

Agrologia

Jurnal Ilmu Budidaya Tanaman

Volume 5, Nomor 1, April 2016

POPULASI BAKTERI DAN JAMUR SERTA PERTUMBUHAN TANAMAN TEH (*Camellia sinensis* L.) PADA DUA JENIS MEDIA TANAM SETELAH INOKULASI *Azotobacter*

Hindersah, R., Adityo, B., dan P. Suryatmana

EFEKTIFITAS EKSTRAK CABAI MERAH (*Capsicum annum* L) TERHADAP MORTALITAS KUTU DAUN (*Aphis gossypli*) PADA TANAMAN CABAI

Nindatu, M., Moniharapon, D., dan S. Latuputty

KEPADATAN BAKTERI TOTAL DAN *Azotobacter* sp DI RIZOSFER SELADA (*Lactuca sativa* L.) SETELAH APLIKASI KASING DAN PUPUK NPK

Damayani, M., Hindersah, R. dan Y. Rahman

PREDIKSI EROSI DAN ARAHAN PENGGUNAAN LAHAN DI BAGIAN HULU DAS WAI ILLA DESA AMAHUSU KECAMATAN NUSANIWE KOTA AMBON

Ruddy Soplanit, R., Putinella, J.A. dan E.V. Siwalette

PENDAPATAN USAHATANI TANAMAN KAKAO (*Teobroma cacao*) Di KELURAHAN HINEKOMBE, DISTRIK WAIBU, KABUPATEN JAYAPURA

Wonda, M dan E. Tomayahu

PERUBAHAN PENGGUNAAN LAHAN DAN DAMPAKNYA TERHADAP EROSI DI DAERAH ALIRAN SUNGAI WAE LELA KOTA AMBON

Buton, R., Soplanit, R, dan A. Jacob

KEPADATAN BAKTERI TOTAL DAN *Azotobacter* sp DI RIZOSFER SELADA (*Lactuca sativa* L.) SETELAH APLIKASI KASING DAN PUPUK NPK

Maya Damayani¹, Reginawanti Hindersah¹, Yusuf Rahman²

¹Fakultas Pertanian Univesitas Padjadjaran

²Alumni Fakultas Pertanian Univesitas Padjadjaran

Email: damayani@unpad.ac.id

ABSTRAK

Aplikasi bahan organik disertai pemupukan anorganik yang seimbang dapat menjaga keberadaan mikroba potensial di rizosfer dan selanjutnya menjamin kualitas tanah yang berkelanjutan. Percobaan rumah kaca ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kasing dan pupuk NPK terhadap populasi bakteri total dan populasi *Azotobacter* sp. di rizosfer serta hasil tanaman selada (*Lactuca sativa* L.) yang ditanam di tanah Inceptisol. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok pola faktorial dengan tiga ulangan yang menguji tiga taraf dosis kasing (7,5; 15 dan 22,5 t ha⁻¹) dan empat taraf dosis pupuk NPK (300; 450; 600 dan 750 kg ha⁻¹). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada interaksi yang nyata antara kasing dengan pupuk NPK terhadap populasi bakteri total, populasi *Azotobacter* sp dan bobot hasil selada. Baik kasing maupun pupuk NPK tidak mempengaruhi kedua parameter biologis. Namun aplikasi 750 kg/ha pupuk NPK menghasilkan peningkatan bobot selada sebesar 24% bila dibandingkan dengan kontrol. Penelitian ini menjelaskan bahwa di tanah yang relatif miskin unsur hara, pertumbuhan tanaman selada tergantung dari pupuk anorganik.

