

NOTAS CIENTÍFICAS

Aspectos biológicos y poblacionales de *Nasonovia ribisnigri* y *Aulacorthum solani* sobre lechuga⁽¹⁾

Araceli Vasicek⁽²⁾, Rubén La Rossa⁽³⁾ y Andrea Paglioni⁽²⁾

Resumen – Se estimó la influencia de los cultivares Criolla Blanca, Cuatro Estaciones y Gallega, sobre la biología y los parámetros poblacionales de *Nasonovia ribisnigri* y *Aulacorthum solani* (Homoptera: Aphidoidea) a $10\pm 1^\circ\text{C}$ y HR de 90%. Los períodos ninfal, pre-reproductivo y post-reproductivo de *N. ribisnigri* fueron más largos sobre Cuatro Estaciones, no así el reproductivo. En *A. solani* el período ninfal fue más largo sobre Criolla Blanca y Cuatro Estaciones resultando el reproductivo mayor sobre Cuatro Estaciones. Las tasas intrínsecas de crecimiento natural (r_m) de *N. ribisnigri* y *A. solani* fueron mayores sobre Criolla Blanca y Gallega, respectivamente. De acuerdo a la especie predominante convendría utilizar Cuatro Estaciones para *N. ribisnigri* y Criolla Blanca para *A. solani*, en épocas frías.

Términos para indexación: tablas de vida, biología, estadísticos vitales.

Biological and populational aspects of *Nasonovia ribisnigri* and *Aulacorthum solani* on lettuce

Abstract – The influence of cultivars, Criolla Blanca, Cuatro Estaciones and Gallega on the biology and the populational parameters of *Nasonovia ribisnigri* and *Aulacorthum solani* (L) (Homoptera: Aphidoidea) was considered at $10\pm 1^\circ\text{C}$ and 90% RH. The nymphal, pre-reproductive and post-reproductive periods of *N. ribisnigri* on Cuatro Estaciones were the longest but not so the reproductive. In *A. solani* the nymphal period was longer on Criolla Blanca and Cuatro Estaciones and as a result the reproductive was longer on Cuatro Estaciones. The intrinsic rates of increase (r_m) of *N. ribisnigri* and *A. solani* were longer on Criolla Blanca and Gallega, respectively. According to the predominant species it would be suitable to use Cuatro Estaciones for *N. ribisnigri* and Criolla Blanca for *A. solani* in cold times.

Index terms: life tables, biology, vital statistics.

⁽¹⁾ Aceptado para publicación en 14 de septiembre de 2001.

Financiado por el Programa de Incentivos a la Investigación de la Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.

⁽²⁾ Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Dep. de Sanidad Vegetal, Calle 60 y 119, Casilla de Correo 31, Código Postal 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina. E-mail: zooagricola@ceres.agro.unlp.edu.ar, andreapag@infovia.com.ar

⁽³⁾ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, Centro de Investigaciones de Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Casilla de Correo 25, Código Postal 1712, Castelar, Buenos Aires, Argentina. E-mail: rlarossa@cnia.inta.gov.ar

Entre los vegetales más cultivados, la lechuga ocupa el tercer lugar en importancia en Argentina (Vallejo, 1996) tanto en área como en producción, razón por la cual el mejor conocimiento de sus adversidades contribuirá a la realización de un control más eficiente. El áfido *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) ha sido originariamente estudiado en Europa, donde fueron considerados aspectos biológicos, ecológicos y de control en cultivos de lechuga (Ellis et al., 1996; Lowery & Isman, 1996). Es conocido también como un importante vector de enfermedades virósicas como el Necrotic Yellow Virus (NYV) y Lettuce Mosaic Virus (LMV) en el hemisferio norte, estando la segunda también presente en Argentina (Fernández Valiela, 1995). En el extranjero se ha priorizado la búsqueda de variedades resistentes al pulgón desde hace más de dos décadas (Vanhelden et al., 1993, 1995). En Sudamérica se lo conoce desde 1963 y en el Perú lo mencionan sobre compuestas silvestres. En Argentina los escasos antecedentes respecto a la biología y a los parámetros biológicos de *N. ribisnigri* se limitan a los aportados por La Rossa et al. (2000) y por Vasicek et al. (1998).

