

**Atf İçin:** Çıtak BY, Şirin E, Ertuğrul K, 2021. *Isatis quadrialata* Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff (Brassicaceae)'nin anatomik, morfolojik ve mikromorfolojik özellikleri. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2518-2524, 2021.

**To Cite:** Çıtak BY, Şirin E, Ertuğrul K, 2021. Anatomical, morphological and micromorphological characteristics of *Isatis quadrialata* Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff (Brassicaceae). Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2518-2524.

### ***Isatis quadrialata* Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff (Brassicaceae)'nin anatomik, morfolojik ve mikromorfolojik özellikleri**

Burcu YILMAZ ÇITAK, Emrah ŞİRİN, Kuddisi ERTUĞRUL

**ÖZET:** Bu çalışmada *Isatis quadrialata*'nin ayrıntılı morfolojik ve anatomik özellikleri incelenmiş olup, meyve ve tohum mikromorfolojileri araştırılmıştır. Anatomik araştırmalarda, türün kök, gövde, yaprak ve meyve enine kesitleri alınmıştır. Kök enine kesitlerinde, epidermis dokusu koruyucu görev yapmaktadır. Gövdelerde, tek tabakalı epidermis hücreleri, korteks parankiması, iletim demetleri ve öz hücreleri yer almaktadır. Yapraklarda, iki tabakalı palizat parankiması ile sünger parankiması yer almakta olup bifasiyal tip mezofil gözlemlenmiştir. Meyve enine kesitleri tek tabakalı ekzokarp, çok tabakalı mezokarp ve çok tabakalı endokarpa sahiptir. Meyve yüzey ornamentasyonu ağimsi iken tohum yüzey ornamentasyonu ise kabarcıklıdır. *Isatis quadrialata*'nin anatomik karakterlerinin taksonomik önemi olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Anatomi, *Boreava*, *Isatis*, morfoloji, mikromorfoloji

#### **Anatomical, morphological and micromorphological characteristics of *Isatis quadrialata* Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff (Brassicaceae)**

**ABSTRACT:** In this study, detailed morphological and anatomical features of *Isatis quadrialata* were examined. With anatomical analysis, transverse sections of root, stem and leaf were examined. Epidermis is a protective tissue in root transverse sections. Transverse sections of stem contain one layered epidermis, cortex parenchyma, vascular bundles and pith cells. The cross sections of leaves have two layered palisade parenchyma and spongy parenchyma with bifacial mesophyll. Transverse sections of fruit have one layered exocarp, multi layered mesocarp and endocarp. In addition, fruit and seed micromorphologies were studied. The fruit surface ornamentation is reticulate while the seed surface ornamentation is blister. The anatomical characteristics of *Isatis quadrialata* were determined of taxonomic importance.

**Keywords:** Anatomy, *Boreava*, *Isatis*, morphology, micromorphology

<sup>1</sup>Burcu YILMAZ ÇITAK (Orcid ID: 0000-0003-3703-7731), Emrah ŞİRİN (Orcid ID: 0000-0003-3408-7186), Kuddisi ERTUĞRUL (Orcid ID: 0000-0002-6463-2918), Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya, Türkiye

\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Burcu YILMAZ ÇITAK, e-mail: burcuyilmaz@selcuk.edu.tr

