

דו"ח מדעי מסכם לתכנית 13-0392-362

טיפולים בגפת זיתים לשיפור ערכה התזונתי והבריאותי למעלי גירה על ידי פטריית

Pleurotus המאכל

Using the edible fungus Pleurotus to improve the health and nutritive benefits of olive pomace for ruminants

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

אריאל שבתאי מינהל המחקר החקלאי נוה יער E-mail: shabtay@volcani.agri.gov.il
זהר כרם הפקולטה לחקלאות רחובות E-mail: zohar.kerem@mail.huji.ac.il
יצחק הדר הפקולטה לחקלאות רחובות E-mail: yizhak.hadar@mail.huji.ac.il

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים : לא!

חתימת החוקר

תקציר

נכון להיום, עיקר הפסולת המוצקה של בתי הבד הוא בגדר משאב טבעי לא מנוצל. מדובר בפסולת חקלאית בעלת תכולה גבוהה של ליגנין, פוליפנולים ושעוות, ובשל כך מהווה בעיה סביבתית ממעלה ראשונה. אולם, בשל אחוז השמן הגבוה והתרכובות הייחודיות המסיסות בו קיימת מוטיבציה לטייבו להזנת מעלי גירה. בניסויי אופטימיזציה קודמים של גידול הפטרייה Pleurotus על גפת זית למדנו על הפוטנציאל של הפטרייה Pleurotus מזן F6 לפרק את המרכיב הליגנולולוזי של הגפת. למדנו כי לפטרייה נגישות לניצול השמן שבגפת כמקור פחמן ואנרגיה זמין, תוך דחייה של פרוק הליגנין לשלב מאוחר יותר. יחד עם זאת, תוך פרק זמן קצר יחסית, חלה ירידה מובהקת בכמות הפנולים שבגפת, מה שמעיד על הקטנה משמעותית בפוטנציאל הרעילות שלה לפלורת הכרס של מעלי גירה. מאחר ורמת הליגנין בכל הגפתות שנסקרו לא עלתה על 15%, המטרה הגלובלית של המחקר הייתה לקצר משך ולהביא לאופטימיזציה של תנאי הפרמנטציה של הפטרייה Pleurotus בכדי להשיג מירב הפירוק של מרכיבים רעילים ומיעוט פגיעה בערכים חיוביים בגפת, קרי שמן והתרכובות המסיסות בו, כדי לטייב את הגפת להזנת מעלי גירה. התוצאה תהיה גפת עתירת אנרגיה, בעלת נעילות גבוהה, לא רעילה ועם תכולה גבוהה

של חומרים בריאים. לשם כך, נקטנו בשתי אסטרטגיות, קיצור משך הפרמנטציה ואיתור זנים חסרי פעילות ליפאז.

