

Bioforsk Rapport

Vol. 2 Nr. 34 2007

Kartlegging av *Phytophthora ramorum* i 2006

María-Luz Herrero, Brita Toppe, Sonja S. Klemsdal og Arild Sletten
Bioforsk Plantehelse





Hovedkontor
Frederik A. Dahls vei 20,
1432 Ås
Tlf: 03 246
Fax: 63 00 92 10
post@bioforsk.no

Bioforsk Plantehelse
Høgskolevein 7
1432 Ås
Tlf: 03 246
Faks: 64946110
plantehelse@bioforsk.no

<i>Tittel/Title:</i> Kartlegging av <i>Phytophthora ramorum</i> i 2006			
<i>Forfatter(e)/Autor(s):</i> María Luz Herrero, Brita Toppe, Sonja S. Klemsdal og Arild Sletten			
<i>Dato/Date:</i> 28.02.07	<i>Tilgjengelighet/Availability:</i> Lukket	<i>Prosjekt nr./Project No.:</i> 1110077	<i>Arkiv nr./Archive No.:</i> 2006-251
<i>Rapport nr./Report No.:</i> 34/2007	<i>ISBN-nr.:</i>	<i>Antall sider/Number of pages:</i> 16	<i>Antall vedlegg/Number of appendix:</i> 1
<i>Oppdragsgiver/Employer:</i> Mattilsynet		<i>Kontaktperson/Contact person:</i> Randi Knudsen	
<i>Stikkord/Keywords:</i> Rhododendron, viburnum, RT-PCR Rhododendron, viburnum, RT-PCR		<i>Fagområde/Field of work:</i> Plantehelse Plant Protection	
<i>Sammendrag</i> <p>I 2006 ble patogenet <i>Phytophthora ramorum</i> påvist i planteprøver fra til sammen 39 lokaliteter i Norge. Av disse, var 23 hagesenter, 6 planteskoler, 6 parker og 4 private hager. I tillegg ble det påvist i 7 importsendinger. Påvisningene i gartnerier ble hovedsakelig gjort på rhododendron. Det ble gjort en påvisning på syrin i et hagesenter og en på krossved i en importsending. <i>P. ramorum</i> ble igjen funnet på utearealer i Bergensområdet, på tre av de lokaliteter hvor det ble gjort påvisning i 2005, og på to nye lokaliteter. Alle funn i Bergen var på etablerte planter av rhododendron eller krossved. Det er også påvist <i>P. ramorum</i> i parker og private hager i Akershus og Møre og Romsdal. I disse to fylkene er patogenet bare funnet på rhododendron plantet våren 2006.</p> <p>Diagnose ved bruk av den molekylære teknikken RT-PCR er utprøvd og ble med tilfredstillende resultat brukt på mange prøver i 2006. Mattilsynet har begynt å prøve et serologisk "pre-screening" kit som kan brukes i felten. Resultatene til nå virker lovende, men det er behov for mer erfaring med et større prøvetall før den kan anbefales.</p>			
<i>Summary:</i> <p>In 2006 <i>Phytophthora ramorum</i> was detected in samples from a total of 39 locations. From these, 23 were garden centres, 6 nurseries, 6 parks and 4 private gardens. <i>P. ramorum</i> was also detected in 7 import shipments. Most of the detections in nurseries were on rhododendron. There was one detection on lilac from a garden centre and one on <i>Viburnum sp.</i> from an import shipment. <i>P. ramorum</i> was detected again in Bergen at 3 of the same locations where it was detected in 2005, and at 2 new locations. All detections in Bergen were on well-established plants of rhododendron or <i>Viburnum</i>. <i>P. ramorum</i> was also detected in parks or private gardens in the counties of Akershus and Møre and Romsdal. In these two counties the pathogen was only found in young rhododendrons, planted in the spring 2006.</p> <p>The identification method RT-PCR was tested and used for analysing most of the samples in 2006. Norwegian Food Safety Authority has started to test a serological kit for pre-screening of samples that can be used in the field. The results were promising, but too few samples were tested.</p>			

Godkjent / Approved

Prosjektleder/Project leader

Arild Sletten

María Luz Herrero

Innhold

1.	Sammendrag	2
2.	Innledning	3
3.	Metoder	4
4.	Gjennomføring og resultater	5
5.	Konklusjoner	15
6.	Referanser	16

1. Sammendrag

I 2006 ble patogenet *Phytophthora ramorum* påvist i planteprøver fra til sammen 39 lokaliteter i Norge. Av disse, var 23 hagesenter, 6 planteskoler, 6 parker og 4 private hager. I tillegg ble det påvist i 7 importsendinger. Påvisningene i gartnerier ble hovedsakelig gjort på rhododendron. Det ble gjort en påvisning på syrin i et hagesenter og en på krossved i en importsending. *P. ramorum* ble igjen funnet på utearealer i Bergensområdet, på tre av de lokaliteter hvor det ble gjort påvisning i 2005, og på to nye lokaliteter. Alle funn i Bergen var på etablerte planter av rhododendron eller krossved. Det er også påvist *P. ramorum* i parker og private hager i Akershus og Møre og Romsdal. I disse to fylkene er patogenet bare funnet på rhododendron plantet våren 2006.

