

HEAVY METAL CONTAMINATION OF FISH FROM MIDDLE COURSE OF THE JIHLAVA RIVER

MONITORING OBSAHU TĚŽKÝCH KOVŮ VE STŘEDNÍM TOKU ŘEKY JIHLAVY

Makovský J., Spurný P.

Ústav Zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

E-mail: j.makovsky@seznam.cz, spurny@node.mendelu.cz

ABSTRACT

In May and August 2007, Cu, Cr, Ni, Cd, Zn, Pb and Hg content was monitored in two localities of the Jihlava River in order to determine the river loading. Fish, sediment, zoobenthos and water samples were taken for later analyses. Zoobenthos was taken as a mixed sample of single locality on the other hand sediment was taken as a mixed sample from whole locality. Barbillon (*Barbus barbus*) and Chub (*Leuciscus cephalus*) were chosen as an ichthyoindicators and their dorsal muscle without the skin was used for heavy metals analyses.

Values of Cu 7,988 mg/kg, Zn 53,93mg/kg, Cd 121mg/kg, Pb 3462,2mg/kg, Ni 90,658mg/kg, 64,5 mg/kg Cr, 0,01848mg/kg Hg were measured in sediment from Hrubšice locality and 6,37mg/kg Cu, 38,678 mg/kg Zn, 0,197mg/kg Cd, 25,824mg/kg Pb, 1,9mg/kg Ni, 3,049mg/kg Cr and 0,028 mg/kg Hg from Vladislav locality.

In the Hrubšice locality weasured in zoobenthos 8,08mg/kg Cu, 76,89 mg/kg Zn, 177,3 mg/kg Cd, 819,9 mg/kg Pb, 243,88 mg/kg Ni, 140,5 mg/kg and 0,00637 mg/kg Hg ,from Vladislav locality 6,37mg/kg Cu, 38,678 mg/kg Zn, 0,197mg/kg Cd, 25,824mg/kg Pb, 1,9mg/kg Ni, 3,049mg/kg Cr and 0,028 mg/kg Hg.

Higher values of Hg in fish muscle were found in Vladislav locality (0,2105mg/kg) and similarly in Hrubšice locality (0,27365mg/kg).

Heavy metals contamination of the Jihlava Riwer whose very high.

Key words: heavy metals, Jihlava River, contamination

ÚVOD

Cílem této práce bylo vyhodnotit zatížení toku řeky Jihlavy, která protéká významnými průmyslovými a městskými aglomeracemi, polutanty těžkých kovů, jejich akumulaci v tkáních hydrobiontů a na základě těchto výsledků vyhodnotit potenciální riziko konzumace ryb z tohoto toku.

Dalšími cíly bylo sledování rozdílů zatížení těžkými kovy v různých lokalitách nad a pod vodními díly Mohelno a Dalešice, a vyhodnocení vlivu nádrží na distribuci těchto polutantů v toku řeky Jihlavy, tkáních hydrobiontů a vliv na celkovou stabilitu ekosystému toku.

Těžké kovy jsou významným faktorem znečištění životního prostředí. Jejich zdroje najdeme v těžkém průmyslu, energetice či automobilové dopravě. Největším rizikem znečištění těžkými kovy je jejich schopnost akumulace v prostředí a organických tkáních, kdy jejich obsah ve tkáních stoupá úměrně s postavením organismu v potravním řetězci, a s tím stupá i riziko poškození organismu. Člověk je z hlediska potravního řetězce jednou z nejohroženějších skupin organismů. Ve jeho stravě je významné množství složek potenciálně zatížených, ryby nevyjímaje.

Nejvíce zdravotních problémů způsobuje dlouhodobý vliv subletálních koncentrací v organismu. Tyto koncentrace nejsou dostatečně vysoké, aby způsobily akutní otravu, ale způsobují vleklé zdravotní a reprodukční potíže. Zatížení řeky Jihlavy sledoval: SPURNÝ et. al. (2002), kteří sledovali obsah těžkých kovů ve vzorcích vody, sedimentu dna, zoobentosu a tělních tkáních ryb. Zjistil zvýšený obsah polutantů na všech lokalitách, zvláště Pb, Cd, Hg, Cr a Cu. Ve svalové tkáni jelce tluuště (*Leuciscus cephalus*) zjistil mírné zvýšení obsahu rtuti (0,139 mg/kg) a olova (0,636 mg/kg). V žaberní tkáni v případě olova (0,805 mg/kg), kadmia (0,204 mg/kg) a zinku (63,83 mg/kg). Index diverzity u ryb stanovili v rozsahu 1,175 – 1,743, index ekvitality (E) 0,455 – 0,486, abundanci (A) 1 748 – 6 396,9 ks/ha a biomasu (B) 88,2 – 284,1 kg/ha.