בתכנית המחקר הבסיסית (10-0262-362) התמקדנו במקסום יעילות הטיפול בגפת ע"י קיצור משמעותי בתקופת הפרמנטציה, כך שיתבצע בעיקר פירוק הפנולים הרעילים, המהווה כנראה פאזה ראשונה של התבססות הפטרייה במצע. בשנת המחקר השנייה סרקנו פטריות מפרקות ליגנין מהסוג *Pleurotus* כדי לבחון כאלה החסרות פעילות חוץ תאית של ליפאז, או בעלות קינטיקה מושהית של טרנספורט וניצול השמן. בעוד N001 התגלתה כפטרייה הגדלה ביעילות על הגפת ומפרקת פוליפנולים, *P. pulmonarius* נמצאה כלא פחות יעילה בפירוק פוליפנולים, אך כחסרת פעילות ליפאז, מה שעשוי להפוך אותה לקנדידט בטיוב הגפת. מעניין לציין כי למרות פרוק הליגנין והפנולים בגפת ע"י הפטריות, לא חל שיפור בנעכלות שלה. לפיכך, בשנת המחקר השלישית המשכנו לחדד את ההבדלים בין *P. pulmonarius* ו N001, בתקופות גידול העולות על 10 ימים, כדי לבחור את הטובה משתיהן לטיוב הגפת להזנת מעלי גירה. לאור היחס הטוב יותר שבין פירוק הפנולים (הפחתת הטוקסיות) ושרידות השמן, בחרנו להמשיך עם *P. pulmonarius* לתסיסה של גפת בקנה מידה גדול שיאפשר ניסויי הזנה במעלי גירה קטנים. העמקנו את ידיעותינו בתהליך המתועש, אך לצערנו בשל כשלים טכניים, בשני ניסויים בלתי תלויים לא הצלחנו להגיע לגפת מטופלת ראויה להזנה. אם בשלושת השנים הראשונות התמקדנו בקינטיקת הגידול על הגפת ובאיפיון הפעילות של פטרייה חסרת פעילות ליפאז, בשנת המחקר הנוספת שהוקצתה לנו ע"י המדען הראשי, בחרנו לבחון את טיוב הגפת תוך שימוש בפטרייה מוטנטית (OE51) שהונדסה לפעילות מוגברת של האנזים לאקאז. התוצאות המובאות בדו"ח זה מתארות את ההשפעה על מרכיבי הגפת במונחים תזונתיים למעלי גירה, כאשר שתי הפטריות גודלו עליה למשך 10 ו 21 יום. בתקופת הגידול של 10 ימים – OE51 נמצאה יעילה יותר בפרוק דופן התא והליגנין, השתמשה פחות בשמן כמקור אנרגיה ופחמן, וכתוצאה מכך שיפרה את נעכלות הגפת יחסית לפטריית המקור PC9. יחד עם זאת, הגם שהנעכלות השתפרה לאחר 21 ימי גידול, אחוז ה NDF עלה וריכוז השמן בגפת ירד, גם במקרה של OE51. יתכן שהפטרייה עצמה מוסיפה NDF במחיר של ניצול פחמן ואנרגיה זמינים מהשמן. בתנאים אלה, יתכן כי 10 ימי תסיסה של הפטרייה OE51 הם פרק זמן מתקבל על הדעת לטיוב הגפת להזנת מעלי גירה.

מבוא

תעשיית שמן הזית בארץ מייצרת, ע"פ דיווחים של מועצת הזית, כ 25000 טון פסולת חקלאית מימית (עיקר) וכ 12000 טון פסולת חקלאית מוצקה (גפת). פסולת חקלאית זו הינה בעלת תכולה גבוהה של ליגנין, פוליפנולים ושעוות, ובשל כך מהווה בעיה סביבתית ממעלה ראשונה. הפסולת המוצקה יכולה להיות מתועלת להסקה, ובמגבלות כמותיות, להזנת בעלי חיים או קומפוסטציה. אולם, נכון להיום, עיקר הפסולת המוצקה של בתי הבד הוא בגדר משאב טבעי לא מנוצל. בהעדר פתרון מחזורי ישים לגפת הזיתים, יש סיכון ממשי לפגיעה באיכות האוויר, אם כתוצאה ממטרדי ריח ואם כתוצאה של זיהום אויר בשל שימוש לא מבוקר בגפת להסקה. בנוסף, קיימת סכנה חמורה לזיהום מקורות המים העיליים ולפגיעה באיכות הקרקע. לגפת הזיתים פוטנציאל הזנתי

גדול בהזנת בקר בשל תכולת הסיבים והאנרגיה שבה, אולם התכולה הגבוהה של ליגנין, פוליפנולים ושעוות מגבילה את השימוש בה למעלי גירה ללא טיפול מקדים.

בנוסף לפוטנציאל התזונתי ונוגד החמצון של גפת הזיתים, הנובע בעיקר מתכולת חומצות השומן, החלבון, הפוליפנולים וויטמין E, קיימים בגפת חומרים כמו Squalene (Sq) ו- β -sitosterol, בעלי פעילות ביולוגית ייחודית. בין יתר הפעילויות המיוחדות ל-Sq ניתן למנות מניעת חמצון של חומצות שומן, פעילות אנטי-סרטנית והורדת רמות הכולסטרול והטריגליצרידים. הפעילות האחרונה משותפת גם ל- β -sitosterol.

