

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

GIORGIO MANCINO

**Citotassonomia di Gasteropodi Opisthobranchi italiani  
e inglesi**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 51 (1971), n.3-4, p.  
238-248.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1971\\_8\\_51\\_3-4\\_238\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1971_8_51_3-4_238_0)

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

**Citologia.** — *Citotassonomia di Gasteropodi Opisthobranchi italiani e inglesi* (\*). Nota (\*\*) di GIORGIO MANCINO, presentata dal Socio M. BENAZZI.

SUMMARY. — Chromosome studies have been performed on some Italian and English Opisthobranchs. The chromosome numbers  $n = 17$ ,  $2n = 34$  have been confirmed for the family Philinidae among Cephalaspidea, while  $n = 13$ ,  $2n = 26$  have been ascertained in all Nudibranchs, including the species belonging to the families karyologically studied for the first time in the present work. The single elements of the complements are metacentric or only lightly heterobrachial; the mean chiasma frequency and the chiasma distribution ascertained on metaphase I spermatocyte bivalents are seen to be the same when comparing different populations of the same species or closely related species or even species which are divided from each other by considerable taxonomic differences.

Chromosome evidence for systematics and phylogeny may be brought forward by studies on lampbrush chromosomes whose occurrence has been noticed in prophase oocytes I of a number of mollusks.

#### INTRODUZIONE

In due Note apparse di recente, Patterson (1969) e Natarajan (1970) hanno raccolto i dati delle ricerche kariologiche fino ad allora eseguite sui Molluschi Opisthobranchi: tenendo presente che questo gruppo è rappresentato da un alto numero di specie, le informazioni sui corredi cromosomici attualmente disponibili si debbono considerare piuttosto limitate, forse anche a causa della difficoltà nel reperire e nel classificare il materiale. Dai lavori citati si rileva inoltre che i numeri cromosomici aploidi nei sette ordini di Opisthobranchi studiati sono compresi tra 12 di *Pleurobranchaea novaezealandica* e *P. meckeli* (Inaba, 1959; Mancino e Sordi, 1965 *a*) e 18 di *Cryptophthalmus olivaceus* (Natarajan, 1970). L'unico numero del tutto particolare continua ad essere quello del sacoglossa *Bosellia mimetica* che presenta  $n = 7$ ,  $2n = 14$  (Mancino e Sordi, 1964 *a*, 1965 *b*). Di questa specie Burch e Natarajan (1967) hanno scritto: «... *Bosellia mimetica* is either an extremely aberrant species, or its cytological evolution has been much more rapid than has been the evolution of its gross morphology in respect to all other Opisthobranchs so far studied».

Perchè i risultati delle indagini kariologiche possano apportare qualche contributo ai problemi ancora aperti della sistematica e della filogenesi, appare

(\*) Ricerca eseguita presso il Laboratorio della Marine Biological Association of the U.K. di Plymouth (con una sovvenzione della Royal Society di Londra) e presso il Laboratorio del Centro Interuniversitario di Biologia Marina di Livorno (con un contributo del C.N.R. di Roma).

(\*\*) Pervenuta all'Accademia il 28 settembre 1971.

auspicabile estendere le ricerche al più alto numero possibile di specie, specialmente a quelle considerate più primitive e a quelle « incertae sedis » (Pruvot-Fol, 1954), cioè di difficile collocazione tassonomica, come è appunto il caso di *Bosellia mimetica*. Dal momento che i dati cariologici finora disponibili si riferivano, in gran parte, a specie del Giappone e dell'Italia e, in numero minore, a specie delle Isole Marshall, degli U.S.A. e dell'India, è apparso interessante considerare anche Opistobranchi di altri mari, a cominciare da quelli delle coste britanniche, la cui ricca fauna malacologica è già stata oggetto di svariati lavori tassonomici, tra i quali è tuttora di notevole interesse la monografia di Alder e Hancock (1845-55). Nella presente Nota vengono illustrati i dati cariologici ottenuti che hanno tra l'altro reso possibile una stretta comparazione citotassonomica non solo tra specie sistematicamente affini ma anche tra esemplari italiani ed inglesi di una stessa specie di Cefalaspidei e di Nudibranchi. Vengono anche riferiti alcuni reperti relativi alla presenza di *lampbrush chromosomes* e di organiti endonucleari (nucleoli e sfere) nella vescicola germinativa di ovociti I ovarici: lo studio approfondito di tali cromosomi giganti potrebbe rivelarsi particolarmente utile per verificare l'effettivo grado di parentela genetica esistente tra specie considerate sistematicamente affini e per più sicure deduzioni di ordine filogenetico.

