



## Effet de différents sels de calcium *in vitro* et *in vivo* sur le développement des champignons de post-récolte du melon

Fakhreddine ZEMMOURI, Karima SELMAOUI, Rachid BENKIRANE, Amina OUAZZANI TOUHAMI, Aïlal DOUIRA

Laboratoire de Botanique, Biotechnologie et de Protection des Plantes, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, BP 133, 14000 Kénitra, Maroc.

Email : douiraallal@hotmail.com

Original submitted in on 25<sup>th</sup> July 2015. Published online at [www.m.elewa.org](http://www.m.elewa.org) on 30<sup>th</sup> September 2015

<http://dx.doi.org/10.4314/jab.v93i1.8>

### RÉSUMÉ

**Objectifs :** L'efficacité *in vitro* et *in vivo* du silicate, l'hydroxyde, l'oxyde, le sulfate et l'hypochlorite de calcium a été testée sur le développement des champignons responsables de la pourriture du melon en post-récolte.

**Méthodologie et Résultats :** les sels de calcium ont été testés *in vitro* à 200, 400, 600, 800 et 1000 ppm et *in vivo* à 600 ppm contre *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* et *Trichothecium roseum* isolées à partir de deux variétés de melon Cantaloup et Galia. Le silicate, l'hydroxyde et l'oxyde de calcium se sont avérés efficaces sur les isolats de *F. oxysporum*, d'*A. alternata* et de *T. roseum* à 1000 ppm avec des pourcentages compris entre 66,7% et 85,7% pour la croissance mycélienne, 62,8 et 92,4% pour la production des conidies et 82,8 et 98,8 % pour leur germination. Les champignons testés sont moyennement sensibles au sulfate de calcium alors que l'hypochlorite de calcium est sans action. *In vivo*, le silicate, l'hydroxyde et l'oxyde de calcium à 600 ppm ont pu inhiber les pourritures superficielles causées par l'isolat A4 d'*A. alternata*, F2 de *F. oxysporum* et Tr de *Trichothecium roseum* avec des pourcentages d'inhibition allant de 51% à 86% sur les fruits de melon Cantaloup et de 52% à 85% sur ceux de Galia. La profondeur de la pourriture à l'intérieur du fruit a été réduite avec des pourcentages d'inhibition compris entre 53% et 85% sur Cantaloup et entre 50% et 91% sur Galia. **Conclusion et application de la recherche :** Le silicate, l'hydroxyde et l'oxyde de calcium sont les sels de calcium les plus efficaces aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* contre les champignons responsables des pourritures de melon en post-récolte. Les résultats obtenus vont permettre de s'orienter vers la lutte par les sels de calcium contre les pathogènes responsables des pourritures du melon en post-récolte, avant l'entreposage, en raison de son efficacité contre les maladies d'origine fongiques.

**Mots clés :** *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Trichothecium roseum*, melon, post récolte, sels de calcium.

### ***In vitro* and *in vivo* Effect of some calcium salts on the development of post-harvest fungi in melon** ABSTRACT

**Objectives:** the *in vitro* and *in vivo* efficacy of silicate, hydroxide, oxide, sulfate and calcium hypochlorite were tested on the development of fungi responsible for storage rot in melon fruit.

*Methodology and results* : Calcium salts were tested *in vitro* at 200, 400, 600, 800 and 1000 ppm and *in vivo* at 600 ppm against *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* and *Trichothecium roseum* isolated from two varieties of melon Cantaloupe and Galia. *In vitro*, silicate, hydroxide and calcium oxide were effective at 1000 ppm on the *F. oxysporum*, *A. alternata* and *T. roseum* isolates. The inhibition percentage was 66.7%-85.7% for mycelial growth, 62.8-92.4% for conidia production and 82.8-98.8 % for conidia germination. Calcium sulfate was moderately effective against the three stages of the fungi life cycle whereas calcium hypochlorite was ineffective. *In vivo*, 600 ppm of calcium silicate, calcium hydroxide and calcium oxide inhibited superficial rot due to *A. alternata* isolate A4, *F. oxysporum* isolate F2 and *T. roseum* isolate Tr with 51 and 86% on Cantaloupe and 52 and 85% on Galia. The depth of rot inside the fruit decreased with 53 and 85% in Cantaloupe and 50 and 91% in Galia.

*Conclusion and application of research*: Silicate, hydroxide and oxide are the calcium salts most effective against the fungal species responsible for storage rot in melon fruit. The results obtained point to research on calcium salts control against the pathogens responsible for post-harvest rots in melons, before storage, because of their effectiveness against fungal diseases.

**Keywords**: *Alternaria alternata*, calcium salts, *Fusarium oxysporum*, melon, rot, storage, *Trichothecium roseum*.

## INTRODUCTION

En 2013, la production du melon au Maroc a été de 700.034 tonnes (FAOSTAT, 2013). Le Melon est une culture importante en plein champ ou sous serre. Il en existe un grand nombre de cultivars et la Chine est le principal producteur. En Europe, la France arrive en troisième position après l'Espagne et l'Italie, mais n'est pas autosuffisante. Elle importe des melons d'Espagne, du Maroc et d'Israël. De plus en plus de melons proviennent du Maroc, douzième exportateur mondial (El Ouafi, 2009). Les maladies signalées au Maroc comme responsables de problèmes sur le melon sont surtout la fusariose, suivie de l'oïdium et de la bactériose (El Ouafi, 2009). Avec la révolution dans le domaine agro-alimentaire, l'espèce humaine doit maximiser sa production alimentaire afin d'assurer une alimentation adéquate pour la population mondiale. Parmi les microorganismes, les moisissures représentent le groupe le plus diversifié et le plus riche en nombre d'espèces. Les principaux pathogènes sont des espèces fongiques qui détériorent les fruits pendant le stockage (Puia et al., 2003), entraînant une perte de productivité (Swinburne, 1983). Après la récolte, le fruit est sensible aux pourritures causées par *Alternaria alternata*, *Fusarium* spp., *Rhizopus stolonifer* et *Trichothecium roseum* (Bi et Wang, 1987). Les pertes de melons sont souvent

