



**Innovación tecnológica para la clonación de plantas matrices de café
(*Coffea arabica*) con alta productividad y tolerancia a roya en la región
San Martín"**

Jr. Belén Torres Tello N° 135 - Telf.: 525979 - Morales



**PROYECTO "INNOVACION TECNOLOGICA PARA LA CLONACION DE PLANTAS
MATICES DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) CON ALTA PRODUCTIVIDAD Y
TOLERANCIA A ROYA EN LA REGION SAN MARTIN"**

CONTRATO N° 193-FINCYT-IA-2013

INFORME TECNICO:

**"PLANTAS CLONALES DE CAFÉ (*Coffea arabica*)
TOLERANTES A ROYA EN LA REGION SAN MARTIN"**

**Ing. Geomar Vallejos Torres
(Coordinador del Proyecto)**

**EQUIPO TÉCNICO: Marco Antonio García Sánchez,
Christian Koch Duarte, Luis Alberto
Arévalo López**

SETIEMBRE - 2016



Innovación tecnológica para la clonación de plantas matrices de café (*Coffea arabica*) con alta productividad y tolerancia a roya en la región San Martín"

Jr. Belén Torres Tello N° 135 - Telf.: 525979 - Morales

I. INTRODUCCION

El cultivo del café es la base de la economía rural y cultivo bandera del departamento de San Martín, el mismo que genera ingresos para más de 27 mil familias en la región, que siembran un promedio de 95 mil hectáreas, de las cuales 67 mil se encuentran en producción, y que en el año 2010 originó un ingreso a nivel nacional de 100 millones de nuevos soles. Sin embargo los últimos años, ha disminuido esta producción, como resultado de la presencia de plagas y enfermedades; siendo la Roya Amarilla (*Hemileia vastatrix*) primordialmente.

Las variedades de *Coffea arabica* más cultivadas en el Perú, correspondiente a caturra, catuai, pache, típica, Borbón, entre otras, son susceptibles a la roya del café, lo que abre las puertas al patógeno para desarrollarse y multiplicarse. Sin embargo, existe un buen número de plantas que de manera individual no fueron afectadas, lo que podría relacionarse, además de ciertas condiciones agroclimáticas, las prácticas de manejo que cada productor realiza en sus plantaciones, un factor resistencia natural, por lo que se hace necesario desarrollar estrategias sostenibles de mitigación al problema, como fomentar el control a mediano plazo mediante la selección de materiales genéticos con características agronómicas sobresalientes y tolerancia a roya.

La roya del café es una enfermedad que limita seriamente la producción de *C. arábica*; su presencia está determinada por las condiciones climáticas, ya que la humedad relativa alta es necesaria para la esporulación y dispersión de las esporas. La resistencia genética del cafeto es la principal forma de control del patógeno y ha sido transferida a variedades comerciales de *C. arábica* a través del híbrido "Timor" (*C. arábica* x *C. canephora*). Las variedades más comunes que fueron afectadas por la roya son "Caturra", "Típica" y en menor grado la variedad "Catimor"

En la búsqueda de desarrollar alternativas de solucionar los problemas dejados por la roya del cafeto se desarrolló protocolos de tolerancia temprana a roya los cuales fueron inoculadas en plantas clonadas de café procedentes de las plantas matrices seleccionadas, cuyas plantas matrices procedieron de las fincas cafetaleras de los productores distribuidos en cinco provincias de la región San Martín.



Innovación tecnológica para la clonación de plantas matrices de café (*Coffea arabica*) con alta productividad y tolerancia a roya en la región San Martín"

Jr. Belén Torres Tello N° 135 - Telf.: 525979 - Morales

II. OBJETIVOS.

- Evaluar plantas clonadas de café (*Coffea arabica*) con tolerancia a roya en la región San Martín.