## GİRİŞ

Brassicaceae familyasının tür sayısı açısından dünyadaki en zengin ülkelerinden biri içerdiği 571 türle Türkiye'dir. Türkiye Florası'nın ilk cildinde Brassicaceae familyasına ait 86 cins ve 464 tür verilmiştir (Davis, 1965). Onuncu ciltte bu sayı 88 cins ve 526 türe (Davis ve ark., 1988), on birinci ciltte ise 91 cins ve 555 türe yükseltilmiştir (Güner ve ark. 2000). Türkiye Florası'nın ikinci ek cildinde 1 cins, 28 tür ve 15 alttür ve 2 varyetenin eklenmesiyle toplam tür sayısı 583'e yükseltilmiştir (Al-Shehbaz ve ark., 2007). Türkiye'de *Isatis* cinsi 31 tür ve 15 alttür ile temsil edilmektedir (Güner ve ark. 2012). *Boreava* Jaub. & Spach cinsi Türkiye'de *B. orientalis* Jaub. & Spach ve *B. aptera* Boiss. & Heldr. olmak üzere iki tür ile temsil edilmektedir (Hedge, 1965; Mutlu, 2012). *B. aptera* türünün Türkçe ismi "kayşak" iken *B. orientalis* türünün ise "sarıot" olarak belirlenmiştir (Menemen ve ark., 2016). *B. orientalis* ve *B. aptera* türleri morfolojik ve moleküler özellikleri göz önünde bulundurularak sırasıyla *Isatis quadrialata* Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff ve *Isatis aptera* (Boiss. & Heldr.) Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff olarak *Isatis* cinsine aktarılmıştır (Al-Shehbaz, 2012).

*Isatis* cinsi palinolojik, fitokimyasal ve biyoteknolojik bazı araştırmalara konu olmuştur (Perveen ve ark., 2014; Speranza ve ark. 2020). Cinsin anatomik yapısına dair araştırma ise oldukça sınırlıdır (Saeed and Yonus 2016). Bu çalışmada ise *Isatis quadrialata* türü anatomik, palinolojik ve mikromorfolojik açıdan değerlendirilmiştir. Bu karakterlerin türün sistematik ayırımına katkısı ve cinsin diğer türleri ile ayırımı noktasında nasıl bir destek sağlayacağı tespit edilmiştir.

## MATERYAL VE METOT

İncelenen materyaller Konya Selçuk Üniversitesi kampüs alanı Ziraat Deresi çevresi 1150 metre rakımdan 29 Mayıs 2013 tarihinde çiçekli ve meyveli olarak toplanmıştır (Toplayıcı no: *B. Çıtak*-140) ve Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Bitki Anatomisi ve Morfolojisi araştırma laboratuvarında muhafaza altına alınmıştır. Morfolojik çalışmalarında olgun meyveden ve disekte edilmiş çiçekten ölçümler yapılırken diğer incelemeler kurutulmuş herbaryum örnekleri üzerinde yapılmıştır. Anatomik araştırmalar için %70 etil alkol dolu kaplara konulan bitki örnekleri kullanılmıştır. Bu örneklerden manuel olarak kesitler alınmıştır. Vardar (1987)'den yararlanarak kesitler boyanmıştır.

Taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılarak incelenen tohum ve meyve numuneleri ilk önce her biri 20 dakika süreyle %70, 80, 96 ve %100 alkol serisinden geçirilmiştir. Yüzeyler daha sonra yüksek vakum modunda ve farklı büyütmelede ZEISS EVO LS-10 taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile gözlemlenerek, fotoğrafları çekilmiştir. Ayrıca akenlerin stereo mikroskop görüntüleri için LEICA S8AP0 mikroskopuna takılı olan LEICA DFC295 dijital kamerasıyla fotoğraflanmıştır.

Meyve ve tohum mikromorfolojisi için Stearn (1992), Koul ve ark. (2000) ve Zeng ve ark. (2004) terminolojisi kullanılmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

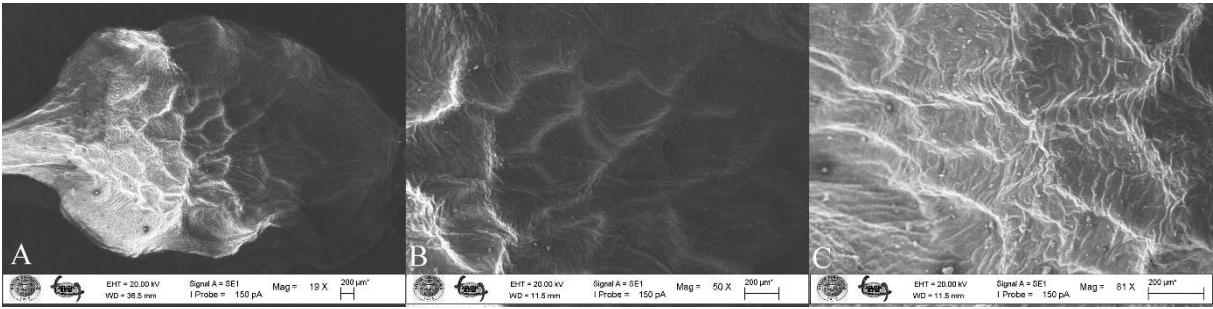
### Morfolojik ve Mikromorfolojik Bulgular

