

И.К.Киршин
Уральский университет

К ВОПРОСУ О ДВУХФАЗНОСТИ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ
ИНДУКЦИИ ЦВЕТЕНИЯ СЕЯНЦЕВ ОЗИМОЙ ФОРМЫ
BROMOPSIS FOURR. , В ЧАСТНОСТИ В.ЕРЮСТА
(HUDS.) FOWER.З.Л.

После открытия фотопериодизма у растений и . разделения изученных видов по реакции на длину дня переходом к цветению на короткодневные, длиннодневные и нейтральные (Garner a. Allard , 1920) были установлены и другие типы фотопериодической реакции и показана принадлежность тех или иных растений еще к четырем фотопериодическим группам: стенофотопериодической, амфифотопериодической, длинно-короткодневной и коротко-длиннодневной (Аксенова и др., 1973; Киршин, 1980; Бернье и др. 1985).

Растения, отнесенные по результатам экспериментальных исследований к двум последним фотопериодическим группам, обладают сложной реакцией на воздействие длины дня. Индукция цветения у них происходит в две фазы. Для перехода в генеративное состояние длинно-короткодневные растения должны подвергаться воздействию сначала длинного, потом короткого дня, а коротко-длиннодневные растения - наоборот (Sachs, 1959; Леопольд, 1968).

К группе короткодневных растений относятся некоторые многолетние и однолетние озимые растения, у которых, как оказалось, яровизация побегов под влиянием низких осенних температур может быть заменена воздействием короткого дня (Никифоров, 1966; 1974; Долгушин, Никифоров, 1968; Киршин, 1972; Киршин, Стефанович, 1983; Фомин, 1976; Mc Kinney, Sando, 1935 ; Grego-гу, Purvis, 1955; Chouar , 1957; Wellensick, 1960; Thomas, 1961; Runger, 1962; Salisbury, 1963; Evans, 1964; Ketel-loppe, Barbaro, 1966; Pressman, Negbi, 1980; Heide , 1984).

После временного воздействия короткого дня растения могут перейти в генеративное состояние только при последующем воздействии длинного дня. В этих условиях закладывается зачаточное

соцветие, происходит естественный морфогенез и наступает фаза цветения. К этой фотопериодической группе относятся колокольчик средний, скабиоза сукцисса, клевер ползучий, кореопис крупноцветковый, гортензия крупнолистная, ешеверия Гармса, озимая пшеница, озимый ячмень, некоторые сорта ежи сборной и райграса пастбищного.

Экспериментируя с кострцом безостым на первом году жизни, мы установили, что он обладает коротко-длиннодневной фотопериодической реакцией и отнесли его к группе коротко-длиннодневных растений (Киршин, 1970, 1972, 1972а). Были выяснены необходимые условия и определена продолжительность прохождения короткодневной и длиннодневной фаз индукции цветения, установлены для них оптимальные и критические фотопериоды. В нашей недавней работе (Киршин, Стефанович, 1983) было показано качественное различие в требованиях озимой формы растений к длине фотопериода при прохождении первой и второй фаз индукции цветения. Двухфазность этого процесса у кострца безостого была надежно доказана.

В ходе опытов с кострцом безостым возник вопрос, не обладают ли коротко-длиннодневной фотопериодической реакцией по переходу к цветению и другие неморальные виды кострца, и нельзя ли у них искусственно, как у к. безостого, вызвать переход в генеративное состояние, колошение и цветение семянцев в год посева? Для решения этого вопроса в течение ряда лет проводились вегетационные опыты. Некоторые результаты этих исследований сообщаются в настоящей статье.

Методика

Исследования проводились с кострцом безостым сорт Свердловский 38, взятым в качестве контроля, к. ангренским, к. Бенекена, к. береговым, к. Биберштейна, к. прямым. Образцы семян получены из разных ботанических садов и ВИРа. Посев в вегетационные сосуды, наполненные светло-серой слабоподзолистой почвой с добавлением торфа, производили в середине мая. В почву вносили минеральное удобрение из расчета на 1 кг $0,15$ г N, $0,10$ г P_2O_5 и $0,10$ г K_2O . В этих же дозах удобрения в качестве подкормки вносили в июле. Влажность почвы поддерживалась регулярным поливом.

