ACUMULAÇÃO DE FLUORETO POR MACRÓFITAS AQUÁTICAS

Fernando Alves Ferreira¹, Roger Paulo Mormul¹, †Gilberto Pedralli², Armando Molina Divan Junior³

RESUMO

Espécies tolerantes têm sido utilizadas como uma excelente ferramenta para a verificação do grau de poluição de muitos ambientes, sendo utilizados os mais diversos grupos de organismos para essa prática. O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito das estações seca e chuvosa, bem como da distância da fonte emissora de gás fluoreto sobre o acumulo de íon fluoreto em espécies de macrófitas aquáticas. Para tanto foram realizadas análises químicas das folhas de sete espécies de macrófitas aquáticas, coletadas nas margens do Córrego Varjada, nas proximidades de Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil. Como parâmetros para a análise foram considerados duas estações (seca e chuvosa), formas biológicas e a distância da fonte emissora do gás flúor. Os resultados revelaram que as espécies que mais acumularam fluoreto foram *Mikania cordifolia* e *Alternanthera tenella. Coix lacryma-jobi* foi considerada a espécie mais sensível, devido a sua ocorrência apenas longe da fonte emissora, sendo que essa espécie é comum na região estudada. Diferenças significativas foram registradas, demonstrando que a estação seca e a forma anfíbia apresentaram maiores valores de fluoreto e que a distância da fonte emissora, afeta o acumulo de fluoreto. Em suma, sugere-se o uso de *M. cordifolia* e *A. tenella* como espécies tolerantes e *C. lacryma-jobi* como sensível a esse poluente, em estudos que avaliem a presença desse gás. Além disso, sugerimos que estudos sejam desenvolvidos em outras regiões e com diferentes graus de poluição para determinar a eficiência dessas espécies.

Palavras-chave: espécies indicadoras; plantas aquáticas; poluição.

FLUORIDE ACCUMULATION BY AQUATIC MACROPHYTES

ABSTRACT

Tolerant species have been used as excellent tool to verify different degrees of pollution in several environments, using many kinds of organisms. Aquatic macrophytes are little used, probably because of few studies showing their efficiency as species indicator for a specific pollutant. In this study, aquatic macrophyte species were identified as fluoride accumulators and may be used to assess the presence of this gas. Samplings were carried out in Ouro Preto, Minas Gerais, Brazil. Samples of seven macrophyte species were collected to analyses of fluoride content. As parameters to statistical analyses were considered two seasons (dry and rainy), biological forms and distance from fluoride gas emission source. The species that show more accumulation of fluoride were *Mikania cordifolia* and *Alternanthera tenella*. *Coix lacryma-jobi* was considered sensible species, due to its occurrence only farther from emission source; however, this species is common in studied area. Significant differences were found, showing that dry season and amphibian forms accumulated high values of fluoride and that the distance from emission source affects the fluoride accumulation. In summary, we suggested the use of *M. cordifolia* and *A. tenella* as tolerant species and *C. lacryma-jobi* a sensible species to this pollutant, in studies which evaluate the presence of this gas. In addition, we suggest the development of new studies in other regions using different degrees of fluoride gas to establish the efficiency of these species.

Keywords: aquatic plants; indicator species; pollution.

¹ Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Universidade Estadual de Maringá – UEM.

² Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP. (In memoriam)

³ Departamento de Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

INTRODUÇÃO

O uso de bioindicadores na avaliação do grau de poluição do ar tem como principal vantagem, em relação aos métodos físicoquímicos, a redução significante do custo no monitoramento. Outra vantagem comparativa é que algumas espécies possuem respostas específicas a um poluente, as quais podem ser observadas e avaliadas em áreas onde ocorre a poluição (1,2,3,4). Além disso, espécies vegetais são afetadas por poluentes e seus efeitos podem ser facilmente quantificados, o que significa um importante progresso no estabelecimento de métodos monitoramento e manejo de recursos naturais.

As macrófitas aquáticas têm sido pouco estudadas em relação à acumulação de poluentes na região Neotropical, e somente a partir da década de 90 houve aumento do número de estudos com espécies vegetais potencialmente indicadoras de poluição do ar, usando diversos taxa de diferentes hábitos (árvores, arbustos e ervas), incluindo macrófitas aquáticas (5,6). Em geral, desde as algas e briófitas até as angiospermas são consideradas excelentes acumuladores de poluente, principalmente as famílias Poaceae e Fabaceae (7,8,9).