Diagnose ved bruk av den molekylære teknikken RT-PCR er utprøvd og ble med tilfredstillende resultat brukt på mange prøver i 2006. Mattilsynet har begynt å prøve et serologisk "pre-screening" kit som kan brukes i felten. Resultatene til nå virker lovende, men det er behov for mer erfaring med et større prøvetall før den kan anbefales.

2. Innledning

Denne rapporten omhandler arbeidet Bioforsk Plantehelsetilstand har utført for Mattilsynet i forbindelse med

- OK-programmet "Kartlegging av *Phytophthora ramorum*",
- analyser av prøver fra importkontroll og produksjonskontroll,
- metodeutvikling i hht. forvaltningsstøtteavtalen

Skadegjøreres lovmessige status

Phytophthora ramorum er fortsatt å betrakte som en potensiell karanteneskadegjører i Norge.

Forskrift om tiltak mot *P. ramorum*" (FOR-2003-03-17-341) (http://www.lovdatabasen.no/cgi-wift/wiztldles?doc=/usr/www/lovdatabasen/for/sf/ld/ld-20030317-0341.html&emne=ramorum*&) er fastsatt med hjemmel i Matloven og i Forskrift om planter og tiltak planteskadegjørere §§ 6 og 40.

Bakgrunn/historikk

Siden midten av 90-årene har *P. ramorum* forårsaket stor utgang av amerikanske arter av eik i kystområder i California og sørlige deler av Oregon. Utgangen av trær fikk epidemiske dimensjoner. Årsaken til sykdommen var ukjent, og sykdommen ble kalt Sudden Oak Death (SOD). Først i 2000 ble det klart at problemene i de californiske skogene var forårsaket av en *Phytophthora sp.* Det dreide seg om en art som var kjent i Europa siden 1993 (Herrero og Sletten, 2005). I Europa var arten kjent som et problem i planteskoler hvor de mest utsatte slektene var rhododendron (*Rhododendrum spp*) og krossved (*Viburnum spp*). Etter at årsaken til epidemien i California var klarlagt, har *P. ramorum* vært vurdert som en potensiell karanteneskadegjører også i Europa. EU-kommisjonen (2002, 2004) har iverksatt tiltak mot sykdommen. Det er videre satt i gang omfattende undersøkelser for å kartlegge utbredelse og vurderinger av konsekvenser ved etablering av patogenet i Europa. Et omfattende prosjekt ble iverksatt i 2004 i regi av EU-kommisjonen for å utarbeide en felles risikoanalyse for Europa, forkortet RAPRA (<http://rapra.csl.gov.uk/>).

I årenes løp er patogenet påvist på en rekke vertsplanter i mange europeiske land (http://www.eppo.org/QUARANTINE/Alert_List/fungi/maps/PHYTRA_map.htm). Det er funnet mest i planteskoler, men i flere tilfeller i parker og etter hvert også i skog. I Europa har det forårsaket utgang av bøk og amerikanske arter av eik, men patogenet har ikke utviklet seg til epidemisk nivå. Liste over europeiske og amerikanske vertsplanter kan finnes på http://nature.berkeley.edu/comtf/html/host_plant_lists.html

I Norge ble *P. ramorum* påvist første gang høsten/førjulsvinteren 2002. Etter det har patogenet vært påvist hvert eneste år i planteskoler og hagesenter over store deler av landet. Det er mest funnet på rhododendron. I 2005 ble det for første gang funnet i etablerte planter av rhododendron og krossved i private hager og parker (Herrero *et al.*, 2006)

Hensikt med programmene

Undersøkelser for å kartlegge utbredelsen av patogenet i Norge er gjennomført i perioden 2003 - 2006. En risikovurdering for Norge ble utarbeidet i 2004. Undersøkelsene har bidratt med data til det europeiske prosjektet RAPRA. I de to første årene ble det lagt stor vekt på å studere situasjonen i planteskoler og hagesentre. I de to siste årene har man i tillegg økt fokus på kontroll av importsendinger, og det er gjort undersøkelser av etablering i utearealer. Studier av kryssningstyper i Norge og potensielle vertsplanter ble foretatt i 2005. En studie av utviklingen av patogenet i en infisert park ble påbegynt i 2006.

En stor del av ressursene, spesielt i 2005 og 2006, har vært brukt til å etablere raske og pålitelige metoder for påvisning og identifikasjon av patogenet.

3. Metoder

Geografiske områder som er undersøkt og type bedrifter

Prøver fra planteskoler og hagesentre i alle fylker fra Sør-Trøndelag og sørover, unntatt Sogn og Fjordane, er analysert i 2006. En prøve fra et parti rhododendron, importert av en planteskole i Troms, er også undersøkt. Dette er det nordligste funn av *P. ramorum* i Norge. Bioforsk har videre mottatt prøver fra parker og private hager i Hordaland, Rogaland, Oslo, Akershus, Vest-Agder, Aust-Agder, Østfold, Vestfold, Møre og Romsdal, Sør-Trøndelag og Nord-Trøndelag.

Metodikk for prøveuttak

Prøveuttak er hovedsakelig foretatt av inspektører i Mattilsynet. Et mindre antall prøver er tatt ut av ansatte i Bioforsk. Prøvene har i hovedsak bestått av overjordiske plantedeler (blad, greiner, kvister) med symptomer på sykdom (bladflekker, visning). På grunn av anvendelse av en svært følsom analysemetodikk, har Bioforsk anbefalt bruk av engangshansker ved prøveuttak, rengjøring av redskap og ekstrem forsiktighet for å forhindre krysskontaminering. Prøvene er i hovedsak sendt med post til analyse hos Bioforsk Plantehelset.