*I. quadrialata*'nın morfolojik ve mikromorfolojik özellikleri şu şekildedir: Tek yıllık, 15–32 cm, orta–üst gövdeden gevşek ve braktesiz çiçek durumuna kadar dallanmış. Taban yaprakları 25–65 × 16–32 mm ölçülerinde, tüysüz, oblong–lanseolat, sarı, aurikuleyit veya sagit, kenarları tam, uçta akut; gövde yaprakları 13–20 × 8–12 mm ölçülerinde, sagit, tüysüz. Aurikuleyitler 1–10 mm, akut veya obtuz. Çiçek durumu panikula veya tüysüz. Petaller 4–5 mm ve spatulat, sepaller 1.5–3 mm ve sakkat, filamentler hafifçe genişlemiş. Meyve kapalı, dik, silikula, 1- tohumlu, gagalı, ovoid, pediseller 6–8 mm, 8–10 × 7 mm, 4 dalgalı kanatlı, uçta akut–piramidal (Şekil 1). Ovaryum 1–2 ovüllü, stigma kapitat,

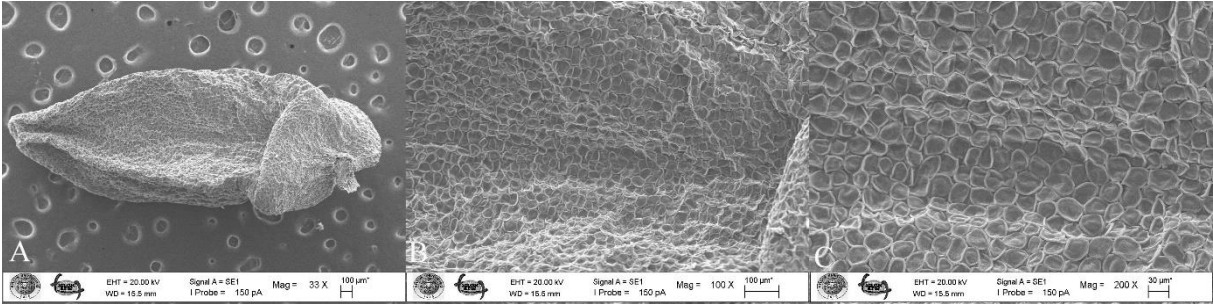
tohum siyahımsı kahverengi, lanseolat-ovat, kanatsız, tüysüz,  $3.2-3.6 \times 1-1.4$  mm ölçülerinde. Meyvenin yüzey ornamentasyonu retikulat-striat, tohumunki ise verrukat (Şekil 2-3).



Şekil 1. *I. quadrialata*'nın meyvesi (A), çiçeği (disekte, B) ve gövde yaprağı (C)



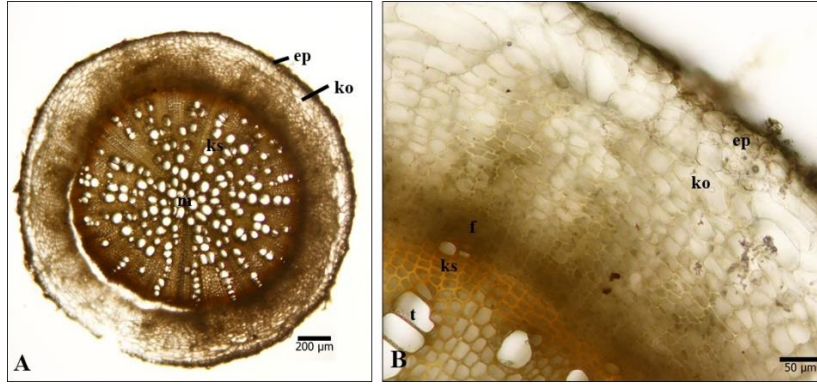
Şekil 2. *I. quadrialata*'nın meyve mikrografları: Genel görünüş (A), Yüzey ornamentasyonu (B) ve yüzey ornamentasyonu ayrıntısı (C)