Entre os poluentes que podem ser detectados por espécies vegetais está o gás flúor, derivado da transformação da bauxita em alumio, o que resulta em resíduo tóxico, o qual é liberado no ambiente. Estudos conduzidos em áreas industriais do Brasil registraram produção de cerca de 60 toneladas de alumínio ao ano, resultando na liberação de grandes quantidades de gás flúor no ar, mesmo efetuando medidas de redução da emissão industrial (10). A produção de alumínio é derivada de uma reação química de redução, sendo que os gases liberados são o monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO2) e o gás flúor, resultantes da evaporação da fluorita, a qual é usada nessa reação química.

Os sintomas característicos da presença de fluoreto nas plantas aparecem como resultado da acumulação do mesmo em longo período de tempo, principalmente, quando os vegetais encontravam-se próximos a fonte emissora. As plantas, em geral, apresentam necroses no ápice e bordas das folhas, e clorose na região central do limbo foliar (11). Muitas espécies de plantas têm sido citadas como indicadoras para esse poluente

(7,8,12,13), mas nenhuma delas inclui o grupo de macrófitas aquáticas. No entanto, as plantas aquáticas são amplamente utilizadas como indicadoras de qualidade de água em ambientes lóticos e lênticos (12,14,15). Na literatura, muitas informações são encontradas sobre o uso de plantas aquáticas na avaliação de águas poluídas, especialmente com relação à amostragem, aos tipos de equipamentos necessários para a coleta, bem como sugestões de equipamentos para descontaminação (16).

No Brasil, existe um número pequeno de trabalhos que usa plantas aquáticas como bioindicadoras (17,18), e não se conhece trabalhos específicos sobre acumulação de fluoreto nesse grupo vegetal no Brasil. Dessa forma, o presente estudo verificou o efeito das estações seca e chuvosa, bem como da distância da fonte emissora de gás fluoreto sobre o acumulo de íon fluoreto em espécies de macrófitas (sensu 19,20).

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na região de Ouro Preto (Minas Gerais, Brasil), situado a 1061m acima do nível do mar (20°23'28"S e 43°30'20"O) (Figura 1), no sudeste da mais habitada e industrializada área do Estado de Minas Gerais (MG), conhecida como Zona Metalúrgica (21). Sob o ponto de vista fitogeográfico, essa região situa-se entre os domínios da Floresta Atlântica e do Cerrado e apresenta diferentes formações vegetais, incluindo campos rupestres, florestas estacionais semideciduais, florestas galeria e ciliares, cerrado e zonas úmidas (22). O clima é do tipo Cwb, segundo Köppen, com inverno seco e verão quente e chuvoso (23). A temperatura media anual oscila entre 15,5º e 21,2°C, com precipitação média entre 1450 e 1800 mm ao ano (24).

Para avaliar o impacto da emissão de gás flúor sobre a vegetação aquática, cinco pontos foram demarcados ao longo do Córrego Varjada, três a nordeste da fonte de emissão (0,7, 1,0 e 1,5 km de distância da fonte emissora) e dois a sudoeste (0,5 e 0,9 km de distância da fonte emissora). A localização dos pontos foi determinada com Sistema de Posicionamento Global (GPS – Garmin II Plus), e as distâncias em que os pontos se encontravam da fonte emissora foram estimadas de acordo com as



coordenadas (ver Figura 1 – Fonte emissora = $20^{\circ}23'57$ "S e $43^{\circ}31'15,1$ "O; Ponto 1 = $20^{\circ}24'13,33$ "S e $43^{\circ}31'13,6$ "O; Ponto 2 = $20^{\circ}24'26,5$ "S e $43^{\circ}31'34,8$ "O; Ponto 3 =

 $20^{\circ}23'37,86"S$ e $43^{\circ}31'1,74"O$; Ponto 4 = $20^{\circ}23'29,66"S$ e $43^{\circ}30'51,01"O$; Ponto 5 = $20^{\circ}23'26,89"S$ e $43^{\circ}30'34,3"O$).



Figura 1 – Foto aérea da área estuda indicando os pontos de amostragem. A seta indica a fonte emissora de gás flúor e fluxo do Córrego Varjada segue do ponto 2 para o ponto 5

As amostragens foram realizadas entre Novembro de 2001 e Julho de 2002 para incluir as estações seca e chuvosa, sendo que as amostragens ocorreram sempre em dias de sol, precedidas de pelo menos três dias sem chuva. Considerando que a presença de gás flúor, em geral, faz com que as plantas apresentem necrose no ápice e bordas das folhas, e clorose na região central do limbo foliar, devido à exposição direta ao ar (11), observadas espécies as apresentavam essas características, e em seguida coletadas cinco amostras de cada uma das mesmas para cada ponto de amostragem. As espécies selecionadas para o estudo foram Mikania cordifolia (L.f.) Willd., Commelina diffusa Burm.f., Tripogandra diuretica (Mart.) Handlos, Alternanthera tenella Colla, Piper aduncum L., Sphagineticola trilobata (L.) Pruski e Coix lacryma-jobi L..

