

02/05/2011

כ"ח ניסן, תשע"א

דו"ח לתוכנית מחקר מס' 430-0197-10

שיפור איכות בטטות באחסון עם המעבר ממעמד של גידול נישה למעמד של גידול ייצוא רחב היקף
Improvement of sweet potato quality with transition from a niche crop
for export to an extensive crop

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ע"י

המחלקה לאחסון, מינהל המחקר החקלאי – בית דגן	דני אשל
המחלקה לפתולוגיה של צמחים, מינהל המחקר החקלאי – גילת	לאה צרור
המחלקה לחקר ירקות, מינהל המחקר החקלאי – בית דגן	נורית פירון
המחלקה לפתולוגיה של צמחים, מינהל המחקר החקלאי – גילת	אורלי ארליך
המחלקה לחקר ירקות, מינהל המחקר החקלאי – בית דגן	ולביאה אלטחן

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

Email: dani@volcani.agri.gov.il

Lea Tsrer, Plant Pathology, Gilat Research Center, ARO, MP Negev 85280 Email: tsror@agri.gov.il

Nurit Firon, Department of Vegetable Research, Institute of Plant Sciences,

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

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.
הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא

חתימת החוקר

*

1. תקציר

הצגת האתגר המחקרי: 'Georgia Jet' הינו זן הבטטה המוביל בארץ, בשל יכול גבוה וטעם מועדף, אך סובל מרגישות למחלות המופיעות בעיקר באחסון ממושך ובמהלך ההובלה הימית.

מטרת המחקר הארכת משך האחסון של הזן 'Georgia Jet' וצמצום הפחת, הנובע ממחלות, במהלך האחסון וההובלה הימית.

שיטות העבודה: אפיון גורמי הפחת במהלך האחסון וההובלה הימית. מבחן זנים לבחינת כושר האחסון של הזן המסחרי לעומת זנים חדשים אפשריים. אפיון גורם הריקבון המימי בשיטות פיטופתולוגיות וגנטיות ופיתוח שיטה לאילוח מלאכותי בפתוגן. ניסויי הדברה במגוון שיטות ידידותיות לסביבה. בידוד של חומר המעודד את נביטת נבגי הפטרייה, מציפת אשרוש הבטטה, בשיטות כרומטוגרפיות. פיתוח מבחן ביולוגי לבחינת האפשרות להגביר את רגישותם של נבגי הפתוגן באמצעות מעודד נביטה שהופק מציפת הבטטה.

תוצאות עיקריות: זוהו שני סוגים עיקריים של מחלות האחסון והוחלט להתמקד בגורם הפחת העיקרי, פטריית הריזופוס, הגורמת לריקבון מימי ופוגעת בעיקר בשלב ההובלה הימית. פותחה שיטת אילוח מלאכותי בריזופוס. במבחן אחסון לזנים נבחר זן בעל עמידות גבוהה למחלה, בהשוואה לזן המסחרי, שנמצא כזן הרגיש ביותר למחלה. בניסויי הדברה שבוצעו עד סקלה חצי מסחרית נמצא שהמדביר הביולוגי "שמר" יעיל ביותר בהדברת המחלה ושילובו עם טיפול מקדים בקיטור או הברשה חמה אף משפרים את יעילותו. פותח מבחן ביולוגי לזיהוי נוכחות חומר מעודד שנמצא בציפת האשרוש ופותחה שיטה לבידוד חלקי של החומר. נמצא שנבגים שטופלו בחומר המעודד הטבעי נבטו מוקדם יותר ונמצאו רגישים יותר לטיפול חום.

מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות: נמצא שעיקר הפחת בזן 'Georgia Jet' מקורו בריקבון מימי הנגרם על ידי הפטרייה *Rhizopus oryzae*. טיפול ההגלדה חשוב במניעת ריקבונות יבשים אך צריך להתבצע באופן מבוקר בשל היותו משרן, במצבים מסוימים, להתפרצות הריקבון המימי באופן נרחב. יש מקום ליישם את המדביר הביולוגי "שמר" לפני ההובלה הימית וניתן לשפר את יעילותו על ידי טיפול חום מקדים. יש מקום לבחון גישה חדשה להדברת ריזופוס המבוססת על "פיתוי" הנבגים לנבוט לפני או במהלך פעולת הדברה באמצעות חומרי טבע כגון החומר שבודד חלקית בעבודה זאת.

