



2022
Lleida

27 · 1
junio · juny
julio · juliol

Cataluña
Catalunya

8º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

La **Ciencia forestal** y su contribución a
los **Objetivos de Desarrollo Sostenible**

8CFE

Edita: Sociedad Española de Ciencias Forestales

Cataluña | Catalunya · 27 junio | juny - 1 julio | juliol 2022

ISBN 978-84-941695-6-4

© Sociedad Española de Ciencias Forestales



Organiza

Detección de estrés en planta forestal mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS)

CAMISÓN CABALLERO A.¹, MERLO SÁNCHEZ E. ², DORADO REYES J. ¹, OLIVA B. ¹, MADROÑERO A. ¹, PIÑEIRO GARCÍA M. ², GONZÁLEZ R. ¹, ALCAIDE F. ¹, SOLLA A¹

¹Ingeniería Forestal y del Medio Natural, Instituto de Investigación de la Dehesa (INDEHESA), Universidad de Extremadura. Avenida Virgen del Puerto 2, Plasencia, España (fdoradoreyes@unex.es; asolla@unex.es).

²MaderaPlus Calidad Forestal S.L., Parque Tecnológico de Galicia, Ed. CEI, Ourense, España (maderaplus@maderaplus.es).

Resumen

La espectroscopia de infrarrojo cercano o NIRS es un método óptico de diagnóstico no invasivo que utiliza la absorción o reflexión de determinadas longitudes de onda producida por los enlaces químicos C-H, O-H y N-H de los compuestos que se encuentran en los tejidos. Esta técnica se ha aplicado con éxito en el ámbito agrícola para detectar estrés en planta, y por su rapidez y naturaleza no destructiva se evalúa aquí su potencial en *Castanea sativa*, *Quercus suber* y *Q. ilex*. Se evaluaron los espectros obtenidos en hoja de (i) ocho clones de castaño con distinta susceptibilidad a *Phytophthora cinnamomi* (Pc), (ii) brinzales de alcornoque sometidos individual y simultáneamente a estrés térmico y estrés hídrico, (iii) brinzales de alcornoque sometidos individual y simultáneamente a estrés térmico y a Pc, y (iv) brinzales de encina sometidos a Pc frente a planta control. Tras la transformación de los espectros y el análisis de componentes principales, se han desarrollado modelos discriminantes cuadráticos que permiten caracterizar el tipo de estrés al que está sometida la planta a partir de la captura del espectro en hoja, con un nivel de eficiencia > 86%.

Palabras clave

Diagnóstico, patología, seca, calor, *Phytophthora*.

1. Introducción

La espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS; Near Infrared Reflectance Spectrometry) es una técnica espectroscópica vibracional basada en la región espectral del infrarrojo cercano (770-2500 nm) ampliamente utilizada en el ámbito agrícola y forestal para la evaluación de aspectos cualitativos y cuantitativos de la planta. Actualmente constituye un método de diagnóstico rápido, preciso, sensible, no invasivo y en tiempo real que puede identificar compuestos químicos como consecuencia de las vibraciones moleculares de los enlaces C-H, O-H y N-H de los compuestos, proporcionando también información sobre dispersión causada por heterogeneidades microestructurales (WANG et al., 2021). En el ámbito forestal, las aplicaciones de la técnica NIRS incluyen la identificación de especies forestales, regiones de procedencia o la predicción de propiedades físicas y químicas de hojas y madera, pero también la detección de estrés abiótico o biótico en planta (ABDULRIDHA et al., 2016; WANG et al., 2021). La técnica NIRS permite detectar estrés hídrico en cítricos, olivo, *Quercus* spp. y angiospermas (STIMSON et al., 2005; JOHNSON et al., 2013; COTROZZI et al., 2017; RADDI et al., 2021) así como enfermedades fúngicas (MOHD HILMI TAN et al., 2021) o causadas por oomicetos del género *Phytophthora* (NEWBY et al., 2019) en planta forestal.