Analysemetoder

Følgende metoder for påvisning og identifikasjon har vært utprøvd: (Herrero, et. al 2005).

- Isolering på kunstige dyrkingsmedia,
- Vanlig PCR (Polymerase Chain Reaction)
- RT-PCR (Real Time PCR).

Alle metodene brukes, med små variasjoner, slik som de er beskrevet i EPPOs protokoller (EPPO, 2006)

Agn-test for jordprøver ble testet i 2005 (Herrero, 2005; EPPO,2006): Denne metoden har vært anvendt også i 2006.

En serologisk metode for feltbruk for "pre-screening" fra Central Science Laboratory (York, GB) er prøvd av inspektørene i Mattilsynet.

4. Gjennomføring og resultater

4.1 Kartlegging 2006

Resultatene av prøvene analysert av Bioforsk Plantehelsetilstand i 2006 er angitt i tabellene 1-2

Tabell 1. Totalt antall analyserte prøver og påvisninger av *P. ramorum* i 2006

	Antall prøver	<i>P. ramorum</i> påvist
Planteskoler, hagesentre	339	60
Parker, grøntanlegg, private hager	137	30
Import	74	9
Oppfølgingsundersøkelse Gamlehaugen, se kap 4.3	18	14
Total	468	113

Bioforsk mottok 218 prøver merket "OK program"

Tabell 2: Kartlegging av *P. ramorum* i planteskoler, hagesentre, parker og grøntanlegg i 2006.

	Antall lokaliteter	<i>P. ramorum</i> påvist
Planteskoler, hagesentre	64	29
Parker, grøntanlegg, private hager	29	10
Total	93	39

Det totale antall lokaliteter som er undersøkt er høyere enn det som er angitt i tabellen. Tabellen angir bare det antall lokaliteter hvor det er tatt ut og sendt inn prøver for analyse.

Importprøver er tatt ut i 43 importsendinger. I syv av sendingene ble *P. ramorum* påvist.

Påvisninger i planteskoler og hagesentre

Alle påvisninger, med ett unntak, ble gjort på rhododendron. Unntaket gjelder syrin. Dette er en ny vertsplante i Norge. Påvisningen ble gjort med RT-PCR. Det var ikke mulig å isolere patogenet. Syrinplanten kom fra et hagesenter med mange påvisning på rhododendron.

Påvisninger i parker og grøntanlegg

Det er funnet *P. ramorum* i offentlige parker og private hager i Bergensområdet (Hordaland), Hvitsten (Akershus) og Vestnes (Møre og Romsdal). *P. ramorum* ble påvist i Stavanger i 2005, men ikke i 2006.

Bergen

Alle påvisninger av *P. ramorum* i Bergensområdet er gjort på godt etablerte planter.

Det er gjort en påvisning på krossved i en privat hage og en påvisning på krossved i den Botaniske hagen (Arboret) på Milde (Bilde 1). Den private hagen ligger i nærheten av den Botaniske hagen, men betraktes likevel som en ny lokalitet.

Det er også gjort funn på rhododendron i tre av de samme lokaliteter som i 2005 (Nygårdsparken, Gamlehaugen og Lille Lungegårdsvann) og i en ny lokalitet (Fana kirke).

Hvitsten

Det er påvist *P. ramorum* i 2 private hager og i en privat park åpen for publikum. Alle funn er gjort på unge rhododendron, importert og plantet i 2006.

Vestnes

P. ramorum ble påvist høsten 2006 på rhododendron plantet våren samme år (Bilde 2).



Bilde 1. Krossved (*Viburnum x bodnantense*) angrepet av *P. ramorum*. Godt etablerte planter av krossved visner og dør etter angrep av *P. ramorum* (Foto: Brita Toppe)

Bilde 2. Ung plante av rhododendron angrepet av *P. ramorum*. Sterkt angrep ved basis av planta har forårsaket visning. (Foto: Sissel V. Lillebjerka. Mattilsynet)



Påvisninger i importsendinger

P. ramorum ble påvist i 6 rhododendronprøver (Bilde 3).

I tillegg ble det gjort en positiv påvisning på krossved. Plantene hadde flekker på bladplaten (Bilde 4)



Bilde 3. Blad av rhododendron fra importsendinger angrepet av *P. ramorum* (Foto: María L. Herrero)



Bilde 4. Blad av krossvedplanter fra en importsending angrepet av *P. ramorum* (Foto: María L. Herrero)