2. מבוא ותאור האתגר המחקרי :

אחסון בטטות: הבטטה, *Ipomoea batatas* (L.) Lam, הינה שורש מעובה (אשרוש) של צמח השייך למשפחת החבלבליים. הגידול נעשה בעיקר בשרון ובנגב לייצוא ולשוק מקומי. צריכת הבטטה באירופה במגמת עלייה וכך גם בשוק המקומי זאת בשל טעמה הייחודי, מודעות למוצר העשיר מבחינת מרכיבים תזונתיים וערך קלורי נמוך. הזן המוביל בארץ הוא 'Georgia Jet', בשל יכול גבוה וטעם מועדף, אך הוא סובל מרגישות למחלות ופגעי קור. רוב הפחת באחסון בטטה נובע ממחלות אחסון המתבטאות בריקבונות לחים או יבשים המופיעים בשלב ההגלדה, באחסון ממושך, במהלך ההובלה ובחיי מדף (תמונה 1).

לשם הארכת האספקה בעונת החורף מאחסנים את הבטטות בחדרי אחסון מבוקרי טמפרטורה ולחות. לפני הכנסת המוצר לאחסון ממושך מגלידים (curing) את פצעי האסיף בתנאי טמפרטורה גבוהה ולחות מירבית (30 מ"צ, 98% לחות יחסית) למשך 3-5 ימים למניעת ריקבונות והארכת חיי המוצר [1]. בסיום הטיפול הבטטות מועברות לחדרי קירור לאחסון בטמפרטורה של 14 מ"צ למספר חודשים. שילוב של חומרי הדברה כימיים המיושמים בערפול במהלך

ההגלדה הראה הפחתה מובהקת באחוז הבטטות הנרקבות במהלך האחסון [1]. בשנת 2002 חל איסור בשימוש בחומרי הדברה פונגיצידיים, כגון רוברל וסוויץ', בבטטות מאוחסנות. איסורים אלה מגבילים מאד את מגוון הטיפולים למניעת ריקבונות ומעלים את הצורך במחקר בסיסי שיביא לפיתוח אמצעים מכווני מנגנון ו"ידידותיים" לסביבה, שיהיה ביכולתם למנוע פחת גבוה של התוצרת, כתוצאה מריקבונות במהלך האחסון. החלפה לזן עמיד יותר, היא אחד האמצעים האפשריים להתמודדות עם הבעיה. אלא שעדיין לא נמצא זן היכול, בתנאי הארץ, להתחרות עם 'Georgia Jet' בטעם ובייבול לדונם. במחקר הנוכחי מוצג מודל אפשרי לברירת זנים באשר לכושר אחסונם, תוך אפיון מחלות אחסון המהוות גורם פחת עיקרי.

נגיעות בפתוגנים באשרושי בטטה נמצאה בקורלציה עם ירידה בתכולת עמילן וחומצה אסקורבית ברקמת האשרוש של ארבעה זנים שונים של בטטה [2]. מיתוך סך כל החלבונים המסיסים בבטטה, 80% הם איזופורמים של החלבון ספורמין (sporamin) הממוקם בואקואולה ומשקלו המולקולארי 25kDa [3]. לספורמין יש רצפים הומולוגים למעכב טריפסין kunitz-type וחלבון רקומביננטי שיוצר בחיידקים הראה פעילות מעכבת מתאימה [4]. ספורמין נמצא כחלבון בעל פעילות אנטי אוקסידטיבית [5] וכמעכב פעילות של סרין-פרוטאינאזות שמקורן מאשרוש בטטה [6]. מלבד היותו של ספורמין חלבון תשמורת ישנן עדויות למעורבותו בתגובות הגנה של צמח הבטטה [7]. ספורמין מתבטא באופן מוגבר בעקבות פציעת עלי בטטה [8], תגובה מקומית המלווה בתגובה סיסטמית [7]. מגוון מולקולות קטן מולקולאריות באשרוש בטטה תועדו כבעלות השפעה מעכבת על התפתחות פטריות פתוגניות. כך לדוגמה resin glycosides שבודדו מקליפת אשרוש בטטה מהזן Regal עיכבו בניסויי *in-vitro* פטריות פתוגניות הגורמות לריקבונות בבטטה במהלך האחסון, אך לא נמצאה קורלציה בין ריכוז החומר לעמידות [9]. כמו כן ישנן עדויות לאינדוקציה ליצירת פיטואלקסינים באשרוש בטטה בתגובה לאילוח בפטריות פתוגניות [10,11].