III. METODOLOGIA

1. Metodología de selección de plantas matrices de café

1.1. Localización de las áreas afectadas por la roya en la Región San Martín.

En la región San Martín existen ocho provincias productoras de café (Rioja, Moyobamba, Lamas, El Dorado, Picota, Bellavista, Huallaga, Tocache) de las cuales priorizamos cinco: El Dorado, Lamas, Moyobamba, Huallaga y Rioja, estas últimas fueron las zonas más afectada severamente durante el ciclo de cosecha 2012-2013. La determinación de estas provincias se realizó con la información obtenida mediante las entrevistas realizadas a los expertos que trabajan en la zona, especialistas y técnicos del MINAG, DEVIDA, DRASAM, INIA, SENASA, expertos locales (personal técnico de cooperativas) entre otros (Figura 02). Estas entrevistas fueron complementadas con visitas de campo a las áreas impactadas mencionadas por los entrevistados para:

- i) Conocer a los productores y verificar en campo los niveles del impacto.
- ii) Definir mejor el área exacta para el estudio.

1.2. Socialización con cooperativas y asociaciones en el ámbito de influencia de las áreas afectadas por la roya.

Con el fin de realizar la socialización del proyecto y el objetivo de la investigación se convocó a todas las instituciones, organizaciones, cooperativas y asociación de productores de las áreas identificadas y afectadas por la roya en cuyas reuniones se identificó a los productores voluntarios para desarrollar la investigación en sus parcelas de café.

1.3. Selección de fincas y productores cafetaleros voluntarios participantes



Innovación tecnológica para la clonación de plantas matrices de café (*Coffea arabica*) con alta productividad y tolerancia a roya en la región San Martín"

Jr. Belén Torres Tello N° 135 - Telf.: 525979 - Morales

El tamaño de la muestra para el estudio se ha determinado tomando en cuenta los requerimientos para un análisis estadístico eficiente. La muestra está compuesta por 50 fincas distribuidas dentro de la zona severamente afectada. Las fincas fueron seleccionadas tomando en cuenta el nivel de afectación de roya con el productor y a través de las observaciones de campo realizadas. Para lo cual se tomarán en cuenta los siguientes criterios.

- Solo plantaciones mayores de 3 años (parcelas productivas)
- Las fincas con variedades resistentes a la roya del café (Var. Catimor no será tomada en cuenta).
- Explotaciones no impactadas por la enfermedad debido a un alto nivel de aplicaciones de fungicidas no serán consideradas en la muestra, por lo general fincas de grandes extensiones, con manejo intensivo correspondientes a grandes productores. Por tanto se tomarán en cuenta pequeños y medianos productores.
- De preferencia se seleccionarán parcelas ubicadas entre un rango de altura de 600 a 1500msnm

1.4. Verificación del nivel de impacto de la roya en las fincas para su selección definida, según información del productor

Una vez que se obtuvo una cantidad considerable de fincas afectadas se procedió a la verificación de la información para saber con certeza si las fincas realmente fueron o no afectadas y si están dentro de los criterios de selección establecidos. Para tal fin se realizó una encuesta formulada por el equipo técnico del proyecto con preguntas que permitieron tener una noción clara del nivel de afectación de la enfermedad durante el ciclo 2012-2013, según su percepción. La información brindada por el productor fue recopilada a través del uso de herramientas que facilitaron captar toda la información necesaria (formatos y fotografías). Luego de sistematizar la información se seleccionaron las fincas cafetaleras y las variables de interés para medir el impacto de la enfermedad como:

- Nivel de roya.
- Nivel de defoliación.
- Afectación en el rendimiento en cada finca.
- Aplicación de prácticas de manejo agronómico del cultivo.



1.5. Selección de plantas matrices de café.

Una vez identificadas las fincas, con ayuda del productor se procedió a seleccionar los genotipos de café (plantas de café) con alta productividad y tolerancia a roya según la perspectiva del productor y de acuerdo a la escala de Horishi (2009). Posteriormente se procedió a georreferenciar, codificar, señalar y rotular cada planta matriz (genotipo); así mismo, se explicó al productor la importancia de mantener las plantas como material genético para contrarrestar la roya.

