

Características de planta y rendimiento de sorgo y su interacción con hongos micorrízicos en condiciones de riego y secano*

Sorghum plant characteristics and yield and its interaction with mycorrhizal fungi under irrigation and rainfed conditions

Arturo Díaz Franco^{1§} y María de los Ángeles Peña del Río²

¹Campo Experimental Río Bravo-INIFAP. Carretera Matamoros-Reynosa km 61, Río Bravo, Tamaulipas, C. P. 88900. ²Campo Experimental General Terán-INIFAP. (angelesrio36@yahoo.com.mx). [§]Autor para correspondencia: diaz.arturo@inifap.gob.mx.

Resumen

Se evaluó la respuesta del sorgo ('DK-345') a seis cepas nativas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) experimentales [3 (*Funneliformis mossae*), 20 (*Gigaspora albida*), 32 (*F. mossae*), 35 (*F. mossae*), 39 (*F. mossae*), 55 (*Gigaspora* sp.)], comparadas con micorriza INIFAP (*Rhizophagus intraradices*) y testigo sin inoculación, en riego y secano. El índice de clorofila (SPAD) se midió en tres estados de desarrollo (hoja bandera, floración y final de floración), además de la altura de planta, biomasa y rendimiento de grano. En hoja bandera, se observaron variaciones de índice de clorofila entre las cepas de HMA y las condiciones de humedad. Los HMA no influyeron en el índice de clorofila durante la floración. Aunque al final de la floración, las cepas sobresalientes fueron 55 y micorriza INIFAP. La altura de planta fue semejante entre los HMA, pero 16.5 cm mayores en riego. La biomasa entre los HMA fue similar pero superior a la del testigo. El mayor rendimiento de grano en las dos condiciones de humedad se obtuvo con la cepa 55 y micorriza INIFAP. El estudio demostró el potencial comparativo de las cepas nativas de HMA en sorgo.

Palabras clave: *Sorghum bicolor*, cepas nativas, hongos, endomicorrízicos.

Abstract

Sorghum response ('DK-345') to six native strains of experimental arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) [3 (*Funneliformis mossae*), 20 (*Gigaspora albida*), 32 (*F. mossae*), 35 (*F. mossae*), 39 (*F. mossae*), 55 (*Gigaspora* sp.)] was compared to mycorrhizal INIFAP (*Rhizophagus intraradices*) and non-inoculated check under irrigated and rainfed conditions. The chlorophyll index (SPAD) was measured in three stages (flag leaf, flowering and end of flowering), in addition to plant height, biomass and grain yield. In flag leaf, chlorophyll index variations among AMF strains and humidity conditions were observed. AMF did not influence the chlorophyll index during flowering. Although at the end of flowering, outstanding strains were 55 and mycorrhizal INIFAP. Plant height was similar among AMF, but 16.5 cm higher in irrigation. Biomass was similar among the AMF but higher than control. The highest grain yield in the two humidity conditions was obtained with strain 55 and mycorrhizal INIFAP. This study showed the comparative potential of native AMF strains in sorghum.

Keywords: *Sorghum bicolor*, native strains, fungi, endomycorrhizal.

* Recibido: octubre de 2013
Aceptado: abril de 2014

Ante una nueva sensibilidad ambiental y la necesidad de un manejo sostenible de los sistemas agrícolas, la importancia del papel de los microorganismos se ha incrementado de manera destacada dentro de la conservación y la fertilidad de los suelos (Adesemoye y Kloepper, 2009; Hungría *et al.*, 2010; Grageda *et al.*, 2012). Reviste gran importancia la preparación de biofertilizantes o inoculantes microbianos que tengan efectividad sobre las plantas y en la agroecología, aunque particularmente aquellos con viabilidad económica. En particular, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) manifiestan diferentes mecanismos que inducen a una mayor exploración del suelo a través de las hifas, disminuyen los efectos de condiciones abióticas adversas para la planta, producen fitohormonas que estimulan el crecimiento de la planta, facilitan la absorción de nutrientes, producen glomalina que adhiere las partículas del suelo, e induce acción protectora contra algunos fitopatógenos del suelo (Smith y Read, 2008).

