

Türkiye mikotası için yeni kayıtlar (Basidiomycota-Agaricales)

Ertuğrul SESLİ^{1*}, Serkan ÖRTÜCÜ², Eralp AYTAÇ³

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fatih Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Söğütlü, Trabzon, Türkiye

²Erzurum Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Erzurum, Türkiye

³Atakent Mahallesi, 1. Etap Mesa Blokları, A4 D:15, 34307, Küçükçekmece, İstanbul, Türkiye

*Sorumlu yazar / Correspondence: ertugrulsesli@yahoo.com

Geliş/Received: 06.02.2018 • Kabul/Accepted: 25.03.2018 • Yayın/Published Online: 26.04.2018

Özet: *Gymnopus luxurians* (Peck) Murrill, *Hebeloma avellaneum* Kauffman, *Ossicaulis lachnopus* (Fr.) Contu ve *Tricholoma umbonatum* Clémençon & Bon Türkiye'de ilk kez saptanmıştır. Yeni kayıtlar betim, arazi ve mikroskopik resimler ve kısa bir tartışma ile birlikte verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Agaricales, Basidiomycota, İstanbul, Trabzon, yeni kayıt

New records for the Turkish mycota (Basidiomycota-Agaricales)

Abstract: *Gymnopus luxurians* (Peck) Murrill, *Hebeloma avellaneum* Kauffman, *Ossicaulis lachnopus* (Fr.) Contu and *Tricholoma umbonatum* Clémençon & Bon were determined for the first time from Turkey. The new records are provided with field and microscopic images, descriptions and a brief discussion.

Key words: Agaricales, Basidiomycota, İstanbul, new record, Trabzon

GİRİŞ

Bu çalışmada teşhis edilmiş olan şapkalı mantarlar sistematik olarak farklı familyalarda yer almaktadır. *Gymnopus* (Pers.) Gray (Omphalotaceae) konusunda Wilson, Desjardin vd. (2004); Wilson ve Desjardin (2005); Mata, Hughes vd. (2006); Antonín ve Noordeloos (2010); Petersen ve Hughes (2014) tarafından önemli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. *Gymnopus* cinsi Türkiye'de yaklaşık 20 türle temsil edilmektedir (Sesli ve Denchev, 2014). Bu cinse ait olan *G. trabzonensis* Vizzini, Antonín, E.Sesli ve Contu daha önceki bir çalışmada Trabzon'da tespit edilerek tanımlanmıştır (Vizzini, Antonín vd., 2015). *Hebeloma* (Fr.) P.Kumm. (Hymenogastraceae) *Gymnopus*'tan daha büyük bir cins olup ülkemizde otuzdan fazla türle yayılış göstermektedir (Sesli ve Denchev, 2014). Cins üyeleri turpa benzeyen, tatlımsı, bazen de itici kokuları; kil rengi veya kahverengi spor izleri; elipsoit, badem veya limon şeklindeki spor yapıları; şişe veya topuz şeklindeki tipik şilosistitleri ile diğer gruplardan kolayca ayırt edilebilirler (Knudsen ve Vesterholt, 2008). Yeni kayıt olan cinsle ilgili önemli bir çalışma Vesterholt (2005), bir diğeri ise Eberhardt, Ronikier vd. (2015) tarafından gerçekleştirilmiştir. *Ossicaulis* Redhead & Ginns (Lyophyllaceae) çok küçük bir cins olup Dünya üzerinde üç türle (Robert, Vu vd., 2018), ülkemizde ise bu çalışmadan önce sadece bir türle temsil edilmektedir (Demirel, Uzun vd., 2015). *O. lachnopus* Contu (2007) tarafından isimlendirilmiş, daha sonra Holec ve Kolařík (2012) tarafından hem moleküler ve hem de morfolojik yöntemlerle ayrıntılı olarak çalışılmıştır. Bize göre en ilginç yönü bazidiyosporlarının bakteriler kadar küçük olmasıdır. *Tricholoma* (Fr.) Staude (Tricholomataceae) oldukça büyük bir cins olup Dünya üzerinde binden fazla (Robert, Vu vd., 2018), ülkemizde ise elliden fazla türle temsil edilmektedir (Sesli ve Denchev, 2014). *T. anatolicum* H.H.Doğan & Intini türü, Intini, Doğan vd. (2004) tarafından; *T. virgatum* var. *fulvoumbonatum* E.Sesli, Contu & Vizzini ise Vizzini, Antonín vd. (2015) tarafından tanımlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada saptanan yeni kayıtlar hem morfolojik ve hem de moleküler yöntemlere göre teşhis edilmiştir. Arazi çalışmalarında bazidiyokarpların boyutları, rengi ve mikorizal ilişkileri not edilmiştir. Farklı gelişim aşamalarındaki örnekler toplanıp laboratuvara getirilmiş, bir tanesi saptan ayrılarak beyaz bir kâğıt üzerine konulup birkaç saat beklenerek spor izi elde edilmiş ve diğerleri elektrikli ısıtıcı yardımı ile kurutulup fungaryum materyali haline getirilmiştir. Mikroskopik çalışmalar kurutulmuş örneklerden numune alınarak Öztürk, Kaşık vd. (2003),