Kartlegging av *P.ramorum* i 2006

- Planteskoler og hagesenter
- Parker og privatehager

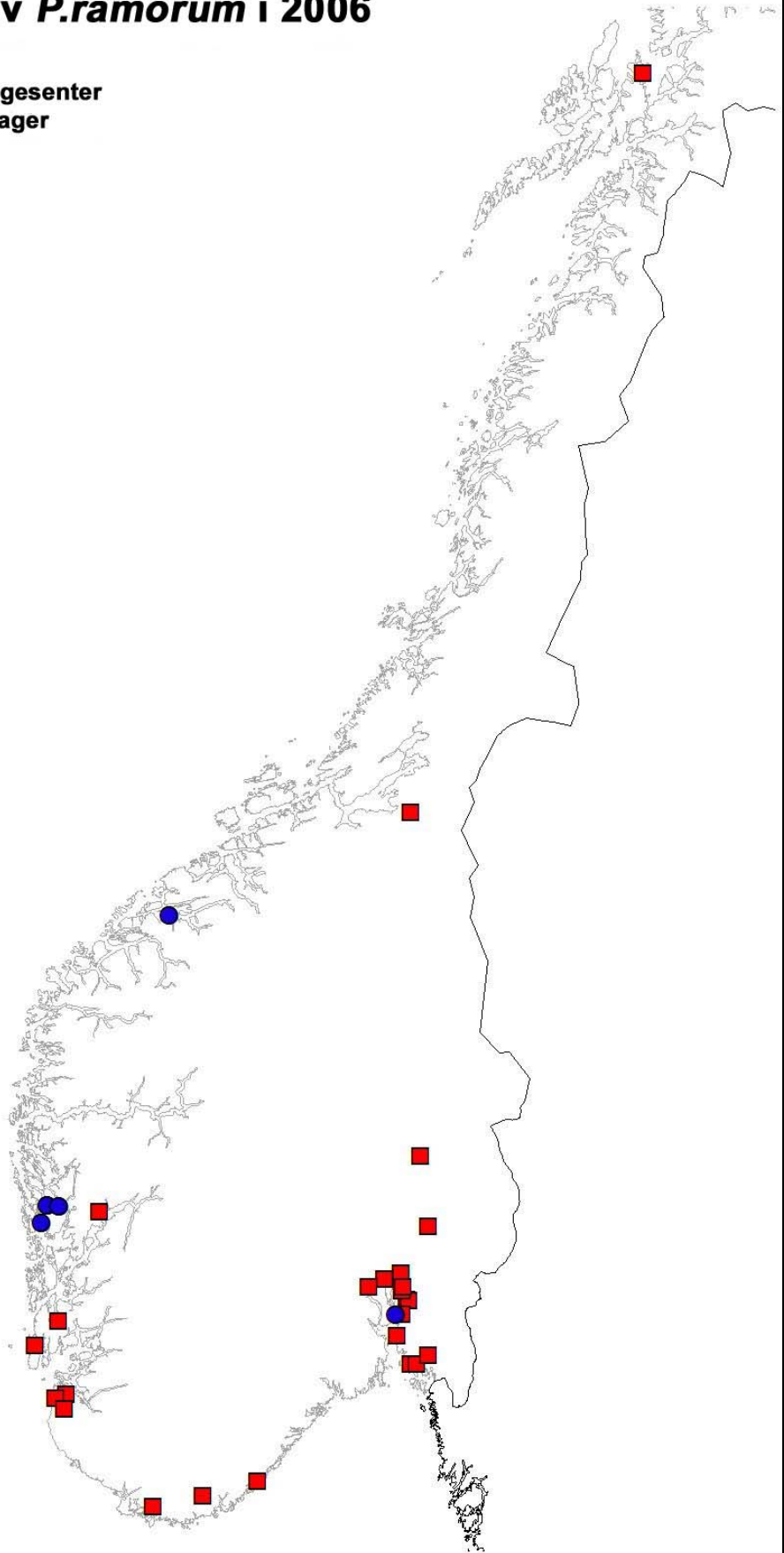


Fig 1. Lokalteter med påvisning av *P. ramorum* i 2006 (inkludert importkontroller)

4.2. Sammenligning med tidligere års resultater

I tabellene 3 og 4 sammenlignes resultatene fra 2006 med tidligere års resultater. Lokalteter hvor *P. ramorum* er påvist i 2004 og 2005 framgår av figurene 2 og 3. På 16 av de lokalitetene som er undersøkt i perioden 2004 - 2006 er *P. ramorum* påvist minst 2 ganger (fig. 4).

Tabell 3. Undersøkelser for *P. ramorum* 2002-2006

	2002	2003	2004	2005	2006
Totalt antall prøver undersøkt	1	21	155	456	468
Antall positive prøver	1	2	59	115	113
Antall hagesentre og planteskoler undersøkt*	1	(10)	102	(0)	(64)
Antall hagesentre og planteskoler med positive prøver	1	2	27	31	29
Antall parker og private hager undersøkt*	0	1	4	12	(29)
Antall parker og private hager med positive prøver	0	0	2	7	10
Totalt antall lokaliteter undersøkt*	1	(11)	106	(0)	(93)
Totalt antall lokaliteter med positive prøver	1	2	29	38	39
Antall analyserte prøver fra importsendinger	0	0	0	46	43
Antall positive prøver fra importsendinger	0	0	0	5	7

* Tallene for 2004 omfatter alle lokaliteter undersøkt, inkludert inspeksjon uten prøvetaking. Tallene for 2003, 2005 og 2006 (i parentes) angir bare lokaliteter som det er tatt ut prøver fra.