Algunos HMA benefician en mayor grado a un determinado hospedero comparado con otros, además de que su funcionalidad puede ser alterada en determinadas condiciones edáficas y climáticas, hecho que muestra las marcadas diferencias existentes entre cepas (Klironomos, 2003; Rodríguez *et al.*, 2004). Muchos inoculantes micorrizógenos son preparados a partir de cepas introducidas o extranjeras, aunque actualmente se le ha dado énfasis a la utilización de cepas nativas que puedan ser reintroducidas a través de su inoculación a cultivos, con mayor capacidad de adaptación y efectividad en sitios y climas específicos (Plenchette *et al.*, 2005; Ferrera y Alarcón, 2008; Tchabi *et al.*, 2010). Por lo que es importante conocer la relación existente entre los hongos micorrízicos y los sistemas de producción, con el fin de que la cepa seleccionada sea integrada dentro del modelo agronómico del cultivo (Plenchette *et al.*, 2005; Adesemoye y Kloepper, 2009; Grageda *et al.*, 2012).

En la región norte de Tamaulipas se siembra la mayor superficie de sorgo (*Sorghum bicolor*) en México (≈ 650 mil ha), con una producción de 2.4 millones de toneladas y un rendimiento medio de 2.2 t ha^{-1} . Casi una tercera parte de la superficie se maneja en condiciones de riego y el resto en secano. La sobreexplotación del suelo y el sorgo, como monocultivo, ha traído como consecuencia baja productividad y rentabilidad de la producción en la región (Williams *et al.*, 2006). Por ello es indispensable la implementación de prácticas que contribuyan a ser más eficientes en la producción y dentro del contexto de agricultura sostenible. Por lo tanto, el objetivo del presente

Given a new environmental awareness and the need for sustainable management of agricultural systems, the importance of the role of microorganisms has increased prominently in conservation and soil fertility (Adesemoye and Kloepper, 2009; Hungary *et al.*, 2010; Grageda *et al.*, 2012). Preparation of biofertilizers or microbial inoculants effective on plants and in agroecology is of great importance, but particularly those with economic viability. In particular arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) show different mechanisms inducing greater soil exploration through hyphae, reduce abiotic adverse effects to the plant, produce phytohormones which stimulate plant growth, facilitate nutrient uptake, produce glomalin adhering soil particles, and induce protective action against some soil phytopathogens (Smith and Read, 2008).

Some AMF support a given host more compared to others, and its functionality can be altered in certain soil and climatic conditions, a fact that shows the marked differences between strains (Klironomos, 2003; Rodríguez *et al.*, 2004). Many mycorrhizal inoculants are prepared from introduced or foreign strains, but now emphasis has been given to the use of native strains that can be reintroduced by inoculating crops, with greater adaptability and effectiveness in specific sites and climates (Plenchette *et al.*, 2005; Ferrera and Alarcón, 2008; Tchabi *et al.*, 2010). Thus, it is important to know the relationship between mycorrhizal fungi and production systems, so that the selected strain integrates into the agronomic crop model (Plenchette *et al.*, 2005; Adesemoye and Kloepper, 2009; Grageda *et al.*, 2012).

In northern Tamaulipas the largest area of sorghum (*Sorghum bicolor*) in Mexico is planted ($\approx 650,000$ ha) with a production capacity of 2.4 million tons and an average yield of 2.2 t ha^{-1} . Nearly one third of the surface is under irrigation and the rest is rainfed. Soil overuse and sorghum as monoculture, has resulted in low productivity and production profitability in the region (Williams *et al.*, 2006). Therefore it is essential to implement practices for a more efficient production and in the context of sustainable agriculture. Therefore, this study was aimed to evaluate native strains of mycorrhizal fungi to understand its impact on some plant characteristics and yield of sorghum under irrigated and rainfed conditions.

The study was conducted in 2009 at two locations in northern Tamaulipas, the first in Santo Domingo common land, municipality of Río Bravo (irrigated area) and the second

trabajo fue evaluar cepas nativas de hongos micorrízicos para conocer su impacto sobre algunas características de planta y rendimiento de sorgo en condiciones de riego y secano.