HOUSEROVA et. al. (2002) sledovali zatížení rtutí (Hg) a methylrtutí (MeHg) na řekách Bečva, Dyje Jihlava a Loučka. Analyzovali vzorky sedimentu dna, vody, zoobentosu a tělních tkání jelce tluuště (*Leuciscus cephalus*). Nejvyšší obsah rtuti zaznamenali ve svalové tkáni všech testovaných ryb, v lokalitě Hrubšice 0,135 mg/kg, v lokalitě Vladislav 0,962 mg/kg. 83,6 – 92 % obsahu rtuti tvořila MeHg. Tyto hodnoty překračují limity Eu pro obsah těžkých kovů ve svalovině ryb. Řeka Jihlava vykazovala ze všech čtyř řek nejvyšší zatížení rtutí i ve vzorcích zoobentosu a sedimentech dna.

JEZIERSKA et. al. (2004) sledovali vliv kontaminace těžkými kovy na vývoj ryb v embryonální a larvální periodě života. Zjistili poruchy bobtnání jiker, vysokou mortalitu embryí a malformace jejich těl, které snižovaly kvalitu a přežití starších stádií ryb. Kontaminace těžkými kovy způsobovala snížení využití zásobních látek žloutkového vaku a působila poruchy vývoje plynového měchýře. Práce potvrzuje silně negativní vliv těžkých kovů v recipientu na reprodukci a vývoj raných stádií ryb, které může v důsledku způsobovat nerovnováhu a nestabilitu společenstva ryb.

KRÁČMAR et. al. (2002) sledovali akumulaci těžkých kovů v tělních tkáních hrouzka obecného (*Gobio gobio*) na řece Vláře a hodnotil mimo jiné i vliv pohlaví na obsah těžkých kovů v těle ryb. Zjistili, že průkazný rozdíl obsahu reziduí je pouze u gonád, u ostatních tkání byly rozdíly v obsahu neprůkazné.

Kontaminace těžkými kovy byla sledována na více lokalitách v Česku, např. SPURNÝ et. al. (2005) na řece Bečvě, KRÁČMAR et. al. (2002) na řece Vláře, či HOUSEROVÁ et. al. (2005) na Záhlínických rybnících u Přerova a všude byl potvrzen negativní dopad znečištění těžkými kovy na vodní biotop.

METODIKA A MATERIÁL

Metodika odběru vzorků

Pro účely odběrů materiálu ke vzorkování byly vytipovány dvě lokality na toku řeky Jihlavy.

První lokalita se nachází v k.ú. obce Hrubšice, GPS location Loc: 9°5'43.93"N,16°16'27.55"E. Je to tok charakteru sekundárního pstruhového pásma pod vodním dílem Mohelno s pozvolným přechodem k pásmu parmovému.

Druhá lokalita se nachází v k.ú. obce Třebíč, GPS location Loc: 9°12'49.36"N,15°55'50.71"E

Zde je tok menších rozměrů, charakteru spíše parmového pásma.

Za indikátory zatížení byly zvoleny : Jelec tloušť (*Leuciscus cephalus*), Parma obecná (*Barbus barbus*), kvantitativní směsný vzorek bentosu a dále sediment dna a říční voda.

Ryby byly odlovovány pomocí elektrického agregátu. Při elektrolovu byl odebrán celkový vzorek ichtiofauny dané lokality a vzorky ryb pro stanovení obsahu těžkých kovů byly následně reprezentativně odebrány z tohoto souboru. Ryby byly baleny podle druhů do polyetylenových vaků, uloženy v přenosných chladících boxech

Vzorky zoobentosu byly odebírány v celém profilu toku dané lokality dle standardních hydrobiologických metod HRBÁČEK et. al. (1972) do plastových vzorkovnic.