Kata kunci: Mikroba rizosfer, Selada, Kasing, Pupuk NPK

TOTAL BACTERIA AND *Azotobacter* COUNT IN THE RHIZOSPHERE OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L.) FOLLOWING VERMICOMPOST AND NPK FERTILIZATION

ABSTRACT

Organic matter and inorganic fertilizer application are important to maintain the existence of potential microbes in the rhizosphere and maintain the soil quality. A greenhouse experiment has been carried out to determine the effect of vermicompost and NPK fertilizer on total bacterial and *Azotobacter* population in rhizosphere and yield of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in soil order of Inceptisols. The experimental design was a factorial randomized complete block design with three replicates were tested three doses of vermicompost (7.5, 15 and 22.5 t ha⁻¹) and four doses of inorganic fertilizers; NPK (300; 450; 600 and 750 kg ha⁻¹). The results showed that there was no significant interaction between vermicompost and NPK fertilizer on either total bacterial or *Azotobacter* population, as well as on fresh weight of lettuce. Both vermicompost and NPK fertilizer did not affect the biological parameters. However, the application of 750 kg/ha NPK fertilizer can increased lettuce weight up to 24% compared to that of control. This study suggested that in the relatively poor soil nutrients, lettuce growth was depend on inorganic fertilizers.

Key words: Rhizosphere microbe, Lettuce, Vermicompost, NPK fertilizer

PENDAHULUAN

Tanah adalah lingkungan dinamis tempat interaksi antara komponen biotik dan abiotik dengan suhu, iklim dan faktor lingkungan. Tanah yang sehat, memiliki kemampuan dalam menyangga keseimbangan ekologis, memelihara kualitas air dan udara

serta memiliki produktivitas biologis yang baik sehingga dapat mendukung pertumbuhan tanaman dan kelestarian ekosistem tanah (FAO, 2015). Tanah yang sehat merupakan suatu sistem hidup, ekosistem dinamis yang mawadahi organisme dan mikroorganisme yang berperan penting

dalam dekomposisi bahan organik menjadi nutrisi tanaman (Powlson *et al.*, 2001).

Fluventic Eutrudepts suatu famili tanah dari ordo Inceptisols diidentifikasi sebagai tanah kurang sehat karena mengandung sedikit unsur hara dan pH masam sekitar 4.30 – 5.30 dan berliat. Dalam produksi tanaman, kendala tersebut diatasi melalui pengelolaan tanah terpadu usaha perbaikan sifat fisik, kimia dan biologi tanah. Pemberian kascing dan pupuk NPK diharapkan dapat meningkatkan kepadatan komponen biotik khususnya mikroba di rizosfer sebagai salah satu indikator kesehatan tanah. Mikroba tanah seperti bakteri berperan penting dalam siklus unsur hara. Bakteri pemfiksasi nitrogen N₂ yang mengkolonisasi rizosfer selain berperan menyediakan nitrogen untuk diserap tanaman, juga menyediakan fitohormon (Hindersah dan Simarmata, 2004; Mulat, 2003). Selain itu bakteri ini juga menghasilkan eksopolisakarida (Emtiazi *et al.*, 2004; Hindersah *et al.*, 2006) yang berperan membentuk agregat dan pori tanah (Alami *et al.*, 2000).

Bahan organik seperti kascing (media bekas pertumbuhan cacing tanah) dapat menyediakan banyak nutrisi yang menunjang perkembangan dan pertumbuhan bakteri tanah terutama yang bersifat heterotrof (Cooperhand, 2002). Bakteri heterotrof berperan penting dalam siklus elemen yang selanjutnya menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan tanaman (Zucco *et al.*, 2015). Pemberian pupuk kascing pada taraf 4 t ha⁻¹ meningkatkan pertumbuhan dan bobot tongkol jagung manis di tanah Oxisols yang lebih miskin daripada Inceptisols (Tarigan *et al.*, 2002). Pemupukan NPK selain meningkatkan ketersediaan unsur hara nitrogen, fosfor dan kalium untuk tanaman, juga menjadi sumber unsur hara makro bagi bakteri tanah. Penelitian Reddy dan Reddy (1998) menyatakan bahwa pemberian bahan organik dan pupuk anorganik dapat meningkatkan jumlah populasi bakteri tanah sebesar 2.21×10^6 cfu/g bila dibandingkan dengan tanah yang tidak diberi pemupukan.