dues aux parasites cryptogamiques qui se manifestent sur la surface du fruit et progressent graduellement vers l'intérieur, dans la chair. Les agents pathogènes fongiques d'importance majeure sont *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus* et *Fusarium* (Shika et Doug, 2001). Bi et al. (2003) ont signalé que l'Alternariose, la fusariose et les pourritures roses causées respectivement par *Alternaria alternata*, *Fusarium* spp. et *Trichothecium roseum* sont les maladies les plus importantes du Hami Melons au cours de l'entreposage. La lutte chimique a été largement utilisée contre les maladies de post récolte du melon par trempage dans différentes solutions telles que celles de diméthyl dithio-Carbamate de sodium (Carter 1981 a et b), Imizalil (Carter 1981b), Guazatine (Morris et Wade 1983 ; Huang et al., 2000), Thiabendazole, Azoxystrobin et Imazalil (Terao et al., 2006) ou pulvérisation foliaire avant la récolte par l'Acibenzolar-S-methyl (Huang et al., 2000) et le Benzothiadiazole (Bokshi et al., 2007). Malheureusement, l'usage fréquent des fongicides a été responsable de l'apparition de la résistance des champignons pathogènes et la prise de conscience du consommateur vis-à-vis de la contamination des denrées alimentaires par les résidus de fongicides a orienter la recherche vers la recherche d'autre moyens de lutte. Les produits

alternatifs qui sont sûrs, efficaces et économiques sont nécessaires pour contrôler les maladies de post de récolte. Les additifs alimentaires ont été signalés pour le contrôle de la pourriture d'entreposage des récoltes de fruits et légumes (Punja et Gaye 1993). Certains composés prometteurs sont les sels de bicarbonate (Aharoni et al., 1997 ; Smilanick et al., 1999), les acétates et les sels de molybdate (Punja et Gaye 1993), l'iode (Bokshi, 2008), le silicate de sodium (Bi et al. 2006) et les isothiocyanates (Troncoso-Rojas et al., 2009). Zemmouri et al. (2011) ont montré l'effet *in vitro* et *in vivo* du propionate, du chlorure et du

nitrate de calcium sur *Fusarium oxysporum* et *Alternaria alternata*. Le propionate de calcium s'est avéré efficace sur les trois stades du cycle de vie des deux champignons et sur le développement des pourritures superficielles et en profondeur sur les fruits de melon Cantaloup et Galia. L'objectif de ce travail est de tester l'efficacité de cinq autres sels de calcium *in vitro* sur les trois stades du cycle de vie de *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* et *Trichothecium roseum* et de voir l'effet de ceux qui se sont montré les plus efficaces *in vivo* sur le développement des pourritures provoquées par ces trois champignons.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Action *in vitro* des sels de calcium

**Matériel fongique :** Les isolats A1, A2, A3 et A4 d'*Alternaria alternata*, F1, F2 de *Fusarium oxysporum* et Tr de *Trichothecium roseum* ont été isolés respectivement à partir des côtes et sillons de melon Cantaloup et des pourritures des pédoncules de melon Galia. Ils ont été maintenus sur le milieu de culture PSA (Potato Sucrose Agar : 200 g pomme de terre, 15 g Agar-agar, 20 g saccharose, 1000 ml d'eau distillée) à 25°C et à l'obscurité.

**Sels de calcium testés :** Cinq sels de calcium, le silicate de calcium Ca<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub>, l'hydroxyde de calcium Ca(OH)<sub>2</sub>, l'oxyde de calcium CaO, le sulfate de calcium CaSO<sub>4</sub>, 2H<sub>2</sub>O et l'hypochlorite de calcium Ca(ClO)<sub>2</sub> ont été testés à des concentrations croissantes de 200, 400, 600, 800 et 1000 ppm.

**Action sur les trois stades de vie du cycle :** Les sels de calcium aux différentes concentrations ont été incorporés au milieu de culture PSA maintenu en surfusion à 50°C. Un disque mycélien de 5 mm de diamètre prélevé sur une culture jeune de champignon a été déposé au centre de chacune des boîtes de Petri de 90 mm de diamètre contenant 15 ml de milieu de culture seul pour le témoin ou additionné des sels de calcium à différentes concentrations. Après dix jours

d'incubation à l'obscurité et à 25°C, la croissance mycélienne a été estimée en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires de chaque culture. La production des conidies est estimée sur les boîtes de Petri ayant servi à mesurer la croissance mycélienne. Pour chaque traitement, quatre rondelles de 5 mm de diamètre ont été prélevées, placées dans un tube à essai stérile contenant 1 ml d'eau distillée stérile et agitées au vortex pendant quelques secondes. Le nombre moyen de conidies a été estimé à l'aide d'une cellule de Malassez. La germination des conidies est estimée en étalant 0,1 ml de la suspension conidiale à 10<sup>3</sup> conidies/ml obtenue à partir des différents champignons à la surface des boîtes de Petri de 90 mm de diamètre contenant 15 ml d'eau gélosée stérile seule pour le témoin ou additionnée des différents sels de calcium à différentes concentrations. Après 24 heures d'incubation à l'obscurité et à 25°C, le comptage des conidies germées a été fait sur toute la surface de chaque boîte de Petri. Trois répétitions ont été réalisées pour chacun des traitements. Le pourcentage d'inhibition des trois stades du cycle de vie des champignons est calculé par rapport au témoin selon la formule suivante :

$$PI = \frac{A - B}{A} \times 100$$

**PI :** Pourcentage d'inhibition

**A :** Croissance mycélienne, production des conidies ou la germination des champignons testés sur le milieu de culture sans sel de calcium.

**B :** Croissance mycélienne, production des conidies ou la germination des champignons testés sur le milieu de culture additionné de sel de calcium .

