

16/07/12

כ"ו תמוז, תשע"ב

דו"ח מסכם לתוכנית מחקר מס' 430-0256-11

**השהיית נביטה בתפוחי אדמה תוך הבטחת איכותם במהלך אחסון וחיי מדף באמצעים ידידותיים
לאדם ולסביבה**

**Development of environment friendly anti- sprouting agents to improve postharvest
storage of potato tubers**

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ע"י

דני אשל	המכון לטכנולוגיה ואחסון, מינהל המחקר החקלאי – בית דגן ;
נתיב דודאי,	מרכז מחקר נווה יער, מינהל המחקר החקלאי- רמת ישי ;
לאה צרור	המחלקה לפתולוגיה של צמחים, מינהל המחקר החקלאי – גילת
עידית גינזברג	המחלקה לחקר ירקות, מינהל המחקר החקלאי – בית דגן
אורי זיג	מו"פ יישובי חבל מעון
שמעון וורשבסקי	מו"פ יישובי חבל מעון

Dani Eshel, Department of Postharvest Science, ARO, P.O.B. 6 Bet Dagan 50250.

Email: dani@volcani.agri.gov.il

Native Dudai, Newe Ya'ar Research Center, Agricultural Research Organization, Ramat

Yishay 30095. Email: nativdud@gmail.com

Lea Tsrer, Plant Pathology, Gilat Research Center, ARO, MP Negev 85280

Email: tsrer@agri.gov.il

Idit Ginzberg, Department of Vegetable Research, Institute of Plant Sciences,

A.R.O., P.O.B. 6, Bet Dagan, 50250 Email: iditgin@volcani.agri.gov.il

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא

חתימת החוקר

*

תאריך

1.תקציר

הצגת האתגר המחקרי: תפוח אדמה, אחד הגידולים החשובים בארץ וגידול בעל חשיבות עולמית, סובל מבעיית לבלוב שאינו רצוי במהלך האחסון. התופעה פוגעת בפקעות המאוחסנות, בהן חלה בעקבות הבלבוב, התרככות, איבוד משקל ועליה ברמת הסוכרים המחזרים.

מטרת המחקר: פיתוח מעכב לבלוב פקעות תפוח, ידידותי לסביבה, במגמה שתוביל (i) למניעת לבלוב פקעות תפוח במהלך האחסון וחיי המדף, (ii) להבטחת איכות חומר יבש ומירקם, (iii) לעיכוב התפתחות מחלות אחסון, ו- (iv) לוויסות מהלך נביטת פקעות זריעה. הפיתוח מלווה בלימוד של מנגנון וויסות הבלבוב על ידי השמן האתרי, זאת בכדי להגיע בעתיד ליעילות מרבית.

שיטות העבודה: בחינה של שמנים אתרים, מעכבי לבלוב, תוך דגש על שמן מנטה שהראה יעילות גבוהה. בחינת יעילות במספר זנים. אפיון ההשפעה על מדדי איכות נוספים. בחינה של מינונים נמוכים מאוד בסקלה קטנה. ניתוח היסטולוגי של השפעת המעכב וחקר מנגנון הפעולה. אנליזה של תוצרי הפירוק של החומר ברקמה הצמחית. בחינה של יישום במודל לאריזה קמעונאית.

תוצאות עיקריות: נראה ששמן המנטה מעכב לבלוב של פקעות תפוח באחסון במנגנון רחב המקיף את כל שמונת הזנים שנבחנו. היעילות היא מוחלטת וכל עוד מיישמים את החומר מידי חודש הפקעות לא ילבלבו. עיכוב הבלבוב מצמצם את התרככות הפקעות ואינו גורם לעלייה ברמת הסוכרים המסיסים ובכך שומר על איכותן. ניסויי שדה שבוצעו הצביעו על כך שניתן לטפל בפקעות זריעה במינון שיפחית מחלות ועדיין לא יפגע במגדדי ההצצה והיבול הסופי. מנגנון הפעולה של שמן המנטה כרוך ככל הנראה באופיו הליפופילי והפיטוטוקסי של החומר הפעיל *R-carvone*. הבסיס לעיכוב הבלבוב הוא ככל הנראה פגיעה במריסטמות הפקעים ובטיפול עוקב מניעה של צמיחת מריסטמות חיקיות. בעבודת הליפידומיקס מצאנו עדויות ראשוניות לשינוי בתכולה והרכב ליפידים שמקורם בממברנת התא.

באופן מפתיע נמצא שמינונים נמוכים מאוד יש ביכולתם לעודד לבלוב מוקדם של הפקעות המטופלות. הבסיס לעיכוב הבלבוב הוא ככל הנראה פגיעה בממברנות התאים המרכיבים את מריסטמות הפקעים. במינון נמוך מאוד יש עידוד של צמיחת מריסטמות חיקיות. יישום של שמן מנטה, במודל לשחרור איטי באריזה קמעונאית, הראה יעילות גבוהה בעיכוב לבלוב הפקעות.

מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות: עם המעבר לטיפול בחדרי אחסון מסחריים המתבצע בשנתיים האחרונות, נראה שיש להקפיד על קיום של ריכוז אפקטיבי של אדי שמן מנטה באוויר עד להוצאה לשיווק. מאידך בשל פעולת העידוד של מינון נמוך מאוד, נראה שניתן לבחון שימוש בשמן מנטה גם לבקרת לבלוב של פקעות זריעה. השימוש האפשרי באריזה קמעונאית נראה מבטיח אך דורש פיתוח תוך הקפדה שלא לפגום באיכויות האורגנולפיות של הפקעות.

2. מבוא ותאור האתגר המחקרי:

תפוחי אדמה (*Solanum tuberosum* L.), אחד הגידולים החשובים בארץ (כ-600,000 טון במהלך 2010-11) וגידול בעל חשיבות עולמית הולכת וגדלה, סובל מבעיית לבלוב שאינו רצוי במהלך האחסון. התופעה פוגעת בפקעות המיועדות לשיווק לצרכן, לתעשייה ולזריעה, בהן חלה בעקבות הבלבוב, התרככות, איבוד משקל ועליה ברמת הסוכרים המחזרים. התופעה היא תוצאה של יציאה

מתרדמה המתרחשת, ככל הנראה, בשל שינויים אנדוגניים ברמתם של הורמונים צמחיים בבסיס הנבטים המצוי בפרנכימת הפקעת [1-3]. מחקרים שבדקו את מעורבותם של חומצה אבסיסית (ABA) [4-6] ואוקסינים כגון indole-3-acetic acid (IAA) [7,8] הבחינו בהשפעה על תהליך הבלבול אך השוואת התוצאות אינה מראה על מגמה עקבית, והמנגנון אינו ברור דיו.