Tabell 4. Vertsplanter som har vært angrepet av *P. ramorum* i Norge

	Vertsplanter	
	Planteskoler, hagesenter	Parker, private hager
2002	rhododendron	
2003	rhododendron	
2004	rhododendron, pieris (1), kalmia(1)	
2005	rhododendron	rhododendron, krossved (1)
2006	rhododendron, syrin(1), krossved(1)	rhododendron, krossved(2)

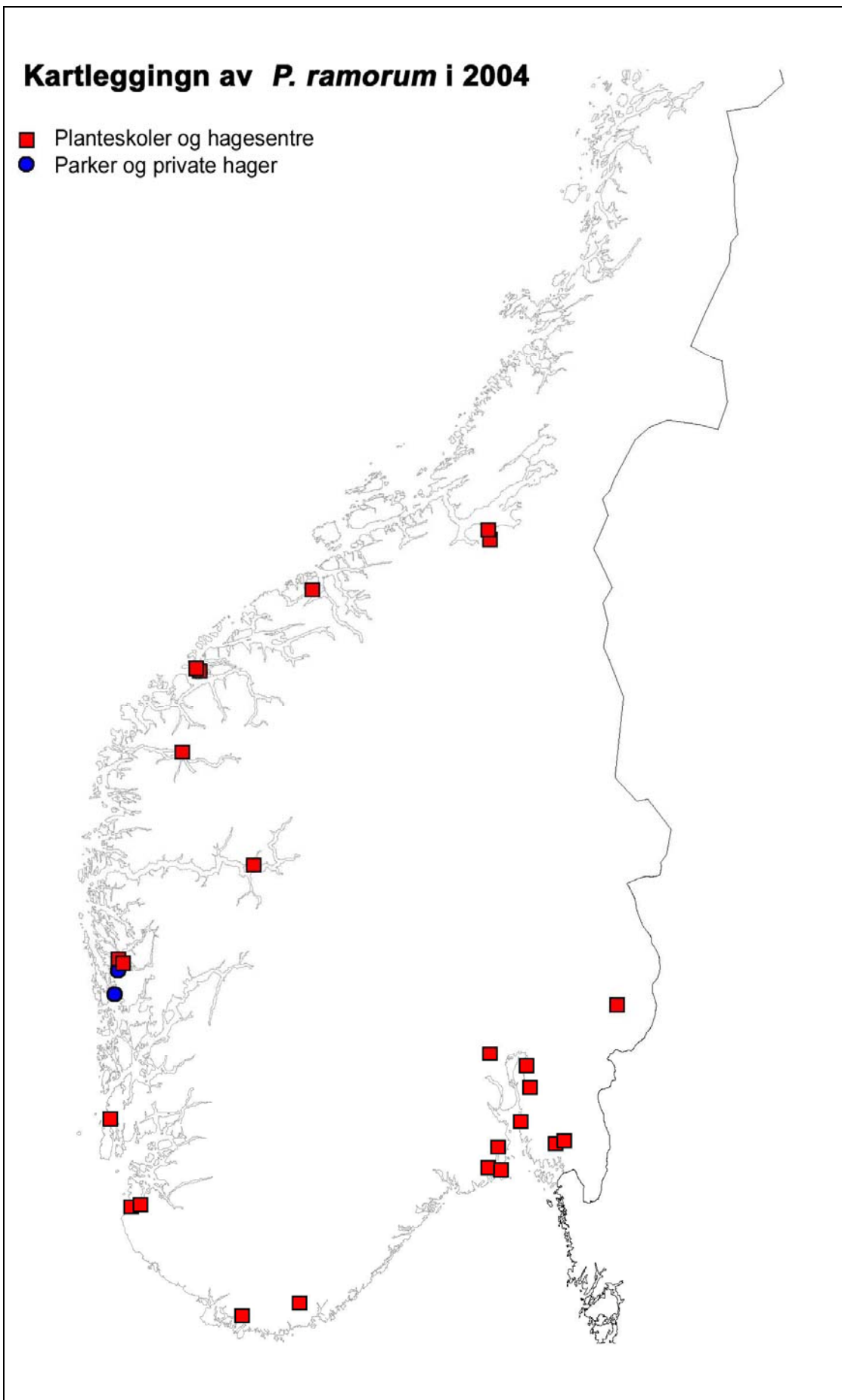


Fig 2. Lokalteter med påvisning av *P. ramorum* i 2004

Kartlegging av *P. ramorum* i 2005

- Planteskoler og hagesentre
- Parker og private hager

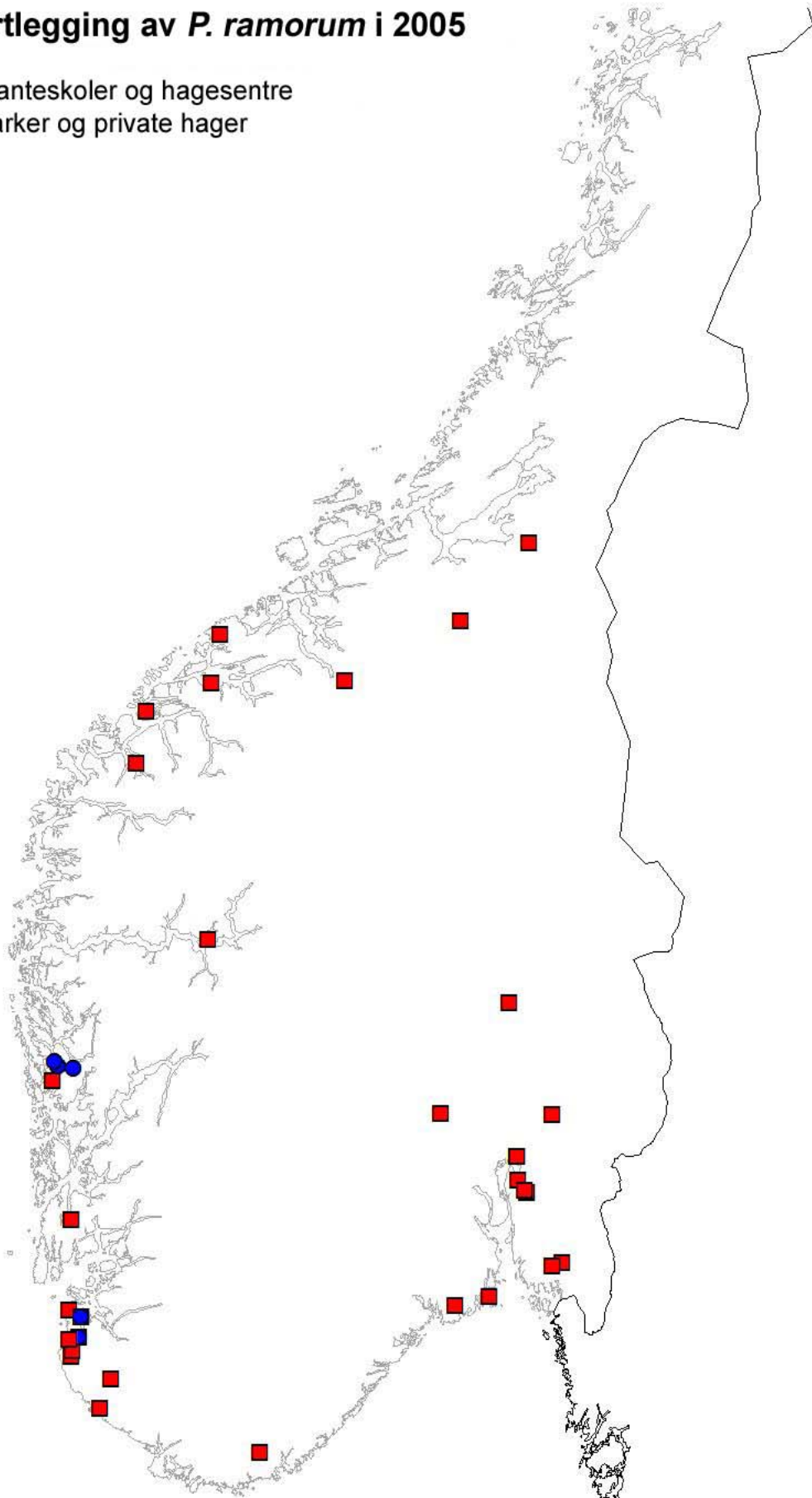


Fig 3. Lokalteter med påvisning av *P. ramorum* i 2005 (inkludert importkontroller)