El estudio se realizó durante 2009 en dos localidades del norte de Tamaulipas, la primera en el Ejido Santo Domingo, municipio de Río Bravo (área de riego) y la segunda en 'El Vaso', municipio de Matamoros (área de secano). El híbrido de sorgo utilizado en ambos sitios fue 'DK-345'. En el Ej. Santo Domingo la siembra fue el 5 de febrero, en suelo fertilizado de pre siembra con dosis de 80-00-00 y riegos aplicados en las etapas fenológicas prefloración y grano lechoso. En la localidad 'El Vaso', la siembra fue el 27 de enero y no consideró fertilización química.

Se evaluaron seis cepas de HMA experimentales del INIFAP, provenientes de colectas de regiones semiáridas de Tamaulipas (Peña del Río *et al.*, 2007). Las cepas 3 (*Funneliformis mossae*), 20 (*Gigaspora albida*), 32 (*F. mossae*), 35 (*F. mossae*), 39 (*F. mossae*) y 55 (*Gigaspora* sp.), se compararon con la micorriza INIFAP (*Rhizophagus intraradices*) y un testigo no inoculado. La densidad utilizada fue de 125 mil plantas por hectárea. Las cepas micorrízicas, con ≥ 40 esporas g^{-1} de suelo, se inocularon a razón de 0.5 kg ha^{-1} , mediante agua y adherente. En cada sitio se utilizó el diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, al considerar parcelas de tres surcos (0.82 m) y 6 m de largo.

En ambas localidades se midió el índice de clorofila en los estados fenológicos de hoja bandera (10-abril), en floración (50%; 26-abr) y al término de floración (13-mayo), mediante 15 lecturas por parcela, tomadas de la parte central de hojas bandera, con un determinador portátil Minolta SPAD-502[®]. En madurez fisiológica se estimó la altura de planta y la biomasa seca de cinco plantas tomadas de los surcos centrales de cada parcela experimental. El rendimiento de grano se cuantificó al cosechar y trillar las panojas de los surcos centrales y con humedad de grano ajustada a 14%. Los efectos de los tratamientos sobre las variables se determinaron a través de análisis de varianza combinado entre las localidades y además, correlaciones entre las variables mediante el coeficiente de Pearson ($p \leq 0.05$). Para la comparación de las medias se utilizó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

La respuesta de la planta de sorgo a la combinación cepa micorrízica-condición de humedad, indicó impactos significativos sobre el índice de clorofila en estado de hoja bandera, al final de la floración, biomasa seca y rendimiento de grano; pero no en floración ni en la altura de planta. Los

in 'El Vaso', municipality of Matamoros (rainfed area). The hybrid sorghum used in both sites was 'DK- 345'. In Santo Domingo planting was on February 5th, in pre-plant soil fertilized with doses of 80-00-00 and irrigation applied in the phenological flowering and milky grain stages. In 'El Vaso', planting was on January 27th and did not include chemical fertilization.

Six strains of experimental INIFAP AMF, from collections of semi-arid regions of Tamaulipas (Peña del Río *et al.*, 2007) were evaluated. Three strains (*Funneliformis mossae*), 20 (*Gigaspora albida*), 32 (*F. mossae*), 35 (*F. mossae*), 39 (*F. mossae*) and 55 (*Gigaspora* sp.), were compared to mycorrhizal INIFAP (*Rhizophagus intraradices*) and a non-inoculated check. The density used was 125 thousand plants per hectare. Mycorrhizal strains with ≥ 40 spores g^{-1} soil, inoculated at 0.5 kg ha^{-1} using water and adherent. At each site the randomized complete block design was used, with four replications, considering plots of three rows (0.82 m) and 6 m long.

At both locations, the chlorophyll index was measured in the phenological stages of flag leaf (Apr 10th), flowering (50%, Apr 26th) and end of flowering (May 13th), with 15 readings per plot, taken from the central part of flag leaves, with a portable Minolta SPAD-502[®] meter. At physiological maturity, plant height and dry biomass were estimated from five plants taken from the central rows of each experimental plot. Grain yield was measured by harvesting and threshing the ears of the central rows and grain moisture adjusted to 14%. The effects of treatments on the variables were determined by combined analysis of variance among localities and also correlations among variables using the Pearson coefficient ($p \leq 0.05$). For comparison of means the Tukey test ($p \leq 0.05$) was used.