Vzorky sedimentu dna byly odebrány reprezentativně z celého profilu toku do polyetylenových vaků.

Vzorky vod byly odebrány z proudnice do PET lahví.

Metodika zpracování vzorků

Všechny vzorky byly po odebrání uloženy v přenosných chladících boxech a přepraveny ke zpracování na oddělení Rybářství a hydrobiologie MZLU v Brně.

Z těl ryb byly odebrány vzorky tkáně svaloviny vždy v levé části hřbetu ryb, zváženy a hermeticky uzavřeny do polyetylenových vaků.

Odebraný zoobentos byl zbaven vody a hermeticky uzavřen v polyetylenových vacích.

Všechny odebrané vzorky byly odeslány na pracoviště ústavu Chemie a biochemie MZLU v Brně, kde byla provedena mineralizace vzorků a následné stanovení obsahu jednotlivých prvků. Mineralizace byla prováděna suchou cestou mineralizátorem APION a následným spalováním v mineralizační peci při programově vzrůstající teplotě v rozsahu 20-

400°C. Stanovení rtuti ve vzorcích vody, sedimentů, zoobentosu a rybí svaloviny probíhalo přímou analýzou na přístroji TMA 254, u něhož je mineralizace vzorků součástí analytického procesu. Obsah Cd, Pb, Cr, Cu, Zn a Ni byl stanoven metodou AAS na přístrojích SPECTR AA-30 a AA-300.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Tabulka 1. Obsah těžkých kovů ve svalovině ryb, sedimentu a bentosu na lokalitě Hrubšice

Hrubšice	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Cd mg/kg	Pb mg/kg	Ni mg/kg	Cr mg/kg	Hg ppm
parma průměr	0,664143	5,315714	0,016529	0,155429	0,108714	0,058286	0,072763
parma maxima	1,353	7,29	0,055	0,254	0,186	0,153	0,1233
parma minima	0,298	4,16	0,0085	0,106	0,069	0,011	0,03328
tloušť průměr	0,383714	5,831429	0,006329	0,180286	0,174714	0,039286	0,095137
tloušť maxima	0,666	7,5	0,0089	0,304	0,228	0,059	0,27365
tloušť minima	0,248	3,69	0,0042	0,025	0,116	0,022	0,04231
bentos	8,08	76,89	177,3	819,9	243,88	140,5	0,00637
sediment	7,988	53,93	121,9	3462,2	90,658	64,5	0,01848

Tabulka 2. Obsah těžkých kovů ve svalovině ryb, sedimentu a bentosu na lokalitě Vladislav

Vladislav	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Cd mg/kg	Pb mg/kg	Ni mg/kg	Cr mg/kg	Hg ppm
parma průměr	0,445857	6,34	0,037286	0,108286	0,049714	0,044143	0,154771
parma maxima	0,604	8,57	0,042	0,2	0,069	0,89	0,1611
parma minima	0,321	5,53	0,026	0,006	0,027	0,011	0,1393
tloušť průměr	0,252286	5,194286	0,062171	0,064286	0,110857	0,021857	0,1631
tloušť maxima	0,295	5,86	0,38	0,16	0,54	0,032	0,2736
tloušť minima	0,189	4,37	0,0007	0,009	0,019	0,004	0,0991
bentos	6,367	38,678	0,197	25,824	1,9	3,049	0,0208
sediment	14,708	110,05	0,265	120,21	32,055	164,9	0,0381

V tabulce č.1 jsou znázorněny obsahy těžkých kovů v jednotlivých typech vzorků. Po srovnání s „Nařízením vlády ze dne 29.01.2003 o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do povrchových vod a do kanalizací a o citlivých oblastech“ a zákona 298/1997 bylo zjištěno, že ve vzorcích vod nedošlo k překročení hygienických limitů v prvcích Cu, Zn, Cd, Pb, Ni, Cr. Zato u rtuti bylo zjištěno výrazné překročení hygienických limitů. Hodnoty tohoto prvku dosáhly 0,99ug/l na lokalitě Hrubšice a 2,0ug/l Hg na lokalitě Vladislav ug/l Hg (viz. tabulka č.3 a č.4) Hg, kdežto nařízení vlády ze dne 29.01.2003 pro povrchové vody povoluje maximálně 0,1ug/l Hg.