Aplikasi kascing dan pupuk NPK yang tepat dosis diharapkan dapat mengoptimalkan kondisi rizosfir untuk perkembangan bakteri tanah Percobaan rumah kaca ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kascing dan pupuk NPK terhadap populasi bakteri total dan populasi *Azotobacter* sp. di rizosfer serta hasil tanaman selada (*Lactuca sativa* L.) yang ditanam di ordo tanah Inceptisols.

METODOLOGI

Percobaan dilakukan di rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran Jatinangor Kabupaten Sumedang pada ketinggian tempat \pm 745 m di atas permukaan laut. Media tanam adalah tanah ordo Inceptisols Famili Fluventic Eutrudepts Jatinangor (Liat, pH 5.1; C-Organik sedang 2.19 %; N total sedang 0,3 %, C/N 7; P total rendah 1.85 mg 100g⁻¹, K total sedang 21,2 mg 100/g).

Rancangan Percobaan

Percobaan rumah kaca ini dirancang dalam Rancangan Acak Kelompok pola Faktorial yang terdiri atas 2 faktor dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah dosis pupuk kascing yang terdiri dari atas 7,5; 15 dan 22,5 t/ha setara dengan 37,5; 75 dan 112,5 g per polibeg. Faktor kedua adalah dosis pupuk NPK terdiri atas 300, 450, 600 dan 750 kg/ha setara dengan 1,50, 2,25, 3,0 dan 37,5 g per polibeg

Percobaan Rumah Kaca

Bibit tanaman selada ditanam di polibag berisi 10 kg tanah yang telah diberi kascing sesuai dengan perlakuan. Media tanam ini diikubasi selama tujuh hari. Satu hari setelah tanam pupuk NPK sesuai perlakuan dibenamkan ke lubang larikan pada jarak 15 cm dari letak daun terluar, kemudian ditutup dengan selapis tanah. Tanaman ditempatkan di dalam rumah kaca dengan tata letak teracak dan disiram setiap hari sampai dengan kapasitas lapang.

Percobaan dibuat sebanyak dua unit. Unit pertama digunakan untuk pengamatan

kepadatan bakteri total dan populasi *Azotobacter* sp pada saat 14 hari setelah tanam (HST). Unit kedua digunakan akan didestruksi untuk analisis pH tanah, populasi bakteri total dan populasi *Azotobacter* sp pada saat 40 HST.

Parameter Percobaan

Pada 14 dan 40 HST tanah rizosfer dikoleksi dengan melepaskan tanah yang menempel sekitar 5 cm di permukaan akar. Bakteri total tanah ditentukan dengan metode pengenceran plat pada media agar nutrisi (Schinner, 1995) sedangkan kepadatan pada media Ashby bebas nitrogen menurut Subba Rao (1982). Pada saat panen, bobot tajuk (batang dan daun) tanaman ditimbang secara terpisah. Tanah di dalam polibag dibebaskan dari perakaran dan ditentukan kemasamannya (pH H₂O) diukur dengan metode potensiometri.

Analisis Statistik

Data kepadatan bakteri total, *Azotobacter*, bobot tajuk tanaman, dan pH tanah dianalisis dengan Analisis Ragam dengan Uji F pada taraf kepercayaan 95 %. Signifikansi antar perlakuan ditentukan dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf yang sama. Analisis statistik menggunakan Sigma Stat ver 2.01.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kepadatan Bakteri di Rizosfer Selada

Baik pada hari ke 14 maupun 40 setelah tanam, tidak terjadi interaksi yang nyata antara efek berbagai dosis kascing dengan pupuk NPK terhadap bakteri total tanah di rizosfir selada. Selain itu, peningkatan dosis kascing maupun pupuk NPK tidak meningkatkan populasi bakteri total tanah (Tabel 1 dan 2). Kascing dengan dosis berapapun tidak berpengaruh terhadap kepadatan *Azotobacter* sp. baik pada pengamatan pertama maupun kedua (Tabel 3 dan 4). Namun, pada hari ke 14, dosis NPK 750 kg/ha meningkatkan populasi *Azotobacter* di rizosfer.