3. מטרות המחקר הארכת משך האחסון של הזן 'Georgia Jet' וצמצום הפחת, הנובע ממחלות, במהלך האחסון וההובלה הימית.

מטרות ספציפיות: א) אפיון גורמי הפחת העיקריים באחסון והובלה ימית של בטטות; ב) בחינת זנים חדשים באשר לכושר אחסונם; ג) בחינת גישות הדברה ידידותיות לסביבה להפחתת הריקבון המימי הנגרם על ידי ריזופוס באחסון ובהובלה הימית; ד) פיתוח שיטת הדברה מכוונת, על ידי זיהוי חומרים המעודדים את התפתחות פטריית הריזופוס באשרוש המאוחסן ושימוש בהם להגברת רגישות הפתוגן.

4. עיקרי הניסויים שבוצעו:

4.1 מבחן זנים ללימוד ההיבטים הפיסיולוגיים והפתולוגיים הייחודיים לזן המסחרי- אחד מכלי המחקר האפשריים בחקר איכות תוצרת חקלאית לאחר אסיף הוא השימוש בזנים בעלי רגישות שונה למחלות ולגורמי פחת אחרים. הבנת ההבדל בינם בין זן רגיש לזן עמיד יש בה כדי לשפוך אור על הגורם לרגישות המוגברת.

טבלה 1: זני בטטה בהם נעשה שימוש (מקור: דר' נורית פירון)

מספר סידורי	זן
1	99-35 (Evangeline)
2	96-117
3	595199
4	531146
5	153655
6	595873
7	153905

8	508508
9	'Georgia Jet'

*The Plant Genetic Resources Conservation Unit (PGRCU), Griffin, Georgia, USA.

בניסויים שבוצעו בתשעה זנים שונים של בטטות (מס' סידורי 1-9, טבלה 1), ביניהם נכלל הזן המסחרי 'ג'ורג'יה ג'ט' (זן 9), נבחנו גורמים שונים הפוגעים באיכות האשרושים במהלך אחסון ממושך. במהלך שלוש עונות אחסון בהם גודלו תשעת הזנים בערבה וברמת נגב, נצפו ארבעה סוגים עיקריים של גורמי פחת המתפתחים לאחר אסיף: ריקבון מימי, ריקבון יבש, התייבשות קצה הבטטה



ולבלוב (איור 1).

איור 1: התפתחות ריקבונות באחסון בטטה מהזן 'Georgia Jet'. (a) ריקבון לח הנגרם על ידי ריזופוס במהלך תהליך ההגלדה. (b) למרות הסמיכות הגבוהה לבטטה רקובה, לא חל אילוח מישני משך חמישה חודשי אחסון. (c) אזור החיבור לבטטה הרקובה בבטטה בריאה, שאינו נרקב משך 5 חודשי אחסון. (d) ריקבון יבש הנגרם על ידי פוזריום

המאופייין בכתמים קונצנטרים בכל שטח פני הבטטה. (e) חתך רוחב בכתם של ריקבון יבש במרכז הבטטה המצביע על שטחיותו. (f) התייבשות קצה הבטטה.