Tabulka č. 3 Obsah těžkých kovů ve vzorku vody na lokalitě Vladislav

Vladislav	Cu ug/l	Zn ug/l	Cd ug/l	Pb ug/l	Ni ug/l	Cr ug /kg	Hg ug/l
obsah ve vodě	0,002	0,026	0	0,4	6,4	0,83	2
norma pro vodu	30	200	1	15	50	50	0,1

Tabulka č. 4 Obsah těžkých kovů ve vzorku vody na lokalitě Hrubšice

Hrubšice	Cu ug/l	Zn ug/l	Cd ug/l	Pb ug/l	Ni ug/l	Cr ug /kg	Hg ug/l
obsah ve vodě	0,004	0,019	0,00002	0,0004	0,007	1,54	0,99
norma pro vodu	30	200	1	15	50	50	0,1

Ve svalovině ryb nebyly statisticky průkazně dokázány zvýšené hodnoty v prvcích Cu, Zn, Cd, Pb, Ni, Cr. Pouze u kadmia byla v jednom případě na lokalitě Vladislav dosažena hodnota 0,38mg/kg Cd, kdežto zákon 298/1997 povoluje maximálně 0,1mg/kg Cd. Hodnoty se pohybovaly v mezích 0,0007mg/kg až 0,38mg/kg, s průměrem 0,049729mg/kg. Na lokalitě Hrubšice kadmium limity nepřesáhly.

U rtuti byly hygienické limity přesáhnuty téměř u všech vzorků lokality Vladislav. Průměrná hodnota zde dosahovala 0,158936mg/kg Hg, s rozptylem hodnot od 0,0991mg/kg ve svalovině parmy do 0,2736mg/kg Hg ve vzorku svaloviny jelce tlouště. Tyto hodnoty ukazují na více než dvojnásobné překročení limitu pro obsah rtuti ve svalovině.

Na lokalitě Hrubšice byl průměrný obsah rtuti ve svalovině ryb 0,074283mg/kg Hg. Zde tedy průměrné hodnoty limity nepřekročily. Při posuzování jednotlivých vzorků ovšem bylo překročení zaznamenáno celkem u dvou vzorků parmy (0,10803 a 0,1233 mg/kg) a dvou vzorků jelce tlouště (0,10607 a 0,27365 mg/kg). Hodnoty se pohybovaly v rozmezí 0,03599mg/kg ve vzorku svaloviny jelce tlouště až 0,27365mg/kg opět ve vzorku jelce tlouště.

Ve vzorcích zoobentosu byly na obou lokalitách zaznamenány poměrně vysoké koncentrace všech sledovaných prvků. Konkrétní hodnoty znázorňuje tabulka č. 5.

Tabulka č. 5 Obsah těžkých kovů ve vzorcích zoobentosu

	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Cd mg/kg	Pb mg/kg	Ni mg/kg	Cr mg/kg	Hg ppm
Hrubšice	8,08	76,89	177,3	819,9	243,88	140,5	0,00637
Vladislav	6,367	38,678	0,197	25,824	1,9	3,049	0,0208

Ve vzorcích sedimentu dna byly též zjištěny vysoké koncentrace těžkých kovů. Konkrétní hodnoty znázorňuje tabulka č. 6.

Tabulka č. 6 Obsah těžkých kovů ve vzorcích sedimentu dna

	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Cd mg/kg	Pb mg/kg	Ni mg/kg	Cr mg/kg	Hg ppm
Hrubšice	7,988	53,93	121,9	3462,2	90,658	64,5	0,01848
Vladislav	14,708	110,05	0,265	120,21	32,055	164,9	0,0381

Zvýšené hodnoty rtuti ve svalovině ryb zjistil v posledních letech například SPURNÝ (2002), který zjistil obsah rtuti ve svalovině jelce tlouště 0,139mg/kg Hg. Zvýšené hodnoty zjistil i u prvků olova, kadmia a zinku, kdežto při tomto sledování zvýšené hodnoty potvrzeny nebyly. Pouze v jednom vzorku tkáně parmy z lokality Vladislav bylo zjištěno zvýšené množství kadmia na 0,38mg/kg Cd.

