

大叶藻移植方法的研究

郭 栋^{1,2}, 张沛东¹, 张秀梅¹, 柳 杰¹, 曾 星¹

(1. 中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003; 2. 辽宁省水产科学研究院, 辽宁 大连 116023)

摘要: 为探索适宜的大叶藻(*Zostera marina*)移植修复方法, 2008年10~11月, 利用沉子法、枚钉法、直插法、夹苗法和整理箱法, 在山东荣成俚岛近岸海域进行了大叶藻移植试验, 监测了移植后1个月内大叶藻的生长、存活与渗透压的变化, 比较了天然大叶藻和移植大叶藻之间的差异, 并分析了移植海区主要环境因子与大叶藻生长与存活之间的关系。结果显示, 5种移植方法大叶藻的平均存活率为沉子法(100%)>枚钉法(86.7%)>直插法(66.7%)>夹苗法(20%)>整理箱法(0%); 移植大叶藻的平均绝对生长率为沉子法(0.358 cm/d)>直插法(0.242 cm/d)>对照组(0.211 cm/d)>枚钉法(0.083 cm/d)>夹苗法(0.067 cm/d); 与天然大叶藻相比, 移植后大叶藻根的渗透压显著升高, 而茎和叶的渗透压则显著降低($P<0.01$); 移植后大叶藻的生长与存活和移植海区水流、光照、底质等主要环境因子显著相关。研究结果为研发适宜的低成本大叶藻受损生物群落生态修复技术提供了参考。

关键词: 大叶藻(*Zostera marina*); 移植; 存活率; 绝对生长率; 渗透压

中图分类号: Q949.71⁺2.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2012)03-0042-07

大叶藻(*Zostera marina*)属海草的一种, 是行沉水生活的海洋高等单子叶植物, 具有完整的根、茎、叶结构, 在海水中完成整个生活史, 包括开花、传粉和结实等, 在中国主要分布于辽宁、河北、山东等省份的近岸海域^[1-2]。大叶藻具有重要的生态作用, 不仅能够净化水质、补充水体溶解氧、稳定底质、减弱波浪对海岸的侵蚀, 其碎屑和衰退的叶片还是食物链的重要组成部分从而维持动物区系的多样性^[3-4]。近几十年来, 由于自然环境的变迁和人为因素的影响, 世界范围内大叶藻的资源都处于不断衰退之中。从20世纪40年代开始, 国外的一些科研工作者就尝试人为修复海草的生境和资源, 并研发了许多修复方法和技术^[5-7]。中国历史上曾经十分丰富的大叶藻资源目前也处于不断衰退之中, 然而适合中国海域特点的大叶藻修复技术却十分薄弱。本文利用沉子法、枚钉法、直插法、夹苗法、整理箱法, 在山东荣成俚岛近岸海域进行了大叶藻移植试验, 以期研发低成本大叶藻受损生物群落生态修复技术提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验时间和地点

根据 Balestri 和 Lardicci^[8]的研究结果, 大叶藻

移植后30 d存活或长出新叶则可以认为移植成功。因此, 本试验时间设定30 d, 为2008年10月18日至11月16日。试验地点为山东省荣成市俚岛镇近岸海域(图1), 参照 Short 等^[9]的大叶藻移植地点选择模式综合考虑水深、光照、底质、水流等环境因子选取。

1.2 移植大叶藻的采集

选择位于荣成俚岛近岸距移植海区100 m以外的潮下带潮流较急、水深较浅的天然草场采集大叶藻。采集时遵循以下原则: 1)大叶藻长势良好, 叶片表面不附生藻类及其他植物; 2)大叶藻为健康植株, 没有病变; 3)只采集营养株而不采集生殖枝。

采集时, 从大叶藻植株底部连根挖取, 确保大叶藻附带3~5 cm的茎, 轻轻把茎掐断然后取出植株, 每平方米草场最多取100株, 将采集到的大叶藻植株放入盛有海水的泡沫箱中, 运到移植地点。每3株