חומרים נוגדי חמצון ידועים בהשפעתם המיטיבה על מניעה והקטנה של התפתחות מחלות בבקר בפרט וביונקים בכלל. כך למשל, הוספת ויטמין E למנה של עגלי פיטום הורידה את מקרי התחלואה של עגלים בדלקות ריאות (תחלואה שמסבה בארץ הפסדים שנתיים של כ-35 מיליון ₪ למגדלים) ביותר מ-20%, תוך שיפור ביצועי הגדילה שלהם. כאמור, גפת הזיתים עשירה בחומרים בעלי ערך תזונתי שלילי (antinutrients). כדי לשפר את ערכה התזונתי למעלי גירה, תוך שמירה על התכונות הבריאותיות שלה, הצענו לטפל בה באמצעות פטריית הלבן (*Pleurotus*).

לשימוש ב-*Pleurotus* יש כמה יתרונות מוכחים: (1) היא פטריית מאכל (2) גדלה על מגוון רחב של פסולות חקלאיות (3) מפרקת ליגנין, צלולוז והמיצלולוז לרכיבים מסויסים שהיא קולטת (4) מנטרלת את הרעילות של תרכובות פנוליות שהגפת עשירה בהם.

במהלך שנת 2008 ערכנו ניסויי אופטימיזציה של גידול הפטרייה *Pleurotus* על גפת זית משלושה מקורות שונים שמטרתם הייתה לבחון את הפוטנציאל של הגפת לשמש מקור מזון אנרגטי ובריאותי למעלי גירה. למדנו על הפוטנציאל של הפטרייה *Pleurotus* מזן F6 לפרק את המרכיב הליגנוליטי של הגפת. אולם, הכמות הנכבדה של שמן שקיימת בגפת והנגישות של הפטרייה אל השמן כמקור פחמן ואנרגיה זמין דחתה את פרוק הליגנין לשלב מאוחר יותר. יחד עם זאת, תוך פרק זמן קצר יחסית, חלה ירידה מובהקת בכמות הפנולים שבגפת, מה שמעיד על הקטנה משמעותית ברעילות שלה. מאחר ורמת הליגנין בגפתות שנבדקו לא עלתה על 15%, אחת המסקנות החשובות שעולה מהמחקר הקודם היא כי אפשרי וכנראה כדאי, להשתמש בפטרייה לנטרל את הרעילות של הפנולים, אך בד בבד גם להפחית את יכולתה לפרק את מרכיבי השמן.

פטרייה שכזאת תשמר את ערכה האנרגטי של הגפת, ואת תכולת ויטמין E, Sq ו- β -sitosterol. התוצאה תהיה גפת עתירת אנרגיה, בעלת נעכלות גבוהה, לא רעילה ועם תכולה גבוהה של חומרים בריאים. בשנות המחקר 2010-2012 התמקדנו בקיצור תקופת הפרמנטציה והשלכותיה על פירוק הפנולים, ובסריקת פטריות חסרות פעילות של ליפאז, או בעלות קינטיקה מושהית של ניצול השמן. בשנת המחקר הנוספת שאושרה לנו, בחרנו לבחון פעילויות שונות המעידות על טיוב הגפת ע"י המוטנט OE51 (מקורו בפטרייה PC9). נבחנו: נעכלות החומר האורגני, פרוק השמן, ריכוז ליגנין NDF ו-ADF.

