



Revista Mexicana de Fitopatología

ISSN: 0185-3309

mrlegarreta@prodigy.net.mx

Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.

México

Carrillo Fasio, José Armando; Montoya Rodríguez, Teófilo de Jesús; García Estrada, Raymundo Saúl;  
Cruz Ortega, Jacobo Enrique; Márquez Zequera, Isidro; Sañudo Barajas, Adriana Josefa  
Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder y Hansen, en Tomate (*Lycopersicon*  
*esculentum* Mill.) en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México  
Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 21, núm. 2, julio-diciembre, 2003, pp. 123-127  
Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.  
Texcoco, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221205>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

## Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder y Hansen, en Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México

José Armando Carrillo-Fasio<sup>1</sup>, Teófilo de Jesús Montoya-Rodríguez<sup>2</sup>, Raymundo Saúl García-Estrada<sup>1</sup>, Jacobo Enrique Cruz-Ortega<sup>2</sup>, Isidro Márquez-Zequera<sup>1</sup> y Adriana Josefa Sañudo-Barajas<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) A.C., km 5.5 Carr. Culiacán-Eldorado, Apdo. Postal 32-A, Culiacán, Sinaloa, México CP 80129; <sup>2</sup>Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Apdo. Postal 726, km 17.5 Carr. Culiacán-Eldorado, Culiacán, Sinaloa. Correspondencia: [acarrillo@victoria.ciad.mx](mailto:acarrillo@victoria.ciad.mx)

(Recibido: Octubre 31, 2002 Aceptado: Enero 15, 2003)

Carrillo-Fasio, J.A., Montoya-Rodríguez, T.J., García-Estrada, R.S., Cruz-Ortega, J.E., Márquez-Zequera, I., y Sañudo-Barajas, A.J. 2003. Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder y Hansen, en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el valle de Culiacán, Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 21:123-127.

**Resumen.** Uno de los problemas fitosanitarios limitantes de la producción del cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*) a nivel mundial y nacional es el marchitamiento vascular ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol), el cual tiene mayor incidencia en regiones de clima cálido, ocasionando grandes pérdidas económicas. Debido a la importancia de esta enfermedad en el valle de Culiacán Sinaloa, México, esta investigación tuvo como objetivo identificar las razas de Fol que ocurren en plantas de tomate en diversas zonas productoras del mismo valle. Se muestrearon y colectaron plantas con síntomas de la enfermedad en 20 campos hortícolas. Luego de procesar las muestras en el laboratorio, el aislamiento de Fol se realizó utilizando el medio de cultivo Komada. Posteriormente, plántulas de aproximadamente un mes de edad de los diferenciales EP7, Pakmor, Walter, IR3 301-301 y del híbrido SUN 0289, se inocularon con una concentración de  $7 \times 10^5$  esporas/mL con cada una de las cepas aisladas. De acuerdo con la presencia de síntomas e infecciones en las plántulas diferenciales, el 60% de las cepas se identificaron como raza 2, y el 40% restante pertenecieron a la raza 3.

Palabras clave adicionales: Marchitamiento vascular del tomate.

**Abstract.** One of the worldwide and national phytosanitary problems limiting tomato (*Lycopersicon esculentum*) production, is vascular wilting caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol), which has greater incidence in warm weather areas causing great economic

losses. Because of the importance of this disease in Culiacan valley, Sinaloa, Mexico, the objective of this research was identify races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* from tomato plants in various growing areas in the valley. Samples of tomato plants showing disease symptoms were collected from 20 fields. After processing the samples in the laboratory, Fol was isolated in Komada culture medium; then, seedlings approximately one month old from differentials EP7, Pakmor, Walter, IR3 301-301 and the hybrid SUN 0289 were inoculated with a concentration of  $7 \times 10^5$  spores/mL of each strain. According to symptomatology and differential seedling infection, 60% of the isolated strains were identified as race 2, and the other 40% belonged to race 3.

Additional keywords: Tomato vascular wilt.