Sebelum tanam, tanah (bulk soil; tanah non rizosfer) mengandung bakteri total dan *Azotobacter* sp sebanyak masing-masing 10⁶ dan 10³ cfu/g. Populasi kedua kelompok bakteri meningkat setelah penanaman. Kepadatan bakteri total meningkat sampai 1 unit log tetapi kepadatan *Azotobacter* sp. tidak meningkat banyak.

Produksi selada yang intensif di tanah yang lebih kaya bahan organik seperti Andisols, dilakukan dengan menambahkan 15-20 kg t/ha pupuk organik. Penurunan dosis sampai 7.5 t/ha ternyata tidak mempengaruhi kepadatan bakteri total maupun *Azotobacter* di rizosfer. Namun pada hari ke 40 kepadatan kelompok bakteri total cenderung meningkat sedangkan *Azotobacter* sp. cenderung lebih rendah.

Tabel 1. Pengaruh pupuk kascing dan pupuk NPK terhadap kepadatan bakteri total pada 14 HST.

Kascing (t ha ⁻¹)	Pupuk NPK (kg/ha)				Rata-rata
	300	450	600	750	
	----- 10 ⁷ cfu g ⁻¹ -----				
7.5	7.86	7.82	7.9	7.90	7.90 a
15	7.97	7.93	7.87	7.87	7.86 a
22.5	7.88	7.9	7.94	7.89	7.91 a
Rata-rata	7.90 a	7.88 a	7.90 a	7.88 a	

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 95 %.

Tabel 2. Pengaruh pupuk kascing dan pupuk NPK terhadap kepadatan bakteri total pada 40 HST

Kascing (t ha ⁻¹)	Pupuk NPK (kg/ha)				Rata-rata
	300	450	600	750	
	----- 10 ⁷ cfu g ⁻¹ -----				
7.5	7.95	8.03	8.11	8.03	8.03 a
15	7.98	8.03	7.89	7.96	7.97 a
22.5	7.95	7.98	7.99	7.88	7.95 a
Rata-rata	7.96 a	8.01 a	8.00 a	7.96 a	

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 95 %.

Tabel 3. Pengaruh pupuk kascing dan pupuk NPK terhadap kepadatan bakteri *Azotobacter* spp. pada 14 HST

Kascing (t ha ⁻¹)	Pupuk NPK (kg/ha)				Rata-rata
	300	450	600	750	
	----- 10 ³ cfu g ⁻¹ -----				
7.5	4.18	4.25	3.76	4.33	4.13 a
15	3.99	4.08	3.71	4.07	3.96 a
22.5	4.45	4.21	3.79	4.18	4.16 a
Rata-rata	4.21 b	4.18 b	3.75 a	4.19 b	

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 95 %.

Tabel 4. Pengaruh pupuk kascing dan pupuk NPK terhadap kepadatan bakteri *Azotobacter* spp. pada 40 HST

Kascing (t ha ⁻¹)	Pupuk NPK (kg/ha)				Rata-rata
	300	450	600	750	
	----- 10 ³ cfu g ⁻¹ -----				
7.5	4.01	3.93	3.89	3.87	3.93 a
15	3.89	3.93	3.97	3.92	3.93 a
22.5	3.95	3.96	3.80	4.02	3.94 a
Rata-rata	3.95 a	3.94 a	3.89 a	3.94 a	

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 95 %.

Kemasaman media tanah pada percobaan ini adalah 5,0. Kondisi tanah masam dapat menghambat pertumbuhan bakteri total tanah dan aktivitas dekomposisi bahan organik. Bakteri tumbuh optimum pada pH 6 – 8. Pada pH yang masam, pertumbuhan bakteri cenderung berkompetisi dengan fungi yang pada penelitian ini tidak ditentukan populasinya. Kemasaman tanah setelah panen adalah tetap masam pada

kisaran 4,92-5,09 tergantung dari perlakuan (Tabel 5).