收稿日期: 2011-02-09; 修回日期: 2011-05-12

基金项目: 国家自然科学基金(30700615); 海洋公益性行业科研专项经费项目(200805069)

作者简介: 郭 栋(1983-), 男, 硕士, 主要从事渔业资源增殖学研究, 电话: 13384119248, E-mail: guohongtiansky@163.com; 张沛东, 通信作者, 电话: 0532-82032076, E-mail: zhangpds@ouc.edu.cn

大叶藻植株用绳子绑扎成一束, 绑扎部位为大叶藻茎的分生组织以下部分, 避免过紧。每一束称为一个移植单元, 共采集 75 个移植单元。

1.3 大叶藻的移植

采用的移植方法有直插法、枚钉法、沉子法、夹苗法、整理箱法。直插法: 用小铲在海底挖深约 5 cm 的坑, 把一个移植单元放进坑内然后再把挖出的泥沙盖上, 压实。枚钉法: 直插结束后, 用竹筷做成的枚钉穿过移植单元的捆扎绳, 将移植单元固定在底土中。夹苗法: 选取适宜苗绳, 将移植单元夹在苗绳上, 苗绳两端固定在海底。沉子法: 在一个移植

单元的茎部绑附一块 10 cm 大小的石头或混凝土沉子, 轻放海底, 并确保大叶藻茎与海底接触。整理箱法: 利用 50 cm×50 cm×25 cm 的整理箱, 壁四周和底部钻有均匀的小孔, 在箱子底部装入 20 cm 厚的泥沙, 把移植单元采用直插的方式植入泥沙中, 然后将整理箱放入移植海区。其中前 4 种移植方法是在用直径 2 cm 的 PVC 管制成的矩形移植框内进行, 移植框四边固定以防止被水流冲走。移植框平行排列, 水深基本一致。