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ocupa el segundo lugar dentro de las hortalizas cultivadas en México por la superficie explotada y por la generación de empleos y divisas. En el 2001, el 30.2% de las exportaciones hortícolas mexicanas fueron de tomate, con un valor estimado de 591.7 millones de dólares. En el año señalado, Sinaloa aportó el 32.74% de la superficie sembrada a nivel nacional (CAADES, 2002). En los últimos años, la superficie dedicada al cultivo de tomate ha disminuido gradualmente, debido a diversos factores; entre ellos, la incidencia creciente de plagas y enfermedades radiculares (Sánchez, 1998). Aunque en Sinaloa se conocen al menos 10 enfermedades radiculares-vasculares del tomate, la más importante en la actualidad por su impacto y distribución, es el marchitamiento vascular o fusariosis (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) Snyder and Hansen (Fol) (Ramírez, 1998). Esta enfermedad es más agresiva en climas cálidos y suelos con textura arenosa (González, 1974); sin embargo, fuertes infecciones en cultivares susceptibles se han reportado bajo condiciones de invernaderos. Los daños se presentan con mayor severidad

cuando las plantas son sometidas a un período de estrés hídrico, principalmente en la etapa de floración y fructificación (González, 1974; Ramírez, 1998). Los síntomas más notables de *Fol* ocurren al inicio de la floración, poco después de la formación de los primeros frutos (Beckman, 1987; Mendoza, 1993; Ramírez, 1998). Los síntomas inician con un amarillamiento en las hojas más viejas, extendiéndose a toda la planta y ocasionando una clorosis que a veces se presenta en las hojas de un sólo lado de la planta, y en ocasiones sólo en la mitad de éstas (Cárdenas, 2000). Las hojas afectadas se marchitan y mueren, aunque pueden permanecer adheridas al tallo. Si se realiza un corte transversal del tallo, se observa una necrosis vascular de color café en forma de anillo, la cual se extiende hacia la parte apical de la planta de acuerdo con la severidad de la enfermedad, marchitando y matando a las plántulas o plantas adultas (Sánchez, 1998). Las plantas más viejas pueden marchitarse y morir repentinamente; sin embargo, comúnmente muestran achaparramiento, epinastia, amarillamiento de las hojas inferiores, marchitez de las hojas y tallo jóvenes, defoliación, necrosis marginal de hojas y finalmente la muerte de la planta (Sánchez, 1998). Cuando las raíces y los tallos son colonizados, los síntomas se muestran como una pudrición necrótica, particularmente sobre las raíces laterales más pequeñas; lo cual acelera el marchitamiento del follaje. Después que la planta muere, el hongo fructifica sobre la superficie del tallo bajo condiciones de ambiente húmedo (Angulo, 1996; Valdez, 1999). El marchitamiento vascular del tomate por *Fusarium* fue primeramente descrito por Masse en 1885 en las Islas de Wight y Guernsey, situadas en el canal de la Mancha. En el año de 1899, la enfermedad se encontraba ya en los Estados Unidos de América causando severas pérdidas en las áreas dedicadas al cultivo en el norte del estado de Florida (Smith, 1899). En 1940 reportaron que la enfermedad se encontraba diseminada en todo el mundo (Bohn y Tucker, 1940), y hasta esta fecha se desconocía la ocurrencia de variabilidad patogénica en este hongo. Cinco años más tarde, se determinó la presencia de una raza nueva en Ohio, que se le denominó como raza 2 (R2) (Alexander y Tucker, 1945); su identificación se debió a que todos los materiales que presentaban resistencia a la raza 1 (R1) fueron atacados severamente, incluyendo 160 materiales de *Lycopersicon pimpinellifolium* (Walker, 1971). El descubrimiento de R2 originó estudios en Florida encaminados a la búsqueda de fuentes de resistencia (Alexander y Tucker, 1945), la cual se identificó en la colecta P. I. 126915 de *Lycopersicon pimpinellifolium* x *Lycopersicon esculentum*, tanto para R1 como para R2, siendo monogénica dominante. Lo anterior permitió cuatro años más tarde, obtener un nuevo cultivar, que se denominó Walter (Stall y Walter, 1965). Grattidge y O'Brien (1982) encontraron una nueva raza de *Fol* en Queensland, Australia, área considerada como el mayor centro de producción de tomate, y en donde no se habían tenido problemas de marchitez desde 1978 a 1980. En esta región, las variedades Walter y Floradade