Para a análise do fluoreto utilizaram-se folhas de diferentes idades fisiológicas. As formas biológicas também foram consideradas, e separaram-se as espécies como anfíbias, emergentes e submersas enraizadas (25,26). A despeito do critério de seleção das espécies, outro fator considerado foi a ampla distribuição das mesmas e sua predominância na comunidade. No entanto, as espécies não estavam presentes em todas as

coletas ou pontos de amostragem ao longo do estudo, provavelmente devido ao efeito do gás flúor (ver Resultados e Discussão). As plantas que apresentaram flores e/ou frutos foram coletadas para obtenção de material de referência e herborizadas segundo métodos tradicionais (27).

Para a remoção do fluoreto adsorvido nas folhas, em laboratório, procedeu-se a lavagem das folhas individualmente com solução de HCl 0,1M e Laurilsulfato de Sódio 0,02% (w/v) durante 30 segundos, e em seguida com água deionizada (28). As amostras foram secas, moídas e tratadas com Ácido Perclórico 0,1M por 12 horas. O fluoreto absorvido nas folhas foi determinado no extrato com eletrodo íon-específico (29). Toda a análise foi processada em tubos plásticos previamente esterilizados.

Cada indivíduo foi considerado como uma amostra. A acumulação de fluoreto foi avaliada por estação (seca e chuvosa), formas biológicas (anfíbia, emergente e submersa enraizada) e distância da fonte emissora de gás flúor. Para tanto, utilizou-se análise de variância fatorial a fim de verificar diferenças nas concentrações de fluoreto, considerando como significantes resultados com valores de p<0,05, usando teste de Fisher a posteriori. Para a realização tanto das análises quantos

Acumulação de Fluoreto 41

dos gráficos foi utilizado o programa Statistica 7.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior média de acumulação de fluoreto nas folhas foi registrada na estação seca (300,83µg g⁻¹) (Figura 2A). Com base nas médias de fluoreto contido nas folhas das espécies de acordo com as formas biológicas, foi observado padrão de acumulação de fluoreto independente da estação, no qual a forma anfíbia foi que mais acumulou esse íon e a submersa enraizada a que menos

acumulou (Figura 2B). Considerando distância da fonte emissora, os pontos mais próximos da fonte foram os que apresentaram maiores médias de acumulação 318µg g⁻¹. No sentido nordeste, a acumulação foi maior do que a sudoeste, onde as concentrações reduziram em curta distância, o que pode ter ocorrido devido ao regime dos ventos, o qual circula de sudoeste para noroeste (21). Sendo assim, os resultados da ANOVA revelaram que houve diferença significativa entre as médias de fluoreto das estações (F=4,56; p=0,03), bem como entre as formas biológicas (F=3,16; p=0,04) e entre as diferentes distâncias da fonte emissora (F=2,79; p=0,03).

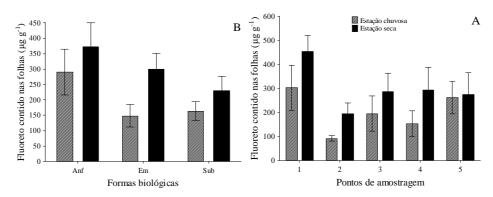


Figura 2 – Média e erro padrão de fluoreto contido nas folhas de acordo com as estações por pontos de amostragem (A) e formas biológicas (B).

A despeito de algumas espécies não ocorrerem próximo a fonte emissora, foi

possível diferir as espécies seguindo as médias de acumulação do íon (Figura 3).

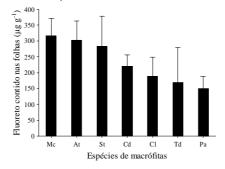


Figura 3 – Ranking de média e erro padrão dos valores de fluoreto contido nas folhas de macrófitas (Mc – *Mikania cordifolia*; At – *Alternanthera tenella*; St – *Sphagneticola trilobata*; Cd – *Commelina diffusa*; Cl – *Coix lacryma-jobi*; Td – *Tripogandra diuretica*; Pa – *Piper aduncum*).