При появлении всходов производилось прореживание. Учетных

растений в каждом сосуде было по 5, повторность по сосудам 3-4-кратная. При испытании наборов видов на проявление коротко-длиннодневной фотопериодической реакции растения выращивались при различных фотопериодических режимах. В этой статье приводятся данные по трем вариантам: 1 - выращивание семян все время при естественной долготе дня (ДД); 2 - все время при 12-часовом дне (КД); 3 - после всходов во время прохождения квинильной фазы 2 недели при ДД, затем 3 недели при КД, после чего до осени при ДД (2ДД-3КД).

В отдельном опыте с к.прямым определяли оптимальный и критические фотопериоды при прохождении короткодневной (1-я серия) и длиннодневной (2-я серия) фаз индукции цветения семян. В первой серии растения после всходов в течение двух недель выращивались при ДД, затем в течение трех недель подвергались воздействию разных фотопериодов: 9, 11, 13, 15 часов и ДД (изменение с 17 час 47 мин через 17 час 50 мин до 17 час 34 мин), после чего переводились на ДД. Во второй серии растения после всходов две недели выращивались при ДД, затем три недели при КД, после чего в течение трех недель подвергались воздействию варьируемых фотопериодов: 13, 14, 15, 17 часов и ДД (изменение с 17 час 34 мин до 16 час 37 мин) и возвращались в условия КД.

12-часовой фотопериод (КД) создавался накрыванием растений большими ящиками-затемнителями с 20 часов до 8. В опыте с варьируемыми фотопериодами время накрывания и открывания растений было рассчитано на каждый день, исходя из естественной долготы дня. При этом гражданские сумерки не брались во внимание.

В качестве результативных признаков взяты: количество выколосившихся растений и количество образовавшихся генеративных побегов в среднем на сосуд и ряд других показателей.

Результаты

В 1978 г. в одном опыте изучалась фотопериодическая реакция к.безостого и к.прямого. Как видно из табл. I, при постоянном выращивании в условиях ДД у к.безостого образовались единичные генеративные побеги, а у к.прямого таких побегов не образовалось. При КД растения обоих видов оставались до осени в состоянии укороченных вегетативных побегов. В варианте 2 неде-

Таблица I

Влияние фотопериодических режимов на количество выколосившихся растений в год посева у двух видов коостреца, % (1978 г.)

Виды, сорта	ДД все время	КД все время	2ДД- -3КД
К.безостый Свердловский 38	13	0	100
К.прямой Краснодарский 8	0	0	93

$$F_x = 13^{xxx}$$

Примечание. В этой и следующих таблицах и в подписи к рисунку звездочками обозначена достоверность критерия Фишера : xxx - 0,999; xx - 0,99; x - 0,95; нд - недостоверно.

ли ДД, затем 3 недели КД при последующем выращивании на ДД у к.безостого выколосились все растения, а у к.прямого большая их часть (93 %). Временное воздействие КД у обоих видов обеспечило переход в генеративное состояние и выколашивание озимой формы уже в год посева.

Такой же опыт был проведен в 1980 г. Кроме указанных в табл. I видов в него были включены еще два: к.Бенекена и к.береговой. У к.безостого, к.Бенекена и к.прямого часть растений выколосилась в год посева при выращивании в условиях ДД. Яровая форма в небольшом количестве была представлена использованным в этом опыте образцом к.прямого. Образец к.берегового состоял исключительно из озимой формы. В условиях ДД семена не могли получить индукцию цветения и в первый год жизни не выколосились. При постоянном выращивании в условиях КД растения всех испытываемых видов не получили индукцию цветения, поэтому оставались в состоянии укороченных вегетативных побегов.

После трехнедельного воздействия КД, начиная через две недели после всходов, у к.безостого, как и в предыдущем опыте, выколосились все растения, у остальных видов - большая часть растений. Следовательно, под влиянием КД и последующего воздействия ДД индукцию цветения получили озимые формы исследуемых видов. В условиях ДД у них сформировались генеративные побеги.

Таблица 2

Влияние фотопериодических режимов на переход в генеративное состояние в год посева растений некоторых видов костреца (1980г.)

В и д ы	Количество выколосившихся растений, %			Количество генеративных побегов в сосуде		
	ДД	КД	2ДД ЗКД	ДД	КД	2ДД ЗКД
К.безостый	40	0	100	8,3	0	32,3
К.Бенекена	20	0	93	2,0	0	16,7
К.береговой	0	0	93	0	0	20,3
К.прямой	30	0	73	4,3	0	13,3
Р			II ^{XXX}		9,3 ^{XXX}	7 ^{XXX}

Из табл.2 видно, что по количеству образовавшихся генеративных побегов в среднем на сосуд изучаемые виды образуют следующий ряд: к.безостый, к.береговой, к.Бенекена и к.прямой.