Aulacorthum solani es prácticamente cosmopolita, se halla difundido extensamente en toda Europa, luego en América del Norte, Central y del Sur, África y Australia principalmente (Castro, 1995; Benuzzi, 1996; Berlandier, 1997; Stoltz et al., 1997). Numerosos trabajos destacan la importancia de *A. solani* en su rol de vector de enfermedades a virus entre ellos Stoltz et al. (1997). Respecto a las investigaciones previas realizadas con *A. solani*, los antecedentes indican que diversos autores han realizado aportes sobre fluctuación poblacional (Berlandier, 1997; Tahtacioglu & Ozbek, 1997); Down et al. (1996) y Silvie et al. (1990) en control biológico y Damsteegt & Voegtlin (1990) sobre detección de biotipos. Mientras que son escasos los trabajos que aborden aspectos del desarrollo, reproducción, supervivencia y su relación con la temperatura (Kim et al., 1991).

Los parámetros biológicos así como también los principales estadísticos vitales de una población de insectos plaga, estimados a partir de tablas de vida desarrolladas en laboratorio, constituyen una herramienta básica para elaborar estrategias de control (Southwood, 1994). Estas estimaciones fueron utilizadas para evaluar resistencia en plantas (Trichilo & Leigh, 1985) y como patrón para seleccionar enemigos naturales (Janssen & Sabelis, 1992). Con el aporte de estos estudios, se podrá realizar la estimación y el pronóstico del comportamiento de diversas variedades de lechuga frente a los áfidos en cuestión.

El objetivo del presente trabajo fue estimar la influencia de tres cultivares comerciales de *L. sativa* sobre la biología de *N. ribisnigri* y *A. solani*.

El trabajo se llevó a cabo en el Insectario de la Cátedra de Zoología Agrícola (FCAyF - UNLP). Las colonias madres de *N. ribisnigri* y de *A. solani* provinieron de establecimientos comerciales de la zona. Dicho material se acondicionó en cajas de Petri de 9 cm de diámetro, conteniendo papel de filtro en el fondo y un trozo de papel tissue en la tapa, para evitar la mortalidad de las ninfas por efecto de la condensación. Como alimento se les proporcionó plántulas de lechuga de 10 a 15 días, envolviéndose las raíces con algodón

humedecido. Sobre las plántulas se transfirió una hembra adulta, la que se dejó larviponer durante 24 horas; transcurrido ese lapso se retiraron todos los individuos menos uno, recién nacido, obteniéndose cohortes de aproximadamente la misma edad. El conjunto de las cajas se dispusieron en una cámara refrigerada con una temperatura de $10 \pm 1^\circ\text{C}$, con una humedad relativa cercana al 90% y un fotoperíodo de 14 horas. Las cultivares de lechuga empleadas fueron Criolla Blanca, Cuatro Estaciones y Gallega, sobre las que se criaron tres cohortes de 23 individuos iniciales en cada una. Se conformaron así 9 cohortes de cada especie, totalizando 414 individuos en el ensayo. Diariamente se registraron los cambios de estadio, el número de individuos muertos y los nacimientos, una vez alcanzado el estado adulto. El material vegetal se renovó según las necesidades. Los parámetros obtenidos fueron: a) período ninfal, definido como el tiempo que transcurre desde el nacimiento hasta la cuarta muda; b) período pre-reproductivo, desde la cuarta muda hasta la primera parición; c) período reproductivo, considerado como el tiempo que transcurre desde la puesta de la primera hasta la última ninfa y d) período post-reproductivo, desde ese momento hasta la muerte del áfido. La longevidad se consideró como la duración total de vida y la fecundidad como la descendencia promedio de los individuos (hembras) que alcanzaron el estado adulto en cada una de las cohortes. Estos valores fueron comparados mediante ANOVA y test de Tukey con $\alpha = 0,05$. A partir de la confección de tablas de vida se estimaron los estadísticos vitales: supervivencia por edades (l_x); fecundidad por edades (m_x) y los siguientes parámetros poblacionales: tasa neta de reproducción (R_0) (número de hembras recién nacidas por hembra); tasa intrínseca de crecimiento natural (r_m) (número de hembras por hembra por unidad de tiempo); tiempo generacional medio (T); tasa finita de incremento (λ) (número de veces que la población se multiplica sobre sí misma por unidad de tiempo) y tiempo de duplicación (D) (número de unidades de tiempo requerido por la población para duplicarse en número), Laughlin (1965); Southwood (1994) y cuyas fórmulas son las siguientes:

$$R_0 = \sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x \quad (1)$$

$$\sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x e^{-r_m x} = 1 \quad (2)$$

$$T = \frac{\ln R_0}{r_m} \quad (3)$$

$$\lambda = e^{r_m} \quad (4)$$

$$D = \frac{\ln 2}{r_m} \quad (5)$$

donde:

l_x : proporción de hembras sobrevivientes a la edad x ;

m_x : número medio de prole hembra por hembra aún viva a la edad x .

El parámetro r_m se calculó mediante sucesivas iteraciones de la ecuación (2).

Mediante la aplicación del método “Jackknife” se calcularon estimadores de la r_m , intervalos de confianza al 95% y los correspondientes Errores Stándar, con los cuales es posible efectuar comparaciones entre las cohortes (Meyer et al., 1986; Hulting et al., 1990). Los estadísticos fueron comparados mediante las ecuaciones (6) y (7):

$$(\hat{r}_{jack}^{(1)} - \hat{r}_{jack}^{(2)}) \pm t_{f, \alpha} \sqrt{\frac{(\hat{\sigma}^{(1)})^2}{n_1} + \frac{(\hat{\sigma}^{(2)})^2}{n_2}} \quad (6)$$

$$f = \frac{n_1 + n_2}{2} - 1 \quad (7)$$

donde: $\hat{r}_{jack}^{(1)}$ y $\hat{r}_{jack}^{(2)}$: valores de r_m estimados mediante “Jackknife” para cada cohorte; t : valor de la distribución t de Student; f : grados de libertad; n : número de individuos iniciales; $\hat{\sigma}^{(1)}$ y $\hat{\sigma}^{(2)}$: errores estándar de los estimadores r_{jack} .

Si ambos valores obtenidos no incluyen el 0, las r_m de las cohortes se consideran diferentes. Para la tabulación de los resultados se seleccionaron las cohortes que arrojaron los valores mínimo y máximo de la r_m dado el carácter definitorio de este parámetro (Hulting et al., 1990) y para facilitar una mayor comprensión.

Las duraciones medias de los períodos de desarrollo y la fecundidad, correspondientes a ambas especies no arrojaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre las cohortes criadas sobre las tres variedades. Cuando se compararon los distintos períodos entre variedades se observó que las cohortes de *N. ribisnigri* criadas sobre Cuatro Estaciones fueron los más largos excepto el reproductivo que fue significativamente menor ($P < 0,05$) así como la fecundidad. Este resultado indicaría que esta variedad es la que más afecta la biología del áfido. Las cohortes de *A. solani* tardaron más tiempo en llegar al estado adulto sobre Criolla Blanca y Cuatro Estaciones, pero en esta última los valores del período reproductivo y la longevidad fueron los más altos junto con la fecundidad. La comparación entre las dos especies se ilustra en el Cuadro 1. Se aprecia que *A. solani* es más longevo y permanece más tiempo reproduciéndose que *N. ribisnigri*; esta diferencia se expresa mayormente sobre la variedad Cuatro Estaciones. Sin embargo, el período reproductivo fue más largo para *N. ribisnigri* sobre Criolla Blanca y el post-reproductivo dura el doble de tiempo sobre Cuatro Estaciones.

También las propiedades de una variedad resistente podrían reducir proporcionalmente la capacidad de reproducción de la plaga y por ende incidir sobre el funcionamiento de la población. El análisis de los estadísticos vitales derivados de las tablas de vida desarrolladas en condiciones controladas permite obtener información, al menos comparativamente, acerca del grado de resistencia de una determinada variedad (Trichilo & Leigh, 1985).