#### MATERIALE E TECNICA

Gli Opistobranchi studiati appartengono agli ordini Cephalaspidea e Nudibranchia (Tabella I); le caratteristiche morfologiche delle specie corrispondono alle descrizioni riportate in vari lavori sistematici e in particolare in Pruvot-Fol (1954); i luoghi di raccolta sono il litorale tirrenico da Viareggio a Livorno (Italia), e le coste di Plymouth (Inghilterra).

I preparati di meiosi sono stati allestiti per schiacciamento di frammenti di gonade fissate in Carnoy e successivamente colorate in aceto-orceina. Le osservazioni relative alla presenza di *lampbrush chromosomes* e di organiti endonucleari sono state invece compiute, in parte su preparati fissati, in parte su piccoli frammenti di gonade finemente dissociati con aghi di tungsteno: in questo caso singoli ovociti, isolati in speciali camere di osservazione contenenti liquido celomico o un medium derivato da una soluzione 0,1 M KCl/NaCl (5 : 1) +  $10^{-4}$  M  $\text{CaCl}_2$ , sono stati studiati con l'aiuto di un microscopio invertito al contrasto di fase C. Zeiss sec. Utermoehl o di un microscopio al contrasto di fase Reichert.

#### RISULTATI E DISCUSSIONE

I risultati cariologici sono schematicamente riportati nelle Tabelle II e III, da cui si può rilevare innanzi tutto come nessun nuovo numero cromosomico sia stato reperito. Risultano cioè confermati  $n = 17$ ,  $2n = 34$  per la famiglia Philinidae tra i Cefalaspidei e  $n = 13$ ,  $2n = 26$  che continua ad essere comune a tutte le famiglie di Nudibranchi finora studiate (Tabella IV).

TABELLA I.  
*Opisthobranchi studiati cariologicamente nel presente lavoro.*

ORDINE	SPECIE	LOCALITÀ	N. di esemplari
<i>Cephalaspidea</i>			
Scaphandridae	<i>Scaphander lignarius</i> (L.), 1788	Inghilterra	8
Philinidae	<i>Philine quadripartita</i> Ascanius, 1772	Italia e Inghilterra	4 e 7
<i>Nudibranchia</i>			
Dorididae	<i>Archidoris tuberculata</i> Cuvier, 1804	Italia e Inghilterra	1 e 3
Glossodorididae	<i>Glossodoris tricolor</i> Cantraine, 1841	Italia	2
Kentrodorididae	<i>Jorunna tomentosa</i> (Cuvier), 1804	Inghilterra	1
Lamellidorididae	<i>Lamellidoris bilamellata</i> L. 1761	Inghilterra	3
Goniodorididae	<i>Goniodoris nodosa</i> (Montagu), 1808	Inghilterra	5
Arminidae	<i>Armina lovéni</i> (Bergh), 1867	Inghilterra	3
Tritoniidae	<i>Tritonia manicata</i> Deshayes, 1839/53	Italia	2
Dendronotidae	<i>Dendronotus frondosus</i> Amphitrite (Ascanius), 1774	Inghilterra	11
Cuthonidae	<i>Trinchesia coerulea</i> (Montagu), 1804	Inghilterra	6
	<i>Catriona aurantia</i> Winckworth	Inghilterra	4
Facelinidae	<i>Facelina drummondi</i> (Thompson), 1843	Inghilterra	2
Aeolidiidae	<i>Aeolidia papillosa</i> (L.) 1761	Inghilterra	10