La encina (*Quercus ilex*), el alcornoque (*Q. suber*) y el castaño (*Castanea sativa*), tres de los árboles más representativos de la cuenca Mediterránea, soportan un estrés fisiológico creciente como consecuencia de las tendencias del cambio climático (aumento de las temperaturas medias, mayor irregularidad de las precipitaciones y ocurrencia más frecuente de eventos extremos como olas de calor y sequías) y la introducción de organismos exóticos invasores como el oomiceto

Phytophthora cinnamomi Rands. (*Pc*), un agente de podredumbre radicular que constituye el principal factor biótico involucrado en la ‘seca’ de encinas y alcornoques y que en castaño produce la enfermedad de la ‘tinta’. El desarrollo de métodos de diagnóstico temprano de estrés abiótico e infección por *Pc* y para la identificación de genotipos tolerantes al estrés en estas especies supondría una herramienta útil para apoyar la correcta toma de decisiones en plantaciones y viveros, el monitoreo ambiental de los bosques o la mejora genética de las especies. Sin embargo, el uso de técnicas ópticas de diagnóstico de estrés abiótico y enfermedades en estas especies es aún limitado.

En *C. sativa*, el NIRS se ha aplicado con éxito para la detección de daños por hongos en castañas (MOSCETTI et al., 2014), o para la caracterización de las propiedades físicas de la madera (MANCINI et al., 2019). En *Q. ilex*, el NIRS se ha usado con éxito para la detección de estrés hídrico en plántulas (RADDI et al., 2021) mientras que en *Q. suber* la espectroscopia de infrarrojo medio (MIRS) se ha usado para caracterizar la respuesta de las raíces a la infección por *Pc* (HARDOIM et al., 2016).

2. Objetivos

El objetivo de este trabajo fue evaluar los espectros en hoja de (i) ocho clones de castaño con distintas tolerancias a *Pc*, (ii) brinzales de alcornoque sometidos individual y simultáneamente a estrés térmico y estrés hídrico, (iii) brinzales de alcornoque sometidos individual y simultáneamente a estrés térmico y a *Pc*, y (iv) brinzales de encina sometidos a *Pc* frente a planta control, y correlacionar los espectros obtenidos con la tolerancia a *Pc* de los clones de castaño y con el tipo de estrés aplicado en *Q. ilex* y *Q. suber*.

3. Metodología

MATERIAL VEGETAL. Para el ensayo con castaño se utilizaron plantas micropropagadas in vitro de entre una y dos savias de los clones de castaño ‘111-1’, ‘2671’, ‘7521’, ‘Valle Matamoros I’ (resistentes a *Pc*), ‘Valle Matamoros II’, ‘90044’ (susceptibilidad intermedia), ‘Cs12’ y ‘Paterna del Río 18’ (susceptibles) plantadas en macetas de 1 L. Las plantas fueron adquiridas en el vivero del grupo TRAGSA-SEPI ubicado en Maceda (Ourense) y trasladadas al invernadero del Centro Universitario de Plasencia en enero de 2021. Para los ensayos con alcornoque y encina se utilizaron plántulas de dos savias de *Q. suber* procedentes de tres poblaciones (Extremadura, Portugal y Marruecos) y plántulas de una savia de *Q. ilex* procedentes de Extremadura, respectivamente. Las bellotas fueron sembradas por la UEx en enero de 2020 y 2021, respectivamente, en bandejas de 48 alveolos de 300 mL de volumen. El sustrato utilizado en todos los casos fue una mezcla (9:1) de turba rubia Sphagnum (Kekkila® Professional) y vermiculita (Projar®, grado 2). Se añadió abono NUTRICOTE (15+9+10 T270) de liberación lenta a una dosis aproximada de 4 g/L, y todo el material vegetal fue regado a capacidad de campo al menos una vez por semana.

DISEÑO EXPERIMENTAL Y APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS DE ESTRÉS. Los ensayos se realizaron en el invernadero del Centro Universitario de Plasencia entre abril y mayo de 2021. Para el primer ensayo, 10-12 plantas de cada clon de castaño se dispusieron el 1 de abril en un diseño completamente aleatorizado y se mantuvieron bajo condiciones hídricas óptimas hasta la medición de espectros. En el segundo ensayo, 4 bandejas forestales con brinzales de *Q. suber* fueron sometidas a los tratamientos ‘control’ (C), ‘estrés hídrico’ (WS), ‘estrés térmico’ (T) y estrés térmico combinado con estrés hídrico (T+WS), midiéndose el espectro NIR siete días después del inicio de los tratamientos (n=30 por tratamiento). En el tercer ensayo 4 bandejas forestales conteniendo brinzales de *Q. suber* fueron sometidas a los tratamientos ‘control’ (C), ‘estrés térmico’ (T), ‘inoculación con *Pc*’ (*Pc*) y estrés térmico combinado con *Pc* (T+*Pc*), midiéndose el espectro NIR en hoja siete días después del fin del tratamiento T (n=30 por tratamiento). Para el cuarto ensayo, 4