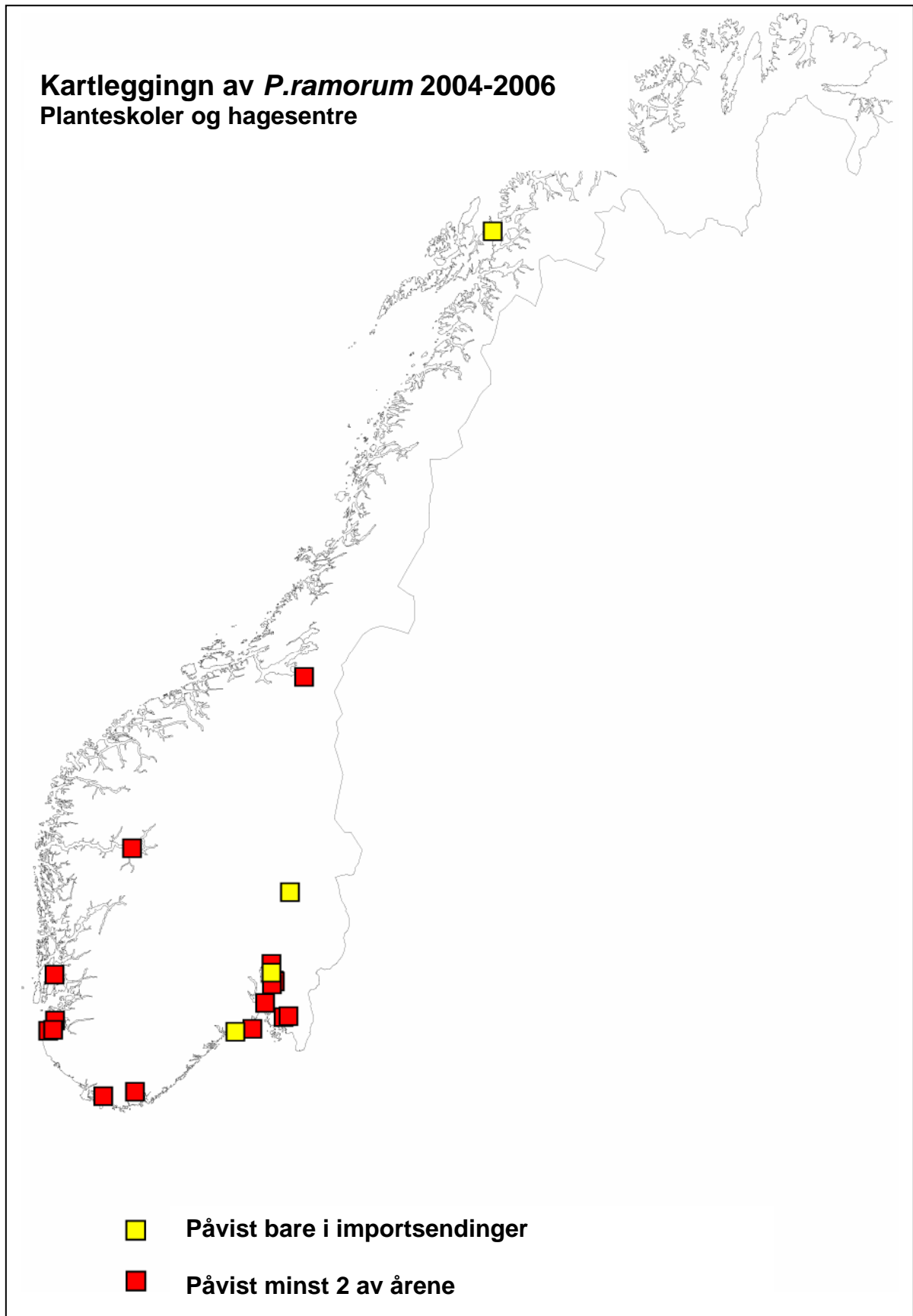


Fig 3. Lokalteter med påvisning av *P. ramorum*

4.3 Metodeutvikling for påvisning/identifikasjon

I 2006 har den DNA- baserte metodikken RT-PCR og den serologisk metoden "Phytophthora detection kit" for feltbruk vært utprøvd.

4.3.1. RT-PCR

Den DNA baserte metodikken RT-PCR er utprøvd. Testen er basert på TaqMan®-PCR protokollen fra CSL-UK (Central Science Laboratory). Den er beskrevet i EPPO Standard PM 7/65 (EPPO, 2006). Metoden er rask og pålitelig. RT-PCR er utviklet for å kunne brukes som en kvantitativ metode. Den er ikke utprøvd med dette formål i Bioforsk, men resultatene kan gi en indikasjon av mengden patogen i prøver. Metoden har vært brukt på de fleste prøvene i år. Fordi metoden er veldig følsom, er det en viss fare for å påvise forurensinger og ta dem for svake infeksjoner. Prøvetaking, prøvesending og laboratoriearbeidet må gjøres ekstra forsiktig for å unngå kryssforurensing. Positive prøver med verdier nær grenseverdiene vil, på grunnlag av de erfaringer som er gjort og i overensstemmelse med anbefaling av EPPO, bli analysert flere ganger. Vedaktige prøver av krossved er vanskelige å jobbe med, uansett metodikk. Det er lett å få falske negativer.

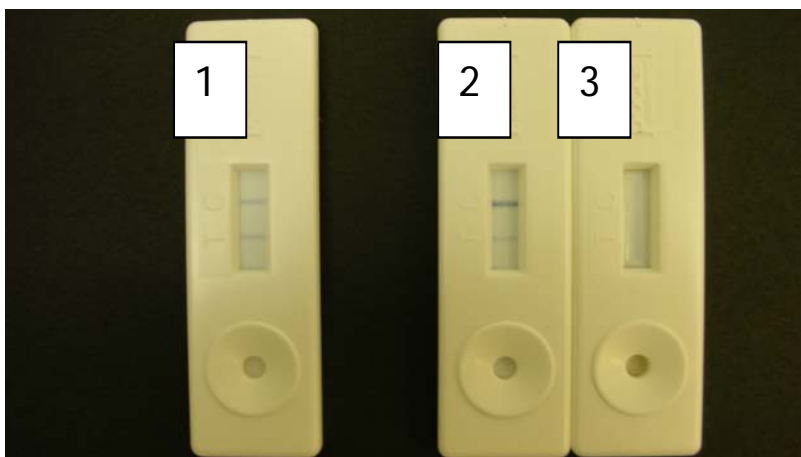
4.3.2 Phytophthora detection - kit

Phytophthora kit er en rask og lettbrukelig serologisk metode for å teste prøver i felten. Den kan påvise *Phytophthora*, men kan ikke skille mellom *Phytophthora*-arter. Phytophthora detection kit (CSL-UK) ble innkjøpt av Mattilsynet og brukt av inspektørene. Bioforsk mottok 18 prøver analysert med Phytophthora- kit. Alle disse prøvene ble analysert ved PCR eller isolering i Bioforsk. Prøvene som ble analysert med PCR og var negative, ble deretter analysert med isolering for å utelukke at andre *Phytophthora* spp. var tilstede. Resultatene kan sees i tabell 5 (flere detaljer i vedlegg 1)

Tabell 5: Resultater av testing med Phytophthora-kit

	Positiv	Tvilsom	Negativ
Vurdering foretatt av innsender	4	3	11
Positiv med isolering eller PCR	3 (1 <i>P.ramorum</i> . 2 <i>Phytophthora</i> sp.)	2 (1 <i>P.ramorum</i> 1 <i>Phytophthora</i> sp.)	1

Blant de innsendte prøvene var en falsk positiv og en falsk negativ. Vurdering av resultater fra slike tester forutsetter en viss erfaring. Det ble også gjort et mindre antall tester med Phytophthora- kit i laboratoriet (Bilde 5). I et tilfelle uteble kontrollbånd, derved måtte resultatet forkastes. Ved anvendelse av testen må alle prøvene hvor det er den minste tvil knyttet til resultatet, sendes til videre undersøkelse. For å være sikker på at metodikken er pålitelig som pre-screening hadde det vært ønskelig å teste flere prøver. Testen anbefales ikke bruk på vedaktige plantedeler.