В 1982 г. изучалась фотопериодическая реакция у к.берегового и еще двух видов, ранее не испытанных (табл.3). При воздействии только ДД растений к.берегового, как и в предыдущем опыте, проявляли озимый тип развития. У к.ангреноского и к.Биберштейна выколосились единичные растения - яровые формы, обладающие длиннодневной фотопериодической реакцией. В условиях КД у всех трех видов, как и у ранее изучавшихся (табл.1 и 2), растения до конца вегетации оставались в вегетативном состоянии.

При режиме 2ДД ЗКД у к.ангреноского выколосились почти все, а у к.Биберштейна и к.берегового все растения, за которыми проводились наблюдения. При этом в генеративное состояние перешел и выколосился не только главный побег, но и по 1-3 побега второго порядка. Общее количество генеративных побегов в среднем на сосуд было больше у к.Биберштейна и меньше у к.берегового.

Опыт по выявлению двухфазной коротко-длиннодневной фотопериодической реакции был проведен в 1984 г. с ранее изучав-

Таблица 3

Влияние фотопериодических режимов на переход в генеративное состояние в год посева растений некоторых видов костреца (1982 г.)

В и д ы	Количество выколосившихся растений, %			Количество генеративных побегов в сосуде		
	ДД	КД	2ДД ЗКД	ДД	КД	2ДД ЗКД
К.ангренский	II	0	94	1,2	0	15,3
К.Биберштейна	II	0	100	1,3	0	18,5
К.береговой	0	0	100	0	0	12,3
Р		1,6 ^x			18,1 ^{xxx}	

шимися видами костреца, но с другими образцами семян (табл.4). В опыте было только два варианта фотопериодического воздействия: ДД и 2ДД ЗКД. При выращивании в условиях ДД у к.ангренского, к.Биберштейна образовались единичные генеративные побеги. У к.берегового и к.прямого их не было, а у к.безостого (образец из ВИРа) выколосилось немногим более половины растений.

В варианте 2ДД ЗКД индукцию цветения, как и в предыдущих опытах, получили озимые формы. Под влиянием последовательного воздействия сначала короткого, начиная через 2 недели после восходов, затем длинного дня у к.безостого и к.прямого перешли в генеративное состояние и выколосились все растения. У них в среднем на сосуд образовалось, соответственно, 17 и 12 генеративных побегов. У остальных видов выколосилось тоже значительная часть растений. У к.безостого выколосились кроме главного 2-3 побега второго порядка. У к.ангренского, к.Биберштейна и к.прямого выколосившихся боковых побегов было 1-2, а у к.берегового - 1.

В опыте с кострецом прямым в 1978 г. изучалось влияние длины фотопериодов при прохождении короткодневной и длиннодневной фазы индукции цветения в целях установления оптимальной и критической продолжительности воздействия. В обеих сериях опы-

Таблица 4

Влияние фотопериодических режимов на переход в генеративное состояние в год посева растений некоторых видов костреча (1984 г.)

Виды и образцы ВИР	Количество выколосившихся растений, %		Количество генеративных побегов в сосуде	
	ДД	2ДДЗКД	ДД	2ДДЗКД
К.Ангренский ВИР 35227	12	78	1,5	9,5
К.безостый ВИР 3658I	53	100	6,3	16,6
К.береговой ВИР 42325	0	80	0,0	3,3
К.Беберштейна ВИР 3276I	7	67	0,3	11,3
К.прямой Краснодарский 8	0	100	0,0	12,0
Элита	0	100	0,0	12,0
F	13,8 ^{xxx}		5,7 ^{xxx}	

та изменение длины фотопериода существенно влияло на количество выколосившихся в год посева растений. Влияние это, как видно на рисунке, проявлялось в противоположных направлениях. В первой серии (кривая I) после 3-недельного воздействия 9, II и I3-часовых фотопериодов во время прохождения короткодневной фазы индукции цветения выколосилась большая часть растений (80-93 %). Оптимальным по максимальному количеству выколосившихся растений (93 %) оказался II-часовой фотопериод. При воздействии I3-часового фотопериода индукцию цветения смогли получить несколько меньше растений. С увеличением фотопериода до I5 часов количество выколосившихся растений резко снизилось до 10 %, а при воздействии ДД этот показатель упал до 0: растения остались в вегетативном состоянии. Верхний критический предел длины фотопериода, обеспечивший прохождение первой фазы индукции у небольшой части растений, по данным этого опыта, равен I5 часам. Для уточнения его опыта следует проводить при малом шаге варьирования независимой переменной.