Şekil 3. *I. quadrialata*'nın tohum mikrografları: Genel görünüş (A), Yüzey ornamentasyonu (B) ve Yüzey ornamentasyonu ayrıntısı (C)

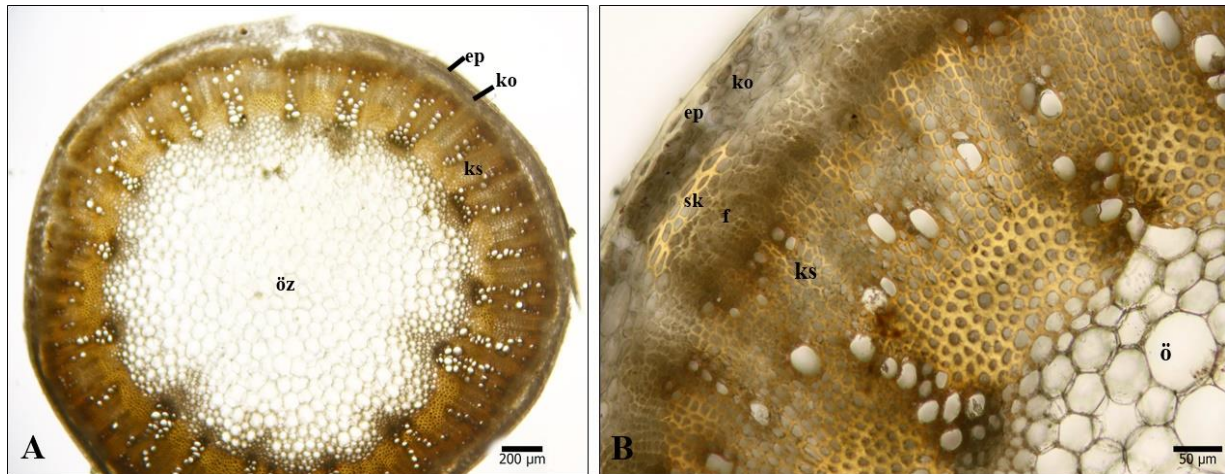
## ANATOMİK BULGULAR

**Kök Anatomisi:** Köklerden alınan enine kesitler; koruyucu doku (epidermis), korteks parankimasi ve iletim dokusu olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır (Şekil-4-A). Epidermis dokusu tek sıralı olup, yuvarlak şekillidir. Korteks hücreleri parankimatik karakterlidir. İletim dokusu floem ve ksilem elemanlarından oluşmaktadır (Şekil 4-B). Her iki iletim elemanı iyi gelişmiştir. Ksilem dokusunda trake hücrelerinin düzensiz dizildiği gözlemlenmiştir. Kök enine kesitlerinin merkez kısmı ksilem elemanları ile doludur (Şekil 4-A).