Clémençon (2009), Türkekul (2015), Topcu Sesli ve Sesli (2016), Akata ve Sesli (2017) ve Keleş, Polat vd. (2017)'nin kullandığı yöntemlere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Şapka, lamel ve saptan stereo mikroskop altında alınan ince kesitler lam üzerine konulmuş, %10'luk amonyak çözeltisi ile işlemden sonra Kongo kırmızısı ile boyanmıştır. Bazidiyum, bazidiyospor, şilosistit vs. diğer tüm yapılar Zeiss Axio Imager A2 araştırma mikroskobu ile görüntülenip, ilgili ölçüm programı ile analiz edilmiştir. Örneklerin moleküler karakterizasyonu 18S-ITS1-5.8SITS2-28S bölgesi hedeflenerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kuru materyaller yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra her bir bazidiyokarptan aseptik şartlarda alınan 100 mg taze numune, TissueLyser LT (QIAGEN) cihazı ile 10 dakika homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan UltraClean Microbial DNA Isolation Kit ile ilgili protokole göre genomik DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA'lar bütünlüğü ve saflığı açısından binde sekizlik agaroz jelde 75 V'da 60 dakika boyunca yürütülerek doğrulanmıştır. Daha sonra ITS bölgesini hedefleyen ITS1 (5'TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG 3') ve ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White, Bruns vd., 1990) primerleri kullanılarak çoğaltım yapılmıştır. Bu amaçla, her iki primerden 2 µl, 5 µl 10x Taq buffer ve 2.5 U (0.5 µl) Taq DNA polimeraz, 2 µl dNTP, 3 µl magnezyum klorür, 4.5 µl kalıp DNA ve 31 µl stereril dH₂O ile son hacim 50 µl olacak şekilde tamamlanmıştır. PZR döngüsü; başlangıç denatürasyonu için 95°C'de 2 dakika, denatürasyon için 94°C'de 1 dakika, bağlanma safhası için 55°C'de 2 dk, uzama için 72°C de 3 dakika 35 döngü olarak ve son uzama ise 72°C'de 10 dakika olarak programlanmıştır. PZR ürünleri %1'lik agaroz jelde kontrol edilmiştir. Pozitif PZR ürünleri pGEM-T easy vector system (Promega) kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokole göre pGEM-T vektöre klonlanmıştır. Ardından klonlama ürünlerinin CaCl₂ ile yetkin hale getirilmiş *Escherichia coli* JM101 (supE thi-1 Δ(lac-proAB) [F' traD36 proAB lacIq ZΔM15]) suşuna ısı şoku uygulaması ile transformasyonu gerçekleştirilmiştir. Dönüşümü sağlanan bakteriler X-Gal ve ampisilin içeren katı LB (Luria Bertani) besiyerlerine inoküle edilerek 37 °C inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda her bir örnek için üç adet beyaz koloni seçilerek sıvı LB besiyerinde üretilmiş ve Wizard® Plus SV Minipreps DNA saflaştırma sistemi (Promega) kullanılarak ilgili protokole göre plazmit izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Daha sonra ticari bir firma aracılığıyla T7 (5'-TAATACGACTCACTATAGGG3') ve SP6 (5'-TATTTAGGTGACACTATAG-3') primerleri kullanılarak plazmitlerin çift yönlü DNA dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sekans verileri BioEdit programında birleştirilerek, BLASTN 2.2.26+ (Zhang, Schwartz vd., 2000) programı yardımı ile GenBank'taki (www.ncbi.nlm.nih.gov) sekanslarla karşılaştırılıp mevcut taksonlarla benzerlik oranları saptanmıştır.