### Acton *in vivo* des sels de calcium

**Matériel végétal :** Des fruits de Melon de type Cantaloup variété Cléo et de type Galia variété LAVI (X-GAL-52) de même calibre et d'apparence saine ont été trempés 1 min dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5% puis rincés à l'eau distillée stérile et séchés avec du papier filtre.

**Traitement des fruits :** Les fruits des deux variétés ont été blessés artificiellement à l'aide d'une aiguille stérile de 3 mm de diamètre et 2 mm de profondeur en quatre points équatoriaux équidistants et au niveau du pédoncule. Ils ont été trempés 10 min dans 2000 ml d'une solution d'hydroxyde, silicate et l'oxyde de calcium à 600 ppm de Ca<sup>2+</sup>. Les témoins ont été trempés dans de l'eau distillée stérile. Les fruits ont été mis à sécher à l'air libre sur du papier filtre pendant 30 min.

$$PIS = \frac{X - Y}{X} \times 100$$

**PIS :** Pourcentage d'inhibition en surface.

**X :** Diamètre de la pourriture du témoin inoculé.

**Y :** Diamètre de la pourriture du fruit traité par le sel de calcium.

### Pourcentage d'inhibition en profondeur :

$$PEP = \frac{Pt - P}{Pt} \times 100$$

**PEP :** Pourcentage d'inhibition en profondeur.

**Pt :** Profondeur de la pourriture du témoin inoculé.

**P :** Profondeur de la pourriture du fruit traité par le sel de calcium.

**Analyse statistique :** Les Cl<sub>50</sub> et les Cl<sub>90</sub> ont été déterminées graphiquement à partir de la relation linéaire entre les valeurs probits issues des pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne, la production des conidies et la germination des

**Inoculation des fruits :** L'inoculation par des disques mycéliens de 5 mm de diamètre de l'isolat F2 de *Fusarium oxysporum*, l'isolat A4 d'*Alternaria alternata* ou de *Trichothecium roseum* a eu lieu au niveau des blessures juste après le séchage. Les fruits ont été répartis individuellement dans des sachets en plastique blanc et déposés sur la paille dans les conditions ambiantes du laboratoire. Pour chaque condition, trois melons ont été utilisés. Sept jours après inoculation, les diamètres des pourritures superficielles et en profondeur ont été mesurés au niveau des blessures à l'aide d'un double-décimètre en effectuant des coupes horizontales et verticales. Le pourcentage d'inhibition du développement des pourritures a été calculé par rapport au témoin.

### Pourcentage d'inhibition en surface :

conidies et le logarithme décimal des concentrations en Ca<sup>2+</sup>. Le traitement statistique des pourcentages moyens d'inhibition transformé en Arcsin√P a porté sur l'analyse de la variance et le test PPDS (plus petite différence significative) au seuil de 5 %.

## RÉSULTATS

*In vitro*, les différents sels de calcium ont montré une efficacité variable sur les trois stades du cycle de vie des espèces fongiques responsables de la pourriture de post récolte du melon. Les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne les plus importants sont obtenus avec l'hydroxyde, le silicate et l'oxyde de

calcium à 1000 ppm (Tableau 1). Ils atteignent 85,7 % pour l'isolat F1 de *Fusarium oxysporum*, 85 % pour l'isolat A4 d'*Alternaria alternata* et 83,6 % pour *Trichothecium roseum*. En présence de silicate et l'hydroxyde de calcium, l'inhibition dépasse 40 % dès 400 ppm pour tous les isolats des champignons testés.

Tableau 1 : Comparaison des moyennes des pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de trois moisissures de melon en présence de cinq sels de calcium à différente concentration

Sels de calcium (ppm)		<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>Alternaria alternata</i>				<i>Trichothecium roseum</i>
		F1	F2	A1	A2	A3	A4	Tr
<b>Ca<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub></b>	200	41,3e	37,8e	30,6e	34,8e	29,8e	33,4e	36,7e
	400	55,8d	51,5d	44,0d	51,5d	46,0d	53,3d	50,8d
	600	66,6c	62,5c	55,3c	62,4c	57,5c	66,4c	63,4c
	800	74,6b	71,4b	68,5b	73,4b	70,0b	74,8b	71,2b
	1000	85,7a	80,8a	77,7a	80,6a	81,4a	85,0a	83,6a
<b>Ca(OH)<sub>2</sub></b>	200	31,7e	33,6e	32,1e	33,6e	35,5e	32,4e	30,6e
	400	48,3d	47,5d	44,2d	45,5d	47,6d	46,1d	44,7d
	600	61,8c	61,4c	58,4c	59,2c	61,4c	60,0c	59,7c
	800	70,6b	72,0b	70,6b	72,0b	73,3b	71,5b	72,3b
	1000	77,5a	80,6a	78,4a	81,4a	81,3a	80,8a	82,4a
<b>CaO</b>	200	24,3e	22,8e	28,6e	30,4e	33,8e	32,6e	21,0e
	400	37,5d	39,6d	42,5d	40,8d	44,5d	46,0d	30,8d
	600	49,3c	46,8c	51,6c	49,7c	52,3c	53,8c	44,6c
	800	60,0b	58,4b	64,0b	60,8b	63,5b	61,6b	57,5b
	1000	69,8a	66,7a	69,0a	68,8a	73,4a	70,5a	70,5a
<b>CaSO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O</b>	200	12,8e	11,7e	7,0e	5,5e	10,7e	8,7e	6,5e
	400	18,7d	16,2d	17,0d	13,3d	16,2d	14,2d	13,8d
	600	28,6c	24,5c	23,7c	20,7c	23,9c	25,9c	20,6c
	800	36,5b	33,8b	31,3b	28,4b	30,7b	34,7b	29,4b
	1000	47,8a	48,2a	40,6a	37,6a	38,4a	43,4a	35,5a
<b>Ca(ClO)<sub>2</sub></b>	200	4,6d	3,7e	5,5dd	3,6e	4,0e	6,2c	3,2d
	400	4,8d	5,5d	4,3d	4,7de	6,5d	4,8d	5,8c
	600	6,3c	7,2c	6,6c	5,3cd	8,8c	6,7c	9,3b
	800	9,6b	9,4b	9,6b	8,2b	10,5b	9,0b	10,2b
	1000	13,8a	12,5a	12,3a	10,5a	13,8a	15,3a	15,6a