אחסון בטמפרטורה נמוכה יחסית ($2-4^{\circ}\text{C}$) מעכב את הבלבול אך מוביל לתהליך של המתקת הפקעת [9]. עיקר עיכוב הבלבול נעשה כיום בחדרי אחסון בארץ ובעולם על ידי החומר כלורופרופאם (isopropyl N-(3-chlorophenyl) carbamate; CIPC) חומר זה בשימוש מעל 40 שנה וגורם לזיהום הסביבה ולפגיעה בבריאות הציבור; לכן, קיימת ביקורת על השימוש בו ונראה שבהדרגה גם ייאסר לשימוש. מדידות שנעשו על ידי ה- Committee on Pesticides (APC) Advisory באנגליה מראות שגם ביישום בתנאים מיטביים נמצאו בפקעות כ-10 מ"ג לק"ג שאריות של מעכב הבלבול, דבר שהוביל להטלת מגבלות על השימוש בחומר. בנוסף לכך, ה- CIPC מונע חלוקת תאים וכתוצאה מכך פוגע בכושר ההגלדה של פצעי האסיף [10]. תפוחי אדמה נזרעים בארץ ובעולם בעיקר כפקעות שעברו אחסון, וטיפול ב- CIPC או אף שאריות של החומר בחדר האחסון יש בהם בכדי לפגוע בתהליך הבלבול בשדה [11]. בשל כל הנאמר דרושות אלטרנטיבות לשימוש ב- CIPC שישמשו את היישומים השונים הנעשים בפקעות תפוחי אדמה וכן יספקו פיתרון יעיל לגידול האורגני. בחיפוש אלטרנטיבה קיים יתרון ברור לטיפולים ידידותיים לאדם ולסביבה, המיושמים בערפול או אידוי ומאפשרים חדירה יעילה לחללים שבין מרכיבי התוצרת המאוחסנת, ומתן טיפול מספר פעמים במהלך האחסון מבלי לשנות את תנאיו.

מחקרים קודמים שעסקו בחיפוש פיתרון ידידותי לבעיית הבלבול של תפוחי אדמה באחסון מצאו השפעה מעכבת ביישום אתילן [12], אוזון [13] מונוטרפנים נדיפים, אלדהידים ארומטיים ואלכוהול [14,15]. עד עתה רק השימוש במונוטרפן (S)-(+)-carvone (S-5-isopropenyl-2-methyl-2-cyclohexenone), חומר טבע המופק מזרעי צמח הקימל (*Carum carvi*) שתואר כמעכב נביטה לפני כ-30 שנה [16,17], פותח לכדי חומר מסחרי. קושי ביישום יעיל בחדרי אחסון גדולים ועלויות ייצור גבוהות, בהשוואה ל- CIPC הגבילו את השימוש לתחומי הולנד.

בחמש השנים האחרונות עוסקים המחקרים בפיתוח השימוש בשמן אתרי, המופק מצמח המנטה, כתכשיר מסחרי לטיפול בפקעות תפוחי אדמה לאחר אסיף. פעולתו של שמן המנטה נמצאה ברורה ומוחלטת, הוא אינו גורם לתופעות לוואי בפקעת, במינון המומלץ, וזאת לצד היותו פיתרון "ירוק". עם תחילת יישומו, בשנתיים האחרונות, בחדרי אחסון מסחריים, מצאנו לנכון להמשיך ולהגדיר את מגבלות השימוש לצד המשך הבנת מנגנון הפעולה, שכן עדיין יישום שאינו מיטבי עלול לגרום לנזק.

3. מטרות המחקר

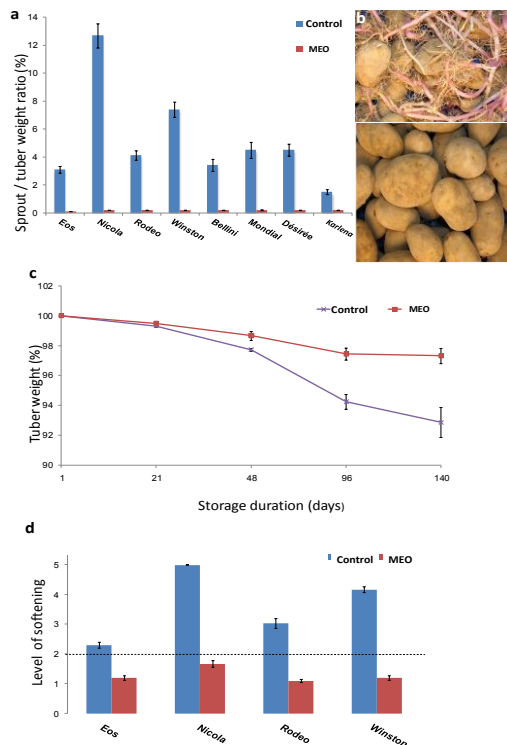
פיתוח מעכב לבלבול תפוחי אדמה ידידותי לסביבה במגמה שתוביל (i) למניעת לבלבול פקעות תפוחי אדמה במהלך האחסון וחיי המדף, (ii) להבטחת איכות חומר יבש ומירקם, (iii) לעיכוב התפתחות מחלות אחסון, ו- (iv) לוויסות מהלך נביטת פקעות זריעה. הפיתוח לווה בלימוד של מנגנון וויסות הבלבול על ידי השמן האתרי, זאת בכדי להגיע בעתיד ליעילות מרבית תוך צמצום נזקים פיטוטוקסיים אפשריים..

4. עיקרי הניסויים שבוצעו:

בשל הבהירות שנוצרה סביב מחירו יעילות של שמן המנטה בהשוואה לפתרונות אחרים, והעדויות בסיפרות באשר ליעילותם המוגברת של שמנים אתרים המכילים carvone הוחלט לאמץ את הצעת חלק מהבודקים של הצעת המחקר המקיפה, ולהתמקד במנגנון הפעולה של שמן המנטה לצד בחינת היבטים יישומיים באחסון תפוז"א בארץ.

4.1 אפיון כלליות היכולת לעכב לבלוב

במספר ניסויים בהם נבחן שמן המנטה באשר ליכולתו לווסת את לבלוב פקעות תפוז"א מטופלות, נמצא שאיוד חודשי עיכב לבלוב למשך לפחות שנה בכל הזנים שנבחנו (איור 1 a, b). בעוד שפקעות הביקורת החלו לבלב כבר לאחר שלושה חודשי אחסון, האיוד בשמן מנטה גרם לצריבת העיניים בכל השקים והארגזים שהוכנסו לחדר המטופל. בשל עיכוב הבלבוב, פחת איבוד המשקל של הפקעות המטופלות וכך גם צומצמה התרככות הפקעות (איור 1 c, d). איוד בשמן מנטה הראה יעילות גבוהה בחדירה למצבור פקעות בשל נדיפות החומר. יעילות זהה נצפתה ביישום חצי מינון או מינון כפול. נראה שאופן יישום החומר (באיוד) הביא לחדירות גבוהה שכן, גם פקעות שהיו טמונות במרכז הערימה או בכל חלק אחר שלה, הושפעו מהטיפול במידה שווה.

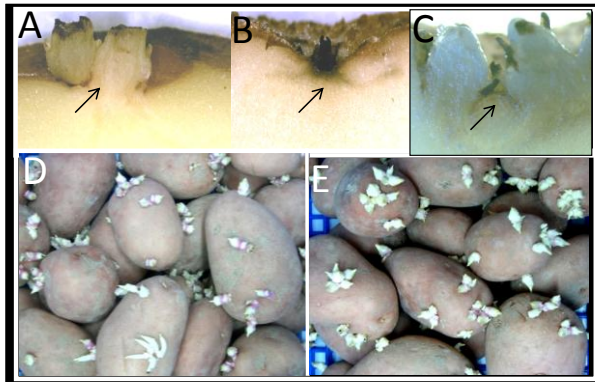


איור 1: השפעת איוד בשמן מנטה (MEO) על לבלוב פקעות תפוז"א באחסון. (a) פקעות משמונה זנים שונים שאוחסנו משך 6 חודשים. (b) נביטה אופיינית של הזן 'ניקולה' אחרי 6 חודשי אחסון. (c) איבוד משקל של הזן 'דזירה' במהלך אחסון. (d) התרככות הפקעות במהלך אחסון בסקלה של 1 (קשה) עד 5 (רך); הקו המרוסק מייצג את רמת ההתרככות שמעליה הפקעות אינן סחירות. כל הפקעות אוחסנו בטמפר' של 8 מ"צ ו- 95% לחות יחסית. הפקעות אוידו מידי חודש במינון מלא של שמן מנטה (100 מ"ל לטון ביישום ראשון ו- 30 מ"ל לטון ביישומים העוקבים).