Nel primo ordine, il confronto tra le figure cromosomiche di esemplari di *Philine quadripartita* raccolti a Viareggio e a Plymouth ha messo in evidenza identità non solo del numero cromosomico ma anche della morfologia dei bivalenti di spermatociti I metafasici: in quasi tutte le cellule, infatti, due bivalenti spiccano per le loro maggiori dimensioni e appaiono conformati per lo più ad anello ampio oppure a 8, ma sempre con due chiasmi terminali; gli altri 15 bivalenti sono di dimensioni gradualmente decrescenti e presentano due chiasmi terminali, ma la forma ad anello è quasi sempre mascherata dalla loro compattezza (fig. 1 a e b). L'analisi di alcune piastre spermatogoniali di un esemplare di *Philine quadripartita* di Plymouth ha confermato l'assenza di veri acrocentrici, già prospettata per *Aglaja depicta* e *A. tricolorata* (Mancino e Sordi, 1965a). Non è stato invece possibile stabilire il numero cromosomico di *Scaphander lignarius*, dato che negli esemplari disponibili il testicolo non si presentava in sufficiente attività spermatogenetica.

TABELLA II.

*Dati cariologici relativi ad Opistobranchi delle coste britanniche.*

SPECIE	Numero cromosomico diploide	Numero cromosomico aploide	Presenza di <i>lampbrush chromosomes</i> in ♀ (I)	Numero dei nucleoli in ♀ (I)	Numero di sfere in ♀ (I)
<i>Scaphander lignarius</i>			<i>loops</i> ben sviluppati	1 o 2	1
<i>Philine quadripartita</i>	34 s	17 ♂ (I)		1	1
<i>Archidoris tuberculata</i>		13 ♂ (I)			
<i>Jorunna tomentosa</i>		13 ♂ (I)			
<i>Goniodoris nodosa</i>		13 ♂ (I)			
<i>Armina lovèni</i>		13 ♂ (I)	<i>loops</i> ben sviluppati	1 o 2	1
<i>Dendronotus frondosus</i>		13 ♂ (I)			
<i>Trinchesia coerulea</i>		13 ♂ (I)	<i>loops</i> ben sviluppati	1	1
<i>Catriona aurantia</i>		13 ♂ (I)	<i>loops</i> ben sviluppati	1	1
<i>Facelina drummondi</i>		13 ♂ (I)			
<i>Aeolidia papillosa</i>	26 s	13 ♂ (I)			
<i>Lamellidoris bilamellata</i>		13 ♂ (I)			

s = spermatogoni.

♂ (I) = spermatociti I metafasici.

♀ (I) = ovociti I profasici.

TABELLA III.

*Dati cariologici relativi ad Opistobranchi delle coste tirreniche.*

SPECIE	Numero cromosomico diploide	Numero cromosomico aploide	Presenza di <i>lampbrush chromosomes</i> in ♀ (I)	Numero dei nucleoli in ♀ (I)	Numero di sfere in ♀ (I)
<i>Philine quadripartita</i>	34 s	17 ♂ (I)	<i>loops</i> normali	1	1
<i>Archidoris tuberculata</i>		13 ♂ (I)			
<i>Glossodoris tricolor</i>		13 ♂ (I)			
<i>Tritonia manicata</i>		13 ♂ (I)			

s = spermatogoni.

♂ (I) = spermatociti I metafasici.

♀ (I) = ovociti I profasici.

TABELLA IV.

*Numeri cromosomici attualmente conosciuti per Molluschi Opistobranchi* (\*).

ORDINI	Numero cromosomico aploide	Località di raccolta
<i>Notaspidea:</i>		
Pleurobranchidae . . . .	12, 13	Giappone, Italia, India.
<i>Nudibranchia:</i>		
19 famiglie . . . . .	13	Giappone, Italia, Isole Marshall, India, Inghilterra.
<i>Entomotaeniata:</i>		
Pyramidellidae . . . . .	17	Giappone.
<i>Anaspidea:</i>		
Aplysiidae . . . . .	17	Giappone, Isole Marshall, India.
<i>Cephalaspidea:</i>		
Hydatinidae . . . . .	15	India.
Acteonidae . . . . .	17	Giappone.
Philinidae	17	Giappone, Italia, Inghilterra.
Aglajidae . . . . .	17	Giappone, Italia.
Atyidae . . . . .	17	Isole Marshall, India.
Smaragdinellidae . . . .	18	Isole Marshall, India.
<i>Sacoglossa:</i>		
Elysiidae . . . . .	17	Giappone, Italia.
Stiligeridae . . . . .	17	Giappone, Italia.
Juliidae . . . . .	17	Giappone.
Polybranchiidae . . . . .	7, 17	Italia.
<i>Soleolifera:</i>		
2 famiglie . . . . .	16, 18	Isole Marshall, Giappone, U.S.A., India.