ריקבון מימי: התפתח בעיקר במהלך ההגלדה, ומקורו בפטרייה ריזופוס (*Rhizopus spp.*). התופעה נמצאה באחוזים גבוהים בבטטות שגודלו בערבה ונאספו לאחר אחסון בקרקע, ללא השקייה, משך ארבעה חודשים. ריקבונות מימיות התפתחו בעיקר במהלך חמשת ימי ההגלדה (30 מ"צ, 98% לחות), והביאו לריקבון מוחלט של עד כ-30% מהבטטות תוך ימים ספורים, בעוד שבמהלך האחסון העוקב שנמשך כשישה חודשים נוספו אחוזים בודדים בלבד של בטטות עם סימפטומים דומים (איור 2). לא נצפה אילוח של בטטות בריזופוס גם במצב בו היה אשרוש הבטטה במגע ישיר עם אשרוש הסובל מריקבון מימי (איור 1b, 1c). הזן המסחרי 'Georgia Jet' נצפה כרגיש ביותר מבין הזנים שנבחנו להתפתחות הריקבון המימי בעיקר במהלך ההגלדה (איור 2a). בזנים 2 ו-4 הופיעו ריקבונות מימיות גם בשלב מאוחר יותר של האחסון, לאחר כ-90 ימי אחסון, אך הם לא לוו בהתפתחות תפטר אופייני. לעומתם הזנים 3, 5, ו-6 הראו עמידות גבוהה למחלה מה גם שבזן מס' 1 המחלה לא הופיעה כלל (איור 2a).

ריקבון יבש: התפתח במהלך האחסון, לאחר ההגלדה, ובודדו ממנו תבדידים שונים של הפטרייה פוזריום (*Fusarium spp.*). ריקבונות יבשים, התאפיינו בהופעת כתמים יבשים קונצנטרים על פני קליפת הבטטה, שהלכו והתפשטו במהלך האחסון. הריקבונות היבשים התפתחו ברוב הזנים בקצב איטי יחסית, וסימפטומים אופייניים הופיעו לאחר יותר מ-50 ימי אחסון (תמונה 2b). בידודים שנעשו מסימפטומים אופייניים במהלך עונת האחסון, וכן השלמת מבחן קוך באמצעות אילוח מלאכותי, אישרו שאכן הגורם הינו פוזריום. זן מס' 2 נמצא כזן הרגיש ביותר למחלה בעוד שהזן המסחרי 'Georgia Jet' (מס' 9) היה יחסית עמיד עד כ-95 ימי אחסון שלאחריהם התפרצה המחלה (איור 2b). הזנים 1, 4, 7 ו-8 הראו עמידות זהה או גבוהה יותר מהזן המסחרי (מס' 9) לריקבונות יבשים.

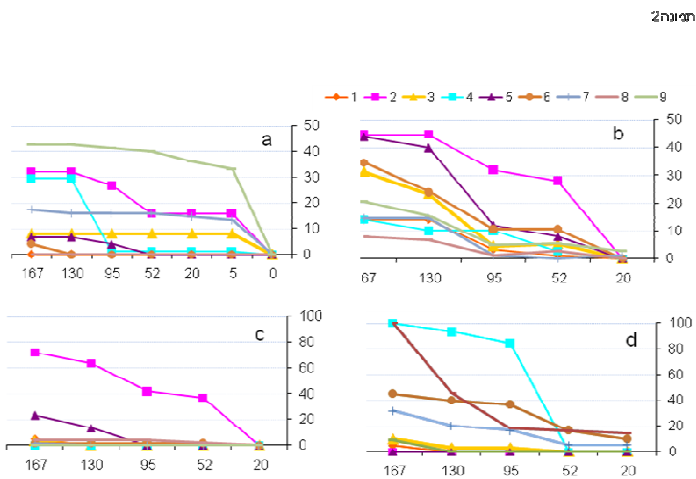
התייבשות קצה האשרוש: התייבשות קצה הבטטה לוותה בכל המקרים שנבחנו באילוח בפוזריום. בזן המסחרי (מס' 9) התופעה הייתה שולית ולא היוותה גורם פחת משמעותי גם לאחר אחסון ממושך (איור 2c). מהסימפטומים

האופייניים בודדה הפטרייה פוזריום שיצרה ריקבון יבש, קונצנטרי, באילוח מלאכותי של ציפת הבטטה (תוצאות אינן מוצגות). זן מס' 2 נמצא רגיש מאוד לתופעה, כבר לאחר 50 ימי אחסון כ- 38% מהבטטות נמצאו פסולות לשיווק בשל התופעה (איור 2c). למעט זן מס' 5, בכל הזנים האחרים גם לאחר 167 ימי אחסון הסימפטומים האופייניים אינם מתפתחים באורח משמעותי הגורם לפסילת האשרושים לשיווק.