Ve vzorcích sedimentu dna a zoobentosu zjistil rovněž vysoké obsahy těchto polutantů.

HOUSEROVÁ(2002) sledovala obsah celkové rtuti a methyl rtuti na několika moravských řekách. Na řece Jihlavě v obci Hrubšice zjistila zvýšenou koncentraci rtuti (0,135mg/kg) a velmi zvýšenou na lokalitě v obci Vladislav (0,962mg/kg). Při sledování rovněž zjistila, že 83,6 až 92% této rtuti tvoří silně toxická methyl rtuť. Ve vzorcích sedimentu dna a zoobentosu řeka Jihlava dle této studie vykazovala nejvyšší znečištění rtutí. Oproti tomu při našem sledování v roce 2007 nebyl zjištěn výrazně vyšší obsah rtuti v sedimentu či zoobentosu, pouze ve vzorcích ryb.

SPURNÝ, MAREŠ (2005) sledovali zatížení řeky Bečvy v oblasti Hranic na Moravě. Tok je zde charakterem podobný řece Jihlavě. Jako potencionální znečišťovatelé jsou zde uváděni továrna Philips a průmyslové zóny měst na povodí. Na toku byl zjištěn zvýšený obsah Pb v sedimentu dna (20,963mg/kg Pb) na lokalitě Choryně. Tuto hodnotu autor hodnotí jako extrémní. Při stanovení obsahu olova na řece Jihlavě byl zjištěn obsah v sedimentu dna 3462,2mg/kg v Hrubšicích a 120,21mg/kg na lokalitě ve Vladislavi. U ostatních prvků uvádí tyto hodnoty Cu 10,525 mg/kg, Zn 74,478 mg/kg a Ni 19,043 mg/kg, což jsou hodnoty podobné, pouze Ni je na řece Jihlavě výrazně více. Hodnotu obsahu rtuti uvádí maximálně 0,136mg/kg v sedimentu, 0,027mg/kg v zoobentosu, což jsou hodnoty velmi podobné. Ve vzorcích ryb rtuť dosahovala hodnot 0,018 –0,101mg, což jsou hodnoty nižší než na řece Jihlavě, kde většina vzorků překročila hygienický limit 0,1mg/kg Hg.

Na základě tohoto porovnání lze konstatovat, že řeka Jihlava je silně zatížena těžkými kovy.

ZÁVĚR

Na základě provedených sledování a porovnání s předcházejícími studiemi, které monitorovaly tento tok, lze konstatovat, že řeka Jihlava je tokem silně zatíženým polutanty některých těžkých kovů. Zvýšené, nadlimitní hodnoty vykazovala v rybí tkáni především rtuť. Tento kov má vysokou akumulaci schopnost a silnou toxicitu. Silně poškozuje reprodukční orgány a nepřímo tím narušuje strukturu populací. Na intoxikaci rtutí je zvláště citlivá parma obecná (*Barbus barbus*), u které způsobuje praskání jikrných obalů a tím úhyn zárodků. Vyšší hodnoty byly prokázány na lokalitě Vladislav, ovšem ani v Hrubšicích nebyly hodnoty zanedbatelné. Konzumace ryb kontaminovaných rtutí může v dlouhodobém měřítku způsobit vážné zdravotní potíže.

Ostatní prvky v rybí svalovině nedosahovaly nadlimitních hodnot, ovšem i tak je jejich obsah nezanedbatelný a je otázkou, jak se může dlouhodobý příjem takto zatížené svaloviny v lidském organismu projevit.

V sedimentu dna a zoobentosu byly zjištěné hodnoty velmi vysoké, ovšem v kontaminaci svaloviny se tato skutečnost neprojevila. I přes tuto skutečnost jsou tyto hodnoty alarmující.