(\*) Per più ampi riferimenti bibliografici cfr. Natarajan (1970).

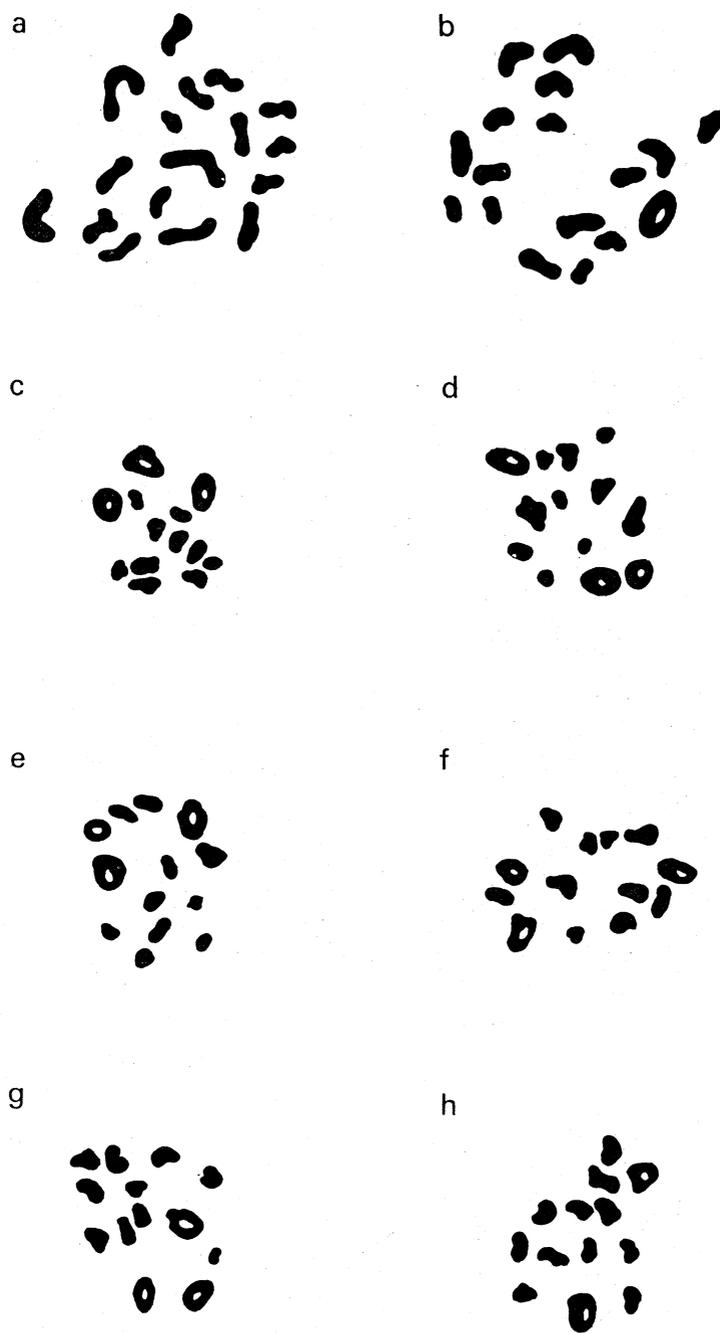


Fig. 1. - *a-b*: Spermatociti I metafasici di esemplari di Plymouth (*a*) e di Viareggio (*b*) di *Philine quadripartita*; *c-d*: Spermatociti I metafasici di esemplari di Plymouth (*c*) e di Livorno (*d*) di *Archidoris tuberculata*; *e-h*: Spermatociti I metafasici di *Jorunna tomentosa* (*e*), di *Lamellidoris bilamellata* (*f*), di *Goniodoris castanea* (*g*) e di *Armina loveni* (*h*).



Fig. 2 a-g. - Spermatociti I metafasi di *Tritonia manicata* (a), di *Dendro-notus frondosus* (b), di *Trinchesia coerulea* (c), di *Catriona aurantia* (d), di *Facelina drummondi* (e), di *Aeolidia papillosa* (f) e di *Glossodoris tricolor* (g).