Los estadísticos vitales obtenidos (Cuadro 2) dentro de cada variedad para ambas especies, de los cuales sólo se compararon la tasa neta de reproducción (R_0) y la tasa intrínseca de crecimiento natural (r_m), ya que los

restantes parámetros son derivados de éstos, no hallándose diferencias significativas entre las cohortes ($P>0,05$). La r_m fue diferente en las tres variedades ($P>0,05$) para *N. ribisnigri* creciendo mejor sobre Criolla Blanca, mientras que los valores de la r_m de las cohortes de *A. solani* no arrojaron diferencias significativas ($P>0,05$) en la comparación Cuatro Estaciones versus Criolla Blanca, y a su vez los más altos se registraron sobre Gallega. Las R_0 de *N. ribisnigri* sólo fueron diferentes entre Criolla Blanca y Cuatro Estaciones; para la otra especie esta situación se reflejó en las tres variedades, reproduciéndose mejor sobre Cuatro Estaciones. El tiempo generacional (T) fue mayor sobre Cuatro Estaciones para *N. ribisnigri*. Este retardo en el desarrollo de una generación compensa la menor tasa neta de reproducción en esa cultivar. Este mismo efecto también se observó en *A. solani* pero que no se registró sobre Criolla Blanca. Este análisis reflejaría la posibilidad de adaptación de los áfidos en general sobre las distintas cultivares, producto del fitomejoramiento. Sin embargo, la cultivar Cuatro Estaciones afectaría

Cuadro 1. Promedios y error estándar de la duración (días) de los períodos ninfal, pre-reproductivo, reproductivo, post-reproductivo, de la longevidad total y de la fecundidad (hembras totales por hembra) de *Nasonovia ribisnigri* y *Aulacorthum solani* en tres cultivares de lechuga.

Cultivar	Ninfal	Pre-reproductivo	Reproductivo	Pos-reproductivo	Longevidad	Fecundidad
<i>Nasonovia ribisnigri</i>						
Criolla blanca	24,28±0,73b	2,81± 0,18b	25,08±2,20a	3,13±0,51b	55,30±1,61ab	22,62±2,51a
Cuatro estaciones	33,35±0,63a	7,71± 0,49a	12,73±0,59c	6,27±0,39a	57,63±0,95a	8,44±0,52c
Gallega	25,04±0,88b	3,09± 0,23b	19,48±1,47b	3,25±0,09b	50,87±1,55b	10,63±0,89b
<i>Aulacorthum solani</i>						
Criolla blanca	31,71±0,32a	4,45±0,22b	20,41±1,34c	3,68±0,08a	60,20±1,29b	19,23±1,33c
Cuatro estaciones	32,67±0,36a	6,93±0,25a	39,57±1,94a	2,97±0,44a	82,14±2,65a	37,85±1,81a
Gallega	23,83±0,54b	4,20±0,20b	27,76±0,36b	3,76±0,17a	59,56±0,27b	25,28±0,79b

⁽¹⁾Promedios seguidos por la misma letra no difieren significativamente por el test de Tukey al 5% de probabilidad.

Cuadro 2. Estadísticos vitales y error estándar de *Nasonovia ribisnigri* y *Aulacorthum solani* en tres cultivares de lechuga⁽¹⁾.

Cultivar	Limite	R_0	r_m	T	λ	D
<i>Nasonovia ribisnigri</i>						
Criolla blanca	Máx.	22,35±4,83a	0,081±0,0050a	38,57	1,075	9,36
	Mín.	16,80±3,80a	0,074±0,0049a	38,30	1,066	8,55
Cuatro estaciones	Máx.	9,95±1,73b	0,049±0,0040c	49,48	1,047	16,90
	Mín.	7,55±1,79b	0,041±0,0055c	47,48	1,040	14,14
Gallega	Máx.	10,45±0,56ab	0,063±0,0035b	38,81	1,061	11,95
	Mín.	9,61±1,24ab	0,061±0,0017b	36,15	1,059	11,00
<i>Aulacorthum solani</i>						
Criolla blanca	Máx.	18,31±2,99c	0,061±0,0031b	48,96	1,059	11,95
	Mín.	16,86±3,39c	0,058±0,0040b	47,95	1,056	11,36
Cuatro estaciones	Máx.	36,64±4,35a	0,064±0,0032b	58,34	1,060	11,17
	Mín.	31,00±5,08a	0,062±0,0021b	53,53	1,058	10,83
Gallega	Máx.	25,96±1,80b	0,085±0,0030a	39,44	1,080	8,55
	Mín.	24,09±2,21b	0,081±0,0031a	38,16	1,076	8,15