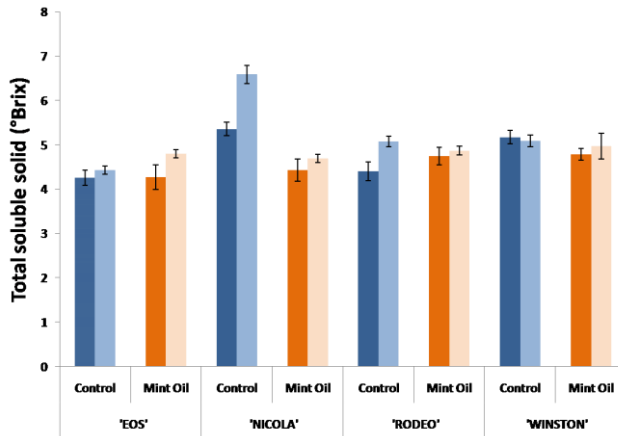
בכל הזנים שנבחנו, נראה היה שהשפעתו המעכבת של שמן המנטה הפיכה. שטיפה של פקעות דזירה מספר ימים לאחר האיוד יצרה עיכוב של מספר

ימים עד שבוע לבלבוב הפקעות, והפער צומצם בשבועיים נוספים של אחסון ב- 22 מ"צ (איור 2). בשל השפעתם של סוכרים מסיסים בפקעת על תהליכי טיגון תפוז"א בתעשייה, נמדדה רמתם בשיטות המקובלות בתעשייה. לא נצפתה השפעה מובהקת של הטיפול בשמן מנטה על ריכוז ה-TSS או הסוכרים המחזרים שנמדדו (איור 3 וטבלה 1). הערכה ויזואלית של איכות הפרנכימה לא הראתה

השפעה כלשהי גם של מינון כפול של שמן מנטה, למעט בזן EOS שהליבה בו עברה החמה בחצי מינון ובמינון כפול ובאופן מפתיע לא הופיע במינון המלא (אזור 4).



איור 2 : איוד בשמן מנטה יוצר נזק הפיך למריסטמה הקודקודית של הגבעול המלבב בפקעות דזירה. A- מריסטמה קודקודית של פקעת שאינה מטופלת; B- צריבה בעקבות טיפול בשמן מנטה; C- התחדשות המריסטמה לאחר שטיפה במיים ואינקובציה ב- 20 מ"צ. D, E- פקעות ביקורת לעומת מטופלות (בהתאמה). הפקעות נשטפו מספר ימים לאחר הטיפול והודגרו ב- 20 מ"צ משך 21 ימים בכדי לבחון עיכוב אפשרי בבלבוב של פקעות שטופלו בעבר.



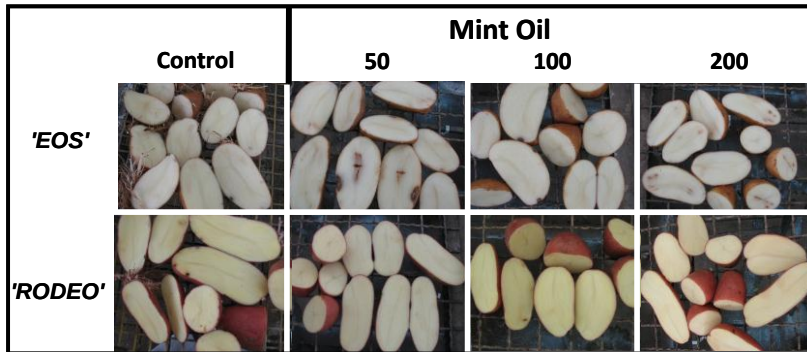
איור 3: השפעת האיוד בשמן מנטה על ריכוז ה- TSS במשך האחסון. פקעות מארבעה זנים שונים אוחסנו משך 4.5 (אדום וכחול) ו- 6 חודשים (כתום ותכלת) ב- 8 מ"צ ובלחות יחסית של 95%. הפקעות אויידו מידי חודש במינון מלא של שמן מנטה (100 מ"ל לטון ביישום ראשון ו- 30 מ"ל לטון ביישומים העוקבים).

טבלה 1: השפעת האיוד בשמן מנטה על תכולת הסוכרוז והדקסטרוז (גר' ליטר) בפרנכימת הפקעת.

פקעות מחמישה זנים שונים אוחסנו משך 4.5 חודשים ב- 8 מ"צ ובלחות יחסית של 95%. הפקעות אויידו מידי חודש במינון מלא של שמן מנטה (100 מ"ל לטון ביישום ראשון ו- 30 מ"ל לטון ביישומים העוקבים), חצי מינון ומינון כפול.

Cultivars	Treatment	SUC. (gr/l)	DEX. (gr/l)
'EOS'	control	0.33	1.13
	M50	0.36	1.06
	M100	0.47	1.36
	M200	0.46	1.32
'NICOLA'	control	0.27	1.89
	M50	0.32	1.01
	M100	0.42	1.26
	M200	0.42	1.04
'RODEO'	control	0.26	1.40
	M50	0.37	0.90
	M100	0.20	4.01
	M200	0.10	0.72
'WINSTON'	control	0.33	1.12
	M50	0.05	3.53
	M100	0.00	4.51
	M200	0.00	4.38
'CARLENA'	control	0.65	0.15
	M50	0.64	0.18
	M100	0.65	0.07
	M200	0.77	0.09

איור 4: השפעת האיוד בשמן מנטה על האיכות הוויזואלית של פרנכימת הפקעות. הפקעות אוחסנו משך 6



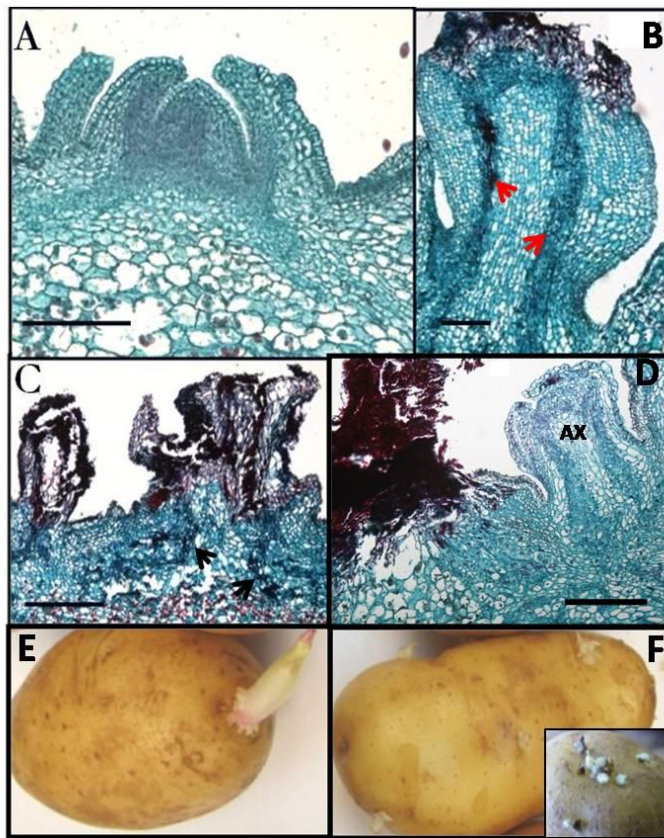
חודשים ב-8 מ"צ ובלחות יחסית של 95%. הפקעות אוידו מידי חודש במינון מלא של שמן מנטה (100 מ"ל לטון ביישום ראשון ו-30 מ"ל לטון ביישומים העוקבים), חצי מינון ומינון כפול.