BULGULAR

Omphalotaceae / Ağulumentargiller

Gymnopus / Çırpıbacak

G. luxurians (Peck) Murrill, N. Amer. Fl. 9(5): 362 (1916). / *Lükşçırpıbacak* (Şekil 1)

Betim: Şapka 25–100 mm, konveks, olgunlaşınca daha düz, kenarları pileli, genellikle aşağıya, bazen de yukarıya kıvrık, belirgin olarak tepe çıkıntılıdır. Etili kısmı incedir. Üzeri kırmızımsı kahverengi olup kurumaya bağlı olarak zamanla daha koyu olur. Merkezden kenara doğru daha açık renkli olup hava koşullarına bağlı olarak bazen solgun bir görünüm kazanabilir. Şapka zarı iki tabakalı ve silindirik hücrelerden oluşmuştur. Lameller serbest veya hafifçe sapa bitişik, sık, geniş, başlangıçta beyaz, zamanla pembemsi beyazdır. Sap 40-80 × 3-10 mm, silindirik, az veya çok burulmuş, tabana yakın daha kalın, uç kısımda oldukça incedir. Soluk kırmızımsı kahverengi olup üzeri beyazımsı tozlu görünümündedir. Genellikle birkaç tanesi taban kısmından birbirine bitişiktir. Bazidiyumlar çomak şeklinde, 22–28 × 6–9 µm ve 4 sporludur. Sistidyumlar düzensiz görünümündedir. Bazidiyosporları elipsoit veya hemen hemen silindirik, şeffaf, uç çıkıntıları uzun, yüzeyleri düzgün görünümde, ince çeperli, tanecikli, 7–10 × 3–5 µm'dir.

İncelenen örnekler: Türkiye, İstanbul, Sarıyer, Belgrad ormanı, Topuzlu Bendi göleti ile Valide Sultan Bendi göleti arasında kalan sırtlar, 41°11'31.89"K ve 28°59'46.36"D, 199 m, 10.08.2017 ve 26.08.2017, aynı konumda üçlü ve beşli buketler halinde, patika kenarında, E. Aytaç, Fatih Eğitim Fakültesi, Kişisel Fungaryumu 3848.