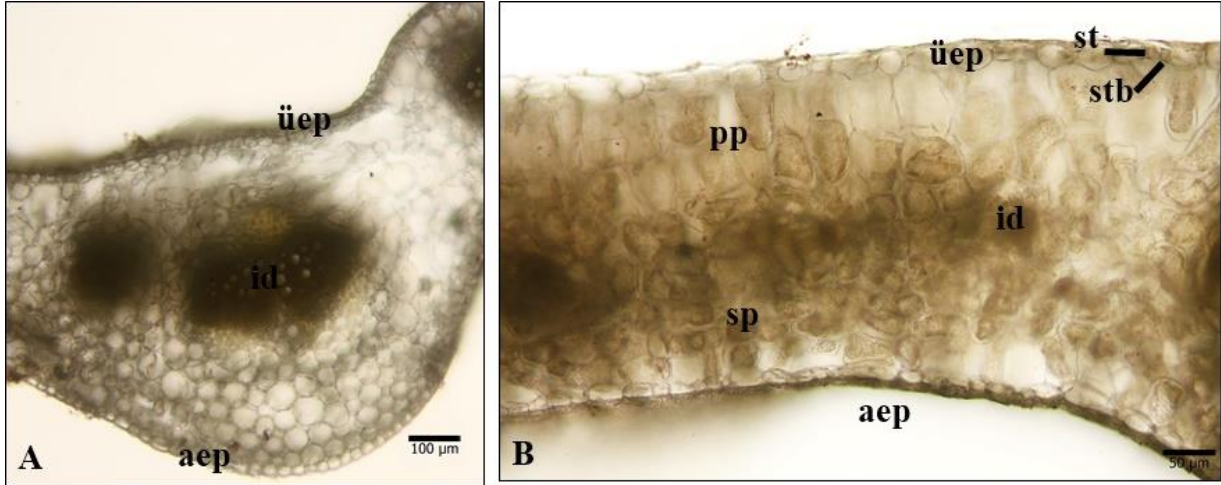
**Şekil 4.** *I. quadrialata*'nın kök enine kesit mikrofotografaları: Genel görünüş (A), Kök yakın görünüşü (B), ep: epidermis, ko: korteks parankiması, ks: ksilem, m: kök merkezi, f: floem, t: trake.

**Gövde Anatomisi:** Gövdelerden alınan enine kesitlerin en dış kısmında epidermis dokusu bulunmaktadır (Şekil 5-A). Epidermis tek sıralı ve dikdörtgen şekillidir. Korteks hücreleri 5 sıralı ve parankimatik karakterli olup, iletim demetlerinin hemen üzerinde bir kaç sıralı sklerenkima hücreleri bulunmaktadır. Floem hücreleri, sklerenkima hücrelerinin hemen aşağısında yer almaktadır. Ksilem dokusu oldukça gelişmiştir (Şekil 5-B). Gövdelerin öz bölgesinde parankimatik öz hücreleri bulunmaktadır. Öz bölgesi gövde enine kesitlerinde geniş yer kaplamaktadır.



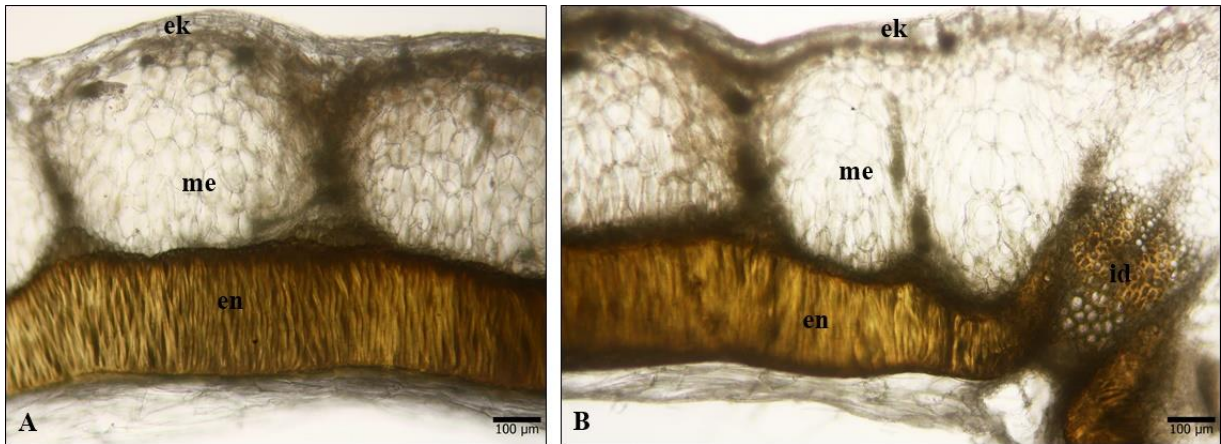
**Şekil 5.** *I. quadrialata*'nın gövde enine kesit mikrofotografaları: Genel görünüş (A), Gövde yakın görünüşü (B), ep: epidermis, ko: korteks parankiması, ks: ksilem, sk: sklerenkima, f: floem, ö: öz hücresi.