A espécie com maior média de acumulo de fluoreto foi *M. cordifolia* (316,43µg g⁻¹), seguida de *A. tenella* (302,03µg g⁻¹) e *S. trilobata* (283,51µg g⁻¹). Embora cada espécie tenha apresentado acumulação de fluoreto diferente, a distância da fonte emissora parece ser determinante para os valores de fluoreto acumulado (Figura 4), pois algumas espécies

ocorreram, em geral, apenas nos locais mais distantes, como é o caso de *S. trilobata, C. lacryma-jobi* e *T. diuretica*, as quais se apresentavam em elevada densidade, apesar da ocorrência em apenas dois locais de amostragem.



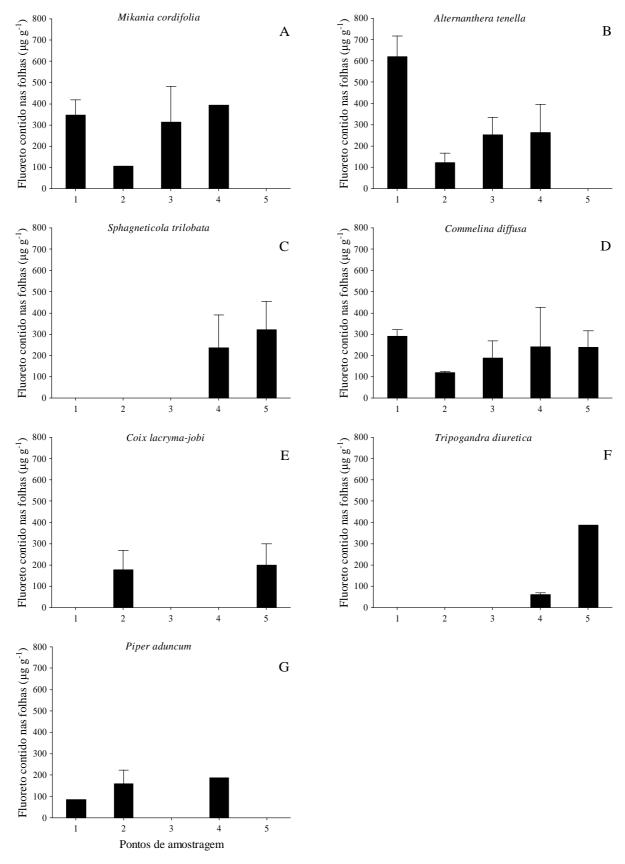


Figura 4 – Média e erro padrão de fluoreto contido nas folhas de cada espécie por ponto de amostragem. A ordem dos gráficos (A, B, C, D, E, F e G) segue o ranking da figura 3.

Os resultados encontrados nesse estudo são similares aos registrados para

ambientes terrestres (e.g. 21), os quais demonstraram o efeito sazonal e da distância

da fonte emissora sobre o acúmulo de fluoreto em espécies terrestres. Contudo, devido à seleção de algumas espécies e forma de amostragem das macrófitas, os resultados devem ser considerados com cautela. As diferenças entre as estações podem ser explicadas pela frequente lavagem das folhas na estação chuvosa (21), e considerando as formas biológicas, a água do córrego pode ter afetado os valores médios de acumulação de fluoreto nas espécies submersas enraizadas e emergentes relação em independente da estação. A absorção do gás flúor depende da sua concentração no ar, tempo de exposição e espécie vegetal em questão (30), mas os níveis médios de fluoreto acumulado nas folhas das espécies estudadas se elevaram com o aumento da distância da fonte emissora, o que pode estar relacionado com a direção dos ventos predominantes na região (de sudoeste para noroeste), os quais conduziriam os gases tóxicos até maiores distâncias, onde a deposição do íon fluoreto seria maior sobre as plantas.

O íon fluoreto pode ser absorvido pelo solo em pequenas quantidades, mas essa não foi a principal via de níveis tóxicos de fluoreto (31,32). Esse aspecto mostra a capacidade de absorção desse íon pelas folhas, quando em contato com o ar poluído por gás flúor. Os valores médios de absorção de fluoreto registrados para as espécies de macrófitas foram menores com relação aos já registrados para plantas terrestres, porém são associados às formas biológicas de cada espécie.