resistentes a R1 y R2 eran ampliamente cultivadas, y fue a partir de 1980 en que dichas variedades empezaron a tener problemas con marchitamiento por *Fusarium*. De estas plantas se realizaron aislamientos y pruebas de inoculación en plantas diferenciales, concluyéndose que se trataba de una nueva raza, a la cual designaron como raza 3 (R3). En el Valle de Culiacán, México, se ha observado que muchos de los materiales de tomate que se cultivan, son susceptibles a la marchitez por *Fol*. Una enfermedad similar a la antes descrita se detectó en el mismo valle, la cual fue reportada por Endo y Larry en 1973. La magnitud de los daños ocasionados por esta enfermedad en esta región es muy variada; mientras que en algunos campos es apenas perceptible, en otros es muy severa, ocasionando reducciones de la producción superiores al 60% (García, 2001). Recientemente, se ha detectado que esta enfermedad ha incrementado su presencia en los campos sinaloenses. Una de las posibles causas es la utilización de materiales híbridos susceptibles a las razas ya reportadas en México, y al desconocimiento del tipo de raza presente en el valle (Valdez, 1999). La marchitez vascular del tomate representa un peligro potencial de pérdidas económicas importantes, por lo que el presente trabajo de investigación tuvo como objetivos: Identificar y determinar la presencia y distribución de las razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el Valle de Culiacán, Sinaloa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Muestreo.** Raíces y tallos de plantas con síntomas de la enfermedad se colectaron en 20 diferentes campos hortícolas, considerando el mapa de las agrícolas localizados en el Valle de Culiacán, Sinaloa. De cada localidad, se tomaron muestras de cuatro lotes distintos, completando así un total de 80 lotes muestreados. Las muestras consistieron de plantas con los síntomas típicos de marchitamiento vascular, tal como amarillamiento unilateral, achaparramiento y la marchitez (Fig. 1). Además, se consideró el tipo de cultivar de tomate (bola o Roma y determinado o indeterminado).

**Aislamiento y purificación.** En todas las plantas muestreadas se realizaron cortes longitudinales del tallo para observar si existían síntomas de necrosis interna de color café en los vasos conductores. Se tomaron muestras de raíz y parte de tallos, se cortaron en secciones de aproximadamente 0.5 cm, y se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 2% por 30 seg, luego se lavaron con agua destilada esterilizada en cuatro ocasiones, y posteriormente se sembraron en cajas Petri preparadas con medio de cultivo Komada (Tuite, 1996), medio específico para *Fusarium*, las cuales se incubaron a 28°C durante siete días. De cada uno de los aislamientos se seleccionó una cepa de donde se obtuvieron cultivos puros a partir de una espora (monospóricos). El inóculo se incrementó, depositando una sección de medio de cultivo con crecimiento del hongo en un matraz conteniendo caldo de papa-dextrosa, el cual se mantuvo en agitación constante a 110 rpm y 28°C, durante siete días (Lugo, 1998). Con cada



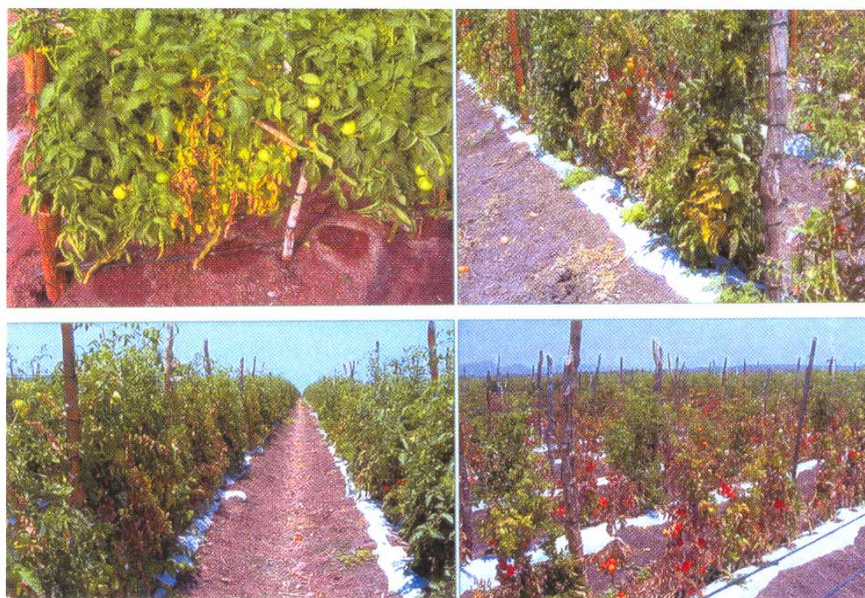


Fig. 1. Sintomatología ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, causante del marchitamiento vascular del tomate (*Lycopersicon esculentum*) en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México.

una de las cepas se realizaron los postulados de Koch; para corroborar la patogenicidad de los aislamientos de *Fol*. Para ello, se utilizaron plantas de la misma variedad de donde se aislaron cada una de las cepas.