Osservazioni simili a quelle compiute sui Cefalaspidei sono quelle relative ai Nudibranchi che, al momento attuale, risultano gli Opisthobranchi più studiati: le presenti ricerche hanno confermato il numero cromosomico  $n = 13$  anche per rappresentanti di altre tre famiglie studiate per la prima volta cario logicamente (Kentrodorididae, Tritonidae e Dendronotidae) (figg. 1 c-h e 2). Nell'ordine Nudibranchia si ha quindi una grande uniformità dei corredi cromosomici, benchè le differenze sistematiche tra famiglie ed anche tra specie appartenenti ad una stessa famiglia siano in genere molto profonde. È stato infatti confermato che il corredo è ovunque costituito da cromosomi meta-centrici o solo leggermente eterobrachiali (Mancino e Sordi, 1964 b; Inaba

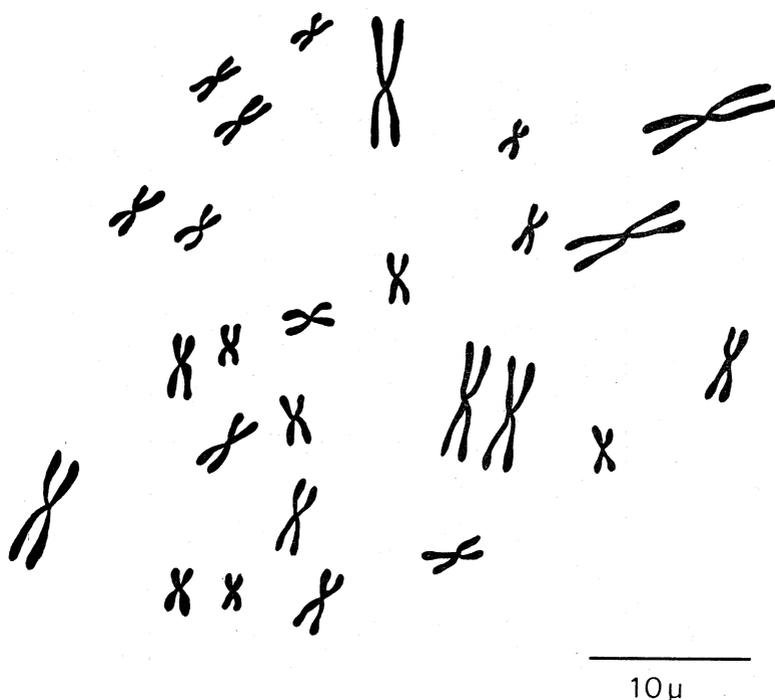


Fig. 3. - I 26 cromosomi mitotici di uno spermatogonio di *Aeolidia papillosa*.

e Saiki, 1967) (fig. 3). Alla metafase I è sempre possibile distinguere i due o i tre bivalenti più grandi, ad ampio anello, dai rimanenti bivalenti che, pur presentando due chiasmi, appaiono più compatti e leggermente allungati. Queste figure, comparate con quelle riportate da Mancino e Sordi (1964 c, 1965 a), non rivelano alcuna differenza a livello cromosomico (numero e morfologia dei bivalenti; frequenza e distribuzione dei chiasmi) tra gruppi di individui della stessa specie raccolti a Livorno e a Plymouth (come ad esempio nell'ambito di *Archidoris tuberculata*, di *Trinchesia coerulea* e *Catriona aurantia* (= *Trinchesia aurantia*), o tra specie sistematicamente affini (come ad esempio tra *Armina tigrina* e *A. lovèni*; e tra *Facelina rubrovittata* e *F. drummondi*). Al termine di questo studio le specie di Nudibranchi europei studiate cromosomicamente sono salite a 26 (Tabella V).

TABELLA V.