bandejas forestales con brinzales de *Q. ilex* fueron asignados a los tratamientos 'control' (C), 'inoculación con *Pc*' (*Pc*), tratamiento con fosfito potásico (un inductor de resistencia frente a *Pc*) y tratamiento con fosfito (Fi) seguido de inoculación con *Pc* (Fi+*Pc*), midiéndose el espectro NIR cuatro días después de la inoculación (n=30 por tratamiento). Los tratamientos de estrés hídrico se aplicaron manteniendo el contenido volumétrico de agua del suelo por debajo del 4 % de acuerdo a las mediciones realizadas con un medidor de humedad (Field Scout™ TDR Soil Moisture Meter, Spectrum Technologies, Inc.) mientras que para la aplicación del tratamiento T los brinzales se introdujeron en un horno especialmente diseñado para estresar planta, donde cada día fueron sometidas a temperaturas de 42 °C. El inóculo de *Pc* se preparó siguiendo el protocolo de JUNG et al., (1996) usando la cepa virulenta 'MYC018' y los brinzales fueron inoculados con *Pc* en raíz tras lo cual las bandejas fueron inundadas 48 h para promover la infección.

TOMA DE DATOS NIRS. El espectro NIRS se midió en el invernadero del Centro Universitario de Plasencia a lo largo de tres días consecutivos (5-7 de mayo de 2021) entre las 10:00 h y 13:00 h de la mañana bajo condiciones naturales de luz y temperatura. Se realizaron dos mediciones (réplicas técnicas) en una única hoja por planta usando la tercera o cuarta hoja completamente desarrollada y sin síntomas de estrés contando desde el ápice del tallo, y el promedio de ambas mediciones se consideró representativo de cada hoja. Se empleó un sistema portátil MicroNIR OnSite que permite realizar medidas de reflectancia difusa y cubre un rango espectral de 950 a 1650 nm (10526-6060 cm-1) con una alta resolución del espectro cada 6,19 nm.

ANÁLISIS DE DATOS ESPECTRALES. Inicialmente se efectuó un análisis visual de los espectros para detectar posibles errores en las mediciones, consistente en eliminar aquellos espectros en crudo con firmas espectrales claramente diferentes al resto. A continuación, se aplicaron una serie de pretratamientos matemáticos sobre los espectros con el objetivo de reducir los efectos del ruido de fondo y la información redundante sobre el rendimiento de la calibración. Cada pretratamiento es incapaz de cumplir todos los objetivos a la vez, con lo que la selección del pretratamiento más apropiado es un proceso empírico que depende de los resultados obtenidos tras la calibración de la variable objetivo. Los pretratamientos evaluados fueron los siguientes: 'estándar normal variable' (SNV), 'detrend', 'primera derivada del espectro en crudo' (SG1), 'segunda derivada del espectro en crudo' (SG2), 'primera derivada del espectro SNV' (SNVSG1) y 'segunda derivada del espectro SNV' (SNVSG2). SNV reduce los efectos del ruido del tamaño de partícula al escalar cada espectro para tener una desviación estándar de 1.0. Detrend reduce la curvatura de cada espectro y se aplica conjuntamente con el tratamiento SNV. La primera derivada reduce el desplazamiento de la línea base en todas las longitudes de onda y estandariza las tasas de absorción de la línea base, lo que hace que los picos y valles espectrales sean más comparables. La segunda derivada convierte los picos máximos locales en picos mínimos por debajo de la línea base, que se aplanan. El método utilizado para obtener las derivadas ha sido el de Savitzky Golay (SAVITZKY & GOLAY, 1964) empleando un tamaño de ventana de cinco puntos para el suavizado del espectro.