בלבוב: הזנים שנבחנו נבדלים באורח דרמטי באשר ליכולתם לבלבב בתנאי האחסון המקובלים (14 מ"צ ו 90% לחות יחסית). בעוד שבזן המקובל בארץ 'Georgia Jet', לבלבו אחוזים בודדים מהאשרושים המאוחסנים, גם לאחר 167 ימי אחסון, הרי שבזנים 6 ו-7 לבלבו עד 43% מהבטטות (איור 2d). שבזנים 4 ו-8 נבטו כל הבטטות לאחר פרק זמן דומה.

עמידות לאחסון ממושך: לאחר אחסון של כ- 10 חודשים נחתכו הבטטות לאורכן ולרוחבן. אחסון ממושך בזנים 4, 6, 7 ו-8 הוביל לנזקים אסטטיים על גבי הקליפה ובזנים 3, 4, 7 ו- 'Georgia Jet' (מס' 9) נוצרו חללי אויר בציפה, ככל הנראה בשל איבוד נוזלים מציפת האשרוש (איור 3).

איור 2:



אשתתי בטטה פסולים לשיווק (%)

ניסוי מייצג של בטטות מתשעה זנים הממוספרים 1-9 (טבלה 1), שהוצאו מהקרקע בערבה בסוף אפריל 2009, ונשטפו במים. ההגלדה בוצעה משך חמישה ימים ב- 30 מ"צ וב- 98% לחות, לאחר ההגלדה אוחסנו הבטטות בטמפ' של 14 מ"צ וב- 95% לחות משך כשישה חודשים. כל טיפול הכיל 4 חזרות של 25 פרטים, סה"כ 100 בטטות. לאחר ההגלדה נערכו תצפיות חודשיות למשך 167 ימים (כ- 6 חודשים). (a) ריקבון לח הנגרם על ידי ריזופוס. (b) ריקבון יבש הנגרם על ידי פוזריום (c) התייבשות קצה הבטטה. (d) בטטות מבלבות.



איור 3: עמידות לאחסון ממושך של זני בטטה. תשעה זני בטטות הממוספרים 1-9 (טבלה 1), הוצאו מהקרקע בערבה בסוף אפריל 2009, ונשטפו במים. הגלדה בוצעה משך חמישה ימים ב- 30 מ"צ וב- 98% לחות, לאחר ההגלדה אוחסנו הבטטות בטמפ' של 14 מ"צ וב- 95% לחות משך כששה חודשים. כל טיפול הכיל 4 חזרות של 25 אשרושים ומוצג מראה אופייני של כל זן בתום האחסון הממושך.

4.2 בידוד הפתוגן והשלמת מבחן קוד- מבחן הזנים הצביע על הצורך במיקוד המחקר בריקבון המימי, כגורם פחת עיקרי בשלבי האחסון הראשוניים של הזן המסחרי, והיה צורך להגדיר את גורם המחלה. בידוד הפתוגן נעשה מאשרושים אשר התפתחה בהם מחלת הריקבון המימי, באופן ספונטני, במהלך אחסון מסחרי. אפיון מורפולוגי

ומיקרוסקופי של התבדידים שבודדו מחזית ההתקדמות של הריקבון, הביא לזיהוי הפטרייה *Rhizopus oryzae*. המאפיינים שניצפו: א) גידול הפטרייה על גבי מצע מזון התאפיין ביצירת מושבות לבנות בעלות תפטיר אווירני; ב) לאחר מספר ימי הדגרה נצפו מנבגים (sporangium) בעלי נבגים שחורים (sporangisphores); ג) הסתעפויות התפטיר נתמכות למצע המזון באמצעות ריזואידים; ד) נושאי המנבגים (sporangiosphore) ארוכים 3-1 מ"מ ובעלי קוטר ממוצע של 250-270 μm ו-הצורת הנבגים אינה סימטרית הם עגולים או אובליים בקוטר 5-8 μm וצבעם שחור. מאנליזת רצף ה-ITS internal transcribed spacer של ה-DNA הריבוזומאלי של שני תבדידים שונים, שהתקבל מאשרושים נגועים, נמצאה זהות ל-*R. oryzae* (תוצאות אינן מוצגות).