*Numeri cromosomici di Nudibranchi europei finora conosciuti.*

SPECIE	2n	n	LOCALITÀ	AUTORI
<i>Glossodoris gracilis</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1965 a)
<i>Glossodoris tricolor</i>		13 ♂ (I)	Livorno	presente lavoro
<i>Doris verrucosa</i>	26 s, o, m	13 ♂, ♀ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1964 b)
<i>Anisodoris stellifera</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1965 a)
<i>Caloplocamus ramosus</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1965 a)
<i>Polycera quadrilineata</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1965 a)
<i>Aegirus leuckarti</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1965 a)
<i>Lamellidoris bilamellata</i>		13 ♂ (I)	Plymouth	presente lavoro
<i>Goniodoris castanea</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1965 a)
<i>Goniodoris nodosa</i>		13 ♂ (I)	Plymouth	presente lavoro
<i>Trapania fusca</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1965 a)
<i>Trapania</i> sp.	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1964 c)
<i>Armina tigrina</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1965 a)
<i>Armina lovéni</i>		13 ♂ (I)	Plymouth	presente lavoro
<i>Hervia peregrina</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1964 c)
<i>Trinchesia coerulea</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno e Plymouth	Mancino e Sordi (1965 a e presente lavoro)
<i>Catriona aurantia</i> (= <i>Trinchesia aurantia</i> )	26 s	13 ♂ (I)	Livorno e Plymouth	Mancino e Sordi (1965 a e presente lavoro)
<i>Caloria maculata</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1964 c)
<i>Facelina rubrovittata</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1965 a)
<i>Facelina drummondi</i>		13 ♂ (I)	Plymouth	presente lavoro
<i>Spurilla neapolitana</i>	26 s	13 ♂ (I)	Livorno	Mancino e Sordi (1965 a)
<i>Archidoris tuberculata</i>		13 ♂ (I)	Plymouth	presente lavoro
<i>Jorunna tomentosa</i>		13 ♂ (I)	Plymouth	presente lavoro
<i>Tritonia manicata</i>		13 ♂ (I)	Livorno	presente lavoro
<i>Dendronotus frondosus</i>		13 ♂ (I)	Plymouth	presente lavoro
<i>Aeolidia papillosa</i>	26 s	13 ♂ (I)	Plymouth	presente lavoro

s = spermatogoni.

♂ (I) = spermatociti I metafasici.

♀ (I) = ovociti I metafasici.

La presenza di *lampbrush chromosomes* è stata notata negli ovociti I ovarici di Cefalaspidei, di Sacoglossi e di Nudibranchi e precisamente in un esemplare di *Scaphander lignarius* ricco di uova in accrescimento, in *Bosellia mimetica*, in *Armina lovèni*, in *Trinchesia coerulea* e in *Catriona aurantia*: questi cromosomi appaiono despiralizzati con un'evidente sequenza di cromomeri su cui si inseriscono *loops* laterali ben sviluppati (fig. 4); anche in altre specie (esempio *Philine quadripartita*) sono stati notati cromosomi *lampbrush* con evidenti addensamenti cromosomici, ma i *loops* apparivano più contratti. Ogni ovocita contiene un unico grosso nucleolo o talora due nucleoli più piccoli; è presente anche almeno un altro organita endonucleare tondeggiante,

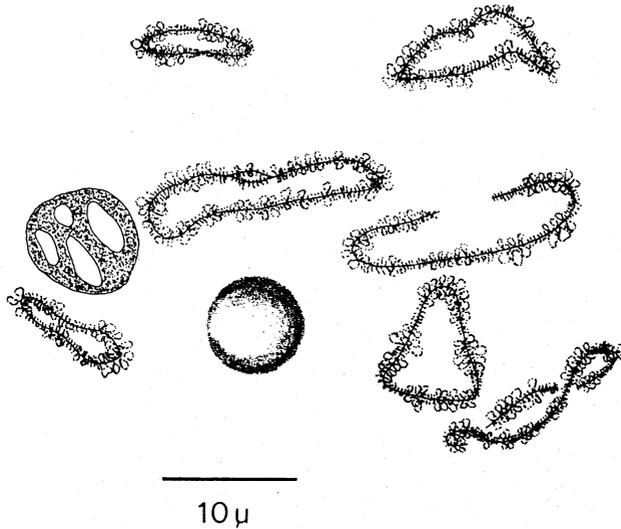


Fig. 4. - Disegno alla camera lucida dei 7 bivalenti profasici di un ovocita ovarico di *Bosellia mimetica*: sono chiaramente visibili i *loops* inseriti sui cromomeri, il nucleo di aspetto vacuolato e la sfera apparentemente omogenea.