Pour chaque isolat et chaque sel, deux résultats lus sur une même colonne différent significativement au seuil de 5 % s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

En présence du sulfate de calcium, la croissance mycélienne des champignons testés est moyennement efficace, les pourcentages d'inhibition obtenus sont compris entre 35,5 % et 48,2 % à 1000 ppm. L'hypochlorite de calcium s'est montré inefficace dans l'inhibition de la croissance mycélienne de tous les champignons testés. Les Cl<sub>50</sub> ne dépassent pas 409 ppm pour l'hydroxyde de calcium, 422 ppm pour le silicate de calcium et 616 ppm pour l'oxyde de calcium

(Tableau 2). Le sulfate et l'hypochlorite de calcium sont inefficaces sur le développement mycélien de tous les champignons testés. Le silicate, l'hydroxyde et l'oxyde de calcium présentent une efficacité importante. Les pourcentages d'inhibition atteignent 92,4 % pour *Fusarium oxysporum*, 89,8 % pour *Alternaria alternata* et 88,7% pour *Trichothecium roseum* à 1000 ppm (Tableau 3). Les champignons testés sont très résistants au sulfate et l'hypochlorite de calcium.

Tableau 2 : Cl<sub>50</sub> et Cl<sub>90</sub> (ppm) de la croissance mycélienne des champignons testés en présence de sels de calcium

Sels de calcium	Champignons													
	A1		A2		A3		A4		F1		F2		Tr	
	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>
Hydroxyde	409	>1000	388	>1000	364	>1000	391	>1000	391	>1000	378	>1000	397	>1000
Sulfate	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Silicate	402	>1000	354	>1000	422	>1000	343	>1000	296	>1000	340	>1000	346	>1000
Oxyde	497	>1000	513	>1000	442	>1000	473	>1000	553	>1000	586	>1000	616	>1000
Hypochlorite	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000

Tableau 3 : Comparaison des moyennes des pourcentages d'inhibition de la production des conidies des isolats de trois moisissures de melon en présence de cinq sels de calcium à différente concentration

Sels de calcium (ppm)		<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>Alternaria alternata</i>				<i>Trichothecium roseum</i>
		F1	F2	A1	A2	A3	A4	Tr
Ca <sub>2</sub> SiO <sub>4</sub>	200	49,4e	44,7e	35,5e	38,8e	34,7e	42,4e	39,0e
	400	63,3d	58,5d	49,5d	53,3d	48,2d	56,8d	52,0d
	600	72,7c	69,2c	62,6c	64,4c	60,8c	68,5c	65,3c
	800	84,3b	79,8b	75,7b	78,8b	75,2b	80,4b	73,4b
	1000	92,4a	88,2a	82,8a	87,5a	85,2a	88,6a	85,5a
Ca(OH) <sub>2</sub>	200	38,4e	41,5e	40,0e	40,3e	42,8e	39,8e	39,6e
	400	53,5d	57,4d	53,0d	55,7d	56,5d	53,3d	54,8d
	600	68,8c	70,0c	64,3c	65,1c	67,7c	65,3c	65,3c
	800	83,5b	81,2b	77,3b	79,7b	80,2b	78,0b	77,5b
	1000	91,7a	90,4a	84,3a	86,5a	89,8a	89,1a	88,7a
CaO	200	18,7e	20,4e	40,5e	38,8e	41,0e	43,6e	17,3e
	400	33,5d	35,6d	52,6d	49,8d	54,3d	52,4d	30,6d
	600	47,6c	49,4c	64,0c	60,4c	63,6c	61,7c	38,8c
	800	53,7b	55,5b	74,5b	72,8b	70,6b	73,3b	51,7b
	1000	68,0a	62,8a	85,6a	80,3a	79,2a	82,7a	65,4a
CaSO <sub>4</sub> , 2H <sub>2</sub> O	200	10,6e	8,8e	6,1e	7,0e	7,5d	9,4d	7,3e
	400	14,5d	17,3d	14,4d	12,3d	15,6c	18,6c	13,7d
	600	23,0c	25,5c	20,6c	21,8c	19,5b	27,4b	20,7c
	800	32,3b	30,7b	28,3b	27,8b	29,6a	37,6a	26,5b
	1000	44,4a	40,0a	34,6a	32,5a	31,5a	38,0a	37,7a
Ca(ClO) <sub>2</sub>	200	6,3c	6,0d	4,3b	3,8d	4,8d	4,5c	3,7d
	400	6,6c	7,8d	4,7b	5,3c	6,2c	6,0b	6,3c
	600	9,2b	10,0c	5,2b	7,3b	5,6cd	6,0b	9,4b
	800	10,5b	12,4b	5,7b	9,3a	8,4b	6,6b	9,3b
	1000	14,7a	17,2a	9,2a	10,7a	11,3a	8,5a	11,7a

Pour chaque isolat et chaque sel, deux résultats lus sur une même colonne diffèrent significativement au seuil de 5 % s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

Pour tous les champignons testés, les  $CI_{50}$  varient entre 235 et 363 pour le silicate de calcium, 285 et 313 ppm pour l'hydroxyde de calcium et entre 303 et 721 ppm pour l'oxyde de calcium (Tableau 4). Le sulfate et l'hypochlorite de calcium n'ont pas d'effet inhibiteur avec des  $CI_{50}$  supérieures aux concentrations testées. Les pourcentages d'inhibition de la germination des conidies les plus importantes sont obtenues avec le silicate, l'hydroxyde et l'oxyde de calcium, elles varient entre 82,8 et 98,8 % à 1000 ppm (Tableau 5). En présence de l'hydroxyde de calcium, l'inhibition

dépasse 40 % dès 200 ppm pour tous les isolats des champignons testés. La germination des conidies des champignons est sensiblement affectée en présence du sulfate de calcium (les pourcentages d'inhibition obtenus sont compris entre 33,3 et 52,3%) et l'hypochlorite de calcium n'est pas efficace. Les  $CI_{50}$  de silicate, l'hydroxyde et l'oxyde de calcium varient respectivement entre 228 et 331 ppm, 267 et 346 ppm et entre 271 et 446 ppm (Tableau 6). Les  $CI_{50}$  des autres produits à savoir l'hypochlorite et le sulfate de calcium sont supérieures aux concentrations testées.