CUADRO 01. Escala de resistencia a las poblaciones de roya (Horishi *et al.* 2009)

Escala de resistencia a las poblaciones de roya (Horishi *et al.* 2009)

Escala	Descripción
1	Arboles sin lesiones cloróticas en las hojas
2	Arboles con lesiones cloróticas en las hojas sin esporulación
3	Número de lesiones en la hoja con esporas de roya entre 1 a 10 y frecuencia de las hojas con esporas de roya entre 1 y 10%
4	Número de lesiones en la hoja con esporas de roya entre 11 a 20 y frecuencia de las hojas con esporas de roya entre 11 y 35%
5	Más de 20 lesiones con esporas de roya y más de 35% de hojas con esporulación

2. Propagación de brotes de plantas matrices de café.

2.1. Inducción de plantas matrices de café

Para realizar la inducción de las plantas matrices de café primeramente se realizó la limpieza alrededor de la planta y para emitir la mayor cantidad de brotes se utilizó la técnica mediante agobio, que consiste en inclinar la planta en un ángulo de 45° en relación del suelo, introduciendo un gancho en el suelo para mantener inclinada a la planta, evitando que se vuelva a su posición normal. Luego se eliminó las ramas plagiotropicas.

El agobio es una técnica para incrementar el área foliar induciendo el eje central de la planta matriz y tiene como propósito inducir de inducir a que se



desarrollen brotes ortotrópicos, estimulando las yemas laterales por el efecto de inclinación.

Además (Ramírez 1996) indica que las plantas preferidas para el agobio deben ser mayores de 3 años de edad. Estas se pueden mantener con un gancho de madera clavado en el suelo. El agobio de la planta provoca la distribución desigual del contenido de auxina y estimula la formación y activación de yemas que dan origen al desarrollo de brotes ortotrópicos.

2.2. Cosecha de brotes

Se utilizaron rebrotes de plantas identificadas y seleccionadas de café con características sobresalientes en productividad, calidad de taza y tolerancia a roya establecidas en el campo en las parcelas de los productores, las mismas que fueron producidas a partir de semillas botánica, estas plantas están ubicadas en las cinco provincias de la región San Martín, las cuales fueron sometidas inducción de brotes mediante la técnica de agobio.

Se inició la cosecha de los rebrotes a los 80 días después de haber sido inducidos las plantas, ya que en este período de tiempo se presentaba el mayor número de rebrotes. Dicha actividad se realizó con la ayuda de una tijera a mano, desinfectada con alcohol al 96%.

Luego del manejo de las plantas madres se procedió a aislar los brotes colocándolos en bolsa de papel debidamente etiquetadas por cada planta madre para ser colocadas en una caja de tecnoport conteniendo hielo, permitiendo tener una temperatura casi homogénea y evitar el estrés hídrico y deterioro de los brotes debido al traslado de las fincas cafetaleras a las instalaciones del centro de investigaciones

2.4. Preparación hormonal

La dosis de AIB se preparó a partir del ácido indol-3-butírico químicamente puro diluido en una solución de alcohol al 96% en una relación de peso/volumen, para así obtener la concentración deseada. La preparación de las dosis hormonales se realizó en laboratorio, para preparar la solución de 2000 ppm (0.2%), se diluyó 0.020g de AIB en polvo en 100 ml de alcohol al 96%.



2.5. Preparación de los brotes de café colectados

Una vez traídos los brotes de campo en el área a propagar se realizó la selección de brotes que consistió en separar algunos brotes que llegaron de campo con daños mecánicos, enfermos, no de tamaños uniforme.