**Identificación de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.** Para la identificación de razas fisiológicas de *Fol*, se usaron las líneas diferenciales de tomate: EP7, Packmor, Walter, IR3-301-301 y el híbrido SUN-0289 (Cuadro 1). Semilla de las diferenciales se sembraron en charolas de poliuretano conteniendo suelo estéril. Diez plántulas de aproximadamente 20 días de edad se utilizaron para la inoculación con cada cepa de *Fol* (Santos y Lopez, 1993). A las raíces laterales se les realizaron pequeñas heridas con tijeras desinfectadas, y se sumergieron durante 10 min en una suspensión de conidios a una concentración de  $7 \times 10^5$ /mL. La concentración se determinó mediante conteos con un hematocímetro o cámara de Neubauer, de acuerdo a la metodología propuesta por French y Hebert (1980). Un número igual de plántulas sin inocular de cada uno de los diferenciales se utilizaron como testigo. Las plantas inoculadas se plantaron en vasos de poliuretano con capacidad de 1.0 L, con tierra esterilizada. Tanto, las plantas diferenciales inoculadas y sus respectivos testigos se colocaron en bancos del invernadero tipo casa sombra, bajo condiciones ambientales no controladas, y se regaron cada tercer día con agua destilada. Las plantas inoculadas se observaron diariamente durante 25 días, tiempo suficiente para determinar la presencia o ausencia de síntomas de la enfermedad en cada uno de los diferenciales. Estos síntomas se cotejaron con los daños característicos y descritos por Santos y Lopez (1993), así como con los resultados de Angulo

(1996) y Valdez (1999), para determinar la raza.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Aislamiento y purificación.** De los lotes muestreados, se obtuvieron un total de 40 cepas de *Fol*, corroborándose su patogenicidad mediante la reproducción de los síntomas en plantas previamente inoculadas con cada una de las cepas, bajo condiciones de invernadero, en comparación con los testigos sin inoculación.

**Identificación de razas.** A los 15 días después de la inoculación (ddi) de las diferenciales con cada una de las cepas, el 40% de las cepas aisladas de plantas de las agrícolas: Chaparral, San Emilio, Don Memo, Agroexportadora del Noroeste, Beltrán, Nueva Yamal, Exportalizas Mexicanas, y Agrícola Pony, indujeron síntomas de amarillamiento en las hojas cotiledonales, excepto en IR3-301-301, en donde no se observaron síntomas. El híbrido SUN 0289 también presentó dichos síntomas. Tres días después (18 ddi), plántulas de los diferenciales EP7, Pakmor, Walter y el híbrido SUN 0289 empezaron a presentar evidencias de marchitamiento.

Cuadro 1. Reacción de cinco genotipos diferenciales de tomate (*Lycopersicon esculentum*) inoculados artificialmente con una suspensión de  $7 \times 10^5$  esporas/ml, para la determinación de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en Culiacán, Sinaloa, México.

Diferencial	Raza 1	Raza 2	Raza 3
EP7	Susceptible	Susceptible	Susceptible
Pakmor	Resistente	Susceptible	Susceptible
Walter	Resistente	Resistente	Susceptible
SUN 0289	Resistente	Resistente	Susceptible
IR3-301-301	Resistente	Resistente	Resistente



Las correspondientes a la diferencial IR3-301-301 permanecieron sin síntomas visibles de la enfermedad. Estos resultados, al cotejarlos con la propuesta de clasificación de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Santos y Lopez, 1993) (Cuadro 1), indican que al presentarse la enfermedad en el material EP7 (síntomas característicos del marchitamiento vascular) existe evidencia de los daños por dicho patógeno. En Pakmor, los daños inducidos por el patógeno indicaron que la raza del hongo puede ser R2 ó R3, debido a que este material presenta resistencia a la raza R1 y susceptibilidad a R2 y R3. Por otra parte, la presencia de daño en Walter indica que la raza del hongo es la R3, debido a que este material es resistente a R1 y R2, pero susceptible a R3. Estos datos corroboran con los resultados de resistencia a la enfermedad en la diferencial IR3-301-301, y los síntomas observados en el híbrido SUN 0289, resistente a R1 y R2. Estos resultados coinciden con los estudios reportados por Valdez (1999) y García (2001), con respecto al uso de diferenciales para la identificación de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Por otro lado, el resto de las 24 cepas (60%, aisladas de lotes de las agrícolas: El Porvenir, Exportalizas Mexicanas, Chaparral, Paredes, Pablos, Beltrán, Nueva Yamal, Prinsa, Pia y Agrobionova) (Fig. 2), sólo indujeron síntomas en las diferenciales de tomate EP7 y Packmor, y no en Walter, SUN-0289 y IR3-301-301. Estos