Suhu tanah berpotensi meningkat sebagai akibat dari suhu rumah kaca tinggi (di siang hari 34 °C – 39 °C); merupakan salah satu faktor penghambat pertumbuhan *Azotobacter* sp. Menurut Sethi dan Adhikary (2012) *Azotobacter* sp tumbuh optimal pada kisaran suhu 30 °C - 35 °C, dan aktivitas *Azotobacter* sp pada suhu tinggi akan lebih sensitif terhadap pH masam.

Tabel 5. Pengaruh pupuk kascing dan pupuk NPK terhadap pH tanah pada 40 HST

Kascing (t ha ⁻¹)	Pupuk NPK (kg/ha)				Rata-rata
	300	450	600	750	
7.5	5.02	4.87	4.85	4.97	4.92 a
15	5.14	5.06	4.87	4.90	4.99 a
22.5	5.12	5.05	4.95	5.07	5.04 a
Rata-rata	5.09 a	4.99 a	4.89 a	4.98 a	

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 95 %.

Penelitian jangka panjang Srivastava dan Lai (1994) menjelaskan tidak ada peningkatan kadar karbon organik total yang proporsional dengan input pupuk NPK tetapi jelas kadarnya meningkat pada plot yang diberi pupuk organik dan pupuk organik dan NPK. Aplikasi pupuk NPK dan pupuk kotoran ternak selama 30 tahun memperlihatkan peningkatan biomassa mikroba melalui biomassa karbon mikroba tanah dan aktivitas dehidrogenase (Bhattacharyya *et al.*, 2008). Ini menjelaskan bahwa pupuk organik menjaga keberadaan bahan organik di tanah yang menjadi sumber karbon bagi mikroba. Penelitian dengan selada ini hanya dilakukan selama 40 hari, agaknya tidak cukup untuk memperlihatkan efek bahan organik maupun pupuk anorganik terhadap proliferasi bakteri sehingga tidak ada pengaruh kedua input terhadap peningkatan kepadatan bakteri.

Pada penelitian yang sama, C, N dan P biomassa mikroba tanah meningkat sebesar lebih dari pada plot yang diberi pupuk NPK, bahan organik maupun bahan organik + NPK (Srivastava dan Lal (1994). Perkembangan mikroba juga ditentukan oleh pupuk NPK sebagai penyumbang N dan P tersedia bagi metabolisme mikroba. Jadi, persaingan antar tipe mikroba untuk mendapatkan N dan P dapat menyebabkan tidak ada efek kascing maupun NPK terhadap bakteri total dan *Azotobacter* sp. di rizosfer selada pada penelitian ini.

Hasil Tanaman Selada

Pengaruh berberbagai dosis kascing terhadap bobot segar tajuk selada tidak ditentukan oleh dosis pupuk NPK yang diberikan. Secara mandiri, kascing tidak mempengaruhi bobot tajuk tetapi aplikasi 750 kg/ha meningkatkan bobot tajuk selada dengan nyata (Tabel 6).

Pada tanaman bawang daun, aplikasi kascing sampai 9 t/ha disertai pemupukan N juga tidak berinteraksi. Hanya pemupukan N yang dengan nyata meningkatkan bobot segar tanaman. (Rahayu *et al.*, 2002) meskipun berinteraksi untuk beberapa paramter

pertumbuhan. Bobot selada tidak mengalami peningkatan setelah peningkatan dosis kascing menunjukkan bahwa pada tanah dengan C organik sedang (2,19%), pupuk organik yang diberikan cukup 7,5 t/ha.

Tabel 6. Berat basah tanaman selada akibat pemberian kascing dan NPK

Kascing (t ha ⁻¹)	Pupuk NPK (kg/ha)				Rata-rata
	300	450	600	750	
	----- 10 ³ cfu g ⁻¹ -----				
7.5	121.3	138.7	119.7	146.0	131.42 a
15	122.7	116.0	149.7	127.7	129.02 a
22.5	139.0	118.7	131.7	151.3	135.17 a
Rata-rata	127.6 a	124.4 a	133.7 a	141.66 b	

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 95 %.