מטרת המחקר:

לימוד היכולות של הפטרייה OE51 לטייב גפת זיתים להזנת מעלי גירה

שיטות וחומרים

הפטרייה OE51 ופטריית המקור PC9 שימשו אותנו במחקר הנוכחי. בפטרייה המוטנטית, הגן mnp4 המקודד ל VP, שוחרר מהדיכוי שלו ע"י שימוש בפרומוטר קונסטיטוטיבי, מה שיצר ביטוי ביתר של mnp4, אחד מהפרוקסידזות החוץ תאיות שבנוכחות מנגן אחראיות לפרוק חומרים בעלי טבעות ארומטיות וליגנין. גפת הזיתים הוכנסה לשקיות ועוקרה באוטוקלב. אינוקולום של הפטריות נזרע על הגפת (חמש חזרות לכל גפת) והשקיות הודגרו ב 28°C למשך 10, או 21 ימים. תכולת שקיות הביקורת (ללא הדגרה ב 28°C), והשקיות לאחר ההדגרה בזמנים הנקובים מעלה, יובשה בהקפאה או ב- 60°C , ותוכן השקית נטחן ושימש לאנליזות כימיות של חומר יבש, חומר אורגני, ליגנין, שומן (מיצוי אתר), (ADF, NDF, ונעכלות חומר אורגני (AOAC, 1990; Aharoni et al., 2004; NRC, 2001) מבחני one-way analysis of variance (ANOVA) ו Bonferroni's posthoc test ($P < 0.05$) שמשו לקביעת ההבדלים בין הטיפולים עבור כל אחד מהמשתנים הנבחים.

תוצאות

השפעת גידול הפטרייה על תכולת הגפת

לאור תוצאות המחקר המקדים ב 2008, אשר הראו כי הפטרייה מפרקת את השמן קודם שהיא מפרקת את הליגנין, הצבענו בהצעת המחקר העוקבת על שני אופקי מחקר רציונאליים, קיצור משך הפרמנטציה של הפטרייה על הגפת וסריקה של זני פטרייה למציאת פטרייה בעלת פעילות ליפאז נמוכה. ואכן, התמקדנו בקיצור משך ואופטימיזציה של תנאי הפרמנטציה של הפטרייה *Pleurotus ostreatus*, בכדי להשיג מירב הפירוק של מרכיבים רעילים ומיעוט פגיעה בערכים חיוביים. בהתאם לכך, גודלה הפטרייה על הגפת למשך 5 ו-7 ימים. למדנו בפרקי זמן קצרים אלה של גידול הפטרייה על הגפת על קצב גידולה, הפרשת האנזים לקאז ופירוק התרכובות הפנוליות בגפת, הפרשת האנזים ליפאז ואחוז השמן שנשאר בגפת, ועל נוכחותם בגפת של חומרים בעלי פעילות ביולוגית ייחודית. בהמשך, סרקנו פטריות מפרקות ליגנין מהסוג *Pleurotus* כדי לבחון כאלה החסרות פעילות חוץ תאית של ליפאז, או בעלות קינטיקה מושהית של טרנספורט וניצול השמן. בעוד N001 התגלתה כפטרייה הגדלה ביעילות על הגפת ומפרקת פוליפנולים, P. pulmonarius נמצאה כלא פחות יעילה בפירוק פוליפנולים, אך כחסרת פעילות ליפאז, מה שעשוי להפוך אותה לקנדידט בטיוב הגפת. מעניין לציין כי למרות פרוק הליגנין והפנולים בגפת ע"י הפטריות, לא חל שיפור בנעכלות שלה. לפיכך, בשנת המחקר העוקבת המשכנו לחדד את ההבדלים בין P. pulmonarius ו N001, בתקופות גידול העולות על 10 ימים, כדי לבחור את הטובה משתיהן לטיוב הגפת להזנת מעלי גירה. לאור היחס הטוב יותר שבין פירוק הפנולים (הפחתת הטוקסיות) ושרידות השמן, בחרנו להמשיך עם P. pulmonarius לתסיסה של גפת בקנה מידה גדול שיאפשר ניסויי הזנה במעלי גירה קטנים. בפרק זה של המחקר בחרנו באסטרטגיה נוספת – השוואה בין הפטרייה PC9 שנמצאה כבעלת פעילות ליפאז נמוכה יחסית בשלבי הגידול הקצרים, לבין מוטנט שנשנה על בסיסה OE51 עם פעילות לאקאז מוגברת. המחשבה הייתה

שפעילות לאקאז מוגברת תביא לפרוק מסיבי יותר של דופן התא והפנולים, עם פגיעה נמוכה יותר בשמן וכתוצאה מכך תוביל לשיפור הנעכלות.