Porovnání obsahu jednotlivých prvků na lokalitě Vladislav, nad vodními díly Dalešice a Mohelno, a na lokalitě Hrubšice, pod těmito nádržemi, ukazuje na nižší obsah většiny sledovaných prvků nad nádržemi, pouze rtuť měla vyšší obsah na lokalitě nad nádržemi. Tato skutečnost je v rozporu s obecným předpokladem retence látek v nádržích a tudíž nižších hodnot znečištění pod nádržemi. Možným vysvětlením je energetický průmysl provozovaný na nádržích zastoupený jadernou elektrárnou Dukovany a vodními elektrárnami v hrázích nádrží.

Z důvodu překročení hygienických limitů u rtuti se nedá zvýšená, dlouhodobá konzumace ryb z těchto lokalit doporučit.

PODĚKOVÁNÍ

Poděkování: Příspěvek byl zpracován s podporou projektu IGA č. IG270261 „Monitoring obsahu těžkých kovů v tělech ryb středního toku“ uděleného Interní grantovou agenturou MZLU v Brně

Acknowledgment: This study was supported by the IGA No. IG270261 “Heavy metal contamination of fish from middle course of the Jihlava River“, which is financed by the MZLU v Brně.

POUŽITÁ LITERATURA

HANEL, L, LUSK, S. *Ryby a mihule České republiky : Rozšíření a ochrana*. 1. vyd. Vlašim : PB tisk Příbram, 2005. 448 s. ISBN 80-86327-49-3.

HOUSEROVÁ, P., et al. Bioakumulace chemických forem (specií) rtuti ve vodních ekosystémech. In *Mikroelementy*. 1. vyd. Český Těšín : [s.n.], 2005. s. 48-56.

HOUSEROVÁ, P., et al. Chemical Forms of Mercury in Aquatic Ecosystems -- Sources, Levels, Transformations, Properties and Determination.. In *Chemické listy*. sv. 100, č. 4, [s.l.] : [s.n.], 2006. s. 1-20. ISSN 0009-277.

HOUSEROVÁ, P., et al. Determination of Total Mercury and Mercury Species in Fish and Aquatic Ecosystem of Moravian Rivers.. *Veterinary Medicine Czech..* 2006, vol. 3, no. 55, s. 101-110.

HOUSEROVÁ, P., et al. Determination of Total Mercury in Muscle, Intestines, Liver and Kidney Tissues of Cormorant (*Phalacrocorax carbo*), Great Crested Gerber (*Podiceps cristatus*) and Eurasian Buzzard (*Buteo buteo*). In *Veterinary Medicine Czech..* 2nd edition. [s.l.] : [s.n.], 2005. s. 61-68. ISSN 0375-842.

JEZIERSKA, B., et al. Heavy metal -induces mortality of early stages of fish in polluted environment . In SPURNÝ, Petr. *55 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně*. 1. vyd. MZLU Brno : [s.n.], 2004. s. 221-236.

KRÁČMAR, S., et al. Akumulace rizikových prvků (Ni, Cr a Cu) ve vybraných orgánech ouklejky pruhované (*Alburnoides bipunctatus*) řeky Vláry. In *IV. Kábrtovy dietetické dny*. 1. vyd. VFU v Brně : [s.n.], 2001. s. 56-59.

KRÁČMAR, S., et al. Akumulace rizikových prvků (Ni, Cr a Cu) ve vybraných orgánech hrouzka obecného (*Gobio gobio*) ze dvou lokalit řeky Vláry.. In *IX. vedecké sympóziium s medzinárodnou účasťou o ekológii vo vybraných aglomeráciách Jelšavy -- Lebeníka a Stredného Spiša*. 1. vyd. Košice : [s.n.], 2002. s. 30-33.

MALGORZATA, B, JEZIERSKA, B. *Metal toxicity to fish*. [s.l.] : [s.n.], 2001. 318 s.

RANDÁK, T., et al. Hodnocení kontaminace řek Labe a Vltavy pomocí stanovení biochemických markerů a obsahu vybraných polutantů v tkáních jelce tlouště (*Leuciscus cephalus*). In SPURNÝ, Petr. *"55 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně"*. 1. vyd. MZLU Brno : [s.n.], 2004. s. 253-261.

SPURNÝ, P., et al. Heavy metal distribution in the ecosystems of the upper course of the Jihlava River. *Czech Journal of Animal Science*.. 2002, vol. 4, no. 47, s. 160-167.