每个移植框移植 5 个移植单元, 分布在移植框的 4 个角及中心位置。每种移植方法设 3 个重复, 并

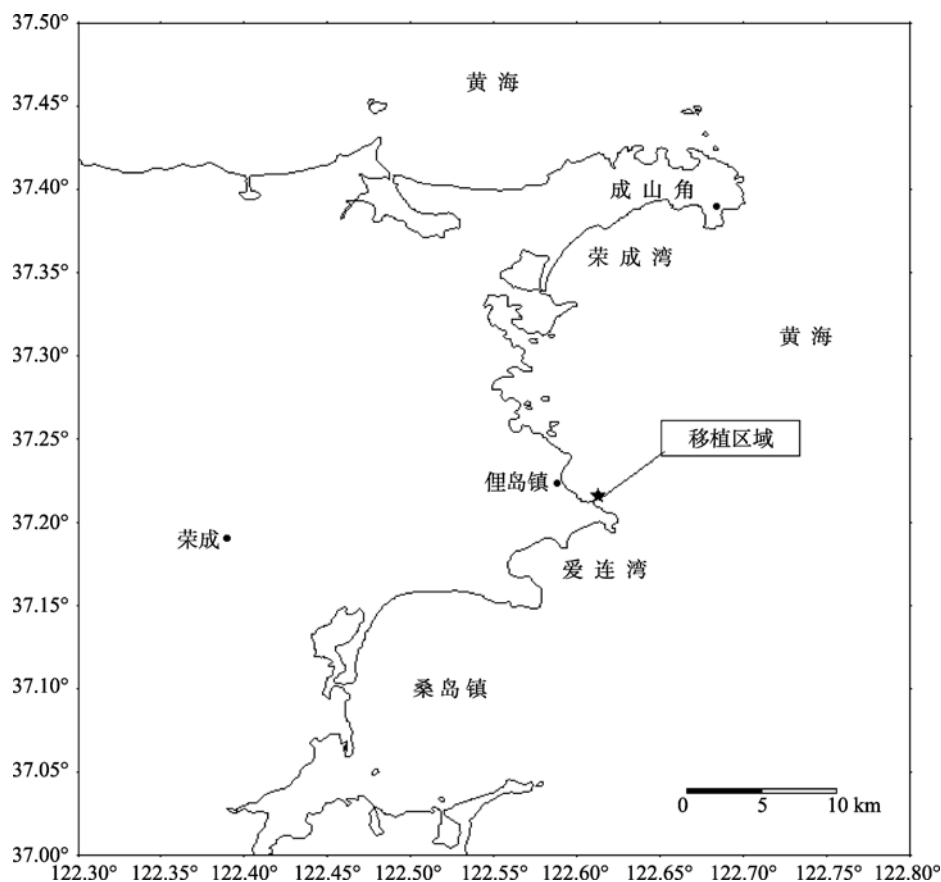


图 1 实验地点

Fig. 1 Location of experiment

以天然大叶藻草场做为对照组。移植后对大叶藻叶片标记。在每个移植框中, 选择移植单元新叶与老叶之间的叶片, 分别用不同颜色的线标记, 并随机选取天然大叶藻 5 株, 利用上述标记线对其叶片进行标记。标记时用缝衣针将 3 cm 长的标记线穿过叶片的中上部并打结, 尽量减少对大叶藻叶片的伤害。测量标记大叶藻的叶片长度, 并记录叶片个数。

1.4 移植海区主要环境因子监测

移植前, 利用 100 mL 样品瓶采集底泥 100 g, 利用激光粒度分析仪分析其泥沙粒径。实验期间, 每天 08:00、12:00、16:00 测量移植海区的照度(ADS-10W-20 水下照度计)、流速(VR-101 型流速仪)。在高潮、中潮、低潮时测量移植海区的水深(2008 年 10 月 19 日至 10 月 22 日数据被潮水冲走, 水深监测数

据从 2008 年 10 月 23 日开始)。全天候监测移植海区的水温(HOBO 水下温度采集器)。

1.5 样品测定与数据分析

移植后 15 d 和 30 d, 测量标记大叶藻的叶片长度, 观察大叶藻的存活和新叶发生情况, 计算大叶藻的绝对生长率和存活率。实验结束时, 采集天然大叶藻和移植大叶藻的根、茎、叶样品, 冷冻保存, 利用露点渗透压仪测定样品的渗透压。

数据分析使用 SPSS13.0 软件, 以 $P<0.05$ 做为差异显著性, $P<0.01$ 为极显著。

2 结果与分析

2.1 生长与存活

实验结果如表 1 所示。由表 1 可知, 移植后 15 d, 利用沉子法和直插法移植的大叶藻的绝对生长率较高, 显著高于枚钉法和夹苗法($P<0.05$), 但与对照组差异无统计学意义($P>0.05$); 新叶发生数则以直插法最高, 分别是对照组、枚钉法、沉子法和夹苗法的

1.75 倍、1.5 倍、3.5 倍和 10.5 倍, 且与沉子法和夹苗法存在显著差异($P<0.05$)。移植后 30 d, 部分叶片衰退, 无法计算绝对生长率, 新叶发生数则以枚钉法最高, 分别是对照组、沉子法、直插法和夹苗法的 2.75 倍、1.95 倍、1.14 倍和 22 倍, 且与对照组、沉子法和夹苗法存在显著差异($P<0.05$); 对照组和利用沉子法移植的大叶藻的存活率均为 100%, 显著高于直插法(66.7%)和夹苗法(20%)($P<0.05$), 枚钉法移植大叶藻的存活率次之。移植后第 4 天, 两个实验整理箱被水流冲走, 移植后第 11 天, 全部实验整理箱被水流冲走, 因此本实验设计的整理箱法并不适合在该海区进行大叶藻的移植。

2.2 渗透压

大叶藻移植前后的渗透压变化如图 2 所示。由图可知, 移植后 30 d, 大叶藻根的渗透压显著升高, 是对照组的 1.27 倍, 而茎和叶的渗透压则显著降低, 分别是对照组的 90.2%和 79.6%。独立样本 t 检验表明, 移植前后大叶藻根、茎、叶的渗透压差异极显著($P<0.01$)。