להשלמת מבחן קודך אולחו אשרושי בטטה, סימפטומים אופייניים של מחלת הריקבון המימי התקבלו רק באשרושים אשר נפצעו לפני האילוח. נראה שהפטרייה *R. oryzae* אכן יצרה את הסימפטומים האופייניים למחלת הריקבון המימי וכי הייתה דרושה פציעה של רקמת האשרוש על מנת שהפטרייה תתבסס, למרות שלא כל פציעה הובילה להתבססות הפתוגן.

4.21 השפעת אופן הפציעה ושיטת האילוח על הצלחת אילוח מלאכותי- בשלב זה בחנו מהו אופן הפציעה הדרוש בכדי להביא להתבססות ודאית של הפטרייה ברקמה וליצירת סימפטומים אופייניים, זאת במטרה לעשות שימוש במידע זה בעת ביצוע ניסויים לאיתור אמצעי הדברה למחלה. שיעורי הופעת המחלה הגבוהים ביותר התקבלו בעקבות חבלה (מעיקה) ברקמת הפרידרם, בדומה לחבלות המתרחשות במהלך האסיף, השינוע והאריזה של האשרושים במסחר. אחרי חבלה של הרקמה התקבלה הצלחה של כ- 75-80% באילוח האשרושים, ברוב הניסויים שבוצעו, ללא הבדל משמעותי בין שיטות האילוח. כך לדוגמה בניסוי המוצג בטבלה 2, לאחר טבילה ברסק אשרושים מאולחים הופיעו סימפטומים של המחלה ב 80% מהאשרושים ובאילוח שנעשה על ידי הברשת נבגים, על החבלה, הופיעו סימפטומים של המחלה ב 75% מהאשרושים. שיעורי הופעת המחלה לאחר קילוף של רקמת הפרידרם, ללא מעיקתה, היו נמוכים יחסית. בניסוי המוצג בטבלה 2, באילוח על ידי טבילה ברסק אשרושים מאולחים, אחרי קילוף מקומי, הופיעו סימפטומים של המחלה ב- 60% מהאשרושים בעוד שבהברשת נבגים על מקום הקילוף הופיעו סימפטומים של ריקבון מימי רק ב- 20% מהאשרושים בלבד. בכל הניסויים שבוצעו לא ניתן היה לאלח אשרושים ללא פציעתם, ובמקרים אלו התפתחה מחלה ברמה שאינה נבדלת מאילוח ספונטני.

טבלה 2: השפעת אופי הפציעה ושיטת האילוח בנבגי פטריית הריזופוס, על התפתחות מחלת הריקבון המימי באשרושי בטטה באחסון.

אופי הפציעה	שיטת אילוח	אשרושים מאולחים (%)
חבלה \ מעיקה	ללא אילוח	0
	טבילה ברסק רקמת אשרושים מאולחים	80
	הברשת תמיסת נבגים	75
קילוף	ללא אילוח	0
	טבילה ברסק רקמת אשרושים מאולחים	60
	הברשת תמיסת נבגים	20
ללא פציעה	ללא אילוח	0
	טבילה ברסק רקמת אשרושים מאולחים	0

0	הברשת תמיסת נבגים	
---	-------------------	--

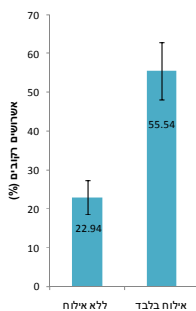
4.2.2 פיתוח מכשיר לפציעה אחידה של בטטות לצורך אילוח בריזופוס- הניסויים באילוח מלאכותי הצביעו על הצורך ביצירת פצע מעיכה של הקליפה והציפה שמתחתיה בכדי לגרום לפטרייה להתבסס וליצור סימפטומים של ריקבון מימי. בכדי לבצע ניסויים בסקלה גדולה נוצר צורך במכשיר שיצור פצע חבלה אחיד ככל האפשר באשרושים המשתתפים בניסויי אילוח והדברה. לצורך הניסוי יצרנו מטוטלת בעלת משקולת (איור 4) אותה ניתן להסיט בזוויות שונות ובכך להתאים את עוצמת המכה, אשר ניתנת לאשרוש, לעוצמה הרצויה. בניסויים מקדימים בחנו את יעילות



האילוח לאחר מכה בזוויות השונות (15° , 30° , 45°) ומצאנו כי מכה בזווית 45° היא היעילה ביותר ליצירת הפצע הרצוי ולקבלת שיעורי אילוח מלאכותי גבוהים (הנתונים אינם מוצגים).