Assim as espécies potenciais acumuladoras que podem indicar proximidade de uma fonte emissora de gás flúor são M. cordifolia e A. tenella, devido às maiores médias de concentração de poluente ser registradas nas amostras dessas espécies, independente do local e período amostragem, uma característica de espécies tolerante a poluição. No entanto, C. lacrymajobi pode ser considerada como espécie sensível, uma vez que a mesma ocorreu somente em locais distantes da fonte emissora. onde os níveis de fluoreto apresentavam-se reduzidos, e essa espécie pode ser encontrada facilmente em outros córregos da região.

CONCLUSÃO

Em suma, M. cordifolia e A. tenella são espécies com elevado potencial de acumulação de fluoreto, e *C. lacryma-jobi* é pouco tolerante ao gás flúor. Sendo assim, recomenda-se que essas sejam utilizadas como indicadoras em estudos de avaliação da contaminação do ar por gás flúor. Vale ressaltar que na ausência dessas espécies ou na dificuldade da determinação das espécies presentes no ambiente, o uso das formas biológicas também é possível, embora se deva ter atenção quanto ao período do ano em que a amostragem será realizada, devido ao efeito estação. Além disso, sugere-se continuidade de estudos para testar a eficiência das espécies de macrófitas aqui citadas, não somente na região amostrada, mas em outras áreas de ocorrência dessas espécies, a fim de se determinar que tipos de reações essas espécies possam ter na presença do poluente, utilizando-se diferentes níveis de poluição.

Fernando Alves Ferreira , Roger Paulo Mormul, †Gilberto Pedralli , Armando Molina Divan Junior



Endereço para correspondência: Universidade Estadual de Maringá-UEM, Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura -Nupelia, Laboratório de Limnologia e Macrófitas Aquáticas, Av Colombo 5790, Cep 87020-900, Bloco H90, Maringá-PR, Brasil. Fone: +55 44 3011-5952.

E-mail: ferreirabot@gmail.com

Recebido em 02/08/2010 Revisado em 25/03/11 Aceito em 04/07/11

REFERÊNCIAS

- (1) NAS National Academy of Sciences. **Biological effects of atmospheric pollutants**: fluorides. Washington: Publishing Office of the National Academy of Sciences, 1971.
- (2) MANKOVSKA, B.; STEINNES, E. Effects of pollutants from an aluminum reduction plant on forest ecosystems. **Science of the Total Environment**, v. 163, p. 11-23, 1995.
- (3) VIKE, E.; HABJORG, A. Variation in fluoride content and leaf injury on plants associated with three aluminum smelters in Norway. **Science of the Total Environment**, v. 163, p. 25-34, 1995.
- (4) KLUMPP, A.; KLUMPP, G.; DOMINGOS, M.; SILVA, M.D. Fluoride impact on native tree species of the Atlantic forest near Cubatão, Brazil. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 87, p. 57-71, 1996.
- (5) ALLINSON, G.; STAGNITTI, F.; COLVILLE, S.; HILL, J.; COATES, M. Growth of floating aquatic macrophytes in alkaline: Industrial wastewaters. **Journal of Environmental Engineering-ASCE**, v. 126, n.12, p. 1103-1107, 2000.
- (6) MIRETZKY, P.; MUNOZ, C.; CARRILO-CHAVES, A. Fluoride removal from aqueous solution by Ca-pretreated macrophyte biomass. **Environmental Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 68-72, 2008.
- (7) GARG, P.; CHANDRA, P. Toxicity and accumulation of Chromium in *Ceratophyllum demersum* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 44, p. 473-478, 1990.

- (8) ARNDT, U.; FLORES, F.E.V.; WEINSTEIN, L.H. Fluoride Effects on Plants: Diagnosis of Injury in the Vegetation of Brazil. Porto Alegre: UFRGS (in Portuguese, English and German), 1995.
- (9) HERSCHBACH, C.; RENNENBERG, H. Sulfur nutrition in conifers and deciduous trees. In: RENNENBERG, H; ESCHRICH, W; ZIEGLER, H (Eds.). **Trees**: Contributions to Modern Tree Physiology. Leiden: Backhuys Publishers, 1997. p. 293-311.
- (10) PRADO FILHO, J.F.P. Uso de bioindicadores para monitoramento do ar. **Ambiente**, v. 7, p. 57-64, 1993.
- (11) WEINSTEIN, L.H.; HANSEN, K.S. Relative susceptibilities of Brazilian vegetation to airborne fluoride. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23, p. 1125-1137, 1988.
- (12) GAVRILENKO, Y.Y.; ZOLOTUKHINA, Y.Y. Accumulation and interaction of copper, zinc, manganese, cadmium, nickel and lead ions absorbed by aquatic macrophytes. **UDC**, v. 28, p. 56-62, 1990.
- (13) GAUR, J.P.; NORAHO, N.; CHAUHAN, Y.S. Relationship between heavy metal accumulation and toxicity in *Spirodela polyrhiza* (L.) Schleid and *Azolla pinnata* R. Br. **Aquatic Botany**, v. 49, p. 183-192, 1994.
- (14) PETR, T. Fish, fisheries, aquatic macrophytes and water quality in inland waters. **Water Quality Bulletin**, v. 12, n. 3, p. 103-128, 1987.