⁽¹⁾Promedios seguidos por la misma letra no difieren significativamente por el test de Tukey al 5% de probabilidad; R_0 : tasa neta de reproducción; r_m : tasa intrínseca de crecimiento natural; T: tiempo generacional medio; λ : tasa finita de incremento; D: tiempo de duplicación.

más a *N. ribisnigri* que necesitaría entre 14 y 16 días para duplicar su población, mientras que los parámetros de *A. solani* son comparativamente inferiores sobre Criolla Blanca y Cuatro Estaciones.

Por otra parte, dada la temperatura de cría, posiblemente *A. solani* no exprese su completo potencial reproductivo, razón por la cual se obtuvieron valores muy bajos de r_m que en la mayoría de las especies de áfidos polífagos y cosmopolitas, este parámetro oscila entre 0,1 y 0,43 según la temperatura (Jarry, 1995). En cambio, *N. ribisnigri* no prospera a temperaturas altas como ya fue probado en un trabajo anterior (Vasicek et al. , 1998).

En épocas frías convendría utilizar Cuatro Estaciones para mantener bajas las poblaciones de *N. ribisnigri* si esta fuera la especie predominante. En el caso de prevalecer *A. solani* sería recomendable emplear Criolla Blanca en virtud de su menor r_m y R_0 . El cultivo de esta variedad en la temporada fría mantendría bajas las poblaciones de esta especie llegando a la siguiente estación con una carga menor de áfidos en los cultivos de lechuga evitando o disminuyendo el posible daño futuro.

Referencias

- BENUZZI, M. Peperone: le strategie di lotta biologica. **Colture Protette**, Bologna, v. 25, n. 11, p. 61-66, 1996.
- BERLANDIER, F. A. Distribution of aphids (Hemiptera: Aphididae) in potato growing areas of Southwestern Australia. **Australian Journal of Entomology**, Carlton South, v. 36, n. 4, p. 365-375, 1997.
- CASTRO, B. A. La presencia de áfidos en las plantaciones citricolas de Honduras. **CEIBA**, Tegucigalpa, v. 36, n. 2, p. 263-270, 1995.
- DAMSTEEGT, V. D.; VOEGTLIN, D. J. Morphological and biological variation among populations of *Aulacorthum solani* (Homoptera: Aphididae): the vector of soybean dwarf virus. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 83, n. 5, p. 949-955, 1990.
- DOWN, R. E.; GATEHOUSE, A. M.; HAMILTON, W. D.; GATEHOUSE, J. A. Snowdrop lectin inhibits development and decreases fecundity of the glasshouse potato aphid (*Aulacorthum solani*) when administered *in vitro* and via transgenic plants both in laboratory and glasshouse trials. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 42, n. 11/12, p. 1035-1045, 1996.
- ELLIS, P. R.; TATCHELL, G. M.; COLLIER, R. H.; PARKER, W. E.; FINCH, W.; BRUNEL, E. Assessment of several components that could be used in an integrated programme for controlling aphids on field crops of lettuce: integrated control in field vegetable crops. **IOBC/WPRS Bulletin**, Vienna, v. 19, p. 91-97, 1996.
- FERNÁNDEZ VALIELA, M. **Introducción a la fitopatología**. 4. ed. Buenos Aires: Orientación Gráfica, 1995. v. 1.
- HULTING, F. L.; ORR, D. B.; OBRYCKI, J. J. A computer program for calculation and statistical comparison of intrinsic rates of increase and associated life table parameters. **Florida Entomologist**, Homestead, v. 73, n. 4, p. 601-612, 1990.