4.2 אפיון היסטולוגי של מריסטמה מטופלת

ניתוח היסטולוגי של המריסטמה הקודקודית המטופלת הצביע על נזק בצינורות ההובלה, בשלב ראשון (איור B5) המוביל ככל הנראה לנקרזה מוחלטת של המריסטמה וחלק מרקמת הקורטקס שמתחתיה (איור C5). ארבעה שבועות לאחר הטיפול צומחת מריסטמה חיקית (AX) בסמוך למריסטמה שנפגעה (איור D5).

בזן 'ניקולה', עם הסרת השפעת הטיפול, ניתן לצפות בשבירה של שלטון קודקודי, המתבטאת בבלבוב בו זמני של רוב העיניים בפקעת.

איור 5: השפעת שמן מנטה על בלבוב המריסטמה הקודקודית בפקעת תפוז"א. (A)

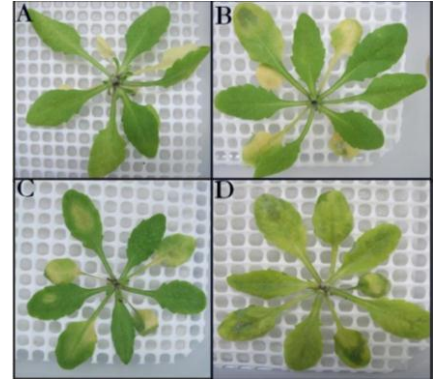


מריסטמה שאינה מטופלת. (B) נזק התחלתי לצינורות ההובלה יומיים אחרי הטיפול. (C) 7 ימים אחרי הטיפול. (D) מריסטמה חיקית המתפתחת ארבעה שבועות אחרי הטיפול. (E, F) פקעות לא מטופלות ומטופלות, בהתאמה, שנשטפו במיים להסרת השפעה המעכבת של שמן המנטה והודגרו ב-20 מ"צ משך 21 ימים.

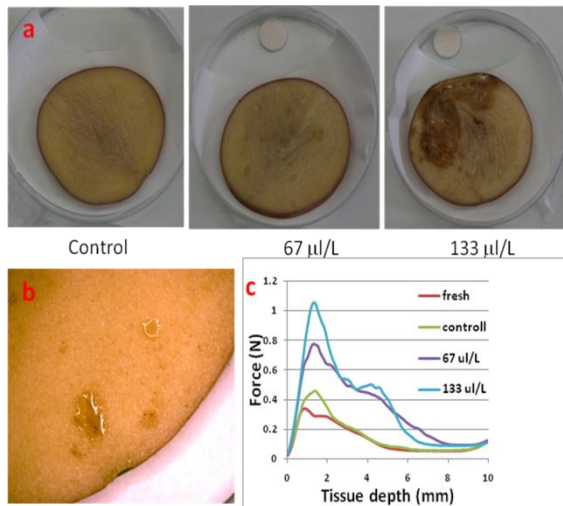
4.3 אפיון פיטוטוקסיות החומר הפעיל בעיכוב לבלוב

החומר הפעיל בשמן המנטה הינו כאמור המונוטרפן *R-carvone*, בשל אופיו הליפופילי יש לצפות שבמינונים שאינם מתאימים יגרום נזק לממברנות ביולוגיות המצויות בנבט המעוכב ובפרנכימת הפקעת. ואכן טיפול ב- *R-carvone* גרם לפעולה פיטוטוקסית בעלים של ארבידופסיס מטופלים כתלות במינון (איור 6).

איור 6: השפעת החשיפה לאדי *R-carvone* על שושנות עלים של ארבידופסיס. שושנות עלים מצמח בגיל 4 שבועות הודגרו בתא לח בקופסת פלסטיק בנפח 1.25 ליטר ונחשפו לאדי *R-carvone* בריכוזים: A- ביקורת, B- $53\mu\text{l/l}$, C- $107\mu\text{l/l}$ ו- D- $160\mu\text{l/l}$ למשך 24 שעות. לאחר החשיפה העלים נשמרו באווירה לחה ומאווררת למשך 3 ימים נוספים בטמפר' של 20°C מ"צ.



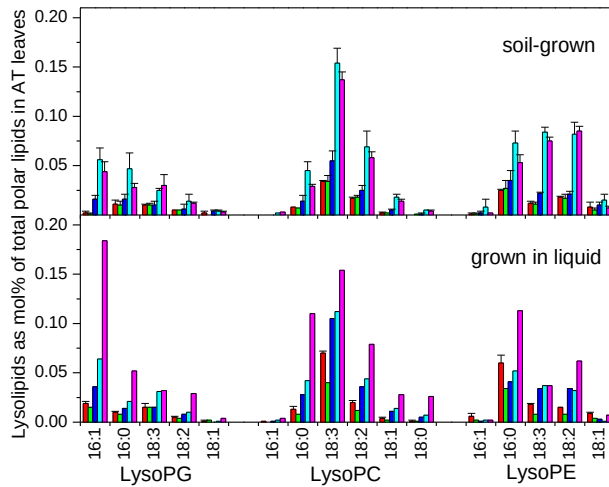
טיפול באדי *R-carvone* בפרנכימה חשופה, בדיסקיות של תפוז"א, הוביל לדליפת נוזלים מהרקמה ולשינוי מרקם, בדומה לעקה הנגרמת על ידי חומצות אורגניות [18], ובמינונים גבוהים יותר אף לנקרוזה של הפרנכימה (איור 7).



איור 7: השפעת החשיפה של פרנכימת פקעת תפוז אדמה לאדי *R-carvone*, החומר הפעיל בשמן מנטה. (a) פקעות מהזן דזירה נפרסו לדיסקיות בעובי 10 מ"מ והונחו על גבי נייר סינון לח בצלחת פטרי. *R-carvone*, החומר הפעיל בשמן מנטה יושם על גבי 13 מ"מ דיסקית נייר בשלושה מינונים (לא מטופל, 67 ו-133 מיקרוליטר לליטר נפח אויר) (b) דליפת נוזלים מריקמה מטופלת כתוצאה מחשיפה לאדי *R-carvone* (c) התנגדות הרקמה ללחץ (ניוטון) חדירה של בוכנה בקוטר 2 מ"מ בעקבות חשיפה לאדי L-carvone.

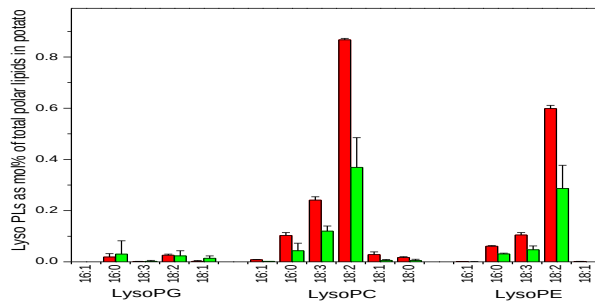
4.4 מנגנון עיכוב הבלוב

בשל הליפופיליות הגבוהה של החומר הפעיל *R-carvone*, ותכונותיו הפיטוטוקסיות, הנחנו שנוק מבוקר לממברנות במריסטמת הניצנים הוא המוביל לעיכוב הבלוב. בעבודת ליפידומיקס שנעשתה נמצא שינוי בהרכב הליפידים בעלי ארבידופסיס מטופלים, וכך גם בנבטים של תפוז"א בעקבות הטיפול (איורים 8, 9).