Se elaboraron modelos clasificatorios descriptivos (no predictivos) para distinguir entre clones de castaño resistentes y susceptibles a *Pc* y entre distintos tipos de estrés en *Q. suber* y *Q. ilex*. Para ello se realizaron análisis de componentes principales (PCA) seguidos de análisis discriminantes cuadráticos (QDA) sobre los espectros NIR. El QDA es un método que se utiliza para clasificar una variable de respuesta en dos o más clases, cuando tiene un conjunto de variables predictoras. Se considera el equivalente no lineal del análisis discriminante lineal. Permite predecir la probabilidad de pertenecer a una clase (o categoría) determinada en función de varias variables predictoras en este caso continuas. Para la selección del número óptimo de componentes principales del modelo discriminante se tomaron aquellas cuyos valores propios fuesen mayores a la unidad.

4. Resultados

Mediante el espectro NIR de la hoja fue posible distinguir entre clones de castaño resistentes a *Pc* y clones susceptibles. La transformación del espectro que dio lugar a un mayor poder clasificatorio en el modelo fue la transformación SNV seguido de SG1. Usando 10 componentes principales, el análisis PCA seguido de QDA para esta transformación del espectro permitió clasificar correctamente los clones de acuerdo a su resistencia a *Pc* en un 94,3% de los casos (Tabla 1).

Tabla 1. Consenso entre la clase de susceptibilidad real de cada clon de castaño y la clase predicha por el modelo (susceptible, intermedio y resistente) en base al espectro NIR de la hoja.

		Clase predicha (susceptibilidad)		
		Susceptible	Intermedio	Resistente
Clase real	Susceptible	16	1	0
	Intermedio	0	11	1
	Resistente	0	1	23

Mediante el espectro NIR de la hoja también fue posible distinguir entre brinzales de *Q. suber* no estresados y estresados por T, WS y T+WS (Tabla 2). La transformación del espectro que dio lugar a un mayor poder clasificatorio en el modelo fue la transformación SNV seguido de SG2, con un acierto del 91% en la clasificación de los casos usando 11 componentes principales (Tabla 2).

Tabla 2. Consenso entre la clase real de estrés y el tipo de estrés predicho por el modelo en brinzales de *Q. suber* sometidos a los tratamientos control (C), estrés térmico (T), estrés hídrico (WS) y estrés hídrico combinado con estrés térmico (WS+T) en base al espectro NIR medido en hoja.

		Clase Predicha			
		Control	T	Ws	Ws + T
Clase real	Control	16	0	0	0
	T	1	18	0	0
	Ws	0	2	18	0
	Ws + T	3	0	0	12

En los brinzales de *Q. suber* sometidos a estrés térmico, *Pc* y a ambos estreses combinados, la transformación del espectro que dio lugar al modelo con el mayor poder discriminante fue la segunda derivada del espectro SNV. El análisis mediante PCA seguido de QDA para esta transformación usando 13 componentes principales permitió clasificar correctamente los brinzales de acuerdo al estrés al que estaban sometidos en un 90.5 % de los casos (Tabla 3).

Tabla 3. Consenso entre la clase real de estrés y el tipo de estrés predicho por el modelo en brinzales de *Q. suber* sometidos a los tratamientos control (C), estrés térmico (T), estrés térmico combinado con *P. cinnamomi* (T+Pc) e inoculación con *P. cinnamomi* (Pc) en base al espectro NIR medido en hoja.

		Clase predicha			
		Control	T	T+Pc	Pc
Clase real	Control	24	0	0	0
	T	1	30	3	1
	T+Pc	0	3	19	1
	Pc	0	0	0	23

La segunda derivada del espectro SNV seguida de análisis PCA y QDA permitió, usando 12 componentes principales, distinguir los brinzales de *Q. ilex* infectados con *Pc* de aquellos no infectados, independientemente de si se aplicó fosfito potásico a la planta infectada, con una eficacia del modelo en la clasificación del 86.8 % de los casos (Tabla 4).

Tabla 4. Consenso entre la clase real de estrés y el tipo de estrés predicho por el modelo en brinzales de *Q. suber* sometidos a los tratamientos control (C), estrés térmico (T), estrés térmico combinado con *P. cinnamomi* (T+Pc) e inoculación con *P. cinnamomi* (Pc) en base al espectro NIR medido en hoja.