**Tableau 4 :**  $CI_{50}$  et  $CI_{90}$  (ppm) de la production des conidies des champignons testés en présence de sels de calcium

Sels de calcium	Champignons													
	A1		A2		A3		A4		F1		F2		Tr	
	$CI_{50}$	$CI_{90}$	$CI_{50}$	$CI_{90}$	$CI_{50}$	$CI_{90}$	$CI_{50}$	$CI_{90}$	$CI_{50}$	$CI_{90}$	$CI_{50}$	$CI_{90}$	$CI_{50}$	$CI_{90}$
Hydroxyde	313	>1000	302	>1000	285	>1000	311	>1000	308	>1000	286	>1000	310	>1000
Sulfate	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Silicate	352	>1000	316	>1000	363	>1000	284	>1000	235	>1000	269	>1000	324	>1000
Oxyde	315	>1000	341	>1000	310	>1000	303	>1000	635	>1000	635	>1000	721	>1000
Hypochlorite	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000

**Tableau 5 :** Comparaison des moyennes des pourcentages d'inhibition de la germination des conidies des isolats de trois moisissures de melon en présence de cinq sels de calcium à différente concentration

Sels de calcium (ppm)	<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>Alternaria alternata</i>				<i>Trichothecium roseum</i>	
	F1	F2	A1	A2	A3	A4	Tr	
$Ca_2SiO_4$	200	50,0e	47,6e	39,6e	41,8e	37,2e	45,8e	41,4e
	400	64,7d	61,3d	53,4d	57,2d	51,3d	60,3d	57,2d
	600	77,2c	74,6c	66,7c	71,2c	64,8c	70,4c	69,6c
	800	86,8b	85,2b	76,3b	80,2b	78,0b	82,5b	79,4b
	1000	93,5a	94,0a	84,6a	88,3a	86,5a	91,4a	92,8a
$Ca(OH)_2$	200	44,6e	46,2e	43,5e	42,1e	45,6e	40,7e	43,8e
	400	57,5d	55,9d	57,2d	58,6d	59,3d	56,5d	54,3d
	600	72,8c	70,9c	68,7c	70,0c	70,4c	71,6c	69,6c
	800	82,5b	83,9b	80,6b	82,1b	82,2b	84,8b	80,9b
	1000	98,8a	97,5a	90,5a	90,0a	93,6a	95,5a	92,6a
CaO	200	35,4e	37,0e	41,8e	44,0e	42,3e	45,5e	26,7e
	400	53,6d	51,6d	55,6d	58,2d	60,2d	57,8d	40,3d
	600	67,8c	65,8c	64,7c	67,4c	69,0c	66,4c	54,8c
	800	81,8b	79,3b	74,6b	77,8b	75,5b	78,4b	68,4b

**Zemmouri et al. J. Appl. Biosci. 2015 Effet de différents sels de calcium in vitro et in vivo sur le développement des champignons de post-récolte du melon**

	1000	89,5a	93,4a	82,8a	86,4a	85,3a	89,5a	83,0a
<b>CaSO<sub>4</sub>, 2H<sub>2</sub>O</b>	200	14,2e	16,4e	8,3e	9,6d	6,8d	5,5d	6,8e
	400	26,0d	22,7d	16,0d	17,8c	19,0c	19,4c	15,4d
	600	33,5c	34,0c	22,8c	25,7b	24,2b	29,0b	22,6c
	800	44,7b	41,8b	30,7b	34,6a	36,2a	40,2a	30,2b
	1000	49,8a	52,3a	38,3a	33,3a	36,3a	40,7a	39,4a
<b>Ca(ClO)<sub>2</sub></b>	200	6,0d	5,6e	3,5d	3,7c	3,0d	4,0c	3,3d
	400	7,8d	8,2d	3,6d	4,5c	3,8d	4,0c	5,6c
	600	10,3c	12,0c	5,2c	6,4b	5,5c	6,8b	8,0b
	800	13,7b	14,2b	7,8b	7,0b	8,4b	6,4b	8,4b
	1000	16,5a	19,3a	11,7a	10,0a	13,3a	10,4a	13,5a

Pour chaque isolat et chaque sel, deux résultats lus sur une même colonne diffèrent significativement au seuil de 5 % s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

**Tableau 6 :** Cl<sub>50</sub> et Cl<sub>90</sub> (ppm) de la germination des champignons testés en présence de sels de calcium

Sels de calcium	Champignons													
	A1		A2		A3		A4		F1		F2		Tr	
	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>	Cl <sub>50</sub>	Cl <sub>90</sub>
<b>Hydroxye</b>	346	>10 00	281	>10 00	267	>10 00	293	911	283	759	278	852	285	>10 00
<b>Sulfate</b>	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00
<b>Silicate</b>	312	>10 00	283	>10 00	331	>10 00	259	>10 00	228	925	249	968	291	>10 00
<b>Oxyde</b>	297	>10 00	274	>10 00	274	>10 00	271	>10 00	323	>10 00	326	>10 00	446	>10 00
<b>Hypochlo rite</b>	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00	>10 00

Les résultats relatifs à l'action des sels de calcium sur l'évolution *in vivo* des pourritures causées par *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* et *Trichothecium roseum* sont représentés dans les Tableaux 7, 8 et 9. Le développement de la pourriture provoquée par tous les champignons testés, aussi bien superficielle qu'à l'intérieur du fruit, a été efficacement inhibé *in vivo* par le silicate de calcium, l'hydroxyde de calcium et l'oxyde

de calcium. L'hydroxyde de calcium permet de réduire jusqu'à 86% et 85% de diamètre des pourritures superficielles au niveau des points équatoriaux provoquées respectivement par *Trichothecium roseum* sur les fruits de melon Cantaloup et Galia. De même, ce sel a pu inhiber de 65 % à 80% le développement des pourritures superficielles sur le pédoncule de Galia et de 68 % à 78 % sur Cantaloup.