Sorghum plant response to the combination of mycorrhizal strain - moisture condition, indicated significant impacts on the chlorophyll index in leaf flag state, at the end of flowering, dry biomass and grain yield, but not in flowering or plant height. The highest SPAD indexes in flag leaf state ($p = 0.004$) were with mycorrhizal INIFAP and strains 3, 55 and 35; at the end of flowering were observed ($p = 0.003$) with mycorrhizal INIFAP and strain 55 (*Gigaspora* sp.) (Table 1). The failure to find differences in chlorophyll index among mycorrhizal strains in flowering stage, may be explained because the plant is in a physiologically critical phase. At the end of flowering, all AMF were superior in chlorophyll index, average 17%, compared to the control treatment. It has

mayores índices SPAD en estado de hoja bandera ($p=0.004$) fueron con micorriza INIFAP y las cepas 3, 55 y 35; al final de la floración se observaron ($p=0.003$) con micorriza INIFAP y la cepa 55 (*Gigaspora* sp.) (Cuadro 1). El hecho de no encontrar diferencias de índice de clorofila entre cepas micorrízicas en etapa de floración, tal vez se deba a que la planta se encuentra en una fase fisiológicamente crítica. Al final de la floración todos los HMA fueron superiores en índice de clorofila, promedio 17%, comparado con el tratamiento testigo. Se ha verificado que el índice SPAD de clorofila se encuentra correlacionado con el contenido de clorofila extraíble (Marquard y Tipton, 1987) y con el N foliar (Piekielek y Fox, 1992; Loredó *et al.*, 2008), por lo que es un indicador del estatus fisiológico y sanitario de la planta.

been verified that the SPAD chlorophyll index is correlated with extractable chlorophyll (Marquard and Tipton, 1987) and foliar N (Piekielek and Fox, 1992; Loredó *et al.*, 2008), so it is an indicator of plant physiological status and health.

In dry biomass, most strains increased weight ($p=0.026$) similarly relative to the check. This phenomenon has been observed in other studies with AMF. In greenhouse maize, Boucher *et al.* (1999) reported variations of 16 to 24% on increasing leaf biomass with four species of AMF. In a study with tomato (*Lycopersicon esculentum*) grown in net house, Rodríguez *et al.* (2004) evaluated the effectiveness of six AMF strains and highlighted the response variability in plant height and dry biomass among strains.

Cuadro 1. Características de planta y rendimiento de sorgos influenciados por cepas de hongos micorrízicos en condiciones de riego y secano.

Table 1. Plant characteristics and yield of sorghum influenced by mycorrhizal fungi strains under irrigated and rainfed conditions.

Factor	Índice de clorofila (SPAD)			Altura de planta (cm)	Biomasa seca (g)	Rend. (kg ha ⁻¹)
	Hoja bandera	Floración	Final de floración			
<i>Cepa</i>						
Micorriza INIFAP	39.5 a*	39.6	34.4 a	109.5	54.2 a	3760 a
32 (<i>F. mossae</i>)	37.7 b	38.6	31.2 b	109.1	53.5 a	2999 c
3 (<i>F. mossae</i>)	39.0 a	39.0	31.4 b	107.8	50.1 a	2909 c
55 (<i>Gigaspora</i> sp.)	39.5 a	38.8	35.1 a	107.8	53.9 a	3616 ab
39 (<i>F. mossae</i>)	38.0 b	40.1	31.6 b	106.3	52.0 a	3223 bc
20 (<i>Gigaspora albida</i>)	37.7 b	38.4	32.0 ab	106.0	54.2 a	3377 b
35 (<i>F. mossae</i>)	39.9 a	38.1	33.0 ab	108.9	49.2 ab	3514 b
Testigo	33.9 c	37.1	26.5 c	105.8	44.6 b	2886 c
P>F	0.004	0.345	0.003	0.202	0.026	0.001
<i>Condición</i>						
Secano ('El Vaso')	40.1 a	32.2 b	24.0 b	99.4 b	45.0 b	3069 b
Riego (Sto. Domingo)	36.3 b	44.8 a	39.8 a	115.9 a	57.9 a	3565 a
P>F	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
Cepa x condición	0.021	0.200	0.071	0.528	0.624	0.911
CV	4.5	8.4	8.3	3.2	13.1	14.3

*Tukey ($p \leq 0.05$).