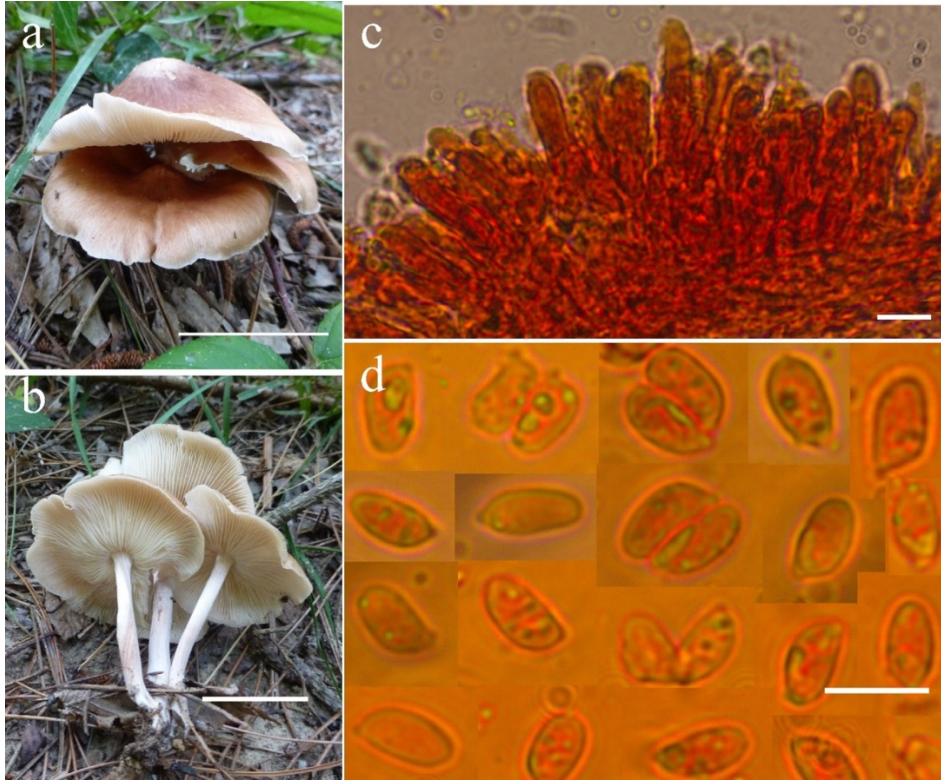
Hymenogastraceae / Zarkarıngiller

Hebeloma / Gençlikşapkası

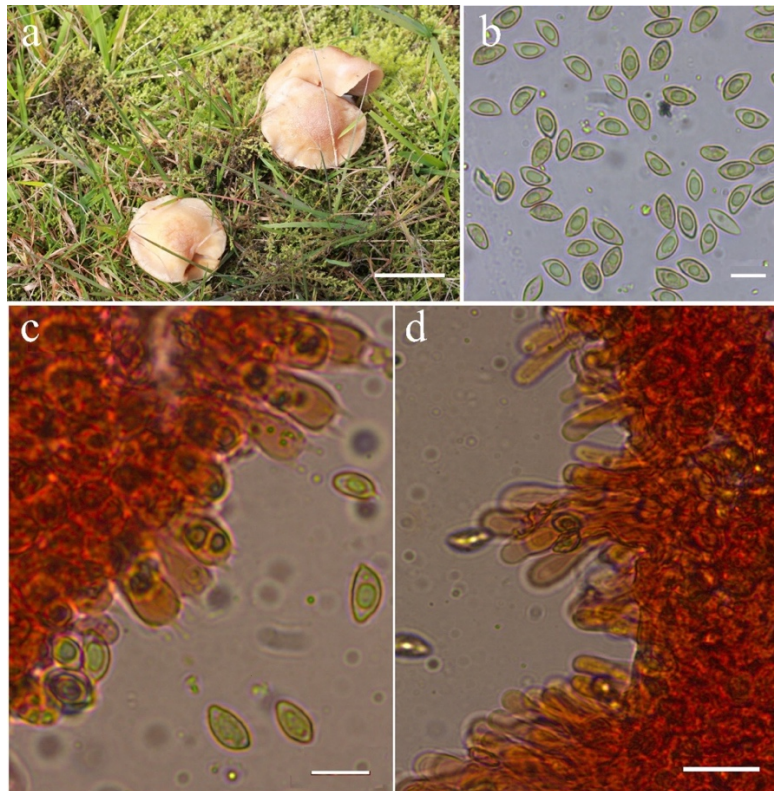
H. avellaneum Kauffman, Pap. Mich. Acad. Sci. 17: 171 (1933). *Yaygın gençlik şapkası* (Şekil 2)

Betim: Şapka 20 × 70 mm; konveks, oval çan şeklinde, yayvan tepe çıkıntılı, büyüme koşullarına göre değişebilen şekillerde; yapışkan; toprak rengi, pembemsi gri, soluk kırmızımsı kahverengi veya hafif kırmızımsı bej rengindedir. Lameller sık, geniş, şapka ile aynı veya daha açık renkli ve sapa çentikli bir biçimde bağlanmıştır. Sap 30-80 × 5-15 mm, silindirik, tabana doğru kalınlaşmış ve beyazımsı miselyumla kaplı, üzeri kar şeklinde yapılarla kaplanmış olup ezilince koyulaşma göze çarpar. Şapka ve sap derisi altındaki hifal yapılar beyaz, daha derinlerde soluk veya açık kahverengi, kokusu topraksıdır. Genellikle böcekler tarafından yaralanmış olup spor izi toprak rengi veya kahverengidir. Bazidiyumlar çomak şeklinde, 4 sporlu ve 25-35 × 7-8.5 µm'dir. Bazidiyosporlar 8.5-11.5 × 4-6 µm, sandal, iğ veya badem şeklindedir. Şilosistitler 35-60 × 6.5 - 9.5 µm ve dar çomak şeklindedir.