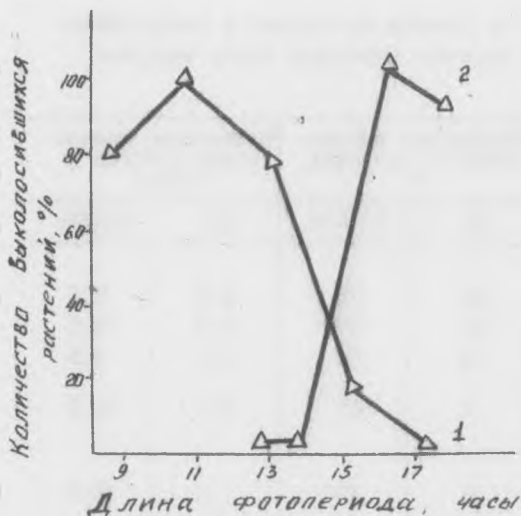


Рис. Влияние длины фотопериода при прохождении короткодневной (1) и длиннодневной (2) фаз индукции цветения костреца прямого, F для оценки данных, представленных на кривой 1, равен $10,6^{xxx}$, на кривой 2 — $20,0^{xxx}$.

Во второй серии опыта (кривая 2) после 3-недельного воздействия во время прохождения длиннодневной фазы индукции цветения 13- и 14-часовых фотопериодов растения не прошли эту фазу и при последующем выращивании в условиях КД оставались в вегетативном состоянии. После воздействия 15-часового фотопериода в условиях КД выколосилось 47 % растений, а 16-часового фотопериода — 100. После воздействия ДД по каким-то случайным причинам выколосилось немного меньше растений. Нижний критический предел фотопериода находится между 14 и 15 часами, а оптимум — 16 часов.

Длина фотопериода в обеих сериях опыта влияла на сроки наступления фенологических фаз. С ее увеличением немного сокращалось число дней от всходов до колошения и цветения. В первой серии после воздействия 9-часового фотопериода верхушка метелки появилась из влагалища последнего листа в среднем через 70, а 15-часового фотопериода — через 67 дней, а выход всей метелки, соответственно через 78 и 72 дня.

Во второй серии первый показатель после воздействия 15-часового фотопериода составил 72, ДД — 68 дней, а второй — 84 и 82 дня, соответственно.

В первой серии длина фотопериода не влияла на морфологические показатели. Длина генеративного побега, длина метелки, количество узлов на ее оси во всех вариантах одинаковы. Масса надземной части растений зависела от количества образовавшихся генеративных побегов. Во второй серии длина генеративных побегов увеличивалась с увеличением фотопериода с 51 до 65 см. Немного увеличивалась также длина метелки. У растений, индуцированных к цветению в условиях более продолжительного фотопериода, соцветия закладывались раньше и рост нижних междоузлий стебля начался в конце 3-недельного воздействия. У таких растений, как показано в нашей прежней работе (Киршин, 1976), рост стебля после перевода в условия КД тормозится в меньшей мере. После воздействия 16-часового фотопериода и ДД оказалась больше масса надземной части растений в воздушно-сухом состоянии - 51,0 и 59,3 г в среднем на сосуд против 46,7 г в варианте 15-часового фотопериода.

Обсуждение

Вегетационные опыты с видами кострца при указанных вариантах фотопериодического воздействия повторялись несколько раз с использованием для посева разных образцов семян. К.безостый в качестве контроля, к.прямой и к.береговой включались в 3, к.ангрэнский и к.Биберштейна - в 2 опыта. К.Бенекена по этой программе оценивался один раз, но с ним было проведено несколько многофакторных опытов по влиянию продолжительности последовательного воздействия после всходов ДД, КД и ДД.