		Clase predicha			
		Control	T	T+Pc	Pc
Clase real	Control	24	0	0	0
	T	1	30	3	1
	T+Pc	0	3	19	1
	Pc	0	0	0	23

5. Discusión

El uso de la espectroscopía NIR en castaño se ha limitado hasta ahora a la determinación de rasgos cuantitativos (MANCINELLI et al., 2014; MOSCETTI et al., 2014) o al análisis de la calidad y el origen de las castañas (HU et al., 2017; NARDECCHIA et al., 2020). Este es el primer estudio en testar la posibilidad de discriminar entre castaños resistentes y susceptibles a *Pc* en base a su espectro NIR. Es necesario realizar más investigación en este sentido y validar en nuevo material los modelos predictivos desarrollados. No obstante, el uso de NIRS puede ser un método eficiente, rápido y barato para distinguir genotipos resistentes en *screenings* masivos de resistencia a *Pc* en *Castanea* spp.

La detección rápida de estrés hídrico y térmico es, en el actual contexto de cambio climático, de capital importancia para la monitorización de ecosistemas forestales, plantaciones, y stock de vivero. La detección rápida de estrés hídrico mediante NIRS es posible en otras especies de *Quercus* spp. como *Q. ilex* (RADDI et al., 2021) o *Q. agrifolia* (HUNT JR. & ROCK, 1989). Sin embargo, este es el primer estudio mostrando que es posible detectar estrés hídrico, térmico y su combinación mediante NIRS en alcornoque.

Finalmente, los resultados obtenidos en este trabajo para los brinzales de *Q. suber* sometidos a estrés térmico, *Pc* y a ambos estreses combinados están en línea con otros estudios previos en *Ulmus minor* y *Q. suber*, donde plantas infectadas presentaron un espectro NIR característico y diferente del de plantas no infectadas, en muestras de tallo y raíz respectivamente (HARDOIM et al., 2016; MARTÍN et al., 2007, 2008). La detección directa de estrés en hoja es sin embargo un método más conveniente por su rapidez en comparación con las mediciones en raíz, por lo que nuevos estudios han de desarrollarse para validar los resultados obtenidos aquí.

6. Conclusiones

El uso de espectroscopia NIR combinada con análisis quimiométrico permite clasificar eficientemente clones de castaño resistentes y susceptibles a *P. cinnamomi*, así como distinguir el tipo de estrés (térmico, hídrico e infección por *P. cinnamomi*) al que están sometidos plántulas de *Q. suber* y *Q. ilex*. Este estudio es un primer acercamiento a la detección rápida de estrés en estas especies, siendo necesarios más estudios para la validación de los modelos predictivos desarrollados.

7. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el VI-Plan Regional de I+D+i de la Consejería de Economía e Infraestructuras (Junta de Extremadura) bajo el proyecto 'Impacto del estrés térmico en castaño y alcornoque: obtención de genotipos tolerantes para Extremadura' (IB18091), por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) de la Unión Europea, y por el proyecto piloto "Nematodo-Screen": Infrarrojo cercano para seleccionar por susceptibilidad al nematodo", cofinanciado con el Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (FEADER) en el marco del Programa de desarrollo rural (PDR) de Galicia 2014-2020. F.J. Dorado ha sido financiado por el Ministerio de Educación a través de FPU16/03188.

8. Bibliografía

ABDULRIDHA, J.; EHSANI, R.; DE CASTRO, A.; 2016. Detection and Differentiation between Laurel Wilt Disease, *Phytophthora* Disease, and Salinity Damage Using a Hyperspectral Sensing Technique. *Agriculture* 6(4), 56

COTROZZI, L.; COUTURE, J.J.; CAVENDER-BARES, J.; KINGDON, C.C.; FALLON, B.; PILZ, G.; PELLEGRINI, E.; NALI, C.; TOWNSEND, P.A.; 2017. Using foliar spectral properties to assess the effects of drought on plant water potential. *Tree Physiol* 37, 1582–1591.

HARDOIM, P.R.; GUERRA, R.; ROSA DA COSTA, A.M.; SERRANO, M.S., SÁNCHEZ, M.E.; COELHO, A.C.; 2016. Temporal metabolic profiling of the *Quercus suber*–*Phytophthora cinnamomi* system by middle-infrared spectroscopy. *For Path* 46, 122-133.