表 1 移植大叶藻的生长与存活

Tab. 1 Growth and survival of transplanting eelgrass

移植方法	绝对生长率(15d, cm/d)	新叶发生数		存活率 (30 d, %)
		15 d	30 d	
对照组	0.211±0.059 ^{ab}	6.0±0.6 ^{bc}	8.0±1.2 ^{ab}	100±0.0 ^a
枚钉法	0.083±0.059 ^b	7.0±1.0 ^{bc}	22.0±1.2 ^d	86.7±13.3 ^a
沉子法	0.358±0.151 ^a	3.0±0.6 ^{ab}	11.3±3.5 ^{bc}	100±0.0 ^a
直插法	0.242±0.083 ^a	10.5±5.5 ^c	19.3±5.7 ^{cd}	66.7±6.7 ^b
夹苗法	0.067±0.006 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	20±0.0 ^c
整理箱法	—	—	—	—

注: 数据为平均值和平均值的标准误; 同一列中标有不同字母的数据表示差异显著 ($P<0.05$)

2.3 移植海区主要环境因子的变动

实验期间, 对大叶藻移植海区主要环境因子的监测表明, 大叶藻移植海区表层流速总体变动不大, 最高流速为 21.5 cm/s, 最低流速为 4.5 cm/s, 平均流速为 8.57 cm/s, 分别在 2008 年 10 月 22 日(移植后 4 d)和 2008 年 10 月 29 日(移植后 11 d)出现两个高值, 如图 3 所示; 移植海区海面光照强度在 12:00 时最高, 08:00 时次之, 16:00 最低, 最高光强为 79859 lx, 最低光强为 200 lx, 平均照度为 23756.8 lx, 2008 年 10 月 21 至 10 月 23 日为雨天从而导致照度大幅下降, 如图 4 所示; 受潮流影响, 移植海区的水深变动较大, 最大水深为 0.9 m, 最小水深为 0.05 m, 平均水深为

0.44 m, 因此移植海区为潮下带上段, 如图 5 所示; 移植海区水温的变动范围为 15.3~21.7℃之间, 为大叶藻适宜存活的水温, 如图 6 所示。

对移植海区底泥粒径的分析显示, 该海域底泥的平均粒径为 1.00 mm, 中值粒径为 0.56 mm, 泥和沙的质量比为 8.17; 砾、粗砂、中砂和细砂所占比例分别为 11%、42%、15%和 21%, 因此该海域的底泥可定性为砾砂, 如图 7 所示。

3 讨论

3.1 大叶藻移植方法的探讨

目前, 大叶藻的移植方法主要有 3 种: (1)整体植

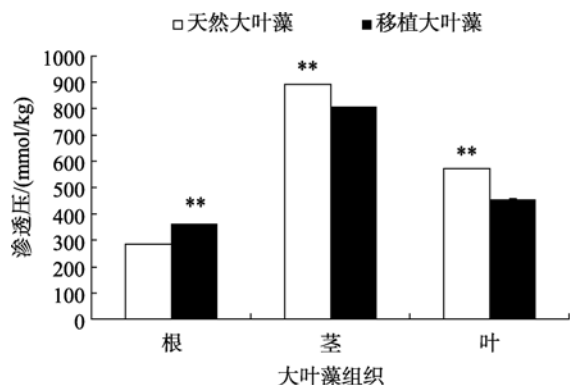


图 2 大叶藻移植前后的渗透压变化

Fig. 2 Changes of osmotic pressure of nature and transplanting eelgrass

注: 数据柱代表平均值和平均值的标准误, **表示同一簇差异极显著 ($P < 0.01$)

Note: The Data shown are mean values and error bars are S.E. of the mean values, ** indicate significant differences in the same cluster ($P < 0.01$)