Los brotes colectados fueron preparados eliminando las partes oxidadas del corte de la colecta y el área foliar cortada hasta el 50% que permitió una mejor manipulación en el establecimiento de los brotes, pues la presencia del área foliar, ejerce una fuerte influencia estimulante sobre la iniciación de raíces. Esto probablemente se debe a los carbohidratos traslocados de la hoja y otras sustancias.

2.6. Siembra.

Posteriormente de haber preparado los brotes para el enraizamiento se sumergió en una solución fúngica de Atracon 70% PM en una solución de 5 gr. por 2 litros de agua, durante un periodo de 10 minutos. Luego se utilizó una placa Petri la cual contuvo la solución concentrada de auxina; se sumergió la base de los brotes (1 cm) en la solución mediante el método de inmersión rápida en un periodo de 20 segundos, para luego tomar los datos de procedencia, variedad, longitud y diámetro.

2.7. Sustrato

Para la siembra de brotes de *Coffea arabica* se utilizó como sustrato pellets Jiffy® de 50 x 95 mm el cual se hidrato con abundante agua durante un periodo de 15 minutos, hasta que alcanzó su máximo volumen. Se realizó el depósito de los pellets en bandejas livianas en la cual se hicieron pequeños hoyos a una profundidad de 2 cm, para la introducción de los brotes.

Para la siembra de los brotes se colocó el brote dentro de cada hoyo y se presionó con los dedos alrededor del brote, con el objetivo de darle estabilidad con el sustrato



Los brotes fueron colocados y etiquetados según la información del código de procedencia. Finalmente estos fueron depositados en los microtúneles para su enraizamiento.

2.8. Microtúnel de enraizamiento

Para el proceso de enraizamiento se utilizó un microtúnel de 3 m de largo por 1.5 m de ancho y 0,6 m de altura, con una estructura conformada por un marco de hierro soldado, de media pulgada, colocados en forma horizontal y arqueada para dar la forma de microtúnel, forrado con plástico transparente de polietileno dentro y fuera. La base del microtúnel presentó soporte de hierro con malla metálica, para el depósito de las bandejas donde se depositaron los brotes. Asimismo, el microtúnel cuenta con 3 nebulizadores para el riego, y drenes para evitar el exceso de agua dentro de este.

Se realizó la limpieza y desinfección de los microtúneles con la finalidad de evitar cualquier tipo de contaminación al recibir los brotes colectados de café a ser enraizados.

2.9. Aclimatización de brotes enraizados

Después que los brotes de café enraizaron se removió de los microtúneles para colocarlos en el invernadero durante un periodo de 20 días, posteriormente estos brotes enraizados fueron colocados en el vivero con sombra de 80% por un transcurso de 15 días y después pasando a otra área dentro del vivero con sombra del 50% durante 15 días, pasándola estos logrados a luz plena para ser trasladados a campo definitivo.

3. Inoculación temprana en brotes de café logrados bajo condiciones controladas.

3.1. Ubicación del experimento

La presente investigación se desarrolló en las instalaciones del Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana ubicado en el distrito de Morales, provincia y región San Martín.

3.2. Instalación de los plantones en los viveros



Una vez que los brotes de café enraizaron y se aclimataron se colocaron en el vivero con el fin de simular las condiciones climáticas de las plantas de café para ser inoculadas con esporas de roya. Se colocaron dos ejemplares por clon de café logrado.

3.3. Colección de la fuente de inóculo

Las colectas de las fuentes de inóculos de *Hemileia vastatrix* se colectó de las parcelas de café fuerte mente infestadas por el patógenos que consistió en coleccionar hojas fuertemente infestadas por roya en proceso de esporulación que cuyas hojas fueron colocadas en frascos de vidrio conteniendo agua destilada para conservar la vialidad de los hongos hasta llegar al laboratorio.

3.4. Preparación de las fuentes de inóculo de *Hemileia vastatrix*

La preparación del inóculo se realizó teniendo previsto la infestación instantánea a los plantones, para acreditar la infección.