resultados indican que la raza de estos aislamientos, en función de la clasificación de razas fisiológicas de *Fol* propuesta por Santos y Lopez (1993), pertenecen a la raza 2, ya que tanto Walter, SUN-0289 y IR3-301-301, son resistentes a la raza 2. Los resultados observados permiten concluir que de las tres razas de *Fol* reportadas a nivel mundial, sólo la raza 1 no se detectó en ninguna de las zonas muestreadas del valle de Culiacán; sin embargo, del total de los 40 aislamientos, el 60% pertenecieron a la raza 2 y el resto de los aislamientos (40%) a la raza 3, las cuales se detectaron ocasionando infección tanto en tomate bola o rojo como en tomate Roma o saladette, con una distribución y presencia en todos los lotes para la raza 2, y al menos en un lote de las áreas colectadas para la raza 3.

### CONCLUSIONES

El marchitamiento vascular del tomate causada por las razas 2 y 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, se encuentra ampliamente distribuida en las áreas hortícolas del valle de Culiacán, Sinaloa, México. La presencia de la raza 2 se cuantificó en el 60% del total de las áreas muestreadas del valle, y su distribución se observó en todos los lotes muestreados. La raza 3 se detectó en el 40% del total de las áreas muestreadas del valle, y su distribución se reporta al menos en un lote de cada una de las zonas muestreadas. La

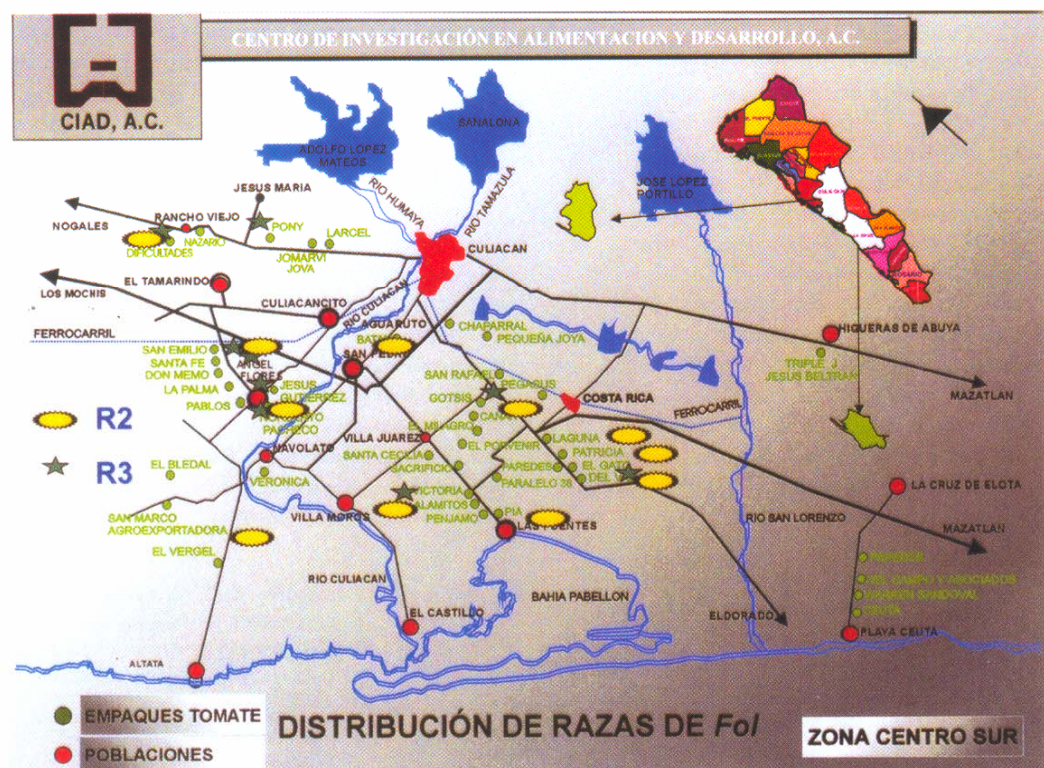


Fig. 2. Distribución de razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, causante del marchitamiento vascular del tomate en el valle de Culiacán, Sinaloa, México.

raza.