Рассмотренные выше результаты подтверждают сделанное предположение: все испытанные виды на последовательном воздействии ДД-КД и снова ДД (вариант 2ДД 3КД) реагировали таким же образом, как и к.безостый, который был по данным прежних исследований отнесен к фотопериодической группе коротко-длиннодневных растений. В варианте 2ДД 3КД у к.ангрэнского в год посева зацветало в разных опытах 78-94 %, к.Бенекена - 93, к.берегового - 80-100, к.Биберштейна 67-100, у к.прямого - 73-100% растений. В варианте постоянного выращивания при ДД в генеративное состояние в небольшом количестве переходили лишь яровые формы, обладающие длиннодневной фотопериодической реакцией. У разных образцов, как было ранее показано на примере к.безосто-

го (Киршин и др., 1977), содержание яровых форм не одинаково. При выращивании в условиях КД все виды оставались в состоянии укороченных вегетативных побегов.

Таким образом, только под влиянием последовательного воздействия сначала КД, потом ДД у всех видов удалось вызвать искусственную индукцию цветения сеянцев в год посева. Следовательно, индукция цветения у них носит двухфазный характер.

Принадлежность видов к фотопериодическим группам короткодневных или длиннодневных растений устанавливается не просто по переходу к цветению или ускорению генеративного развития при воздействии, соответственно КД или ДД, а по реакции на изменение фотопериода. По этому критерию растениями короткого дня считаются такие, у которых реакции зацветания усиливаются с уменьшением фотопериода, а растениями длинного дня такие, у которых она усиливается с увеличением фотопериода (Леопольд, 1968; Киршин, 1980).

Этот критерий был применен Роем Саксом (Sachs, 1956) для оценки двухфазности индукции цветения длинно-короткодневного растения *Cerastium nocturnum*. В его опытах с изменением фотопериода при прохождении первой фазы с II до I3 часов количество зацветших растений увеличивалось от 0 до 100 %, а при прохождении второй фазы с увеличением фотопериода от 8 до I3 часов этот показатель уменьшался от 100 % до 0.

В последнем из рассмотренных выше опытов была показана реакция к.прямого на изменение фотопериода при прохождении короткодневной и длиннодневной фаз индукции цветения. Данные, представленные на рисунке, показывают, что у к.прямого, как и у к.безостого (Киршин, Стефанович, 1983), требования к длине фотопериода при прохождении первой и второй фаз индукции цветения противоположны. Для короткодневной фазы оптимальный фотопериод II часов. С увеличением фотопериода за пределы оптимума эффект снижается (кривая I). Для длиннодневной фазы оптимальный фотопериод I6 часов. Эффект возрастал с увеличением этого фактора с I4 до I6 часов (кривая 2).

Таким образом, реакция растений к.прямого и к.безостого на изменение фотопериода при прохождении короткодневной фазы индукции цветения похожа на фотопериодическую реакцию растений короткого дня, а реакция на изменение фотопериода при

прохождении длиннодневной фазы - фотопериодическую реакцию растений длинного дня. Результаты проведенного опыта убедительно доказывают двухфазность индукции цветения к.прямого и его принадлежность к фотопериодической группе коротко-длиннодневных растений.

Остальные испытанные виды костреца: к.ангреский, к.Бенекена, к.Береговой и к.Биберштейна при воздействии КД в течение 3 недель и последующем выращивании в условиях ДД, как было выше отмечено, переходили в генеративное состояние и цвели в первый год жизни в такой же мере, как и к.безостый, и к.прямой. Поэтому и их следует отнести к фотопериодической группе коротко-длиннодневных растений.

Выводы

1. У костреца ангреского, к.безостого, к.Бенекена, к.Биберштейна и к.прямого при последовательном выращивании сначала в условиях короткого, затем длинного дня можно искусственно вызвать переход озимых растений в генеративное состояние в первый вегетационный сезон.

2. Эти виды обладают двухфазной фотопериодической реакцией зацветания и по этому признаку относятся к фотопериодической группе коротко-длиннодневных растений.

3. Кострец безостый и к.прямой на изменение фотопериода при прохождении короткодневной и длиннодневной фаз индукции цветения реагируют противоположным образом. Их реакция во время первой фазы похожа на фотопериодическую реакцию короткого дня, а во время второй фазы - на фотопериодическую реакцию растений длинного дня.

Литература

Аксенова Н.П., Баврина Т.В., Константинова Т.Н. Цветение и его фотопериодическая регуляция. М. 1973.

Бернье Ж., Кине Ж.-М., Сакс Р. Физиология цветения:

В 2 т. Т.1: Факторы цветения/ Пер. с англ. М. 1985.
192 с.

Долгушин Д.А., Никифоров О.Д. Особенности стадийного развития однолетних растений // Вопросы генетики, селекции и семеноводства. Киев, 1968. Вып.8. С.225-243.