התוצאות המובאות בטבלאות 1 ו 2 מתארות את ההשפעה על מרכיבי הגפת במונחים תזונתיים למעלי גירה כאשר שתי הפטריות גודלו עליה למשך 10 ו 21 יום, בהתאמה. ניתן לראות כי ההשערה אומתה בתקופת הגידול של 10 ימים – OE51 הייתה יעילה יותר בפרוק דופן התא והליגנין, השתמשה פחות בשמן כמקור אנרגיה ופחמן, וכתוצאה מכך שיפרה את נעכלות הגפת יחסית לפטריית המקור PC9. יחד עם זאת, הגם שהנעכלות משתפרת לאחר 21 ימי גידול, עולה אחוז ה NDF ויורד ריכוז השמן בגפת גם ב OE51. יתכן שהפטרייה עצמה מוסיפה NDF במחיר של ניצול פחמן ואנרגיה זמינים מהשמן. בתנאים אלה, יתכן כי 10 ימי תסיסה של הפטרייה OE51 הם פרק זמן מתקבל על הדעת בטיוב הגפת להזנת מעלי גירה.

טבלה 1: נעכלות החומר האורגני, ריכוז הליגנין ה NDF, ה ADF והשומן כפונקציה של זן הפטרייה שגודלה על הגפת למשך 10 ימים.

פטרייה	נעכלות חומר אורגני (%)	ליגנין (%)	NDF (%)	ADF (%)	Fat (%)
ביקורת (גפת לא מטופלת)	29.2±0.1	25.42±0.87	79.3±0.4	61.8±0.1	12.35±0.3
PC9	31.1±1.8	23.98±1.11	76.5±0.6	61.3±1.1	7.84±2.39
OE51	32.6±1.6	27.01±0.02	74.1±2.6	59.6±0.7	10.28±0.48
מובהקות	P=0.15	P=0.03	P<0.05	P<0.01	P=0.03

טבלה 2: נעכלות החומר האורגני, ריכוז הליגנין ה NDF, ה ADF והשומן כפונקציה של זן הפטרייה שגודלה על הגפת למשך 21 ימים.

פטרייה	נעכלות חומר אורגני (%)	ליגנין (%)	NDF (%)	ADF (%)	Fat (%)
ביקורת (גפת לא מטופלת)	29.2±0.1	27.01±0.02	79.3±0.4	61.8±0.1	12.28±0.3
PC9	29.2±3.3	24.67±1.24	76.2±1.1	61.4±1.4	6.08±0.76
OE51	32.7±2.2	23.98±1.78	76.4±2.6	60.1±0.01	5.79±1.06

מובהקות	P<0.05	P=0.003	P=0.8	P=0.07	P=0.56
---------	--------	---------	-------	--------	--------

ביבליוגרפיה

Abo Omar J. and Gavorit L.(1995). Utilizing olive cake in fattening rations. *Vet. Med.*

Rev. **146**(4): 273-276.

Aerts, R. J., Barry, T. N. and McNabb, W. C. (1999). Polyphenols and agriculture:

beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture Ecosystem &*

environment **75**: 1-12.

Asanuma, N., Iwamoto, M. and Hino, T. (1999). Effect of the addition of fumarate on

methane production by ruminal microorganism in vitro. *J. Dairy Sci.* **82**: 780–787.

Chirase, N. K., Greene, L. W., Purdy, C. W., Loan, R. W., Auvermann, B. W., Parker,

D. B., Walborg, E. F. Jr, Stevenson, D. E., Xu, Y. and Klaunig, J. E. (2004).

Effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum

concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* **65**:

860-864.

Cipriano, J. E., Morrill, J. L., and Anderson, N. V. (1982). Effects of dietary vitamin

E on immune responses of calves. *J. Dairy Sci.* **65**: 2357-2365.