Es necesario conocer la cantidad de esporas a infestar, para ello se realizó un conteo de las esporas utilizando el método de Conteo Celular, French y Teddy (1982); y Celeromics.com.

Paso 1: Se preparó una muestra con una concentración de 10^5 células/ml. Típicamente, el rango de concentraciones que permite contar el hematocitómetro está entre 250 000 células y 2,5 millones de células por ml. Por encima de 2,5 millones ($2,5 * 10^6$) la probabilidad de cometer errores de conteo crece demasiado, y también el tiempo y esfuerzo necesario para realizar un recuento con fiabilidad.

Paso 2: Se tomaron 10 ul de la mezcla preparada en el paso 1 con la micropipeta, se colocó un cubreobjetos sobre la cámara de Neubauer y se introdujo la muestra en la cámara de Neubauer.

Paso 3: La cámara Neubauer con la muestra se enfocó al microscopio para el conteo de las uredosporas de roya. El conteo se hizo 5 cuadros grandes.

3.5. Infestación con roya en las plantas.

La infestación de las plantas clonales de café consistió en realizar el roció con la concentración de $2,363 \times 10^5$ urodespora de Roya, aplicando partes por igual a todas las plantas clonales provenientes de las plantaciones matrices de café

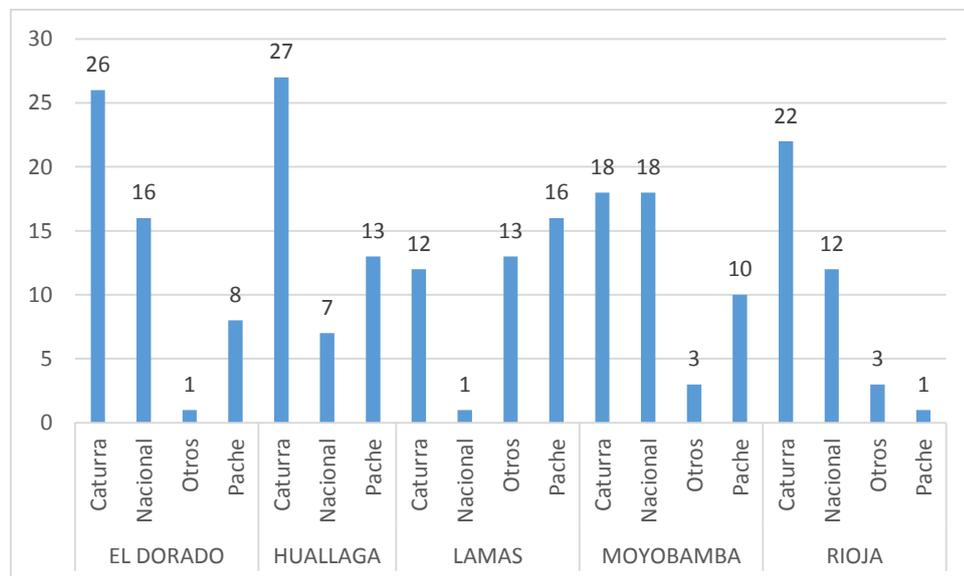
4. Parámetros a evaluar

- Selección de plantas matrices de cafés seleccionados en cinco provincias de la región San Martín.
- Tolerancia a roya de las plantas matrices de cafés seleccionados en las cinco provincias de la región San Martín.
- Severidad de roya temprana del cafeto en plantas clonadas de café