**Tableau 7 :** Effet *in vivo* de silicate de calcium sur le développement des pourritures de melon causées par les différents champignons testés

	Pourriture superficielle				Profondeur des pourritures			
	Points équatoriaux		Pédoncule		Points équatoriaux		pédoncule	
	Φ (mm)	Pi (%)	Φ (mm)	Pi (%)	Prf (mm)	Pi (%)	Prf (mm)	Pi (%)
<b>Cantaloup Cléo</b>								
F2	18,8		19,6		22,7		20,0	
A4	19,6		21,3		23,5		18,0	
Tr	25,0		22,4		20,8		23,6	



**Zemmouri et al. J. Appl. Biosci. 2015 Effet de différents sels de calcium in vitro et in vivo sur le développement des champignons de post-récolte du melon**

F2+ Ca <sub>2</sub> SiO <sub>4</sub>	5,6	70b	5,8	70b	8,0	65b	6,7	67a
A4+ Ca <sub>2</sub> SiO <sub>4</sub>	6,3	68b	7,6	64c	6,4	73a	7,0	61b
Tr+ Ca <sub>2</sub> SiO <sub>4</sub>	4,8	81a	6,0	73a	6,8	67b	7,7	67a
<b>Galia LAVI</b>								
F2	20,3		20,6		25,2		19,7	
A4	17,7		17,0		12,0		11,4	
Tr	26,8		24,5		18,5		20,0	
F2+ Ca <sub>2</sub> SiO <sub>4</sub>	5,8	71b	8,5	59a	5,5	78a	4,7	76a
A4+ Ca <sub>2</sub> SiO <sub>4</sub>	6,0	66c	8,2	52b	5,0	58b	4,0	65c
Tr+ Ca <sub>2</sub> SiO <sub>4</sub>	6,0	78a	6,6	73c	8,0	57b	5,6	72b

Pour chaque variété, Deux résultats lus sur une même colonne diffèrent significativement au seuil de 5 % s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

**Tableau 8 :** Effet *in vivo* d'hydroxyde de calcium sur le développement des pourritures de melon causées par les différents champignons testés

	Pourriture superficielle				Profondeur des pourritures			
	Points équatoriaux		Pédoncule		Points équatoriaux		pédoncule	
	Φ (mm)	Pi (%)	Φ (mm)	Pi (%)	Prf (mm)	Pi (%)	Prf (mm)	Pi (%)
<b>Cantaloup Cléo</b>								
F2	18,8		19,6		22,7		20,0	
A4	19,6		21,3		23,5		18,0	
Tr	25,0		22,4		20,8		23,6	
F2+ Ca(OH) <sub>2</sub>	3,8	80b	4,8	75b	5,0	78b	3,7	81a
A4+ Ca(OH) <sub>2</sub>	4,0	79b	6,8	68c	3,6	85a	3,0	83a
Tr+ Ca(OH) <sub>2</sub>	3,5	86a	5,0	78a	5,0	76b	5,5	77b
<b>Galia LAVI</b>								
F2	20,3		20,6		25,2		19,7	
A4	17,7		17,0		12,0		11,4	
Tr	26,8		24,5		18,5		20,0	
F2+ Ca(OH) <sub>2</sub>	3,2	84a	6,5	68b	2,3	91a	3,2	84a
A4+ Ca(OH) <sub>2</sub>	4,0	77b	6,0	65c	3,8	68c	3,5	69c
Tr+ Ca(OH) <sub>2</sub>	4,0	85a	4,8	80a	5,3	71b	4,2	79b

Pour chaque variété, Deux résultats lus sur une même colonne diffèrent significativement au seuil de 5 % s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

**Tableau 9 :** Effet *in vivo* d'oxyde de calcium sur le développement des pourritures de melon causées par les différents champignons testés

	Pourriture superficielle				Profondeur des pourritures			
	Points équatoriaux		Pédoncule		Points équatoriaux		pédoncule	
	Φ (mm)	Pi (%)	Φ (mm)	Pi (%)	Prf (mm)	Pi (%)	Prf (mm)	Pi (%)
<b>Cantaloup Cléo</b>								
F2	18,8		19,6		22,7		20,0	
A4	19,6		21,3		23,5		18,0	
Tr	25,0		22,4		20,8		23,6	
F2+ CaO	7,4	60c	8,0	59b	9,6	58b	7,8	61a
A4+ CaO	7,0	64b	10,4	51c	8,3	65a	7,0	61a
Tr+ CaO	6,5	74a	8,5	62a	9,7	53c	8,8	63a

<b>Galia LAVI</b>								
F2	20,3		20,6		25,2		19,7	
A4	17,7		17,0		12,0		11,4	
Tr	26,8		24,5		18,5		20,0	
F2+ CaO	6,6	67b	9,3	55b	7,5	70a	6,7	66a
A4+ CaO	7,3	59c	8,0	53b	6,0	50c	5,2	54c
Tr+ CaO	6,8	75a	10,2	58a	8,4	55b	8,6	57b

Pour chaque variété, Deux résultats lus sur une même colonne diffèrent significativement au seuil de 5 % s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

Les pourritures en profondeur à l'intérieur du fruit causées par *F. oxysporum*, *A. alternata* et *Trichothecium roseum* sont réduites de façon significative par l'hydroxyde, silicate et l'oxyde de calcium au niveau des zones équatoriales et le pédoncule. Les pourcentages d'inhibition de l'hydroxyde de calcium au niveau des points équatoriaux sont supérieurs à 71% et atteignent 91 %