**Yaprak Anatomisi:** Yaprak enine kesitlerinde orta damar kısmı (midrip) triangular şekillidir (Şekil 6-A). Lamina kısmı ise lineardır (Şekil 6-B). Üst ve alt epidermis hücrelerin her ikisi de tek sıralıdır. Epidermis hücrelerinin arasında kalan mezofil dokusu palizat ve sünger parankimallerinden oluşmakta olup, mezofil dokusuna göre bifasiyaldir. Orta damar kısmındaki iletim demetleri lamina kısmında yer alanlardan oldukça büyüktür (Şekil 6-A).



**Şekil 6.** *I. quadrialata*'nın yaprak enine kesit mikrofotografaları: Orta damar genel görünüş (A), Lamina yakın görünüş (B), üep: üst epidermis, aep: alt epidermis, id: iletim demeti, pp: palizat parankimasi, sp: sünger parankimasi, st: stoma, stb: stoma boşluğu.

**Meyve Duvarı Anatomisi:** Meyve duvar anatomik yapısında ekzokarp, mezokarp ve endokarp olmak üzere üç anatomik yapı dikkati çekmektedir (Şekil 7-A). Ekzokarp hücreleri tek sıralı ve oval-dikdörtgen şekillidir. Mezokarp hücreleri parankimatik olup, çok sıralıdır. Endokarp hücreleri ise sıkı dizilimli, iğ şeklinli hücrelerden oluşmaktadır. Meyve enine kesitlerinde iyi gelişmiş iletim demeti yer almaktadır (Şekil 7-B).



**Şekil 7.** *I. quadrialata*'nın meyve duvar enine kesitleri mikrofotografaları: Genel görünüş (A-B), ek: ekzokarp, me: mezokarp, en: endokarp, id: iletim demeti.

Morfolojik karakterler bitki sistematğinde çok önemli yer tutmaktadır. *I. quadrialata* türü, *I. aptera*'dan meyvenin dik ve uçta sivri olması (*I. aptera*'da yay şeklinde ve uçta küt), meyve ölçüleri ve kanatlı olması (*I. aptera*'da kanatsız) ve petallerin spatulat (*I. aptera*'da oblong-lanseolat) olmasıyla ayrılır (Türkiye Florası'nda *Boreava* olarak; Hedge, 1965).

*I. quadrialata*'nın morfolojik özellikleri Türkiye Florası (Hedge, 1965) ile uyumlu iken gövde ve taban yaprak ölçüleri, aurikuleyit ölçüm ve morfolojisi, çiçek durumu özellikleri ve sepal ölçüm ve morfolojisi ilk defa bu çalışmayla ortaya çıkarılmıştır.

Tohum mikromorfolojisi özellikleri Brassicaceae familyasında taksonların ayırımına katkı sağlamaktadır (Zeng ve ark., 2004; Bona, 2013; Koul, 2000; Karaismailoğlu ve Erol, 2018; Çıtak ve Dural, 2020a, Şirin ve Ertuğrul, 2021). Vaughan ve Whitehouse (1971) ışık mikroskopuyla yaptıkları

çalışmada, *I. glauca* Aucher ex Boiss., *I. lusitanica* L., *I. tinctoria* L., *I. trachycarpa* Trautv. ve *I. violascens* Bunge türlerinin tohum yüzey modellerini pürüzsüz şekilde yorumlamışlardır. *I. cappadocica* Desv. subsp. *cappadocica*'nın tohum yüzey modelinin ise ağsı olduğu tespit edilmiştir (Karaismailoğlu, 2019). Şirin ve Ertuğrul (2020) ise yapmış oldukları çalışmada *I. arenaria* Azn.'nin tohum yüzey modelini düzenli retikulat, *I. candolleana* Boiss., *I. cappadocica* Desv. subsp. *macrocarpa* (Jaub. & Spach) P.H. Davis, *I. erzurumica* P.H. Davis türlerinininkini ise düzensiz retikulat ve *I. floribunda* Boiss. ex. Bornm türününinkini ise pürüzlü şekilde yorumlamışlardır. Bu çalışmada, *I. quadrialata* türünün verrukat yüzeyli tohumları diğer türlerden farklılık göstermektedir.