JANSSEN, A.; SABELIS, M. W. Phytoseid life-histories, local predator-prey dynamics, and strategies for control of tetranychid mites. **Experimental & Applied Acarology**, London, v. 14, p. 233-250, 1992.

JARRY, I. *Aphis spiraeicola* Pacht: a comparative r_m calculation of a dwarf strain obtained from laboratory rearing on celery (*Apium graveolens* L.) vs. the strain living on spirea (*Spiraea* spp.). **Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria**, Portici, v. 50, p. 157-173, 1995.

KIM, D. H.; LEE, G. H.; PARK, J. W.; HWANG, C. Y. Occurrence aspects and ecological characteristics of the foxglove aphid, *Aulacorthum solani* Kaltenschach (Homoptera: Aphididae) in soybean. **Crop Protection**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 28-32, 1991.

LAROSSA, F.; VASICKEK, A.; RICCI, M. Biología de *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) (Homoptera: Aphidoidea) sobre tres variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.). **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, Tucumán, v. 59, n. 1/4, p. 89-93, 2000.

LAUGHLIN, R. Capacity for increase: a useful population statistic. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 34, p. 77-91, 1965.

LOWERY, D. T.; ISMAN, M. B. Inhibition of aphid (Homoptera: Aphididae) reproduction by neem seed oil and azadirachtin. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 89, n. 3, p. 602-607, 1996.

MEYER, J. S.; INGERSOLL, C. G.; McDONALD, L. L.; BOYCE, M. S. Estimating uncertainty in population growth rates: Jackknife vs. Bootstrap techniques. **Ecology**, Washington, v. 67, p. 1156-1166, 1986.

SILVIE, P.; DEDRYVER, C. A.; TANGUY, S. Application expérimentale de mycelium d'*Erynia neoaphidis* (Zygomycetes: Entomophthorales) dans des populations de pucerons sur laitues en serre maraîchère: étude du suivi de l'inoculum par caractérisation enzymatique. **Entomophaga**, Paris, v. 35, n. 3, p. 375-384, 1990.

SOUTHWOOD, T. R. E. **Ecological methods**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1994. 524 p.

STOLTZ, R. L.; GAVLAK, R. G.; HALBERT, S. Survey of potential aphid vectors of potato (*Solanum tuberosum* L.) virus diseases in the Matanuska valley, Alaska. **Journal of Vegetable Crop Production**, Binghamton, v. 3, n. 1, p. 27-36, 1997.

TAHTACIOGLU, L.; OZBEK, H. Monitoring aphid (Homoptera: Aphidoidea) species and their population changes on potato crop in Erzurum (Turkey) province throughout the growing season. **Turkiye Entomologi Dergisi**, Izmir, v. 21, n. 1, p. 9-25, 1997.

TRICHILO, P. J.; LEIGH, T. F. The use of life tables to assess varietal resistance of cotton to spider mites. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 39, p. 27-33, 1985.

VALLEJO, H. Lechuga. In: VIGLIOLA, M. I. **Manual de horticultura**. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur, 1996. p. 81-89.

VANHELDEN, M.; TJALLINGII, W. F.; DIELEMAN, F. L. The resistance of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to *Nasonovia ribisnigri*. *Bionomics of N. ribisnigri on near isogenic*

lettuce lines. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 66, n. 1, p. 53 -60, 1993.

VANHELDEN, M.; VANHEEST, H. P. N. F.; VANBEEK, T. A.; TJALLINGII, W. F. Development of a bioassay to test phloem sap samples from lettuce for resistance to *Nasonovia ribisnigri* (Homoptera-Aphididae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 21, n. 6, p. 761-774, 1995.

VASICEK, A.; RICCI, M.; LA ROSSA, F. R. Aspectos biológicos y poblacionales de *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) (Homoptera: Aphidoidea) en tres cultivares de lechuga. **Revista Agro-Ciencia**, Chillan, v. 14, n. 2, p. 407-412, 1998.