IV. RESULTADOS.

4.1. Selección de plantas matrices de café

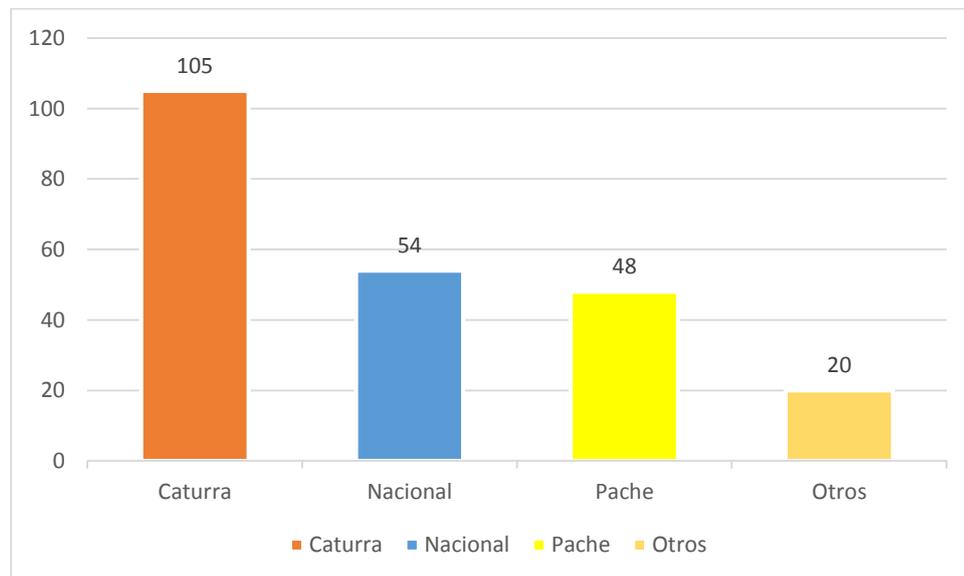
GRAFICA 01. Número de plantas matrices de cafés seleccionados en cinco provincias de la región San Martín



La grafica 01. Nos muestra el número de plantas matrices de cafés seleccionados en las cinco provincias de la región San Martín, donde se observa que la variedad que más se ha seleccionado es la variedad Caturra sobresaliendo en las provincias de El Dorado, Huallaga, Moyobamba y Rioja, siendo en lamas la

variedad que más sobresalió fue Pache posiblemente sea que las variedad caturra fue la variedad que más tolero el ataque de roya en condiciones de campo en diversas condiciones agroclimáticas.

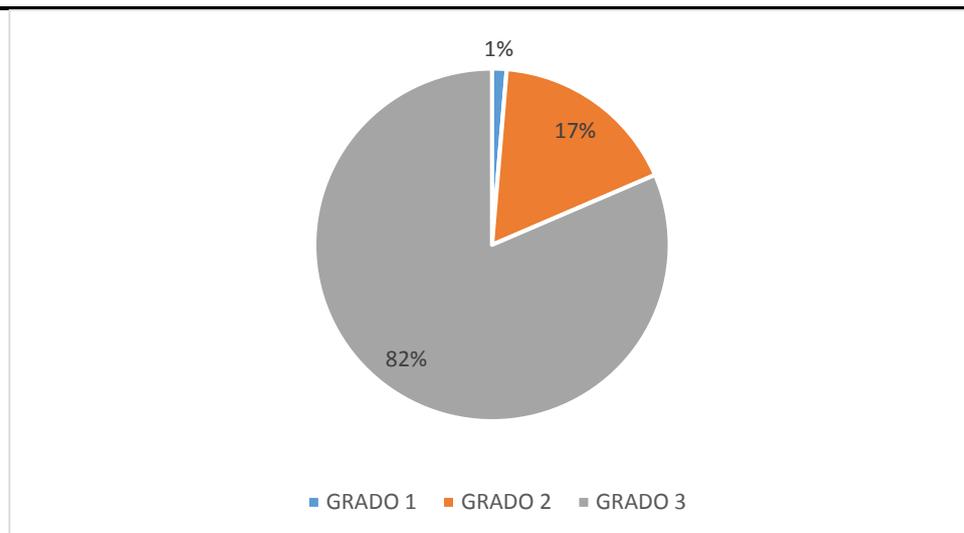
GRAFICA 02. Número de plantas matrices de cafés seleccionados en cinco provincias de la región San Martín.