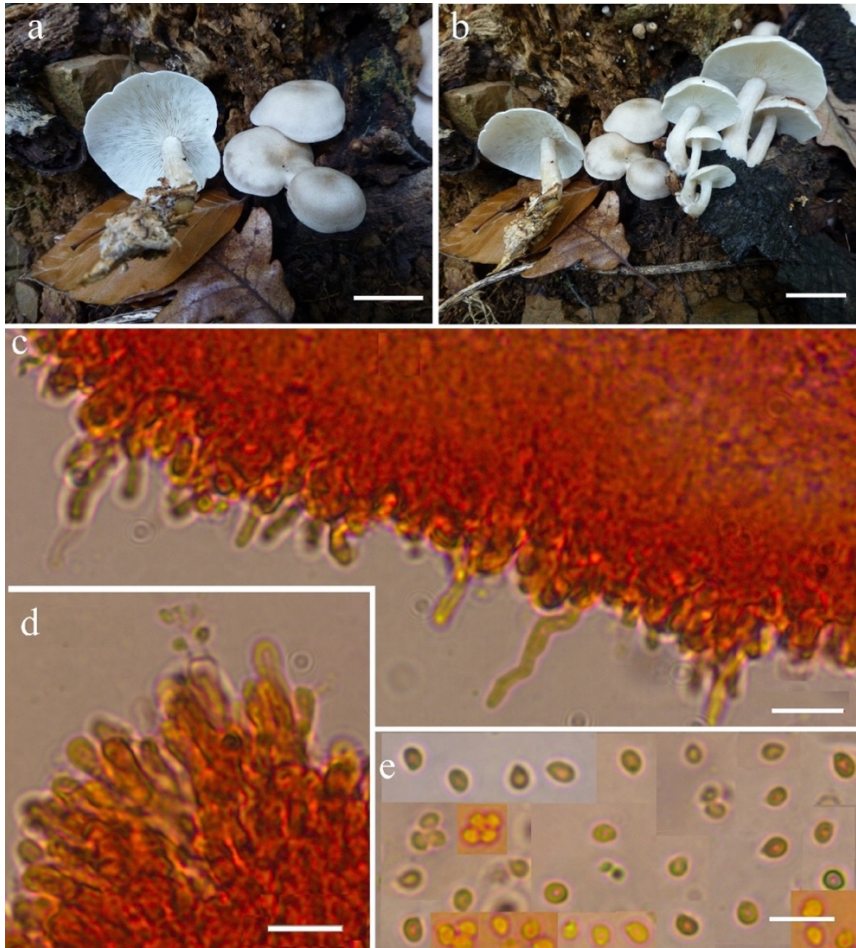
İncelenen örnekler: Türkiye, Trabzon, Akçaabat, Hıdırnebi, 40°56'52.28"K ve 39°25'14.85"D, 1466 m, 01.10.2016, ladin ormanında, E. Sesli, Fatih Eğitim Fakültesi, Kişisel Fungaryumu 3788.

