-1) يوم يكون أقل سمكاً وأكثر طراوة منه في البيض بعمر (3-4) يوم ، فضلاً عن ازدياد معدلات عذارى وكاملات الطفيل الناتجة في العمر (3-4) يوم مقارنة بالعمر (2-1) يوم ولجميع مدد التعرض أيضاً أذ بلغ معدل هلاك البيض 68.52 ، 62.30% للعمرين (2-1) و(3-4) يوم على التوالي عند مدة تعرض 120 ساعة مقارنة مع 10.00 % في معاملة السيطرة ، أما معدل كاملات الطفيل الناتجة فكانت 60.20 ، 48.40% للبيض بعمر (2-1) و(3-4) يوم على التوالي ، أما معدل كاملات العائل الناتجة فكانت أيضاً منخفضة بالنسبة للبيض بالعمر (2-1) يوم أذ بلغت أقل معدل 18.12% عند مدة تعرض 120 ساعة .

جدول (1) معدل النسب المئوية لأعداد يرقات العائل المشلولة بفعل الطفيل *B. hebetor* ومعدل عدد العذارى وكاملات الطفيل الناتجة

مدة التعرض / (ساعة)	يرقات الطور الثاني				يرقات الطور الرابع			
	معدل عدد اليرقات المشلولة %	معدل عدد عذارى الطفيل الناتجة %	معدل عدد كاملات العائل الناتجة %	معدل عدد كاملات الطفيل البازغة %	معدل عدد اليرقات المشلولة %	معدل عدد عذارى الطفيل الناتجة %	معدل عدد كاملات العائل الناتجة %	معدل عدد كاملات الطفيل البازغة %
السيطرة	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
24	32.82	32.18	28.33	28.33	42.20	22.60	38.60	38.75
48	38.33	36.25	34.45	22.66	50.22	18.33	42.66	48.66
72	50.00	42.50	42.30	20.66	56.30	14.22	50.45	66.00
120	80.33	58.82	52.65	18.33	68.40	0.00	66.42	92.40

قيمة L.S.D عند مستوى احتمال $P \leq 0.05$ ما بين مدة التعرض في معدل اليرقات المشلولة = 1.532

قيمة L.S.D عند مستوى احتمال $P \leq 0.05$ ما بين مدة التعرض في معدل العذارى الناتجة = 2.342

قيمة L.S.D عند مستوى احتمال $P \leq 0.05$ ما بين مدة التعرض في معدل كاملات العائل = 4.054

قيمة L.S.D عند مستوى احتمال $P \leq 0.05$ ما بين مدة التعرض في معدل كاملات الطفيل = 1.648

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج [13] عندما قَدِّم مجموعتين من بيض عثة درنات البطاطا للطفيل *T. evanescens* مجموعة مشبعة بأشعة كاما بجرعة 20 و40 كراي فكانت نسبة التطفل أو الهلاك للبيض 78.3، 69.0% على التوالي في حين كانت نسبة التطفل أو الهلاك 84.3% للبيض غير المشع. يلاحظ من نتائج الجدول (1 و2) ان نسب الهلاك وانخفاض مجتمع العثة كان لصالح أنثى الطفيل *B. hebetor*، إذ حقق نسب هلاك هي الأعلى في جميع مدد التعرض كما بلغ معدل كاملات العائل الناتجة 0.00% عند مدة تعرض 120 ساعة بالمقارنة مع 18.33% للطفيل *T. evanescens* عند نفس المدة، مما يشجع على استخدام الطفيل كعنصر مهم في مجال مكافحة الأحيائية والسيطرة على الآفات الحشرية وهذا ما أشار اليه [7] عند دراسته الطفيل *B. hebetor* على يرقات عثة الكشمش *Ephestia figulilella* إذ حقق خفض لمجتمع العثة وصل الى 85%.

جدول (2) معدلات النسب المئوية لأعداد بيض عثة درنات البطاطا المصابة بفعل الطفيل *Trichogramma evanescens* وأعداد العذارى وكاملات الناتجة

بيض بعمر (3-4) يوم					بيض بعمر (1-2) يوم					مدة التعرض / (ساعة)
معدل للتطفل %	معدل عدد كاملات العائل الناتجة %	معدل عدد كاملات الطفيل الناتجة %	معدل عذارى الطفيل الناتجة %	معدل لهلاك البيض %	معدل للتطفل %	معدل عدد كاملات العائل الناتجة %	معدل عدد كاملات الطفيل الناتجة %	معدل عدد عذارى الطفيل الناتجة %	معدل لهلاك البيض %	
0.00	90.00	0.00	0.00	10.00	0.00	90.00	0.00	0.00	10.00	السيطرة
15.0	42.32	18.33	18.25	24.22	20.0	35.50	23.50	26.50	28.30	24
20.0	40.75	22.00	26.50	30.32	25.0	30.50	28.41	30.32	42.66	48
40.0	30.20	26.66	40.20	38.28	50.0	26.33	36.42	42.33	48.22	72
55.0	20.60	48.40	56.00	62.30	70.0	18.12	60.20	66.23	68.52	120