di dimensioni inferiori a quelle del nucleolo, omogeneo e scuro al contrasto di di fase che si può ritenere simile alle sfere note soprattutto per altri gruppi animali, quali gli Anfibi (cfr. Barsacchi, Bussotti e Mancino, 1970) e rilevate anche negli ovociti di Cefalopodi (Ribbert e Kunz, 1969). Inoltre il nucleoplasma contiene diversi altri piccoli oggetti riportabili a globuli. Tenendo anche presente gli studi di Callan (1957) e di Ribbert e Kunz (1969) su *Sepia officinalis* e la segnalazione di Davidson (1969) riguardante *Ilyanassa obsoleti* ed altri Gasteropodi, l'utilizzazione dei *lampbrush chromosomes* dei Molluschi appare possibile anche in ricerche citotassonomiche: ciò potrebbe contribuire sensibilmente al chiarimento di problemi ancora insoluti riguardanti la filogenesi e l'evoluzione cariologica del gruppo.

## BIBLIOGRAFIA

- ALDER O. F. e HANCOCK A., «Monogr. Brit. Nudibr. Moll.», 1 (1845-55).
- BARSACCHI G., BUSSOTTI L. e MANCINO G., *The maps of the lampbrush chromosomes of Triturus (Amphibia Urodela)*. IV. *Triturus vulgaris meridionalis*, «Chromosoma» (Berl.), 31, 255-279 (1970).
- BURCH J. B. e NATARAJAN R., *Chromosomes of some opisthobranchiate molluscs from Eniwetok Atoll, Western Pacific*, «Pacific Sci.», 21, 252-259 (1967).
- CALLAN H. G., *The lampbrush chromosomes of Sepia officinalis L., Anilocra physodes L. and Scyllium catulus Cuv. and their structural relationship to the lampbrush chromosomes of Amphibia*, «Pubbl. Staz. zool. Napoli», 29, 329-346 (1957).
- DAVIDSON E. H., *Gene activity in early development*, «Academic Press, New York, London» (1969).
- INABA A., *Cytological studies in molluscs. III. A chromosome survey in the opisthobranchiate gastropoda*, «Annot. Zool. Jap.», 32, 81-88 (1959).
- INABA A. e SAIKI Y., *A chromosome survey in sixteen species of Nudibranchs*, «Venus», 26, 8-15 (1967).
- MANCINO G. e SORDI M., *Il corredo cromosomico di Nudibranchi ed Ascoglossi (Gasteropodi Opistobranchi) del Mar Tirreno*, «Rend. Acc. Naz. Lincei, Cl. Sci. fis. mat. nat.», ser. 8, 37, 496-500 (1964 a).
- MANCINO G. e SORDI M., *Ricerche cariologiche in Doris verrucosa (Gasteropodi, Opistobranchi) del litorale livornese*, «Atti Soc. tosc. Sci. nat.», ser. B, 71, 3-14 (1964 b).
- MANCINO G. e SORDI M., *Il corredo cromosomico di alcuni Opistobranchi sacoglossi del Mar Tirreno*, «Atti Soc. tosc. Sci. nat.», ser. B, 71, 3-12 (1964 c).
- MANCINO G. e SORDI M., *Nuovo contributo alla conoscenza della cariologia dei Gasteropodi Opistobranchi*, «Arch. zool. ital.», 50, 73-87 (1965 a).
- MANCINO G. e SORDI M., *Conferma del numero cromosomico di Bosellia mimetica (Gasteropodi Opistobranchi)*, «Atti Soc. tosc. Sci. nat.», ser. B, 72, 103-105 (1965 b).
- NATARAJAN R., *Cytological studies of Indian molluscs: chromosomes of some opisthobranchs from Porto Novo, South India*, «Malacol. Rev.», 3, 19-23 (1970).
- PATTERSON C. M., *Chromosomes of molluscs*, «Proc. Symp. Moll., Mar. Biol. Assoc. India», Part 2, 635-686 (1969).
- PRUVOT-FOL A., *Mollusches Opisthobranchen*, in: «Faune de France», 58 (1954).
- RIBBERT D. und KUNZ W., *Lampenbürstchenchromosomen in den Oocytenkernen von Sepia officinalis*, «Chromosoma» (Berl.), 28, 93-106 (1969).