#### DISCUSSION ET CONCLUSION

Le silicate, l'hydroxyde et l'oxyde de calcium s'avèrent très efficace sur les trois stades de cycle de vie des isolats de *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* et de *Trichothecium roseum*. Selmaoui (1999) a rapporté que ces sels de calcium sont très efficaces dans l'inhibition de la croissance mycélienne, la production des conidies et la germination d'*Alternaria alternata*, *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Trichothecium roseum* et *Fusarium avenaceum* responsables des pourritures des pommes en conservation. *Allantophomopsis cytisporae*, *A. lycopodina*, *Coleophoma empetri*, *Fusicoccum putrefaciens* et *Phyalospora vaccini*, champignons responsables des pourritures des canneberges, sont très sensibles à l'action du silicate, l'hydroxyde et l'oxyde de calcium (Blodgett, 2002). Ces derniers ont pu inhiber aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* de manière importante *Monilia fructicola*, responsable de la moniliose des pêches (Biggs et al., 1997). Ils sont utiles dans l'inhibition de la pourriture racinaire noire des carottes causée par *Chalara elegans* (Punja et Gaye, 1993). En présence du sulfate de calcium, la croissance mycélienne, la production des conidies et la germination des champignons testés sont sensiblement affectées. Des résultats similaires ont été signalés par Selmaoui (1999). Ce dernier a montré que ce sel de calcium présente une efficacité moyenne ou faible vis-à-vis des trois stades de cycle de vie des champignons testés. L'hypochlorite de calcium n'a montré aucune action contre tous les espèces fongiques testées. Ces

sur la variété Galia contre l'isolat F2 de *F. oxysporum* et atteignent 85 % sur Cantaloup contre l'isolat A4 d'*A. alternata*. Ce produit réduit aussi au niveau du pédoncule la pourriture en profondeur causée par *F. oxysporum*, *A. alternata* et *T. roseum*. L'inhibition atteint 84 % contre *F. oxysporum* sur le cultivar de melon Galia et 83 % contre *A. alternata*.

résultats rejoignent ceux de Biggs et al. (1994) qui ont signalé que l'hypochlorite de calcium est inefficace contre la pourriture de la pêche causée par *Leucostoma personii*. *In vivo*, le silicate, l'hydroxyde et l'oxyde de calcium se sont avérés très efficaces dans l'inhibition des agents pathogènes fongiques testés. Des résultats similaires ont été obtenus par Conway (1982) et Conway et Sams (1983). Ces auteurs ont rapporté que la pourriture des pommes causée par *Penicillium expansum* peut être réduite par le trempage des fruits dans une solution contenant l'hydroxyde, l'oxyde ou le silicate de calcium après la récolte. Selmaoui (1999) a signalé que ces produits ont pu diminuer ou inhiber totalement l'évolution des pourritures des pommes causées par *Alternaria alternata*, *Trichothecium roseum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp. et *Fusarium avenaceum*. Les ions Ca<sup>2+</sup> peuvent diminuer l'activité enzymatique des champignons en formant des cations avec les acides pectiques constituant ainsi une muraille de cellules résistantes à la dégradation par les enzymes fongiques (Conway et al., 1987). Pour Köhle et al. (1985), les ions Ca<sup>2+</sup> stimuleraient probablement la synthèse de phytoalexines et/ou de phénols. La fermeté et la résistance au ramollissement peut être augmenté par trempage dans des solution contenant le calcium, en raison de la stabilisation des systèmes membranaires et la formation de pectate de calcium qui augmente par la suite la rigidité de la paroi cellulaire et retarde l'activité du polygalacturonase (Poovaiah, 1986). Le

calcium est considéré comme un élément minéral important qui maintient la qualité et la fermeté des fruits et permet une diminution de la pourriture de post-récolte et l'incidence des troubles physiologiques (Lurie, 2009). D'un autre côté, Martin-Diana et al. (2007) ont rapporté que le traitement par le calcium, en trempant les fruits dans des solutions de calcium, peut améliorer leur qualité nutritionnelle durant la conservation et accroître la durée de leur vie en maintenant leur fermeté. Il permet aussi de réduire le taux de la respiration et de la production d'éthylène, de retarder la maturation des fruits, de réduire la carie et le