قيمة L.S.D عند مستوى احتمال $P \leq 0.05$ ما بين مدة التعرض في معدل هلاك البيض = 2.854

قيمة L.S.D عند مستوى احتمال $P \leq 0.05$ ما بين مدة التعرض في معدل عدد عذارى المتطفل الناتجة = 1.079

قيمة L.S.D عند مستوى احتمال $P \leq 0.05$ ما بين مدة التعرض في معدل عدد كاملات المتطفل الناتجة = 1.532

قيمة L.S.D عند مستوى احتمال $P \leq 0.05$ ما بين مدة التعرض في معدل عدد كاملات العائل الناتجة = 2.340

المصادر References

1. الجابري ، عباس حنتوش والعلوي ،سعدي عبد المحسن (1974): دودة درنات البطاطا. وزارة الزراعة - قسم مكافحة الآفات الزراعية- رسالة المرشد الزراعي - الحلقة 105. بغداد.
2. الراوي ، خاشع محمود وخلف الله ، عبد العزيز محمد (2000) : تصميم و تحليل التجارب الزراعية . مطابع مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل - العراق. 488 صفحة .
3. الربيعي، حسين فاضل؛ عدنان حافظ سلمان؛ جلال بليل حمود وشيماء عبد الكريم الطائي(2008) : استخدام متطفل البيض *Earias insulana* (Boisd) في السيطرة على دودة جوز القطن الشوكية *Trichogramma evanescens* Westwood . مجلة الزراعة العراقية. 13(1): 20- 27 .
4. السلتي ، محمد نايف ؛ نزار نومان العنبيكي و ليث عادل محمد(2003): نحو تحقيق مكافحة متكاملة لآفات القطن الحشرية في العراق . المؤتمر العربي الثامن لعلوم وقاية النبات . ليبيا – الدار البيضاء ، 12-16 ، ت 1 .
5. بشير، عبد النبي محمد ؛ محمد زهير محملجي و عبد الله خالد (2011): تقصي المتطفلات الحشرية المرافقة لحشرة دودة اللوز الأمريكية (*Helicoverpa armigera* (Hübner) Lepidoptera: Noctuidae) في بعض حقول القطن في محافظة الحسكة .
6. محسن، آلاء عبد الحسن(2001): مكافحة عثة التين (*Ephestia cautella* (Walk.) (Lepidoptera: Pyralidae) باستعمال الطفيلي (*Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) وأشعة كاما . رسالة ماجستير ،كلية التربية للبنات ، جامعة بغداد : 73 صفحة.
7. Al- Taweel, A. A. ;Ahmed, M. S. H.;Kadhun, S. S. and Hameed, A. A. (1990): Effect of Gamma Radiation on the Progeny of Irradiated *Ephestia cautella* (Walk.) (Lepidoptera: Pyralidae) Males. J. Stor. Prod. Res. 26(4): 233- 236.
8. Elmondarawy, M. B. ;Abdel- Samea, S. A. and El- Naggar, M. A. (2003) : Application of *Trichogramma evanescens* West. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for Controlling the European Corn Borer *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). Egypt. J. Biol. Pest Cont. 14(1): 21–29.
9. Keasar, T. and Sadeh, A.(2007): The Parasitoid *Copidosoma koehleri* Provides Limited Control of the Potato Tuber Moth, *Phthorimaea operculella*, In Stored Potatoes. Biol. Cont. 42(1): 55- 60 .
10. Landge, S. ;Wakhede, S. and Gangurde, S. (2009): Comparative Biology of *Habrobracon hebetor* (Say) on *Corcyra cephalonica* and *Opisina arenosella*. Int. J. Plant Prot. 2: 278 – 280.
11. Nauen, R.;Stumpf, N. ;Elbert, A.;Pwzebitz, C. and Kraus, W.(2001): A acaricide Toxicity and Resistance in Larvae of Different Strains of *T. urticae* and *P. ulmi* (Acari: Tetranychidae). Pest Manag. (57): 253-261.
12. Philips, T. W. and Throne, J. E. (2010): Biological Approach to Managing Stored Product Insect. Annu. Rev. Entomol. 55: 375-397.
13. Rizk, S. A. and El- Sinary, N. H.(2009): Enhancement of *Trichogramma evanescence* Westwood As Biological Control Agents by Grape Seeds Against Irradiated and non- Irradiated Potato Tuber Moth *Phthorimaea operculella* Eggs. Egypt. J. Rad. Sci. and Appl. 22(1): 129- 137.
14. Saour, G. (2004): Parasitization of Potato Tuber Moth Eggs (Lepidoptera: Gelechiidae) from Irradiated Adults by *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and Control of Moth Population With Combined Releases of Sterile Insect and Egg Parasitoids . J. Appl. Entomol. 128: 681- 686 .