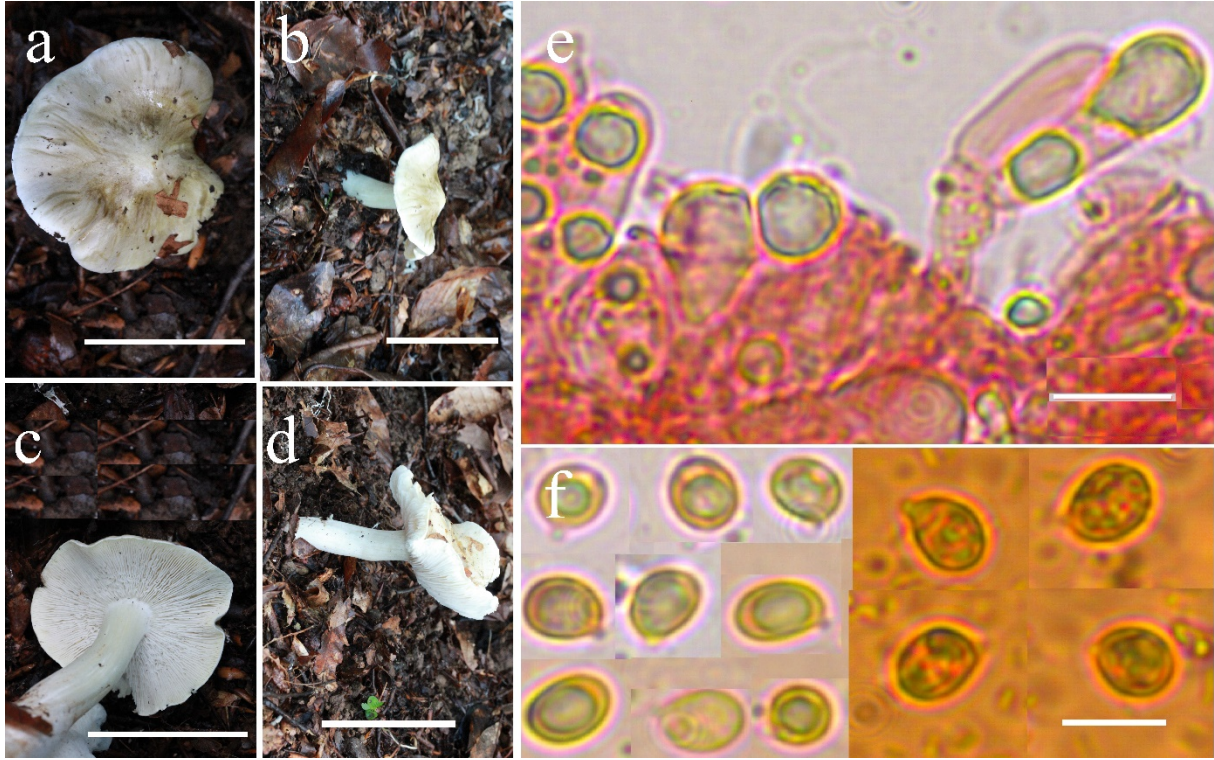


Şekil 1. *Gymnopus luxurians*: a–b. bazidiyokarplar, c. bazidiyumlar, d. bazidiyosporlar. Ölçek ubukları: a–b: 50 mm, c–d: 10 μ m (a ve b: E. Aytaç, c ve d: E. Sesli tarafından).



Şekil 2. *Hebeloma avellaneum*: a. bazidiyokarplar, b. bazidiyosporlar, c. bazidiyumlar, d. Şilosistitler. Ölçek ubukları: a: 50 mm, b ve c: 10 μ m, d: 20 μ m (a–d: E. Sesli tarafından).

Lyophyllaceae / Karadönekçiller***Ossicaulis / Sütperisi******O. lachnopus*** (Fr.) Contu, Micol. Veg. Medit. 22(1): 33 (2007). ***Gri sütperisi*** (Şekil 3)**Betim:** Şapka 40-110 mm; konveks, büyüme ortamına ve hava koşullarına bağlı olarak değişken şekillerde; kenarı bazen loblu veya pileli; rengi gri, beyazımsı gri, merkezde daha koyu; lamelleri beyaz; şapka oldukça incedir. Sap 50-100 mm × 5-20 mm, silindirik ve genellikle eğri, tabana doğru daha geniş, genellikle pamuk şeklinde miselyumla kaplanmıştır. Genellikle birkaç bazidiyokarp taban kısmında birbiri ile birleşmiştir. Bazidiyumlar 15-25 × 4-5 µm ve çomak şeklindedir. Spor izi beyaz, şapka derisi farklı biçimlerde hiflerden oluşmuş ve kancalar mevcuttur. Bazidiyosporlar çok küçük (2.5-3.5 × 1.7-2.7 µm), elipsoit ve şeffaftır.**İncelenen örnekler:** Türkiye, İstanbul, Sarıyer, Belgrad ormanı, II. Mahmut Bendi piknik alanı, 41°11'19.46"K ve 28°59'10.57"D, 166 m, 28.10.2017, ölü ağaç kütüğü üzerinde büyük gruplar halinde. E. Aytaç, Fatih Eğitim Fakültesi, Kişisel Fungaryumu 3855.**Tricholomataceae / Karakızmantarıgiller*****Tricholoma / Karakızmantarı******T. umbonatum*** Cléménçon & Bon, Docums Mycol. 14(56): 22 (1985). ***Memeli karakızmantarı*** (Şekil 4)**Betim:** Şapka 50-80 mm, çan şeklinde veya konveks, orta kalınlıkta, tatlı, nişasta kokulu, büyüme koşullarına bağlı olarak kenarı parçalı veya düzensiz şekillerde olabilir. Yüzeyi hafif yapışkan, büyük tepe çıkıntılı, beyazımsı, grimsi, soluk kahve veya yeşilimsi olup, ezilince koyulaşır. Olgunlaşınca kenarları yukarıya doğru kıvrık olur. Lamelleri beyaz, sapa dış yaparak bağlanmış, orta kalınlıkta ve kenarları dalgalıdır. Sap 40-75 mm, silindirik, genellikle eğri, tabana doğru genişlemiş, beyazımsı veya hafif soluk sarı, yüzeyi düz veya hafif tozlu görünümündedir. Bazidiyumları 20-28 × 6.5-8.5 mikrometredir. Bazidiyosporları 6-8 × 5-6 µm, elipsoit, şeffaf ve yüzeyleri düzdür. Genellikle sonbaharda, meşe ve kayın ormanlarındaki killi topraklarda seyrek olarak görülür.**İncelenen örnekler:** Türkiye, Trabzon, Maçka, Sevinç mahallesi, Kufel mevki, 40°52'29.95"K ve 39°36'26.81"D, 1292 m, 05.09.2016, kayın ormanında, E. Sesli, Fatih Eğitim Fakültesi, Kişisel Fungaryumu 3734.**Şekil 3.** *Ossicaulis lachnopus*: a-b. bazidiyokarplar, c. kenar hücreleri, d. bazidiyumlar, e. bazidiyosporlar. Ölçek çubukları: a ve b: 50 mm, c-e: 10 µm (a-b: E. Aytaç, c-e: E. Sesli tarafından).