Pemupukan NPK jelas berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman. Pupuk anorganik tetap dapat diandalkan untuk menyediakan unsur hara di dalam jangka pendek Di lain pihak kandungan unsur hara di kascing relatif rendah dan pelepasan unsur hara dari komponen organik kascing memerlukan waktu yang tidak singkat. Meskipun demikian, efek positif kascing akan terlihat pada jangka panjang. Oleh karena itu diperlukan suatu percobaan yang meliputi beberapa kali masa tanam terutama di lapangan untuk membuktikan peran kascing dalam pertanian berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

Alami, Y., W. Achouak, C. Moral, and T. Heulin, 2000. Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp. strain isolated from sunflower roots. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:3393-3398

Bhattacharyya, R., S Kundu, V. Prakash, HS. Gupta. 2008. Sustainability under combined application of mineral and organic fertilizers in a rainfed soybean-wheat system of the Indian Himalayas. *European journal of agronomy* 28:33-46

Cooperhand, L. 2002. Building Soil Organic Matter with Organic Amandements : Center for Integrated Agricultural Systems (CIAS). College of Agricultural and Life Sciences. University of Wisconsin.

Emtiazi, G., Ethemadifar, Z. and M.H. Habibi. 2004. Production of extracellular polymer in *Azotobacter* and biosorption of metal by exopolymer. *Afr. J. Biotech.* 3:330-333

FAO. 2015. Healthy Soils are te Basis for Healthy Food Production. Food and Agriculture Organization. Rome. <http://www.fao.org/soils->

- 2015/news/news-detail/en/c/277682/
[17/07/2014]
- Hindersah, R., dan T. Simarmata. 2004. Kontribusi Rizobakteri *Azotobacter* dalam Meningkatkan Kesehatan Tanah melalui Fiksasi N₂ dan Produksi Fitohormon di Rizosfir. *Jurnal Natur Indonesia* 6: 127-133
- Hindersah, R., Arief, D. H., Soemitro, S. dan L. Gunarto. 2006. Exopolysaccharide Extraction from Rhizobacteria *Azotobacter* sp. Proc. International Seminar IMTGT. Medan, 22-23 Juni 2006. Hal 50-55
- Powlson, D.S., Hirsch, P.R. and P.C. Brookes. 2001. The role of soil microorganisms in soil organic matter conservation in the tropics. *Nutrient Cyc. in Agroecosystems*. 61(1):41–51
- Rahayu, I.L.S., Aini, N. dan M. Santoso. 2002. Pengaruh pemberian dosis pupuk organik kascing dan pupuk urea terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman bawang daun (*Allium fistulosum* L) varietas Seagon. *Agrivita* 24:44-51.
- Sethi, S.K., and S.P. Adhikary. 2012. *Azotobacter*, A Plant Growth-Promoting Rizobacteria Used as Biofertilizer. *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology*. 6:68-74
- Schinner, F., R. Ohlinger, E. Kandeler, and R. Margesin. 1995. *Methods in Soil Biology*. Springer-Verlag. Berlin
- Srivastava, S.C. and J.P. Lal. 1994. Effects of crop growth and soil treatments on microbial C, N, and P in dry tropical arable land. *Biol Fertil Soils*. 17:108-114
- Subba-Rao. 1982. *Biofertilizers in Agriculture*. Oxford dan IBH Publ.Co. New Delhi.
- Tarigan, T., Sudiarso, dan Respatijarti. 2002. Studi tentang dosis dan macam pupuk organik pada pertumbuhan dan hasil tanaman jagung manis (*Zea mays saccharata* Stuart). *Agrivita* 24:52-56
- Zucco, M.A., Walters, S.A., Chong, S-K., Klubek, B.P. and J.G. Masabni. 2015. Effect of soil type and vermicompost applications on tomato growth. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*. 5(4):135–141