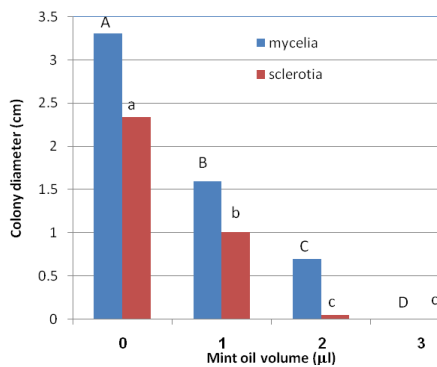
איור 8: השפעת החשיפה לאדי *R-carvone* על תכולת ה- monacyl (lyso) lipid species בשושנות עלים של ארבידופסיס. שושנות עלים מצמח בגיל 4 שבועות הודגרו בתא לח בקופסת פלסטיק בנפח 1.25 ליטר ונחשפו לאדי *R-carvone* בחמישה מינונים שונים: 0 (אדום), 53μl/l (ירוק), 107μl/l (כחול), 160μl/l (תכלת) ו 213μl/l (סגול) למשך 24 שעות. לאחר החשיפה העלים נשמרו באוירה לחה ומאווררת למשך 3 ימים נוספים בטמפרטורה של 20 מ"צ. ליפידים הופקו בהתאם לפרוטוקול של Kansas Lipidomics Research Center [19].

הליזוליפידים מזהים על פי מספר הפחמנים: מס' הקשרים הכפולים.



איור 9: השפעת החשיפה לאדי *R-carvone* על תכולת ה- monacyl (lyso) lipid species במריסטמות של פקעת תפוח"א. פקעות מהזן 'ניקולה' נחשפו למינונים של 0 (אדום) ו- 133 (ירוק) מיקרוליטר לליטר אויר, למשך 24 שעות. ליפידים הופקו בהתאם לפרוטוקול של Kansas Lipidomics Research Center [19].

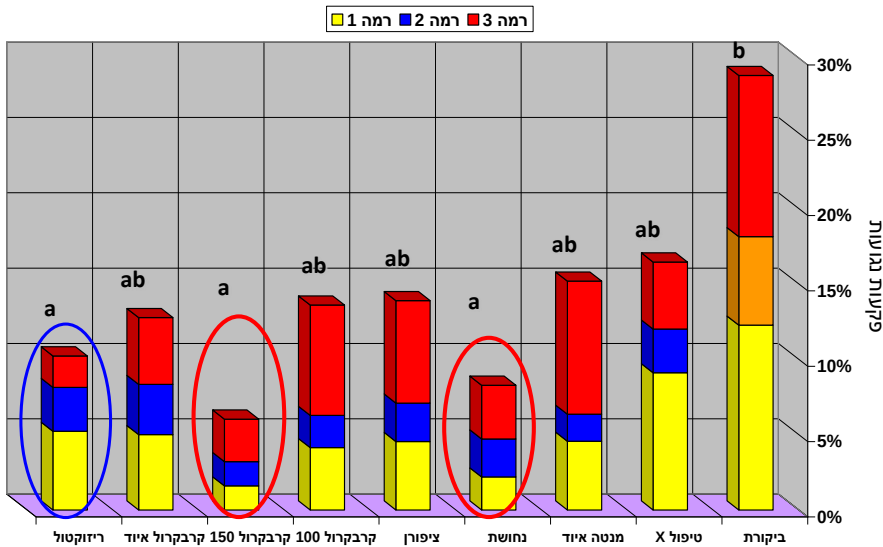
הליזוליפידים מזהים על פי מספר הפחמנים: מס' הקשרים הכפולים.



4.5 עיכוב התפתחות מחלות
בשל עדויות הקיימות בספרות באשר לכושרם של שמנים אתרים בהדברת מחלות אחסון, היה מקום לבחון כושר ההדברה של שמן המנטה. בשלב ראשון ביצענו מבחני in-vitro לתפטר וגופי קימא (קשיונות) של הפטרייה *Rhizoctonia solani*.

איור 10: הדברת תפטר וקשיונות של הפטרייה *Rhizoctonia solani* על ידי איוד בשמן מנטה. אותיות דפוס או כתב שונות מעידות על הבדל מובהק בעיכוב התפטר או הקשיונות בהתאמה.

בהמשך המחקר בוצע חיטוי של פקעות זריעה המיועדות לגידול האורגני בהשוואה לטיפול אחרים הנבחרים ליישום בשנים האחרונות. הניסויים בוצעו במשך שנתיים על פני 4 עונות וכללו זריעה של הפקעות



המטופלות ובחינת לבלובן בשדה לצד מדדי ייבול שהתקבל. השמנים האחרים יושמו באיזוד או בריסוס בנפח נמוך על גבי מסוע או בפס הזריעה. היה צורך לכייל את המינון המיושם של השמנים האחרים בשל נטייתם לעכב לבלוב בשדה (תוצאות אינן מוצגות). שמן המנטה נמצא מבפחת את הנגיעות של פקעות הבת בכ- 50% אך בהשוואה לקרבקורל הוא נמצא פחות יעיל (איור 11). הטיפולים שנבחנו לא השפיעו על הייבול או התפלגותו בכל ניסויי השדה שבוצעו (תוצאות אינן מוצגות).

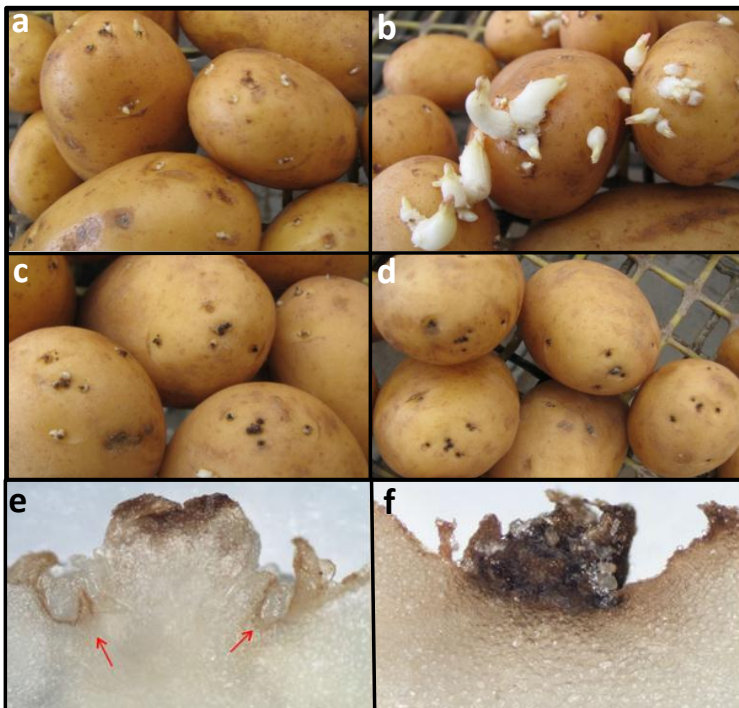
איור 11: רמת הנגיעות בריזוקטוניה של פקעות בת לפקעות שטופלו לפני שתילה. הניתוח הסטטיסטי הינו ע"פ מבחן Student.