Şekil 4. *Tricholoma umbonatum*: a-d. bazidiyokarplar, e. bazidiyumlar, f. bazidiyosporlar. Ölçek çubukları: a-d: 50 mm, e-f: 10 µm (a-f: E. Sesli tarafından).

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

DNA analizleri sonucu izolatlardan elde edilen gen dizileri GenBank'ta bulunan taksonlara ait sekanslarla karşılaştırılmış ve yüksek oranda benzerlik gösterdiği (%99-%100) saptanmıştır. Ayrıca morfolojik bulgular da küçük ekolojik farklar dışında, literatür bilgileri ile yüksek oranda uyumu göstermiştir. *O. lachnopus*' un bazidiyosporları $2.5-3.5 \times 1.7-2.7 \mu\text{m}$, *G. luxurians*'inkiler ise $7-10 \times 3-5 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüş ve literatürle yüksek oranda benzerlik göstermiştir (Contu, 2007; Knudsen ve Vesterholt, 2008; Antonín ve Noordeloos, 2010; Holec ve Kolařík, 2012; Petersen ve Hughes, 2014). *H. avellaneum*'un sistitleri literatürde $30-80 \times 5-8 \mu\text{m}$ (Eberhardt, Ronikier vd., 2015) olarak verilmekle birlikte tarafımızdan $35-60 \times 6.5 - 9.5 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Bu farkın yaşama ortamlarından kaynaklanabileceği ve türlerin teşhisinde herhangi bir sorun oluşturmadığı kanaatindeyiz. *T. umbonatum*'un hem makroskobik ve hem de mikroskobik özellikleri literatür bilgileri ile yüksek oranda uyumu göstermiştir (Knudsen ve Vesterholt, 2008). Çalışmada saptanan dört tür (*G. luxurians*, *H. avellaneum*, *O. lachnopus* ve *T. umbonatum*) Türkiye için yeni kayıttır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın arazi ve bir kısım laboratuvar çalışmalarının finansmanı Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince (BAP: FAT-2017-7044) sağlanmıştır. Moleküler çalışmalar Erzurum Teknik Üniversitesi Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (YUTAM) gerçekleştirilmiştir. Çalışma sırasında görüşlerine başvurduğumuz araştırmacılardan Dr. Marco Contu ve Dr. Henry J. Beker'e teşekkürü bir borç biliriz.