Brassicaceae familyasında anatomik karakterlerin sistematik olarak kullanımı oldukça sınırlıdır (Karaismailoğlu, 2019; Çıtak ve Dural, 2020b). *Isatis* cinsi ile ilgili vejetatif organ anatomik yapısını aydınlatan çalışmalar ise oldukça sınırlıdır (Saeed and Yonus 2016). *Isatis quadrialata* türünün kök anatomik yapısında epidermis dokusu koruyucu doku olarak görev yapmaktadır. Korteks hücreleri parankimatik karakterli olup, köklerde dar bir alanı işgal etmektedir. Metcalfe ve Chalk (1950)'ın yapmış olduğu iletim demeti sıralanışına göre köklerin düzensiz bir sıralanması vardır. *Isatis* cinsi gövde enine kesitlerinin şekli oval olarak bildirilmiştir (Saeed ve Yonus 2016). *I. quadrialata* gövde enine kesitleri de ovaldır. Epidermis hücreleri tek sıralıdır. Fakat korteks ve sklerenkima hücrelerinin sıra sayısı farklıdır. Korteks parankimatik ve iletim demetlerinin üzerinde birkaç sıralı sklerenkimatik hücreler yer almaktadır. Saeed ve Yonus (2016), *Isatis* cinsinde gövde enine kesitlerinde sklerenkima hücrelerini bildirmemişlerdir. Gövdelerde öz bölgesi geniş bir yer kaplamaktadır. Saeed ve Yonus (2016), *Isatis* cinsinde gövdelerde öz bölgesinin fazla yer kapladığını bildirmişlerdir. *Isatis* cinsinde yaprak mezofil dokusu ekvifasiyal olarak bildirilmiştir (Metcalf ve Chalk 1950, Saeed ve Yonus 2016). *I. quadrialata* türün de ise bifasiyal tipte mezofil dokusu tespit edilmiştir.

Meyve ve tohum anatomik özelliklerinin Brassicaceae familyasının taksonomisinde önemli yer tuttuğu belirlenmiştir (Mummenhoff ve ark., 2008; Mühlhausen ve ark., 2010; Lenser ve ark., 2016). *Isatis* cinsi için meyve duvar anatomik yapısı daha önceden bildirilmemiştir. Bu çalışma ile *Isatis quadrialata* türüne ait meyve duvar yapısında ekzokarp tek sıralı, mezokarp çok sıralı ve parankimatik olup, endokarp sıkı düzenlenmiş iğimsi şekilli hücrelerden oluşmuştur.

## SONUÇ

Sonuç olarak, *I. quadrialata* türünün köklerinde dağınık düzenlenmiş ksilem elemanları, gövdelerinde parankimatik korteks hücreleri bulunmakta olup, yaprak mezofil dokusu bifasiyal tiptedir. Bu çalışmada belirlenen özellikler ile türün taksonomisine katkıda bulunulmuştur.

## Çıkar Çatışması

Makale yazarları arasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığı beyan olunur.

## Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamışlardır.

## KAYNAKLAR

- Al-Shehbaz IA, 2012. A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae). *Taxon*, 61 (5): 931–954.
- Al-Shehbaz IA, Mutlu B, Dönmez AA, 2007. The Brassicaceae (Cruciferae) of Turkey, updated. *Turkish Journal of Botany* 31: 327–336.
- Bona M, 2013. Seed-coat microsculpturing of Turkish *Lepidium* (Brassicaceae) and its systematic application. *Turkish Journal of Botany*, 37: 662–668.
- Çıtak BY, Dural H, 2020a. Fruit and seed micromorphology of the genus *Iberis* L. (Brassicaceae) in Turkey and its utility in taxonomic delimitation. *Botanical Sciences*, 98 (4): 584–592.