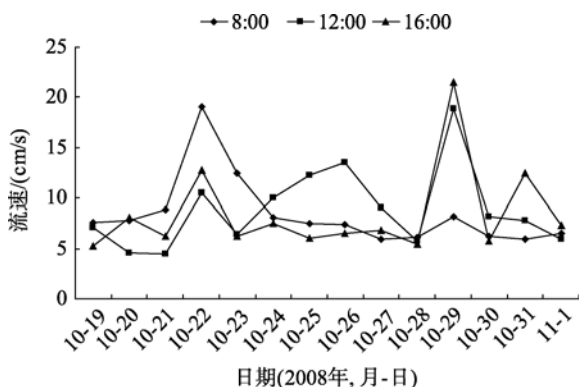


图 3 大叶藻移植海区水流流速的变化

Fig. 3 Changes of flow velocity in transplanting area for eelgrass

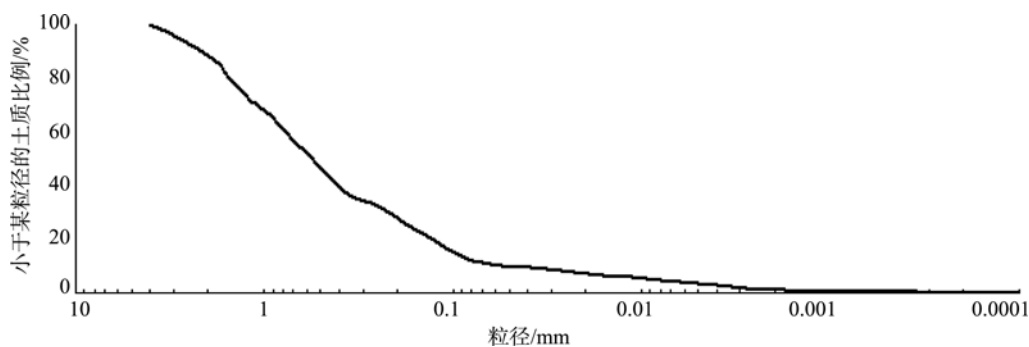


图 7 大叶藻移植海海底泥的泥沙粒径分析

Fig. 7 Analysis of particle-size spectra of sediment in transplanting area for eelgrass

株和底质一起移植; (2)种子种植; (3)不带底质的整株移植^[10]。研究发现, 第 1 种是大叶藻移植的首选方法, 但花费的人力物力较高, 而且会对取样区的底质造成侵蚀^[11]; 第 2 种的优点是可以方便而快速的

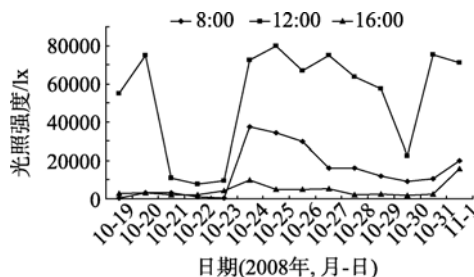


图 4 大叶藻移植海区光照强度的变化

Fig. 4 Changes of light intensity in transplanting area for eelgrass

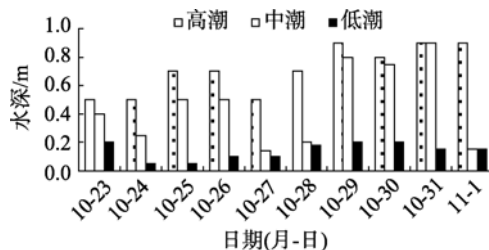


图 5 大叶藻移植海区水深的变化

Fig. 5 Changes of water depth in transplanting area for eelgrass

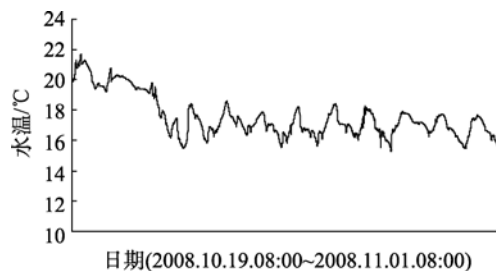


图 6 大叶藻移植海区水温变化

Fig. 6 Changes of water temperature in transplanting area for eelgrass

播种, 然而种子成熟时间不统一, 收集比较困难, 且由于水流和生物的干扰而造成种子的发芽率较低^[12-14]。目前应用比较广泛的是第 3 种方法, 其中比较典型的有 Short 等^[10]发明的 Horizontal rhizome