Bilde 5. "Phytophthora detection kit" tester i laboratoriet. 1. Rent isolat av *P.ramorum*; 2. Infisert plante; 3. Mislykket test av infisert plante (ingen bånd, heller ikke kontrollbånd).

4.4 Undersøkelse på Gamlehaugen

I 2005 ble *P. ramorum* funnet på rhododendron på Gamlehaugen i Bergen. Et mindre areal av parken, hvor sykdommen syntes å ha forårsaket mest skader, ble gjerdet inn. Rhododendronplantene i dette feltet var gamle med tykke stammer og greiner. Alle plantene ble skåret kraftig tilbake for å fjerne mest mulige syke greiner. Bladavfall ble ryddet vekk.

I 2006 ble utviklingen av sykdommen i felte overvåket. *P. ramorum* ble påvist allerede i slutten av juni på nye unge skudd (Bilde 6). Patogenet ble igjen påvist i august og i september. I alt 4 forskjellige *Phytophthora*-arter ble påvist, men med stor overvekt av *P. ramorum*. Patogenet var godt spredt over hele området. *P. ramorum* ble også påvist i 4 jordprøver tatt i området. Det er ikke klart om primære infeksjoner startet fra jord eller fra symptomfrie deler av planter, eller begge deler. Sterk tilbakeskjæring av rhododendron har ikke medvirket til utrydning av patogenet.

De andre *Phytophthora* spp. som ble påvist var: *P. cactorum*, *P. citricola* og *P. inflata*. Av totalt 18 prøver analysert fra den inngjerdede arealet var det mulig å påvise *P. ramorum* i 14 prøver.



Bilde 6. Visning av et nytt skudd av rhododendron forårsaket av *P. ramorum*. (Foto: María L. Herrero)

5. Konklusjoner

Det er også i 2006 påvist *P. ramorum* flere importertsendinger. Dette forsterker inntrykket av at patogenet fra tid til annen følger importsendinger av visse planteslag.

Påvisninger har kun vært mulig fra planter med tydelige symptomer. Det har også i 2006 vært tilfeller hvor patogenet ikke har latt seg påvise i importfasen, men hvor det er påvist på plantene senere i sesongen. I slike tilfeller er det vanskelig å avgjøre om plantene var infiserte ved ankomst eller om infeksjonen har funnet sted i Norge. I noen tilfeller har det imidlertid vært sterke indisier på at partier har vært smittet ved ankomst.

P. ramorum er påvist i mange planteskoler og hagesentre. Dette tyder på at patogenet fortsetter å spre seg i Norge via infiserte planter. I flere virksomheter har man hatt gjentatte påvisninger, på tross av de tiltak som måtte være iverksatt.

P. ramorum er i Bergensområdet funnet på etablerte planter, både på gamle og nye lokaliteter. Utenom Vestlandet er ikke patogenet påvist på etablerte planter.

Tre identifikasjons metoder er utprøvd og brukes ved påvisning og identifikasjon av *P. ramorum*. I 2006 er RT-PCR ferdig utprøvd og har ved Bioforsk PlanteHelse etter hvert erstattet vanlig PCR som diagnosemetode. RT-PCR er raskere, mer følsom og mer pålitelig enn vanlig PCR. Bruk av RT-PCR stiller strengere krav til prøvetaking og behandling av prøver for å unngå krysskontaminering. "Phytophthora detection- kit" kan være aktuell som en "pre-screening" test. Men mer omfattende utprøving er nødvendig før testen tas i alminnelig bruk.

6. Referanser

- EPP0 (2006). *Phytophthora ramorum*. EPPO Bulletin 36 (1), 145–155.
doi: 10.1111/j.1365-2338.2006.00927.x <http://www.blackwell-synergy.com/doi/full/10.1111/j.1365-2338.2006.00927.x>
- EU (2002) Commission Decision 2002/757/EC of 19 September 2002 on provisional emergency phytosanitary measures to prevent the introduction into and the spread within the Community of *Phytophthora ramorum*. Official Journal of the European Union L189, 27.5.2004, 1-3.
- EU (2004) Corrigendum to Commission Decision 2004/426/EC of 29 April 2004 on provisional emergency phytosanitary measures to prevent the introduction into and the spread within the community of *Phytophthora ramorum*. Official Journal of the European Union L252, 20.9.2002, 37.
- Herrero, M.L., B. Toppe, B. og A. Sletten (2006). Kartlegging og påvisning av *Phytophthora ramorum* i 2005. Bioforsk rapport 1(18)
- Herrero, M.L. og A. Sletten (2005). *Phytophthora ramorum*. Grønn kunnskap 9 (12): 100-107