KAYNAK LİSTESİ

- Akata, I. ve Sesli, E. (2017). Four new records of Basidiomycota for the Turkish mycota from Trabzon and İstanbul Provinces. *Mantar Dergisi* 8(2): 168-177.
- Antonín, V. ve Noordeloos, M.E. (2010). *A monograph of marasmiod and collybioid fungi in Europe*. IHW-Verlag, Eching, 480 pp.
- Clémençon, H. (2009). *Methods for working with macrofungi*. IHW-Verlag, Berchtesgaden, 88 pp.
- Contu, M. (2007). Funghi della Sardegna: note e descrizioni. *Micol. Veget. Medit.* 22(1): 29-40.
- Demirel, K., Uzun, Y., Akçay, M.E., Keleş, A., Acar, İ. ve Efe, V. (2015). Van yöresi makromantarlarına katkılar. *Mantar Dergisi* 6(2): 13-23.
- Eberhardt, U., Ronikier, A., Schütz, N. ve Beker, H.J. (2015). The genus *Hebeloma* in the alpine belt of the Carpathians including two new species. *Mycologia* 107(6) 1285-1303.
- Holec, J. ve Kolařík, M. (2012). *Ossicaulis lachnopus* (Agaricales, Lyophyllaceae), a species similar to *O. lignatilis*, is verified by morphological and molecular methods. *Mycol Prog* 3: 589-597.
- Intini, M., Doğan, H.H. ve Riva, A. (2004). *Tricholoma anatolicum* spec. nov.: A new member of the Matsutake group. *Micol. Veget. Medit.* 18(2): 135-142.
- Knudsen, H. ve Vesterholt, J. (2008). *Funga Nordica: agaricoid, boletoid and cyphelloid genera*. Narayana Press, Copenhagen, 965 pp.
- Keleş, A., Polat, T. ve Demirel, K. (2017). Türkiye mikobiyotası için yeni bir kayıt (*Hygrocybe calciphila* Arnolds). *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 22 (2): 139-141.
- Mata, J.L., Hughes, K.W. ve Petersen, R.H. (2006). An investigation of /omphalotaceae (Fungi: Euagarics) with emphasis of the genus *Gymnopus*. *Sydowia* 58: 191-289.
- Öztürk, C., Kaşık, G., Doğan, H.H. ve Aktaş, S. (2003). Macrofungi of Alanya district. *Turk J Bot* 27: 303-312.
- Petersen, R.H. ve Hughes, K.W. (2014). New North American species of *Gymnopus*. *North American Fungi* 9: 1-22.
- Robert, V., Vu, D., Cock, A. ve Schoch, C. (eds.) (2018). The MycoBank: <http://www.mycobank.org> [er. tar.: 1. 02. 2018].
- Sesli, E. ve Denchev, C.M. (2014). Mycotaxon: <http://www.mycotaxon.com/resources/weblists.html> [er. tar.: 01. 02. 2018].
- Topcu Sesli, A. ve Sesli, E. (2016). *Psilocybe semilanceata* (Fries) Kumber (Strophariaceae): Türkiye için yeni bir halüsinojen mantar. *Bağbahçe Bilim Dergisi* 3(1): 34-40.
- Türkecul, İ. (2015). Canpolat yaylası (Tokat) makromantar florası. *Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi* 6 (2): 44-50.
- Vesterholt, J. (2005). *The genus Hebeloma. Fungi of Northern Europe*. Vol. 3. Tilsit: Svampetryk, 146 p.
- Vizzini, A., Antonín, V., Sesli, E. ve Contu, M. (2015). *Gymnopus trabzonensis* sp. nov. (Omphalotaceae) and *Tricholoma virgatum* var. *fulvoumbonatum* var. nov. (Tricholomataceae), two new white-spored agarics from Turkey. *Phytotaxa* 226: 119-130.
- Wilson, A.W. ve Desjardin, D.E. (2005). Phylogenetic relationships in the gymnopoid and marasmiod fungi (Basidiomycetes, euagaric clade). *Mycologia* 97 (3): 667-679.
- Wilson, A.W., Desjardin, D.E. ve Horak, E. (2004). Agaricales of Indonesia. 5. The genus *Gymnopus* from Java and Bali. *Sydowia* 56: 137-210.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. (1990). *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. Şu eserde: M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. ve White, T.J. (eds.) *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, New York.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L. ve Miller, W. (2000). A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J Compu Biol* 7: 203-214.