4.6 אפיון השפעתם של מינונים נמוכים מאוד של החומר הפעיל בשמן המנטה

בשמן המנטה המיושם נמצאה שרמת החומר הפעיל, R-carvone הינה כ- 73%. שימוש בחומר הפעיל הנקי, המיוצר סינטטית הביא לעיכוב לבלוב בדומה לשימוש בשמן המנטה הגולמי (איור 1). יישום של 6-9 μl מהחומר הפעיל לכל ליטר אויר העוטר את הפקעות הביא לעיכוב מוחלט של הבלוב. באופן מפתיע נמצא שמינונים נמוכים מאוד של החומר הפעיל, 0.5-1 μl לכל ליטר אויר גרמו לבלוב מוקדם של הפקעות, תוך איבוד השלטון הקודקודי והסתעפות יתר בעיניים המלבלבות. נראה שבמינון הנמוך נצרכת המריסטמה

הקודקודית באופן חלקי ביותר והדבר גורם לצמיחה מוגברת של מריסטמות חייקיות. המשמעות היישומית של ממצא זה היא בדגש שיש לשים על שמירה של ריכוז מעכב של החומר הפעיל במהלך האחסון כולו, בכדי שלא לקבל תוצאה הפוכה של עידוד הבלוב. כמו כן יתכן ומינונים נמוכים מאוד יכולים לשמש לשבירה של שלטון קודקודי בפקעות זריעה.

איור 12: השפעת איזוד ב- R-carvone, החומר הפעיל בשמן מנטה, על לבלוב פקעות תפוא"א מהזן ניקולה. a,b,c,d מייצגים מינונים של 0,

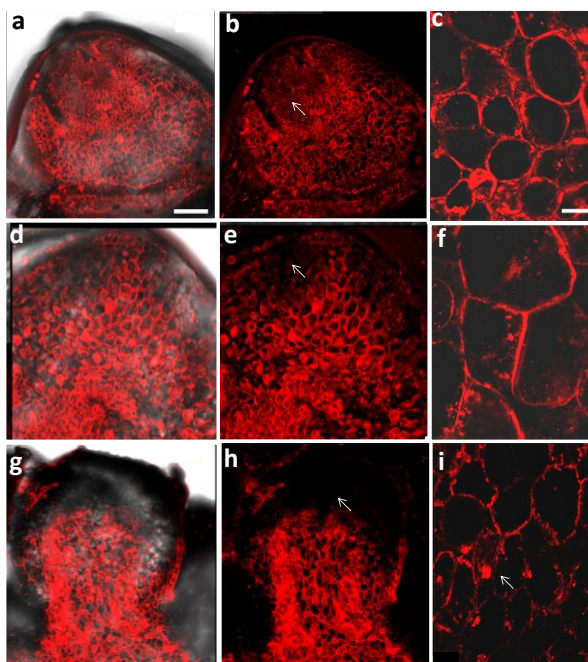


0.5, 1.5, 4.5 μl לכל ליטר אויר העוטף את הפקעות. החשיפה לחומר הפעיל בוצעה ל- 5 ימים בלבד ב- 24 מ"צ. e, צמיחה של מריסטמות חייקיות בעקבות יישום של מינון נמוך. f, נקרוזה מוחלטת של המריסטמה הקודקודית לאחר יישום של 9 μl חומר פעיל לכל ליטר אויר. מיכלי החשיפה אווררו מידי 24 שעות ויושם בהם שוב R-carvone במינון הרצוי.

4.7 אפיון היסטולוגי של מריסטמה מטופלת

ניתוח היסטולוגי של המריסטמה הקודקודית המטופלת הצביע על נזק בצינורות ההובלה, בשלב ראשון המוביל ככל הנראה לנקרוזה מוחלטת של המריסטמה וחלק מרקמת הקורטקס שמתחתיה. במינון המעכב ארבעה שבועות לאחר הטיפול צומחת מריסטמה חיקית בסמוך למריסטמה שנפגעה. לכן בון 'ניקולה', עם הסרת השפעת הטיפול, ניתן לצפות בשבירה של שלטון קודקודי, המתבטאת בבלבול בו זמני של רוב העיניים בפקעת.

כיוון שהחומר הפעיל בשמן המנטה הינו ליפופילי, ואינו מסיס במים הנחנו שהשפעתו היא בעיקר על ממברנת התא. ואכן במינון מעכב נצפתה פגיעה בממברנות התאים במריסטמה הקודקודית של הפקעת, בעוד שבמינון מעודד ובמריסטמות שאינן מטופלות לא נצפה כמעט כל נזק לממברנות התאים (איור 13).



איור 13: השפעת R-carvone, המרכיב הפעיל בשמן המנטה, על ממברנות התאים במריסטמה הקודקודית בפקעת תפוז"א מהזן ניקולה (a,b,c) מריסטמה שאינה מטופלת. (d,e,f) מריסטמה מטופלת על ידי R-carvone 0.5 μl לכל ליטר אויר. (g,h,i) מריסטמה מטופלת על ידי R-carvone 9 μl לכל ליטר אויר. חתכי המריסטמה נצבעו בחומר הצבע FM4-64 הנקשר ספציפית לממברנת התא. סרגל המידה הוא 200 μm בתמונות a,b,d,e,g,h ו- 20 μm בתמונות c,f,i.

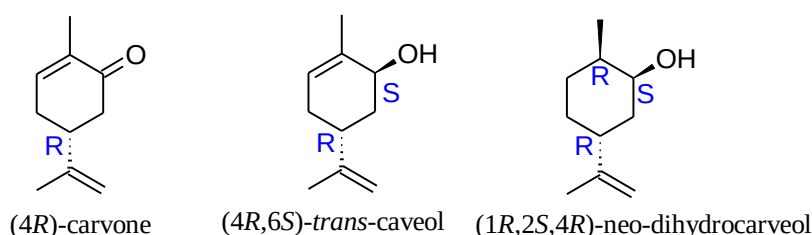
4.8 בחינת "גילגולי" החומר הפעיל ברקמה הצמחית

הפקה של מריסטמות (מעיינים שונות) שנחשפו ל- R-carvone, 72 שעות לאחר החשיפה, הראו שינוי ביוכימי המתחולל בחומר המיושם ברקמה הצמחית (bioconversion). המרכיב שיושם, נמצא בכל המריסטמות שטופלו בקורלציה למינון המיושם (טבלה 1). אנליזה של התוצרים ב- GC-MS (כפי שנעשתה במעבדתו של דר' נתיב דודאי) הראתה שינוי של R-carvone [(4R)-carvone] לנגזרות המחוזרות שלו (4R6S)-transcarveol ו- (1R,2S,4R)-neo-dihydrocarveol (איור 14). נראה שבחיפוש שאריות אפשריות של החומר ברקמה הנאכלת (במידה ויידרש) יש לבחון את נוכחותן של הנגזרות המתוארות.

טבלה 1: ריכוז המרכיב הפעיל בשמן המנטה R-carvone ונגזרותיו במריסטמות גבעול של פקעות תפוז 72 שעות אחרי החשיפה למינונים שונים.