איור 4: מכשיר ייעודי שפותח לביצוע פצע חבלה אחיד באשרושי בטטה (משמאל), פצע חבלה אופייני שנוצר (במרכז) ופצע חבלה 24 שעות אחרי אילוח (מימין).

4.3 ניסוי הדמיית משלוח ימי לבחינת טיפולי הדברה כנגד התפתחות הריקבון הרך במשך האחסון- השלמת מבחן קוך ופיתוח שיטה אחידה לאילוח אשרושי בטטה בנבגי ריזופוס אפשרו ביצוע של ניסויי הדברה של הגורם לריקבון המימי לאחר אסיף. הניסויים בוצעו באופן המדמה משלוח ימי. נמצא שהאילוח המלאכותי הביא להגדלת מספר האשרושים הרקובים בשיעור של 33% ביחס לאשרושים שנחבלו אך לא אולחו (איור 5). שיעור האילוח העיקרי התקבל בשלבי האחסון המוקדמים.

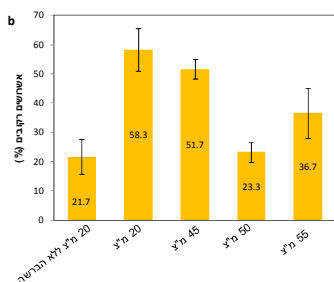
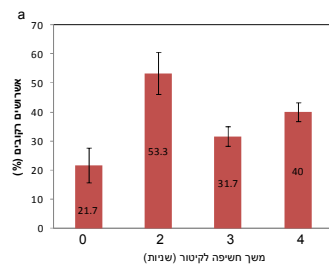


איור 5: השפעת אילוח מלאכותי על התפתחות מחלה במהלך 45 ימי אחסון.

4.3.1 בחינה של טיפולי חום-טיפול במים חמים בפירות וירקות אחרי אסיף נהוג במספר מוצרים ומיושם בהצלחה

בעיקר בפלפל. יישום של מיים חמים, הנמשך עשרות שניות ואף מספר דקות, מביא לחימום הרקמה לעומקה על ההשלכות הפיסיולוגיות הכרוכות בכך. לעומתו השימוש בקיטור מדויק פותח לאחרונה בגזר לאחר אסיף ואין בו כדי לחמם את המוצר לעומקו בשל החשיפה הקצרה המיושמת בו (שניות בודדות).

נראה כי הטיפולים במים חמים או קיטור מדויק הגבירו את שיעור הריקבונות, ככל הנראה בשל נזקים שנגרמו לרקמת הפרידרם באשרוש. בקרב טיפולי הקיטור, בטיפול למשך 3 שניות, שיעור הריקבונות היה הנמוך ביותר, ועמד על 31.7% לעומת שאר טיפולי הקיטור בהם משכי חשיפה של 2- ו- 4 שניות הביאו לשיעור ריקבונות מימיים ב- 53% ו- 58.3% מהאשרושים בהתאמה (איור 6a).

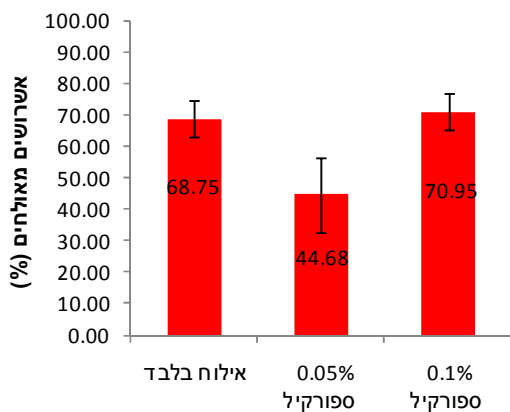


איור 6: השפעת טיפולי קיטור (a) או הברשה במיים חמים (b) על התפתחות ריקבון מימי באשרושי בטטה מאוחסנים.