En la gráfica 02. Muestra el número total de plantas matrices por variedades distribuidos en las cinco provincia de la región San Martín, teniendo la variedad caturra 105 plantas matrices, 54 plantas matrices de nacional, 48 de pache y 20 plantas matrices de otras variedades de café, el mayor número de caturra elegidas en el momento de la selección de las plantas matrices fueron los que más toleraron el hongo de la roya en su momento.

4.2. Grado de severidad a roya de las plantas matrices de café seleccionadas

GRAFICA 03. Grado de tolerancia a roya de plantas matrices de café seleccionados en las cinco provincias de la región San Martín.



La grafica 03. Nos muestra el grado de severidad a roya de las plantas matrices de café procedentes de cinco provincias de la región San Martín, representado un 82% plantas matrices con un grado de severidad 3, un 17% de las plantas matrices de café tiene un grado 2 de severidad a roya y el 1% representa el grado 1 de severidad de roya.

4.3. Grado de severidad de roya temprana del cafeto en plantas clonadas de café

CUADRO 01. Grado de severidad de roya temprana en plantas clonadas de café en condiciones controladas.

PROCEDENCIA	VARIEDAD	CODIGO	GRADO
LAMAS	Caturra	C-34	1
HUALLAGA	Pache	P-96	1
HUALLAGA	Pache	P-103	1
HUALLAGA	Pache	P-112	1
RIOJA	Caturra	C-165	1
MOYOBAMBA	Caturra	C-206	1
MOYOBAMBA	Caturra	C-211	1
LAMAS	Pache	P-3	2
LAMAS	Caturra	C-5	2
LAMAS	Caturra	C-8	2
LAMAS	Pache	P-10	2
LAMAS	Caturra	C-11	2
LAMAS	Caturra	C-17	2
LAMAS	Pache	P-19	2
LAMAS	Pache	P-22	2
LAMAS	Pache	P-23	2



Innovación tecnológica para la clonación de plantas matrices de café (*Coffea arabica*) con alta productividad y tolerancia a roya en la región San Martín"

Jr. Belén Torres Tello N° 135 - Telf.: 525979 - Morales

LAMAS	Pache	P-24	2
LAMAS	Pache	P-26	2
LAMAS	Pache	P-27	2
LAMAS	Caturra	P-29	2
LAMAS	Caturra	P-32	2
LAMAS	Caturra	C-36	2
LAMAS	Caturra	C-37	2
LAMAS	Caturra	C-38	2
EL DORADO	Nacional	N-44	2
EL DORADO	Caturra	C-53	2
EL DORADO	Pache	P-67	2
EL DORADO	Pache	P-72	2
EL DORADO	Caturra	C-87	2
EL DORADO	Pache	P-88	2
HUALLAGA	Nacional	N-95	2
HUALLAGA	Pache	P-99	2
HUALLAGA	Pache	P-100	2
HUALLAGA	Nacional	N-101	2
HUALLAGA	Pache	P-105	2
HUALLAGA	Nacional	N-108	2
HUALLAGA	Caturra	C-111	2
HUALLAGA	Caturra	C-115	2
HUALLAGA	Caturra	C-117	2
HUALLAGA	Caturra	C-118	2
HUALLAGA	Caturra	C-119	2
HUALLAGA	Caturra	C-121	2
HUALLAGA	Caturra	C-122	2
HUALLAGA	Caturra	C-123	2
HUALLAGA	Caturra	C-125	2
HUALLAGA	Caturra	C-128	2
HUALLAGA	Nacional	N-133	2
HUALLAGA	Nacional	N-135	2
HUALLAGA	Caturra	C-137	2
RIOJA	Caturra	C-144	2
RIOJA	Nacional	N-145	2
RIOJA	Caturra	C-149	2
RIOJA	Nacional	N-153	2
RIOJA	Caturra	C-158	2
RIOJA	Caturra	C-159	2
RIOJA	Nacional	N-170	2
RIOJA	Nacional	N-177	2
RIOJA	Nacional	N-178	2
MOYOBAMBA	Pache	P-183	2
MOYOBAMBA	Pache	P-190	2