En la biomasa seca, la mayoría de las cepas incrementaron el peso ($p=0.026$) de forma similar con relación al testigo. Este fenómeno se ha observado en otros estudios con HMA. En maíz de invernadero, Boucher *et al.* (1999) reportaron variaciones de 16 a 24% en el incremento de biomasa foliar con cuatro especies de HMA. En un estudio con tomate (*Lycopersicon esculentum*) cultivado en casa malla, Rodríguez *et al.* (2004), evaluaron la efectividad de seis cepas de HMA y destacaron la variabilidad de respuesta en altura de planta y biomasa seca entre las cepas.

In grain yield variations between mycorrhizal strains were observed, most outperformed the check. However, mycorrhizal INIFAP and strain 55 (*Gigaspora* sp.) showed a higher production (Table 1). In particular mycorrhizal INIFAP was also effective on sorghum under a different agro-technological management in the state of Tamaulipas (Díaz *et al.*, 2013). It is a fact that AMF strains functionality may vary depending on the interactions between the host, the soil and climatic conditions, there can be differences even among the same species (Klironomos, 2003; Rodríguez *et al.*, 2004).

En el rendimiento de grano se observaron variaciones entre las cepas micorrízicas, la mayoría superaron el rendimiento del testigo. No obstante, destacaron micorriza INIFAP y la cepa 55 (*Gigaspora* sp.) por su mayor producción (Cuadro 1). En particular la micorriza INIFAP también ha presentado efectividad en sorgo cuando fue sometida bajo diferente manejo agrotecnológico en el estado de Tamaulipas (Díaz *et al.*, 2013). Es un hecho de que las cepas de HMA pueden variar su funcionalidad según las interacciones entre el hospedero y las condiciones edafoclimáticas, diferencias que pueden ser incluso entre la misma especie (Klironomos, 2003; Rodríguez *et al.*, 2004).

Los mayores valores del índice de clorofila en las etapas de floración y final de floración ($p=0.001$) se observaron en la condición de riego. De forma similar, como era de esperarse, la altura de planta, biomasa seca y el rendimiento de grano, fueron mayores ($p=0.001$) en la condición de riego que en secano (Cuadro 1). Correlaciones significativas positivas (de $r=0.69^{**}$ a 0.93^{**}) entre índice de clorofila en floración y al final de la floración con las variables altura de planta, biomasa seca y rendimiento de grano fueron evidenciadas. Por el contrario, el índice de clorofila en estado de hoja bandera no mostró correlación, probablemente se debe a que es el resultado de otros factores diferentes a los considerados en este estudio. La altura de planta correlacionó con biomasa seca ($r=0.88^{**}$) y el rendimiento de grano ($r=0.70^{**}$).

Los resultados del estudio mostraron la expresión del potencial de las cepas nativas experimentales de HMA en el sorgo. Son cepas cuyo origen proviene de las regiones semiáridas del estado de Tamaulipas. Tchabi *et al.* (2010) indicaron que la efectividad de los HMA es más dependiente de su capacidad y habilidad intrínseca que de su origen geográfico. Actualmente y desde el punto de vista práctico, se le ha dado importancia en seleccionar HMA eficientes, que procedan de agroecosistemas particulares donde se les pretendan incorporar como un elemento biotecnológico.

Literatura citada

Adesemoye, A. O. and Kloepper, J. W. 2009. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Appl. Microbiol. Biotech.* 85:1-12

Boucher, A., Dalpe, Y. and Charest, C. 1999. Effect of arbuscular mycorrhizal colonization of four species of *Glomus* on physiological responses of maize. *J. Plant Nutr.* 22:783-797.