brunissement et d'atténuer les dégâts dus au froid. De même, Rao et al. (2011) ont signalé que le traitement du poivron par le CaCl<sub>2</sub> permet de retarder la maturation, de prolonger la durée de vie et d'améliorer la qualité de leur conservation, tout en conservant la qualité nutritionnelle. Les résultats satisfaisants de cette étude permettront de suggérer l'utilisation des sels de calcium qui présentent un effet inhibitrice contre les pathogènes responsables des pourritures du melon en post-récolte, avant l'entreposage, en raison de son efficacité contre les maladies d'origine fongiques.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aharoni Y., Fallik E., Copel A., Gil M., Grinberg S. et Klein J.D. 1997. Sodium bicarbonate reduces postharvest decay development on melons. *Postharv. Biol. Technol.*, 10(3), 201-206.
- Bi Y. et Wang C.L. 1987. Post-harvest disease of Muskmelons. *Chinese Fruit and Vegetables*, 1, 22-24.
- Bi Y., Tian S.P., Guo Y.R., Ge Y.H. et Qin G.Z. 2006. Sodium silicate reduces postharvest decay on Hami melons: Induced resistance and fungistatic effects. *Plant Dis.*, 90(3), 279-283.
- Bi Y., Tian S.P., Liu H.X., Zhao J., Cao J.K., Li Y.C. et Zhang W.Y. 2003. Effect of temperature on chilling injury, decay and quality of Hami melon during storage. *Post-harvest Biol. Technol.*, 29, 229-232.
- Biggs A.R., El-Kholi M.M. et El-Neshawy S.M. 1994. Effect of calcium salts on growth, pectic enzyme activity, and colonization of Peach twigs by *Leucostoma persoonii*. *Plant Dis.*, 78(9), 886-890.
- Biggs A.R., El-Kholi M.M., El-Neshawy S. et Nickerson R. 1997. Effects of calcium salts on growth, polygalacturonase activity and infection of peach fruit by *Monilia fructicola*. *Plant Dis.*, 81(4), 399-403.
- Blodgett A.B., Caldwell R.W. et McManus P.S. 2002. Effects of calcium salts on the cranberry fruit rot disease complex. *Plant Dis.*, 86(6), 747-752.
- Bokshi A.I. 2008. Postharvest disease control of melons using systemic resistance and other. PhD. Univ. Sydney, Fac. Agric., Food Nat. Resources, 255 p.
- Bokshi A.I., Morris S.C. et McConchie R. 2007. Environmentally-safe control of postharvest diseases of melons (*Cucumis melo*) by integrating heat treatment, safe chemicals, and systemic acquired resistance. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 35(2), 179-186.
- Carter W.W. 1981. Post harvest treatment for control stem-scar, rind, and decay fungi on cantaloup. *Plant Dis.*, 65(10), 815-816.
- Carter W.W. 1981. Re-evaluation of heated water dip as a postharvest treatment for controlling surface and decay fungi of muskmelon fruits. *HortScience*, 16(3), 334-335.
- Conway W.S. 1982. Effect of postharvest calcium treatment on decay of Delicious apples. *Plant Dis.*, 66(5), 402-403.
- Conway W.S. et Sams C.E. 1983. Calcium infiltration of Golden Delicious apples and its effect on decay. *Phytopathology*, 73(7), 1068-1071.
- Conway W.S., Gross K.C. et Sam C.E. 1987. Relationship of bound calcium and inoculum concentration to the effect of post-harvest calcium treatment on decay of apples by *Penicillium expansum*. *Plant Dis.*, 71(1), 78-80.
- El Ouafi H. 2009. Melon Le Maroc, 12ème exportateur mondial. *Agric. Maghreb*, (38), 3p.
- FAOSTAT. 2013. database, Statistics division, Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
- Huang Y., Deverall B.J., Tang W.H., Wang W. et Wu F.W. 2000. Foliar application of acibenzolar-S-methyl and protection of postharvest rock melons and Hami melons from disease. *European Journal of Plant Pathology*, 106, 651-656.

- Köhle H., Jeblick W., Poten F., Blaschek W. et Kauss H. 1985. Chitosan-elicited callose synthesis in soybean cells as a  $\text{Ca}^{2+}$  dependent process. *Plant Physiol.*, 77, 544-551.
- Lurie S. 2009. Stress physiology and latent damage. In: Florkowski, W.J., Shewfelt, R.L., Brueckner, B., Prussia, S.E. (Eds.), *Postharvest Handling: A Systems Approach*. Academic Press, 443-459.
- Martin-Diana A.B., Rico D., Frias J.M., Barat J.M., Henehan G.T.M. et Barry-Ryan C. 2007. Calcium for extending the shelf life of fresh whole and minimally processed fruits and vegetables: a review. *Trend Food Sci. Technol.*, 18, 210-218.
- Morris S.C. et Wade N.L. 1983. Control of postharvest disease in Cantaloups by treatment with guazatine and benomyl. *Plant Dis.*, 67(7), 792-794.
- Poovaliah B.W. 1986. Role of Ca in prolonging the storage life of fruits and vegetables. *Food Technol.*, 40, 86-89.
- Puia C.E., Popovici E.J. et Viorel F. 2003. The evolution of the fitosanitary status of the stored apples in natural conditions. *J. Central Eur. Agric.*, 4(4), 319-326.
- Punja Z.K. et Gaye M.M. 1993. Influence of postharvest handling practices and dip treatments on development of black root rot on fresh market carrots. *Plant Dis.*, 77(10), 989-995.
- Rao T.V.R., Gol N.B. et Shah K.K. 2011. Effect of postharvest treatments and storage temperatures on the quality and shelf life of sweet pepper (*Capsicum annum* L.). *Sci. Hortic.*, 132, 18-26.
- Selmaoui K. 1999. Étude d'un complexe fongique responsable de la pourriture des pommes en conservation. Application de quelques moyens de lutte chimique. Thèse Doctorat, Univ. Ibn Tofail, Fac. Sci. Kénitra, Maroc, 175 p.
- Shika A. et Doug W. 2001. Melons: Manipulation et entreposage après la récolte. Département des sciences végétales, université de la Saskatchewan, 46, 35-41.
- Smilanick J.L., Margosan D.A., Mlikota F., Usall J. et Michael I.F. 1999. Control of citrus green mold by carbonate and bicarbonate salts and the influence of commercial postharvest practices on their efficacy. *Plant Dis.*, 83(2), 139-145. <http://www.mtco.org/doc/Mexico1.psd.pdf>
- Swinburne T.R. 1983. Quiescent infections in postharvest diseases. In Dennis (C.) (Ed.), *Post-harvest pathology of fruits and vegetables*. London: Academic Press, pp. 1-22 (xi, 264 p.).
- Terao D., Oliveira S.M.A., Viana F.M.P., Rossetti A.G. et Souza C.C.M. 2006. Integração de fungicidas à refrigeração no controle de podridão em frutos de meloeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 31, 089-093.
- Troncoso-Rojas R., Corral-Acosta Y., Sánchez-Estrada A., Garcia-Estrada R., Aguilar-Valenzuela A., Ojeda-Contreras J. et Tiznado-Hernández M.E. 2009. Postharvest treatment of isothiocyanates to control *Alternaria* rot in netted melon. *Phytoparasitica*, 37(5), 445-451.
- Zemmouri F., El Mhadri M., Selmaoui K., Benkirane R., Ouazzani Touhami A., Badoc A. et Douira A. 2011. Effet de sels de calcium sur les pourritures du melon en post-récolte. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 150(1-4), 107-122.