Cohen, R., Persky, L., Hazan-Eitan, Z., Yarden, O. and Hadar, Y. (2002). Mn²⁺ alters

peroxidase profiles and lignin degradation by white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*

under different nutritional and growth conditions. *Appl. Biochem. Biotech.* **102**: 415-

429.

De Leonardis, A., Macciola, V. and De Felice, M. (1998). Rapid determination of squalene in virgin olive oils using gas-liquid chromatography. *It. J. Food Sci.* **1**: 75-80.

Di Gioia, D., Barberio, C., Spagnesi, S., Marchetti, L., Fava, F. (2002). Characterization of four olive-mill-wastewater indigenous bacterial strains capable of aerobically degrading hydroxylated and methoxylated monocyclic aromatic compounds. *Arch. Microbiol.* **178**: 208-217.

Eicher-Pruett, S. D., Morrill, J. L., Blecha, F., Higgins, J. J., Anderson, N. V. and Reddy, P. G. (1992). Neutrophil and lymphocyte response to supplementation with vitamins C and E in young calves. *J. Dairy Sci.* **75**: 1635-1642.

Galyean, M. L., Perino, L. J. and Duff, G. C. (1999). Interaction of cattle health/immunity and nutrition. *J. Anim. Sci.* **77**: 1120-1134.

Hadar, Y., Kerem, Z., Gorodecki, B. and Ardon, O. (1992). Utilization of lignocellulosic waste by the edible mushroom *Pleurotus*. *Biodegradation.* **3**: 189-205.

Hadar, Y., Kerem, Z. and Gorodecki, B. (1993). Biodegradation of lignocellulosic agricultural wastes by *Pleurotus ostreatus*. *J. Biotechnol.* **30**: 133-139.

Hays, V. S., Gill, D. R., Smith, R. A. and Ball, R. L. (1978). The effect of vitamin E supplementation on performance of newly received stocker cattle. *Oklahoma state University Anim. Sci. Res. Report MP-199*: 198-201.

Hutcheson, D. P. and Cole, N. A. (1985). Vitamin E and selenium for yearling feedlot cattle. *Fed Proc.* **44**: 549 (abstract).

Kahn, L. P. and Diaz-Hernandez, A. (2000). Tannins with anthelmintic properties. In: *Tannins in Livestock and Human Nutrition*. Brooker, J.D (Ed).
www.aciar.gov.au/publications/proceedings/92/index.htm

Kerem, Z., Friesem D. and Hadar, Y. (1992). Lignocellulose degradation during solid-state fermentation: *Pleurotus ostreatus* versus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 1121-1127.

Kerem, Z. and Hadar, Y. (1993a). Chemically defined solid-state fermentation of *Pleurotus ostreatus*. *Enzyme Microb. Technol.* **15**: 785-790.

Kerem, Z. and Hadar, Y. (1993b). Effect of manganese on lignin degradation by *Pleurotus ostreatus* during solid-state fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 4115-4120.

Kerem, Z. and Y. Hadar . 1995. Effect of manganese on preferential degradation of lignin by *Pleurotus ostreatus* during solid-state fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**: 3057-3062.

Kohno, Y., Sakamoto, O. and Tomita, K. (1992). Lipid peroxidation on a human skin surface. *J. Act. Oxyg. Free Rad.*, **3**: 331-340.

Kohno, Y., Egawa, Y., Itoh, S., Nagaoka, S., Takahashi, M. and Mukai, K. (1995). Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in *n*-butanol. *Biochim. Biophys. Acta*, **1256**: 52-56.

Manzi, P., Panfili, G., Esti, M. and Pizzoferrato, L. (1998). Natural antioxidants in the unsaponifiable fraction of virgin olive oils from different cultivars. *J. Sci. Food Agric.* **77**: 115-120.

Min, B. R., Attwood, G. T., Reilly, K., Sun, W., Peters, J. S., Barry, T. N. and McNabb, W. C. (2002). Lotus corniculatus condensed tannins decrease in vivo populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. *Can. J. Microbiol.* **48**: 911-921.