# LITERATURA CITADA

- Alexander, L.J., and Tucker, C.M. 1945. Physiological specialization in the tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*. Journal of Agricultural Research 70:303-313.
- Angulo, M.J.H. 1996. Efecto de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en materiales silvestres de tomate. Tesis de Licenciatura en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 39 p.
- Beckman, C.H. 1987. The Nature of the Wilt Diseases of Plants. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. 80 p.
- Bohn, G.W., and Tucker, C.M. 1940. Studies of *Fusarium* wilt of tomato. Immunity in *Lycopersicon pimpinellifolium* and its inheritance in hybrids. Montana Agricultural Experimental Station Research Bulletin. 311.
- CAADES. 2002. Confederación de Asociaciones de Agricultores del Estado de Sinaloa. Reporte estadístico del ciclo de siembra 2000-2001. Culiacán, Sinaloa, México. 31 p.
- Cárdenas, V.J.O. 2000. Eficacia en el control químico de *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora capsici* en los cultivos de tomate, chile y sandía. Tesis de Maestría de la Facultad de Agronomía, de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 156 p.
- Endo, R.M., and Larry, J.V. 1973. Etiología biológica y control del *Fusarium* de la corona y pudrición de la raíz en el cultivo del tomate para mercado fresco. Memorias de la 1ra. reunión sobre plagas y enfermedades de las hortalizas en el estado de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 156 p.
- French, R.E., and Hebert, T.T. 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. Ed. IICA. San José, Costa Rica. pp. 176-177.
- García, E.R.S. 2001. Determinación de la raza de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* causante de marchitamiento en plantas de tomate (híbrido Sun 0289) cultivadas en el lote de rancho viejo. Informe técnico CIAD/DUC/IT/006/01. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Culiacán, Sinaloa, México. 11 p.
- González, G.R. 1974. Estudio sobre marchitez del tomate causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, en el valle de Culiacán, Sinaloa. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Edo. de México.

64 p.

- Grattidge, R., and O'Brien, R.G. 1982. Occurrence of a third race of *Fusarium* wilt of tomatoes in Queensland. Plant Disease 66:165-166.
- Lugo Fariá, Z.C. 1998. Identificación de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Zinder and Hansen en algunas zonas productoras de los estados Aragua y Norte de Guárico. Tesis de Maestría, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela. 67 p.
- Masse, G. 1885. The "sleepy disease" of tomatoes. Garden Chromogen Service 3, 17:707-708.
- Mendoza, Z.C. 1993. Diagnóstico de Enfermedades Fungosas. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. Chapingo, Edo. de México. 111 p.
- Ramírez, V.J. 1998. Enfermedades de la raíz en tomate. pp. 29-49. En: O.J. Cruz, R. García E. y A. Carrillo F. (eds.). Enfermedades de las Hortalizas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 255 p.
- Sánchez, C.M.A. 1998. Enfermedades causadas por hongos en tomate. pp. 17-28. En: O.J. Cruz, R. García E. y A. Carrillo F. (eds.). Enfermedades de las Hortalizas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 255 p.
- Santos, J.R.M., and Lopez, C.A. 1993. Tomato cultivar differentials for *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races. Horticultura Brasileira 11:27-29.
- Smith, E.F. 1899. Wilt Diseases of Cotton, Watermelon and Cowpea. U.S. Department Agricultural Burman Plant Industrial Bulletin 17.
- Stall, R.E., and Walter, J.M. 1965. Selection and inheritance of resistance in tomato to isolates of race 1 and 2 of the *Fusarium* wilt organism. Phytopathology 55:1213-1215.
- Tuite, J. 1996. Plant Pathological Methods. Fungi and Bacteria. Burgess Publishing Company. Minneapolis, MN, USA. 299 p.
- Valdez, L.J.D. 1999. Determinación de la raza tres de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causante de la marchitez en tomate, en el Valle de Culiacán, Sinaloa. Tesis de Licenciatura, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México. 39 p.
- Walker, J.G. 1971. *Fusarium* Wilt of Tomato. The American Phytopathological Society Monograph No. 6. 56 p.