Киршин И.К. Осенняя индукция цветения многолетних зла-

ков // С.-х. биология. 1970. Т.5. № 6. С.829-835.

Киршин И.К. Генеративное развитие растений ковра безостого // Науч.-техн.бюл. Всес.селект.-гент.-ин-та. 1972. Вып.20. С.21-26.

Киршин И.К. Значение фотопериодического фактора для формирования генеративных побегов у луговых злаков // С.-х. биология. 1972. Т.7. № 5. С.699-706.

Киршин И.К. Рост стебля генеративного побега многолетних злаков под влиянием фотопериодического воздействия в разные сроки после завершения индукции цветения // Онтогенез травянистых поликарпических растений. Свердловск, 1976. С.29-42.

Киршин И.К. Рост и развитие растений: Индивидуальное развитие растений: Лекции по спецкурсу. Свердловск, 1980. 46 с.

Киршин И.К., Стефанович Г.С. Оценка двухфазности индукции цветения ковра безостого // С.-х. биология. 1983. № 5. С.65-73.

Киршин И.К., Стефанович Г.С., Дормидонтова И.М. Индукция цветения растений некоторых сортов и дикорастущих популяций ковра безостого // Онтогенез травянистых поликарпических растений. Свердловск, 1977. С.5-16.

Леопольд А. Рост и развитие растений / Пер.с англ. М. 1968. 496 с.

Никифоров О.А. О возможности выколашивания озимых, посеянных весной неярвизированными семенами // Вопросы генетики, селекции и семеноводства. Киев. 1966. С.3-10.

Никифоров О.А. Особенности прохождения вегетирующими растениями начальных этапов развития: Автореф.дис. ... д-ра биол.наук. М. 1974. 46 с.

Фосин Е.М. О фотопериодизме гортензии крупнолистной (*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) DC) // Охрана среды и рациональн.использ.растит.ресурсов // М.,1976. С.176.

Chonard P. La journée courte ou l'acide gibberellique comme succédané du froid pour la vernalisation d'une plante vivace en rosette, le scabiosa succisa L. // C.R.Acad. Sc.1957. V.245. N 26.P. 2520-2522.

Evans L.T. Reproduction // Grasses and grasslands.London, 1964. P.126-153.

Garner W.W., Allard H.A. Effect of relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants // J.Agric. Res. 1920.V. 18. N 11.P.553-606.

Gott M.B., Gregory F.G., Purvis O.N. Studies in vernalization of cereals. XIII. Photoperiodic control of stages in flowering between initiation and ear formation in vernalized and unvernallized Petkus winter rye // Ann.Bot. 1955, V.19. N 73. P. 87-126.

Heide O.M. Flowering requirements in *Bromus inermis*, a short-long-day plant // Plant Physiol. 1984. V.62. N 1. P. 59-64.

Ketellapper N.J., Barbaro A. The role of photoperiod vernalization and gibberellic acid in floral induction in *Coreopsis grandiflora* Nutt // Pyton. 1966. V. 23. N 1. P.33-41.

MK Kinney H.H., Sande W.J. Earliness of sexual reproduction in wheat as influenced by temperature and light in relation to growth phases // Journ. agr. Res. 1935. V. 31. N 7. P. 621-641.

Pressman E., Negbi M. The effect of day length on the response of celery to vernalization // J. Exp. Bot. 1980.V.31. N 124. P. 1291-1296.

Rünger W. Über den Einflusz der Tageslänge auf wachstum, Blütenbildung und-entwicklung von *Echeveria harmsii* // Gartenbauwiss. 1962.Bd. 27. N 3. P.279-294.

Sachs R.M. Floral initiation in *Cerastium nocturnum*. 1 Long-short day plant // Plant Physiol. 1956. V. 31. N 3. P. 185-192.

Sachs R.M. Dual day length requirements for floral initiation // Photoperiodism and related phenomena in plants and animals. Ed.: Withrow R.B. Washington, 1959. P. 315-320.

Salisbury F.B. The flowering process. Oxford.1963.

Thomas R.G. Flower initiation in *Trifolium repens* L.: a short-long-day plant // Nature. 1961.V. 190. N 4781. P.1130-1131.

Wellensick S.J. Flower formation in *Campanula nugium* // Meded.Landb. Hoogesch. Wageningen. 1960. V.60. N 7. P. 1-18.