Miron, J. (1991). The hydrolysis of lucerne cell wall monosaccharide components by monocultures or pair combinations of defined ruminal bacteria. *Journal of Applied Bacteriology* **70**: 245–252.

Miron, J., Morag, E. A., Bayer, E. A., Lamed, R. and Ben-Ghedalia, D. (1998). An adhesion defective mutant of *Ruminococcus albus* SY3 is impaired in its capability to degrade cellulose. *J. Appl. Microbiol.* **84**: 249–254.

Morgan, D.E. and Trinder H. (1980). The composition and nutritive value of some tropical and subtropical by-products and waste in animal feeding. British society of Animal Production, Publication No. **3**: 91-111.

Nefzaoui, Al, Marchand, S. and Vanbelle, M. (1982). Valorisation de la pulpe d'olive dans L'alimentation des ruminants. Proc. Internat. Col. Tropical Anim. Prod. For the benefit of man Prince Leopold Institute of Tropical Medicine, Anvers, 1982, 309-314.

Nergiz, C. and Unal, K. (1990). The effect of extraction systems on triterpene alcohols and squalene content of virgin olive oil. *Grasas Aceites*. **41**: 117-121.

Pixao, S.M., Mendoca, E., Picado, A., Anselmo, A.M. (1999). Acute toxicity evaluation of olive mill wastewater: a comparative study of three aquatic organisms. *Environ. Toxicol.* **14**: 263-269.

Psomiadou, E. and Tsimidou, M. (1999). On the Role of Squalene in Olive Oil Stability. *J. Agric. Food Chem.* **47**: 4025-4032.

Puchala, R., Min, B. R., Goetsch, A. L. and Sahlu, T. (2005). The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *J. Anim. Sci.* **83**: 182-186.

Rakotoarivonina, H., Jubelin, G., Hebraud, M., Gaillard-Martinie, B., Forano, E. and Mosoni, P. (2002). Adhesion to cellulose of the gram positive bacterium *Ruminococcus albus* involves type IV pili. *Microbiology* **148**: 1871-1878.

Ramos-Cormenzana, A., Monteolivia-Sanchez, M., Lopez, M.J. (1995). Bioremediation of alpechin. *Int. Biodeter. Biodeg.* **35**: 249-268.

Rupic V., Boikov B., Boyac R., Muic S. Vranesic N. and Dikic M. (1999). Effect of feeding olive by-products on certain blood parameters and serum enzyme activities of fattening rabbits. *Acta Veterinaria Hungarica* **47**(1): 65-75.

Sayadi, S., Allouche, N., Jaoua, M., Aloui, F (2000). Detrimental effects of high molecular mass polyphenols on olive mill wastewater biotreatment. *Process Biochem* **35**: 725-735.

Sevgi E, Gonul D, Serpil T.(2007) Isolation of lipase producing *Bacillus* sp. From olive mill wastewater and improving its enzyme activity. *J. Hazard. Mater.* **149**: 720-724.

Shabtay, A., Eitam, H., Tadmor, Y., Orlov, A., Meir, A., Weinberg, P., Weinberg, Z.G., Chen, Y., Brosh, A., Izhaki, I. and Kerem, Z. 2008 Nutritive and antioxidative potential of fresh and stored pomegranate industrial waste as a novel beef cattle feed. *J. Agric. Food Chem.* 56(21):10063-10070.

Shabtay, A., Hadar, Y., Eitam, H., Brosh, A., Orlov, A., Tadmor, Y., Izhaki, I. and Kerem, Z. (2009). The potential of Pleurotus-treated olive mill solid waste as cattle feed. *Bioresour. Technol.* 100: 6457-6464.

Stavroulias, S. and Panayiotou, C. (2005). Determination of Optimum Conditions for the Extraction of Squalene From Olive Pomace with Supercritical CO₂. *Chem. Biochem. Eng. Q.* **19**: 373 –381.