method(HRM)法和 Transplanting eelgrass with remote frame systems(TERFS)法。TERFS 法是在 HRM 法的基础上发展而来,不用潜水员下水操作,无需枚钉固定,移植框能够重复利用,便于监测海草的生长,能防止蟹类等的损害,移植密度高,而且花费较低。

本研究采用的枚钉法、沉子法、夹苗法的设计是针对移植海域的环境特点对 HRM 方法的改进,而整理箱法则是 TERFS 方法的演变。从移植后 30 d 大叶藻的生长、新叶发生数及成活率来看,沉子法和枚钉法可以作为本海区的首选移植方法。直插法大叶藻的成活率也较高,且操作方便,成本较低,也可认为是本海域大叶藻移植的较好方法。夹苗法的成活率极低,因此不宜选择。本实验设计的整理箱法虽然在移植箱内加入底泥并压上石块,但由于水阻力比较大仍被水流冲走,因此本实验设计的整理箱法并不适合在实验海区进行大叶藻的移植。今后将针对移植箱的材质和形状开展进一步的实验研究。

从绝对生长率看,由于沉子法的石块能够使根茎充分与底质接触从而保证大叶藻能够吸收足够的营养,因此绝对生长率最高;枚钉法大叶藻的绝对生长率较低可能是由于枚钉对移植大叶藻的根茎产生胁迫,因此使用该方法必须改进枚钉的材料和使用方法;而夹苗法大叶藻的根茎与底质接触不良,从而造成移植大叶藻的生长缓慢,并出现叶片衰退现象。综合各生长指标,沉子法是实验海区开展大叶藻移植的最好方法。

3.2 移植大叶藻渗透压的变化特征

渗透压是指阻止水分子通过半透膜进入水溶液的压力,渗透压同细胞液浓度成正比,细胞液浓度越高,渗透压越大,反之,细胞液浓度越低,渗透压越小。一般来说,水生植物的渗透压较小^[15]。为了吸收水分,植物必须积累无机离子或合成有机物质作为渗透调节剂,以对抗环境中的低渗透势。海草的耐盐机理中也有渗透调节的成分^[16]。叶春江和赵可夫^[17]研究表明,大叶藻主要是依靠在液泡中积累有毒的无机离子(Na^+ 和 Cl^-)来进行渗透调节,这些有毒离子由叶表皮细胞向叶肉细胞中定向移动和积累,并顺着电化学梯度向茎部薄壁细胞中进一步转移。本研究表明,移植后 30 d 大叶藻根的渗透压比对照组显著升高,而茎和叶的渗透压则明显降低,说明移植后大叶藻根部无机离子积累增多,而茎和叶的积累减少,这可能是由于移植后大叶藻根部的代谢