HU, J.; MA, X.; Liu, L.; WU, Y.; OUYANG, J.; 2017. Rapid evaluation of the quality of chestnuts using near-infrared reflectance spectroscopy. *Food Chem* 231, 141-147.

HUNT JR., E.R.; ROCK, B.N.; 1989. Detection of changes in leaf water content using Near- and Middle-Infrared reflectances. *Remote Sens Environ* 30, 43-54

JOHNSON, K.; SANKARAN, S.; EHSANI, R.; 2013. Identification of Water Stress in *Citrus* Leaves Using Sensing Technologies. *Agronomy* 3(4), 747-756.

JUNG, T.; BLASCHKE, H.; NEUMANN, P.; 1996. Isolation, identification and pathogenicity of *Phytophthora* species from declining oak stands. *Eur J For Pathol* 26, 253-272.

MANCINI, M.; LEONI, E.; NOCETTI, M.; URBINATI, C.; DUCA, D.; BRUNETTI, M.; TOSCANO, G.; 2019. Near infrared spectroscopy for assessing mechanical properties of *Castanea sativa* wood samples. *J Agric Eng* 50, 191-197.

MARTÍN, J.A.; SOLLA, A.; WOODWARD, S.; GIL, L.; 2007. Detection of differential changes in lignin composition of elm xylem tissues inoculated with *Ophiostoma novo-ulmi* using Fourier transform- infrared spectroscopy. *For Pathol* 37(3), 187-191.

MARTÍN, J.A.; SOLLA, A.; COIMBRA, M.A.; GIL, L.; 2008. Metabolic fingerprinting allows discrimination between *Ulmus pumila* and *U. minor*, and between *U. minor* clones of different susceptibility to Dutch elm disease. *For Pathol*, 38(4), 244-256.

MOHD HILMI TAN, M.I.S.; JAMLOS, M.F.; OMAR, A.F.; DZAHARUDIN, F.; CHALERMWISUTKUL, S.; AKKARAEKTHALIN, P.; 2021. *Ganoderma boninense* Disease Detection by Near-Infrared Spectroscopy Classification: A Review. *Sensors* 21, 3052.

MOSCETTI, R.; MONARCA, D.; CECCHINI, M.; P. HAFF, R.; CONTINI, M.; MASSANTINI, R.; 2014. Detection of Mold-Damaged Chestnuts by Near-Infrared Spectroscopy. *Postharvest Biol Technol* 93, 83-90.

NARDECCHIA, A.; PRESUTTO, R.; BUCCI, R.; BIANCOLILLO, A.; 2020. Authentication of the Geographical Origin of “Vallerano” Chestnut by Near Infrared Spectroscopy Coupled with Chemometrics. *Food Anal Methods* 13, 1782–1790.

NEWBY, Z.; MURPHY, R.J.; GUEST, D.I.; et al. 2019. Detecting symptoms of *Phytophthora cinnamomi* infection in Australian native vegetation using reflectance spectrometry: complex effects of water stress and species susceptibility. *Australasian Plant Pathol* 48, 409–424.

RADDI, S.; GIANNETTI, F.; F., MARTINI, S.; et al. 2021. Monitoring drought response and chlorophyll content in *Quercus* by consumer-grade, near-infrared (NIR) camera: a comparison with reflectance spectroscopy. *New Forests* <https://doi.org/10.1007/s11056-021-09848-z>.

SAVITZKY, A.; GOLAY, M.J.E.; 1964. Smoothing and Differentiating of Data by Simplified Least Squares Procedures. *Anal Chem* 36, 1627–1639.

STIMSON, H.C.; BRESHEARS, D.D.; USTIN, S.L.; KEFAUVER, S.C.; 2005. Spectral sensing of foliar water conditions in two co-occurring conifer species: *Pinus edulis* and *Juniperus monosperma*. *Remote Sens Environ* 96, 108-118.

WANG, Y.; XIANG, J.; TANG, Y.; CHEN, W.; XU, Y.; 2021. A review of the application of near-infrared spectroscopy (NIRS) in forestry. *Appl Spectrosc Rev* DOI: 10.1080/05704928.2021.1875481.