Tabera, J., Guinda, A., Ruiz-Rodriguez, A., Senorans, F. J., Ibanez, E., Albi, T. and Reglero, G. (2004). Countercurrent supercritical fluid extraction and fractionation of

high-added-value compounds from a hexane extract of olive leaves. *J. Agric. Food Chem.* **52**: 4774-4779.

Visioli, F. and Galli, C. (2002). Biological Properties of Olive Oil Phytochemicals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* **42**(3): 209–221.

סיכום עם שאלות מנחות

1. מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה

לימוד היכולות של הפטרייה OE51 לטייב גפת זיתים להזנת מעלי גירה

2. עיקרי הניסויים והתוצאות

התוצאות המובאות בדו"ח זה מתארות את ההשפעה על מרכיבי הגפת במונחים תזונתיים למעלי גירה, כאשר שתי הפטריות גודלו עליה למשך 10 ו 21 יום. בתקופת הגידול של 10 ימים – OE51 נמצאה יעילה יותר בפרוק דופן התא והלינגין, השתמשה פחות בשמן כמקור אנרגיה ופחמן, וכתוצאה מכך שיפרה את נעכלות הגפת יחסית לפטריית המקור PC9. יחד עם זאת, הגם שהנעכלות השתפרה לאחר 21 ימי גידול, אחוז ה NDF עלה וריכוז השמן בגפת ירד, גם במקרה של OE51. יתכן שהפטרייה עצמה מוסיפה NDF במחיר של ניצול פחמן ואנרגיה זמינים מהשמן. בתנאים אלה, יתכן כי 10 ימי תסיסה של הפטרייה OE51 הם פרק זמן מתקבל על הדעת בטיוב הגפת להזנת מעלי גירה.

3. מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת

הדוח ?

א. ניתן להשתמש בפטרייה OE51 בפרמנטציה קצרת טווח (עד 10 ימים) לטיוב הגפת.

ב. יש לבחון דרכים להפחתת NDF שנתרם ע"י גידול הפטרייה.

ג. יש לבחון שילוב הפרמנטציה הקצרה עם מיהול הגפת המטופלת בבלייל כדי לשפר את הנעכלות ולהקטין את הטוקסיות, תוך שימוש בפטרייה OE51.

ד. לבחון האם ניתן לייצר מוטנט דומה ל OE51 כשפטריית המקור היא *P. Pulmonarius* שלה פעילות ליפאז נמוכה יותר משל PC9.

ה. יש לבחון מחדש את התהליך התעשייתי של טיוב הגפת לצורך ניסויי הזנה ע"י שליטה בשינוע ואחסון המזרע, יעילות החיטוי והניקוז של מיכלי הגידול ובחירת המצעים הראשוניים. לאחר אופטימיזציה ראשונית זאת של הגידול התעשייתי, יש לבצע אופטימיזציה של קינטיקת הפרמנטציה (ייתכן שגידול

בקנה מידה מעבדתי יהיה שונה מגידול בקנה מידה גדול). כל התהליך צריך להתבצע עם מזרע של
OE51.

מטרות המחקר לתקופת הדוח הושגו.

4. בעיות שנותרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה ;
התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנותרה לביצוע תוכנית
המחקר ?

א. בחינת יכולת הפטרייה להשיג את התוצאות הנ"ל בקנה מידה תעשייתי.

ב. ניסויי הזנה של עגלים בגפת מטופלת.

מטרות אלה יוכלו להבחן בתכנית מחקר חדשה.

5. הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב - ציטט ביבליוגרפי כמקובל ב פרסום מאמר
מדעי; פטנטים - יש לציין שם ומס' פטנט; הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום, תאריך, ציטוט
ביבליוגרפי של התקציר כמקובל ב פרסום מאמר מדעי

6. פרסום הדוח : אני ממליץ לפרסם את הדוח : (סמן אחת מהאופציות)

רק בספריות

ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)

חסוי – לא לפרסם

עשוי להניב פטנט.