Innovación tecnológica para la clonación de plantas matrices de café (*Coffea arabica*) con alta productividad y tolerancia a roya en la región San Martín"

Jr. Belén Torres Tello N° 135 - Telf.: 525979 - Morales

MOYOBAMBA	Nacional	N-192	2
MOYOBAMBA	Caturra	C-198	2
MOYOBAMBA	Nacional	N-220	2
OTROS	OTROS	OTROS	3
OTROS	OTROS	OTROS	4

Del cuadro 01. Nos muestra que 7 plantas clonadas de café tuvieron el grado 1 de severidad a roya, encontrándose las variedades de caturra y pache procedentes de las provincias de Lamas, Rioja, Moyobamba y Huallaga. Con grado 2 de severidad a roya se registraron 56 plantas matrices de café de las variedades de caturra, pache y nacional. Y las demás plantas matrices de café tuvieron grado 3 y 4 de severidad a roya los que no fueron seleccionados para instalación en los jardines clonales y pruebas en campo.

V. CONCLUSIONES

- Se seleccionaron 227 plantas matrices de café de las variedades caturra, pache, nacional y otras variedades (Borbon y catuai) procedentes de las provincias de Lamas, Rioja, Moyobamba, Huallaga y El Dorado de la región San Martín.
- Del total de plantas matrices de café seleccionados el 46,26% representa la variedad Caturra, 23,79% son de la variedad Nacional, 21,15% son de la variedad Pache y 8.81% representa otras variedades (Borbon y Catuai).
- En las plantas matrices de café seleccionadas se tuvo un 82% plantas matrices con un grado de severidad 3, un 17% de las plantas matrices de café tiene un grado 2 de severidad a roya y el 1% representa el grado 1 de severidad de roya.
- En las plantas clonales de café inoculadas tempranamente bajo condiciones controladas se tuvo 7 plantas clonadas de café del grado 1 de severidad a roya, con grado 2 de severidad a roya se registraron 56 plantas clonales, de los cuales 142 plantas clonales tuvieron el grado 3 de severidad a roya y finalmente 22 plantas clonales registraron un grado 4 de severidad a roya.

VI. RECOMENDACIONES

- Instalar en campo los ensayos clonales de café de los mejores clones tolerantes a roya en diferentes condiciones edafoclimáticas para validar clones superiores tolerantes a roya.



**Innovación tecnológica para la clonación de plantas matrices de café
(*Coffea arabica*) con alta productividad y tolerancia a roya en la región
San Martín"**

Innovate Perú
Programa Nacional de Innovación para
la Competitividad y Productividad

Jr. Belén Torres Tello N° 135 - Telf.: 525979 - Morales

-
- Seguir monitoreando las plantas matrices seleccionadas de café en campo para analizar su comportamiento a la tolerancia a la roya a través del tiempo.

VII. BIBLIOGRAFIA

- **ANACAFE, 2002.** Especies y variedades del cafeto.
https://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=Caficultura_VariedadesCafeto#3. Catu rra
- **ICAFE, 2011.** Guía técnica para el cultivo de café. 1a ed. Heredia Costa Rica. 72p.
- **RAMÍREZ, J.E. (1996).** Poda y manejo de *Coffea arabica* L. Instituto del Café de Costa Rica, Centro de Investigaciones en Café.
- **RAMIREZ, F., F. BERTSCH, L. MORA, 2002.** Consumo de nutrientes por los frutos y bandolas de café caturra durante el ciclo de desarrollo y maduración en Aquiares, Turrialba, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 26(1): 33-42.