- Çıtak BY, Dural H, 2020b. The Anatomical Structures Of The Genus *Iberis* L. (Brassicaceae) In Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 27: 213–224.
- Davis PH, Mill RR, Tan K, 1988. Cruciferae. Şu eserde: Davis P.H. (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (supplement) 10: 29–58, 232–235. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Davis PH, 1965. Cruciferae. Şu eserde: Davis P.H. (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* 1: 248–495. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Bafler KHC, 2000. Cruciferae. Şu eserde: Davis P.H. (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* 11: 29–41. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Hedge IC, 1965. *Boreava* Jaub. & Spach. Şu eserde: Davis PH (ed). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 1: 429–430. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Karaismailoğlu MC, Erol O, 2018. Seed structure and its taxonomic implications for genus *Thlaspi* sensu lato sections *Nomisma*, *Thlaspi*, and *Pterotropis* (Brassicaceae). *Turkish Journal of Botany*, 42 (5): 591–609.
- Karaismailoğlu MC, 2019. Comparative Morphology And Anatomy Of Seeds Of Some *Aethionema* W.T. Aiton (Brassicaceae) Taxa From Turkey. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*, 26 (1): 1–12.
- Karaismailoğlu MC, 2019. The Value of the Seed in the Systematic of the Family Brassicaceae. In: *Research Reviews in Science and Mathematics–Summer*, pp. 51–80 Editor: Sağlık HA Gece Kitaplığı Yayınevi, New York, Ankara.
- Koul K, Ranjna N, Raina SN, 2000. Seed coat microsculpturing in *Brassica* and allied genera subtribes Brassicinae, Raphaninae, Moricandiinae. *Annals of Botany*, 86: 85–97.
- Lenser T, Graeber K, Çevik ÖS, Adıgüzel N, Dönmez AA, Grosche C, Kettermann M, Mayland Quellhorst S, Mérai Z, Mohammadin S, Nguyen T, Rümpler F, Schulze C, Sperber K, Steinbrecher T, Wiegand N, Strnad M, Scheid OM, Rensing SA, Schranz ME, Theißen G, Mummenhoff K, LeubnerMetzger G, 2016. Developmental control and plasticity of fruit and seed dimorphism in *Aethionema arabicum*. *Plant Physiology*, 172: 1697–1707.
- Menemen Y, Aytaç Z, Kandemir A, 2016. Türkçe Bitki Adları Yönergesi, Bağbahçe Bilim Dergisi 3(3): 1–3.
- Metcalf CR, Chalk L, 1950. *Anatomy of the dicotyledons*. Vol.1. Clarendon press. Oxford. pp. 80–87.
- Mummenhoff K, Polster A, Mühlhausen A, Theißen G, 2008. *Lepidium* as a model system for studying the evolution of fruit development in Brassicaceae. *Journal of Experimental Botany*, 60: 1503–1513.
- Mutlu B, 2012. *Boreava* Jaub. & Spach, Şu eserde: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., ve Babaç, M.T. (edlr.). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, s. 299. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Mühlhausen A, Polster A, Theissen G, Mummenhoff K, 2010. Evolution of fruit dehiscence in Brassicaceae: examples from *Aethionema* and *Lepidium*. VI International Symposium on Brassicas and XVIII Crucifer Genetics Workshop. 867: 207–219.
- Saeed JF, Yonus FD, 2016. Anatomical study of the genus *Isatis* L. (Brassicaceae) in Kurdistan Region of Iraq. *Zanco Journal of Pure and Applied Sciences*, 28 (5): 4–39.
- Stearn WT, 1992. *Botanical Latin*. David & Charles Pub, London.
- Şirin E, Ertuğrul K, 2020. Significance of seed coat morphology in some *Isatis* (Brassicaceae) Taxa. The 6th International Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, İzmir, pp. 68.
- Şirin E, Ertuğrul K, 2021. Seed-Coat microsculpturing of some *Cardamine* (Brassicaceae) taxa and its systematic importance. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 14 (1): 24–27.
- Vaughan JG, Whitehouse JM, 1971. Seed structure and the taxonomy of the Cruciferae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 64: 383–409.
- Zeng CL, Wang JB, Liu AH, Wu XM, 2004. Seed coat microsculpturing changes during seed development in diploid and amphiploid *Brassica* Species. *Annals of Botany*, 93: 555–566.