R-carvone dose ($\mu\text{l l}^{-1}$ air)	0		0.5		9		100	
	AVG	SE	AVG	SE	AVG	SE	AVG	SE
R-carvone	0.00	0.0	0.13	0.0	5.06	1.9	88.27	1.7
Transcarveol	0.00	0.0	0.00	0.0	0.53	0.2	14.98	1.8
Neo-dihydrocarveol	0.00	0.0	0.00	0.0	1.17	0.4	16.73	1.5
Total	0.00	0.0	0.13	0.0	6.75	2.5	119.98	1.5

*R-carvone and its derivatives are expressed in $\mu\text{M g}^{-1}$ fresh weight.



איור 14: נגזרות R-carvone
כפי שמתקבלות במריסטמה
מטופלת.

4.9 בחינת אפשרות המשך עיכוב הבלבוב באריזה קמעונאית

השימוש בשמן מנטה, עבר רישוי ובשנתיים האחרונות חדר בהצלחה למספר חדרי אחסון מסחריים ושימש באיוד של אלפי טונות של פקעות, כולל שיווקן המוצלח לשוק מקומי וליצוא. עדיין נותר בעינו האתגר של עיכוב הבלבוב אחרי שטיפת הפקעות במים ואריזתן באריזה קמעונאית.



החדרת שמן מנטה לשקיות פלסטיק באופן המדמה שחרור איטי למשך זמן של כחודש, הביא לעיכוב מוחלט של הבלבוב הפקעות (איור 15). עדיין יש לבחון סוגי פלסטיק שונים באשר ליכולת לאחסן בתוכם פקעות מבלי שירקבו זאת לצד מבחני מרקם וטעם.



איור 15: הדמייה של אריזה קמעונאית המכילה בתוכה שמן מנטה (a) פקעות שאוחסנו באריזה ללא ועם השמן האתרי (b) ו-c (בהתאמה).

5. דיון

שמן המנטה נמצא מעכב לבלוב של פקעות תפוז"א באחסון במנגנון רחב המקיף את כל שמונת הזנים שנבחנו. היעילות הייתה מוחלטת ונמצא שכל עוד מיישמים את החומר מידי חודש הפקעות לא יבלבו. עיכוב הבלבוב צמצם את התרככות הפקעות ולא גרם לעלייה ברמת הסוכרים המסיסים ובכך שמר על איכותן. שמן המנטה מתאים לטיפול לפקעות זריעה ובמינון המתאים מפחית נגיעות בריזוקטוניה ואינו פוגע בהצצה ובייבול הסופי. מנגנון הפעולה כרוך ככל הנראה באופיו הליפופילי והפיטוטוקסי של החומר הפעיל *R-carvone*. הבסיס לעיכוב הבלבוב הוא ככל הנראה פגיעה במריסטמות הפקעים ובטיפול עוקב, מניעה של צמיחת מריסטמות חיקיות. בעבודת הליפידומיקס מצאנו עדויות ראשוניות לשינוי בתכולה והרכב ליפידים שמקורם בממברנת התא. בהמשך המחקר התרכזנו בעבודה עם החומר הפעיל בעיקר תוך בחינה של מינונים נמוכים יותר. ומצאנו שיש מקום לאפיין את הנזק הממברנלי, את מידת החדירות ואת השינויים שחלים בחומר הפעיל ברקמה הצמחית.

הבסיס לעיכוב הבלבוב של פקעות תפוז"א מאוחסנות הוא ככל הנראה פגיעה בממברנות התאים המרכיבים את מריסטמות הפקעים [20]. באופן מפתיע נמצא שמינונים נמוכים מאוד יש ביכולתם לעודד לבלוב מוקדם של הפקעות המטופלות. עם המעבר לטיפול בחדרי אחסון מסחריים המתבצע בשנה האחרונה, נראה שיש להקפיד על קיום של ריכוז אפקטיבי של אדי שמן מנטה באווירת חדר האחסון, עד להוצאה לשיווק. מאידך בשל פעולת העידוד של מינון נמוך מאוד, נראה שניתן לבחון שימוש בשמן מנטה גם לבקרת לבלוב של פקעות זריעה.

יישום של שמן מנטה, במודל לשחרור איטי באריזה קמעונאית, הראה יעילות גבוהה בעיכוב לבלוב הפקעות. השימוש האפשרי באריזה קמעונאית נראה מבטיח אך דורש פיתוח תוך הקפדה שלא לפגום באיכויות האורגנולפתיות של הפקעת.

6. רשימת ספרות

1. Ji ZL, Wang SY. Reduction of abscisic acid content and induction of sprouting in potato, *Solanum tuberosum* L., by thidiazuron. J Plant Growth Regul 1988;7:37-44
2. Coleman W. Dormancy release in potato tubers: A review. American Journal of Potato Research 1987;64:57-68
3. Sorce C, Lorenzi R, Parisi B, Ranalli P. Physiological mechanisms involved in potato (*Solanum tuberosum*) tuber dormancy and the control of sprouting by chemical suppressants. Acta Hort (ISHS) 2005;684:177-186
4. Suttle JC. Postharvest changes in endogenous ABA levels and ABA metabolism in relation to dormancy in potato tubers. Physiol Plantarum 1995;95:233-240
5. Hartmans K, Van Es A. The influence of growth regulators GA₃, ABA, kinetin and IAA on sprout and root growth and plant development using excised potato buds. Potato Research 1979;22:319-332
6. Coleman W, King R. Changes in endogenous abscisic acid, soluble sugars and proline levels during tuber dormancy in *Solanum tuberosum* L. American Journal of Potato Research 1984;61:437-449
7. Sorce C, Lorenzi R, Ceccarelli N, Ranalli P. Changes in free and conjugated IAA during dormancy and sprouting of potato tubers. Funct Plant Biol 2000;27:371-377
8. Marschner H, Sattelmacher B, Bangerth F. Growth rate of potato tubers and endogenous contents of indolylacetic acid and abscisic acid. Physiologia Plantarum 1984;60:16-20

- .9 Coffin RH, Yada RY, Parkin KL, Grodzinski B, Stanley DW. Effect of low temperature storage on sugar concentrations and chip color of certain processing potato cultivars and selections. *Journal of Food Science* 1987;52:639-645
- .10 Wiltshire JJJ, Cobb AH. A review of the physiology of potato tuber dormancy. *Annals of Applied Biology* 1996;129:553-569
- .11 Conte E, Imbroglini G, Bertolini P, Camoni I. Presence of sprout inhibitor residues in potatoes in relation to application techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1995;43:2985-2987
- .12 Prange RK, Kalt W, Daniels-Lake BJ, et al. Using ethylene as a sprout control agent in stored 'Russet Burbank' potatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 1998;123:463-469
- .13 Daniels-Lake BJ, Prange RK, Kalt W, et al. The effects of ozone and 1, 8-cineole on sprouting, fry color and sugars of stored Russet Burbank potatoes. *American Potato Journal* 1997;**73:469-;6481**
- .14 Hartmans KJ, Diepenhorst P, Bakker W, Gorris LGM. The use of carvone in agriculture: sprout suppression of potatoes and antifungal activity against potato tuber and other plant diseases. *Industrial Crops and Products* 1995;4:3-13
- .15 Vaughn S, Spencer G. Naturally-occurring aromatic compounds inhibit potato tuber sprouting. *American Journal of Potato Research* 1993;70:527-533
- .16 Meigh DF. Suppression of sprouting in stored potatoes by volatile organic compounds. *J Sci Food Agric* 1969;20:15**9-164**
- .17 Beveridge J, Dalziel J, Duncan H. The assessment of some volatile organic compounds as sprout suppressants for ware and seed potatoes. *Potato Research* 1981;24:61-76
- .18 Shomer I, Kaaber L. Intercellular adhesion strengthening as studied through simulated stress by organic acid molecules in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber parenchyma. *Biomacromolecules* 2006;7:2971-2982
- .19 Devaiah SP, Roth MR, Baughman E, et al. Quantitative profiling of polar glycerolipid species from organs of wild-type Arabidopsis and a PHOSPHOLIPASE Da1 knockout mutant. *Phytochemistry* 2006;67:1907-1924
- .20 Teper-Bamnolker P, Dudai N, Fischer R, et al. Mint essential oil can induce or inhibit potato sprouting by differential alteration of apical meristem. *Planta* 2010;232:17**186-9**

7. סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
. פיתוח מעכב לבלוב תפוזי ידיוותי לסביבה במגמה שתוביל (i) למניעת לבלוב פקעות תפוזי במהלך האחסון וחיי המדף, (ii) להבטחת איכות חומר יבש ומירקם, (iii) לעיכוב התפתחות מחלות אחסון, ו- (iv) לוויסות מהלך נביטת פקעות זריעה. הפיתוח לווה בלימוד של מנגנון וויסות הבלבוב על ידי השמן האתרי, זאת בכדי להגיע ליעילות מרבית ולנזק מינימאלי.
עיקרי הניסויים והתוצאות.
נמצא ששמן המנטה מעכב לבלוב בכל שמונת הזנים שנבחנו. עיכוב הבלבוב מצמצם את התרככות הפקעות ואינו גורם לעלייה ברמת הסוכרים המסיסים ובכך שומר על איכותן. העיכוב מלווה בצריבה של המריסטמות בפקעת, כולל החיקיות הנוצרות בעקבות הטיפול. נמצאו עדויות ראשוניות לשינוי בתכולה והרכב ליפידים שמקורם בממברנת התא בעקבות הטיפול R-carvone, המרכיב הפעיל בשמן מנטה. באופן מפתיע נמצא שמינונים נמוכים מאוד יש ביכולתם לעודד לבלוב מוקדם של הפקעות המטופלות. הבסיס לעיכוב הבלבוב הוא ככל הנראה פגיעה בממברנות התאים המרכיבים את מריסטמות הפקעים. במינון נמוך מאוד יש עידוד של צמיחת מריסטמות חיקיות.
מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?
יעילות שמן המנטה בעיכוב לבלוב בתפוזי נמצאה מוחלטת וכל עוד מיישמים את החומר מידי חודש הפקעות לא מבלבות. עיכוב הבלבוב שומר על איכות הפקעות ומונע תופעות נוספות, כגון התרככות מוגברת. מנגנון הפעולה כרוך ככל הנראה באופיו הליפופילי והפיטוטוקסי של החומר הפעיל R-carvone. באופן מפתיע נמצא שמינונים נמוכים מאוד יש ביכולתם לעודד לבלוב מוקדם של הפקעות המטופלות. הבסיס לעיכוב הבלבוב הוא ככל הנראה פגיעה בממברנות התאים המרכיבים את מריסטמות הפקעים. במינון נמוך מאוד יש עידוד של צמיחת מריסטמות חיקיות ככל הנראה בשל השפעה על תכולה ותנועת הורמונים ההקשורים בבלבוב. מטרות המחקר הושגו במלואן וכעת יש לתמוך בשלב היישום בסקלה גדולה בחדרי אחסון מסחריים.
מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות: עם המעבר לטיפול בחדרי אחסון מסחריים המתבצע בשנתיים האחרונות, הופיעו נזקים בחלק מהיישומים, ככל הנראה בשל אי הקפדה על תנועת אויר במהלך יישום שמן המנטה. בהמשך המחקר יש בכוונתנו להתרכז בעבודה בתנאים מסחריים תוך בחינה של שמן אתרי נוסף כמרכיב פוטנציאלי שמטרתו להפחית מחלות.
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?
יש לבצע ניסויים בקנה מידה מסחרי תוך שילוש של מבחני טעם ובחינה נוספת של ההשפעה על פתוגנים באחסון יש בכוונתנו לבחון שמן אתרי נוסף שתהיה בו פעולה משלימה, בעיקר מההיבט הפיתופתולוגי.

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

פרסומים בכתב :

טפר במנולקר פ., אשל ד. ודודאי נ. (2011). פיתוח השימוש בשמן מנטה למניעת נביטה בפקעות תפוחי אדמה באריזות מסחריות וקמעוניות. מבזק ירקות - שדה וירק 239 : 54-52.

אשל ד., טפר-במנולקר פ. וצוות המחלקה החקלאית מרחב-אגרו. (2011). עיכוב הלבוב במהלך אחסון תפוחי אדמה באמצעות טיפולי פאזור בשדה. מבזק ירקות - שדה וירק 239 : 51-47.

טפר-במנולקר פ. ואשל ד. (2010) מנגנון הפעולה של שמן מנטה במניעת נביטתן של פקעות תפוחי אדמה במעבדה ובאחסון מסחרי. שדה וירק 17 : 59-56.

פליק א. קניקסבון ד., אשל ד., ליכטר א. וחובריהם. (2009) חידושים ופיתוחים בתחום אחסון ירקות (ירקות פרי, שורש ותבלינים). שדה וירק 13 : 77-75.

אורנשטיין ז', מיכאל מ. ואשל ד. (2008) השהיית נביטה של תפוחי אדמה תוך הבטחת איכותם על ידי שימוש בשמן מנטה. שדה וירק 5 : 62-59.

Eshel D., Orenstein J., Hazanovsky M. and Tsrer L. (2009) Control of sprouting and tuber-borne diseases of stored potato by environment-friendly method. *Acta Horticultura* 830:363-368.

Teper Bamnolker P., Dudai N., Fischer R., Belausov E., Zemach H., Shoseyov O. and Eshel D. (2010) Mint essential oil can induce or inhibit potato sprouting by differential alteration of apical meristem. *Planta* 232:179-186.

Teper-Bamnolker P., Buskila Y., Lopesco Y., Ben-Dor S., Saad I., Holdengreber V., Belausov E., Zemach H., Ori N., Lers A., and Eshel D. (2012). Release of apical dominance in potato tuber is accompanied by programmed cell death in the apical bud meristem. *Plant Physiology* 158: 2053-2067.

Eshel D. and Teper-Bamnolker P. (2012) Can loss of apical dominance in potato tuber serve as a marker of physiological age? *Plant Signaling & Behavior (in press)*

פטנטים :

Eshel D. and Teper-Bamnolker P. 2009. Novel method of inhibiting sprouting in stored potatoes. Patent Application 61186854 (PCT)

הרצאות וימי עיון :

2008 (speaker) Eshel D., Orenstein J., Hazanovsky M. and Tsrer L. Control of sprouting and tuber-borne diseases of stored potato by environment-friendly method. IV Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes, Plovdiv, Bulgaria.

2009 (speaker) Eshel D., Shomer I., Lers A., Buskila Y. and Welti R. Postharvest sprouting suppression of potato tubers as related to the role of cell lipids and patatin phospholipase. 6th International Postharvest Symposium, Antalya, Turkey

2009 (Poster) Teper-Bamnolker P., Lers A., Eshel D. L-carvone prevents sprouting but does not affect dormancy release of potato tubers. Plant Dormancy conference, Fargo, North Dakota, USA.	
פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)	
רק בספריות	◀
ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)	◀
חסוי – לא לפרסם	◀