增强,而茎和叶代谢减弱,以适应移植后的胁迫。

3.3 移植海区选取

大叶藻一般生长在泥质或沙质海底,尤其适合于水流较缓,海水透明度较高的浅水海湾或河口湾一带^[18]。Short 等^[9]在一些研究的基础上^[9,19]提出了大叶藻移植地点选择模式:移植地点具备适合大叶藻生长的水深,为潮下带;泥沙质底质最为适宜,淤泥 $\leq 70\%$,小鹅卵石 $\leq 70\%$,不宜有大石块;光照适宜。一些学者还认为,进行大叶藻移植时移植地点应距离天然大叶藻草场 100 m 以上,以减少种子的自然传播对移植大叶藻的影响,最好选择历史上有大叶藻分布而现在退化的海区^[20-21]。本研究对大叶藻移植海区主要环境因子的监测表明,偶发的高值流速容易对大叶藻的移植造成较大危害,本研究采用的实验整理箱全部被水流冲走,正是发生于移植后第 4 天(最高流速 19.1 cm/s)和第 11 天(最高流速 21.5 cm/s)的高值流速时间。本研究的实验移植框采用平行排列,且位于海区潮下带上段,水深适宜。实验期间,移植海区未发生恶劣天气,因此光照强度和水温对大叶藻的移植影响不大。对移植海区底泥粒径的分析显示,该海域底泥可定性为砾砂。总之,在选择大叶藻移植海区时,应该采用 Short 等^[9]的移植地点选择模式,并结合海区历史资料,尤其是海流,来综合评估。郭栋等^[22]报道了本实验海区天然海草场 2008 年 6 月份主要环境因子的监测结果,发现本实验海区天然海草场的底质定性为砾砂, BOD 含量和 COD 含量均符合国家海水水质一类标准(GB3097~1997),盐度 30.0~31.5,透明度 1.51~1.62 m,溶解氧含量 7.6~7.98 mg/L。

在中国北方,大叶藻的花果期(有性生殖时期)在 3~7 月^[23],种子脱落后生殖株死亡^[24],所以大叶藻的移植时间应该避开此时期。此外,本研究提出的几种大叶藻移植方法适合于潮下带较浅区域,可以在退潮时直接操作,而较深海区则必须借助潜水员方能进行。在本研究的基础上,开发一种不借助潜水员的深水移植方法是今后研究工作的重点。

参考文献:

- [1] 杨宗岱,吴宝铃.中国海草场的分布生产力及其结构与功能的初步探[J].生态学报,1981,1(1):84-88.
- [2] 沈国英,施并章.海洋生态学[M].北京:科学出版社,2002:327-328.