- (15) ESTEVES, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciências, 1998.
- (16) CRUZ, J.V.; COUTINHO, R.; CARVALHO, M.R.; OSKARSSON, N.; GISLASON, S.R. Chemistry of waters from Furnas volcano, São Miguel, Azores: fluxes of volcanic carbon dioxide and leached material. **Journal of Volcanology and Geothermal Research**, v. 92, p. 151-168, 1999.
- (17) PEDRALLI, G. Padrões florísticos como subsídios à conservação da biodiversidade de macrófitas aquáticas. In: Cavalcanti, T.B.; Walter, B.M.T. (Eds.). **Tópicos atuais em Botânica**. Brasília: SBB/Cenargen, 2000. pp. 335-339.
- (18) MURPHY, K.J. Predizendo alterações em ecossistemas aquáticos continentais e áreas alagáveis: o potencial de sistemas bioindicadores funcionais utilizando macrófitas aquáticas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia**, v. 27, p. 7, 2000.
- (19) COOK, C.D.K. Water plants of the world. The Hague: Dr. Junk Publ., 1974.(20) COOK, C.D.K. Aquatic Plant Book. The Hague: SPB Academic Publ., 1996.
- (21) DIVAN JUNIOR, A.M.; OLIVA, M.A.; FERREIRA, F.A. Dispersal pattern of airborne emissions from an aluminum smelter in Ouro Preto, Brazil, as expressed by foliar fluoride accumulation in eight plant species. **Ecological Indicator**, v. 8, p. 454-461, 2008.
- (22) WERNECK, M.S.; PEDRALLI, G.; KOENIG, R.; GISEKE, L.F. Florística e estrutura de trechos de uma floresta semidecídua na Estação Ecológica do Tripuí, Ouro Preto, MG. Revista Brasileira de Botânica, v. 23, n. 1, p. 97-106, 2000.
- (23) SILVA, L.C.; AZEVEDO, A.A.; SILVA, E.A.M.; OLIVA, M.A. Fluoride in simulated rain: symptomatology and effects on leaf structure and growth of wood plants. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, p. 385-393, 2000.
- (24) FEAM Fundação Estadual do Meio Ambiente. Plano de manejo da Estação Ecológica do Tripuí, Ouro Preto, MG. Belo Horizonte: FEAM, 1995.
- (25) PEDRALLI, G. Macrófitos aquáticos: técnicas e métodos de estudos. **Estudos de Biologia**, v. 26, p. 5-24, 1990.

- (26) IRGANG, B.E.; GASTAL JUNIOR, C.V.S. Macrófitas aquáticas da planicie costeira do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: UFRGS, 1996.
- (27) MORI, S.A.; SILVA, L.A.M.; LISBOA, G.; CORADIN, L. **Manual de manejo do herbário fanerogâmico**. Ilhéus: CEPLAC, 1989.
- (28) MITCHELL, R.L. Evaluation of washing techniques for the removal of external fluoride from ironbark and grape leaves. **Journal of the Australian Institute of Agricultural Science**, v. 52, p. 99-101, 1986.
- (29) GARCIA-CIUDAD, A.; GARCIA-CRIADO, B.; EMETRIO, C.P. Determination of fluoride in plant samples by a potentiometric method and near-infrared reflectance spectroscopy. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 16, p. 1107-1122, 1985.
- (30) VIKE, E. Air-pollutant dispersal patterns and vegetation damage in the vicinity of three aluminum smelters in Norway. **Science of the Total Environment**, v. 236, p. 75-90, 1999.
- (31) BRAEN, S.; WEINSTEIN, L.H. Uptake of fluoride and aluminum by plants grown in contaminated soils. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 24, p. 215-223, 1985.
- (32) ARNESEN, A.K.M. Availability of fluoride to plants grown in contaminated soils. **Plant Soil**, v. 191, p. 13-25, 1997.