Highest chlorophyll index values in the flowering and end of flowering stages ($p=0.001$) were observed under irrigation conditions. Similarly, as expected, plant height, dry biomass and grain yield were higher ($p=0.001$) in irrigation compared to rainfed conditions (Table 1). Significant positive correlations ($r=0.69^{**}$ to 0.93^{**}) between chlorophyll index in flowering and end of flowering with plant height, dry biomass and grain yield were evidenced. By contrast, chlorophyll index in leaf flag state showed no correlation, probably because it is the result of factors other than those considered in this study. Plant height correlated with dry biomass ($r=0.88^{**}$) and grain yield ($r=0.70^{**}$).

Results of this study showed the expression of potential of experimental native AMF strains in sorghum. These strains come originally from the semi-arid regions of the state of Tamaulipas. Tchabi *et al.* (2010) indicated that AMF effectiveness is more dependent on its intrinsic capability and skill than on geographical origin. Currently and from the practical point of view, selection of efficient AMF has been emphasized, deriving from particular agroecosystems where they are intended to be incorporated as a biotechnological element.

End of the English version



Díaz, F. A.; Cortinas, E. H.; De la Garza, C. M.; Valadez, G. J. y Peña del Río, M. A. 2013. Micorriza arbuscular en sorgo bajo diferente manejo agrotecnológico y ambiental. *Rev. Méx. Cien. Agric.* 4:215-228.

Ferrera, C. R. y Alarcón, A. 2008. Biotecnología de hongos micorrízicos arbusculares. In: Díaz, F. A.; Mayek, P. N. (Eds.). *La biofertilización como tecnología sostenible*. Plaza y Valdés, CONACYT. México. 25-38 pp.

Grageda, C. O.; Díaz, F. A.; Peña, C. J. y Vera, N. J. 2012. Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Rev. Mex. Cien. Agric.* 3:1261-1274.

Hungria, M.; Rubens, C.; Souza, E. and Pedrosa, F. 2010. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yield of maize and wheat in Brazil. *Plant Soil.* 331:413-425.

Klironomos, J. M. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology* 84:2292-2301.

Loredo, O. C.; Espinosa, D.; Ferrera, C. R.; Castellanos, J. y Pérez, J. 2008. Biofertilización bacteriana del pasto buffel. In: Díaz, F. A. y Mayek, P. N. (Eds.). *La biofertilización como tecnología sostenible*. Plaza y Valdés, CONACYT. México, D. F., 55-66 pp.

Marquard, R. D. and Tipton, J. L. 1987. Relationship between extractable chlorophyll and an *in situ* method to estimate leaf greenness. *HortScience* 22:1327.

Peña del Río, M. A.; Díaz, F. A. y Montes, G. M. 2007. Aislamiento e identificación de hongos micorrízicos arbusculares de la región semiárida de Tamaulipas, México. Libro II Foro Internacional Biológico Agropecuario. Universidad Veracruzana, Tuxpan, Veracruzana. 468-476 pp.

Piekielek, W. P. and Fox, R. H. 1992. Use of chlorophyll meter to predict sidedress nitrogen requirements for maize. *Agron. J.* 84:59-65.

- Plenchette, C.; Dauphin, C. C.; Maynard, J. M. and Fortin, J. A. 2005. Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems. *Can. J. Plant Sci.* 85:31-40.
- Rodríguez, Y. Y.; Pons, B. N.; Fernández, M. F. y Rodríguez, H. P. 2004. Estudio comparativo de seis cepas de hongos micorrízicos arbusculares en su interacción con el tomate (*Lycopersicon esculentum*). *Ecol. Aplicada* 3:162-171.
- Smith, G. S. and Read, D. J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. 3th (Ed.). Academic Press. London. 750 p.
- Tchabi, A.; Coyne, D.; Hountondji, F.; Lawouin, L.; Wiemken, A. and Oehl, F. 2010. Efficacy of indigenous arbuscular mucorrhizal fungi for promoting white yeam (*Dioscorea rotundata*) growth in West Africa. *Appl. Soil Ecol.* 45:92-100.
- Williams, A. H.; Montes, G. N. y Pecina, Q. V. 2006. Sorgo. *In*: Rodríguez del Bosque, L. (Ed.). *Campo Experimental Río Bravo: 50 Años de Investigación Agropecuaria en el Norte de Tamaulipas*. Campo Experimental Río Bravo, INIFAP. Río Bravo, Tamaulipas, México. Libro técnico Núm. 1. 287 p.