- [3] Thayer G W, Kenworth W J, Fonseca M S. Ecology of eelgrass meadows of the Atlantic coast: a community profile[R]. Beaufort, NC(USA): Technical Report(FWS/OBS-84/02), National Marine Fisheries Service, Beaufort, NC(USA), 1984: 24:84-85.
- [4] Fonseca M S, Fisher J S. A comparison of canopy friction and sediment movement between four species of seagrass with reference to their ecology and restoration[J]. Marine Ecology Progress Series, 1986, 29: 15-22.
- [5] Addy C E. Eelgrass planting guide[J]. Maryland Conservationist, 1947, 24: 16-17.
- [6] Short F T, Wyllie-Echeverria S. Natural and human-induced disturbance of seagrasses[J]. Environmental Conservation, 1996, 23: 17-27.
- [7] Short F T, Korpp B S, Gaeckle J, et al. Seagrass ecology and estuarine mitigation: a low-cost method for eelgrass restoration[J]. Japan Fisheries Science, 2002, 68: 1759-1762.
- [8] Balestri E, Lardicci C. Stimulation of root formation in *Posidonia oceanica* cuttings by application of auxins (NAA and IBA)[J]. Marine Biology, 2006, 149: 393-400.
- [9] Short F T, Davis R C, Kopp B S, et al. Site-selection model for optimal transplantation of eelgrass, *Zostera marina* L[J]. Marine Ecology Progress Series, 2002, 227: 253-267.
- [10] Davis R C, Short F T. Restoring eelgrass, *Zostera marina* L, habitat using a new transplanting technique: the horizontal rhizome method[J]. Aquatic Botany, 1997, 59: 1-15.
- [11] Fonseca M S, Kenworthy W J, Courtney F X. Development of planted seagrass beds in Tampa Bay, Florida, USA. I. Plant components[J]. Marine Ecology Progress Series, 1996, 132: 127-139.
- [12] Churchill A C, Cok A E, Riner M I. Stabilization of subtidal sediments by the transplantation of the seagrass *Zostera marina* L[R]. New York Sea Grant Report Series, 1978, NYSSGP-RS-78-15, 48.
- [13] Fukuda T. Development of the techniques for marine macrophyte (*Zostera marina*) bed creation -VIII: Manual for *Zostera* bed creation by the sowing method[J]. Bulletin of the Fisheries Experiment Station, Okayama Prefecture, 1987, 2: 35-37.
- [14] Lewis R R, Phillips R C. Occurrence of seeds and seedlings of *Thalassia testudinum* Banks ex Konig in the Florida Keys (U.S.A.)[J]. Aquatic Botany, 1980, 9: 377-380.
- [15] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001: 279-296.
- [16] Beer S, Eshel A, Waisel Y. Carbon metabolism in seagrasses III. Activities of carbon-fixing enzymes in relation to internal salt concentrations[J]. Journal of Experimental Botany, 1980, 31: 1027-1033.
- [17] 叶春江, 赵可夫. 海洋盐生植物大叶藻耐盐机理研究[C]. 济南: 山东师范大学, 2002: 9-21.
- [18] Harrison P G, Durance C. Variation in clonal structure in an eelgrass (*Zostera marina*) meadow on the Pacific coast of Canada[J]. Canadian Journal of Botany, 1991, 70: 653-657.
- [19] Short F T. Effects of sediment nutrients on seagrasses, literature review and mesocosm experiment[J]. Aquatic Botany, 1987, 27: 41-57.
- [20] Orth R J, Luckenbach M, Moore K A. Seed dispersal in a marine macrophyte: implications for colonization and restoration[J]. Ecology, 1994, 75: 1297-1939.
- [21] Granger S L, Traber M S, Nixon S W. Propagation of *Zostera marina* L. from seed[C]//Sheppard CRC. Seas at the millennium: An Environmental Evaluation. Amsterdam: Science press, 2000: 4-5.
- [22] 郭栋, 张沛东, 张秀梅, 等. 荣成俚岛近岸海域大叶藻的生态学研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2010, 40(9): 51-55.
- [23] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1992: 8: 84-94.
- [24] Bos A R, Bouma T J, de Kort GLJ, et al. Ecosystem engineering by annual intertidal seagrass beds: Sediment accretion and modification[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2007, 74: 344-348.

Study on transplant methods of eelgrass (*Zostera marina*)

GUO Dong^{1,2}, ZHANG Pei-dong¹, ZHANG Xiu-mei¹, LIU Jie¹, ZENG Xing¹

(1. Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Liaoning Ocean and Fisheries Research Institute, Dalian 116023, China)

Received: Feb.,9,2011

Key words: *Zostera marina*; transplant; survival rate; absolute growth rate; osmotic pressure

Abstract: To find feasible and optimal method of transplant and restoration for eelgrass *Zostera marina*, eelgrass were transplanted using methods of rock planting, staple, free planting, root gripping and box planting in the in-shore areas of Lidao Town of Rongcheng City from October to November in 2008. The changes of growth, survival and osmotic pressure between nature and transplanting eelgrass were compared during one month after transplantation. The correlation between the growth and survival of transplanting eelgrass and environmental factors was analyzed. The results in the present study showed that the survival rate of transplanting eelgrass was as follows: rock planting (100%) > staple (86.7%) > free planting (66.7%) > root gripping (20%) > box planting (0%). The average absolute growth rate of transplanting eelgrass was as follows: rock planting (0.358 cm/d) > free planting (0.242 cm/d) > control (0.211 cm/d) > staple (0.083 cm/d) > root gripping (0.067 cm/d). The osmotic pressure of transplanting eelgrass roots was significantly higher than that of nature eelgrass roots, however, the osmotic pressure of rhizomes and leaves showed opposite changes ($P < 0.01$). There was a remarkable correlation between growth and survival of transplanting eelgrass and environmental factors such as flow velocity, light intensity, sediment and so on. These findings have provided valuable data for developing feasible and low-cost transplant and restoration technologies for injured *Z. marina* biome.

(本文编辑: 张培新)