בקרב טיפולי ההברשה במיים חמים, שימוש במים בטמפרטורה של 50°C , הביא לשיעור הריקבונות הנמוך ביותר בקרב טיפולים מסוג זה, שעמד על 23.3% זאת לעומת שאר טיפולי ההברשה במיים חמים בטמפרטורות של 45°C ו- 55°C הביאו לשיעור ריקבונות של 51.7% ו- 36.7% בהתאמה (איור 6b). נראה שעיקר העלייה במספר האשרושים שנרקבו מקורה בפעולת ההברשה.

4.3.2 בחינה של מדביר כימי בעל רעילות נמוכה לאדם

ולסביבה- ספורקיל (agVantage, ניו זילנד), פורמולציה מסחרית של אמוניום רביעוני המיושמת במספר גידולים לאחר קטיפת כנגד פטריות וחיידקים פתוגניים. טבילה בספורקיל 0.05% (v/v) הפחיתה את מספר האשרושים בעלי ריקבון מימי ב- 24.1% ביחס ללא מטופלים, אלא שעדיין שיעור האשרושים הפסולים לשיווק עמד על 44.6%. טיפול במינון גבוה יותר, של 0.1%, הביא לשיעור ריקבונות של 70.9% (איור 7). בכך בעצם נחסמה האפשרות להעלות את המינון ובדומה לטיפול החום נתקבלה עקומת אופטימום סביב מינון ביניים.

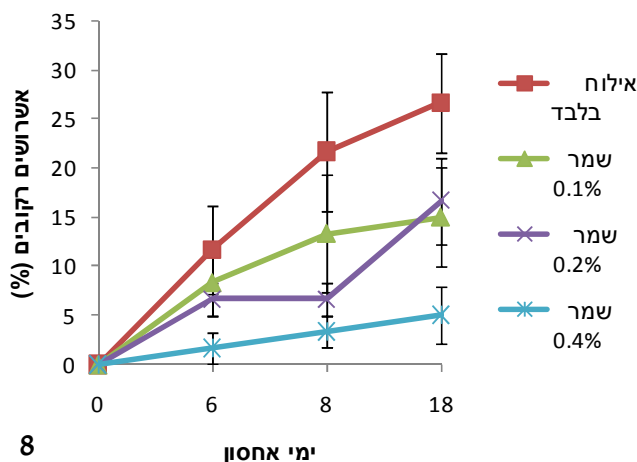


איור 7: השפעת הטיפול באמוניום רביעוני (ספורקיל) על התפתחות ריקבון מימי באשרושי בטטה מאוחסנים.

4.3.3 בחינה של מדביר ביולוגי- טיפול ב"שמר" (*Metschnikowia fructicola*) (אגרו גרין, ישראל) מוצר מסחרי

המיושם כנגד פטריות פתוגניות, נמצא כיעיל ביותר במניעת המחלה. מספר מינונים של ה"שמר" יושמו ונבדקה יעילותם כנגד הפטרייה. בריכוז 0.4% נצפה שיפור של 81.2% ושיעור האשרושים המאולחים לאחר 18 ימי אחסון עמד על 5% בלבד בעוד שבריכוזים 0.1% ו- 0.2% שיעור האשרושים הרקובים עמד על 15% ו- 16.6% בהתאמה. (איור 8).

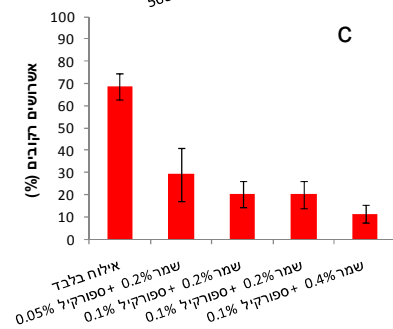
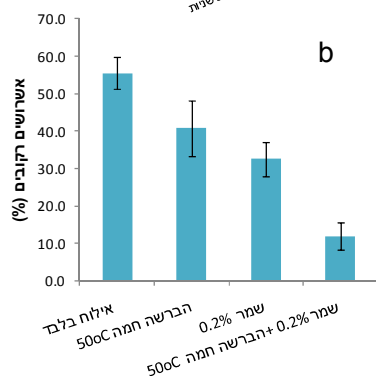
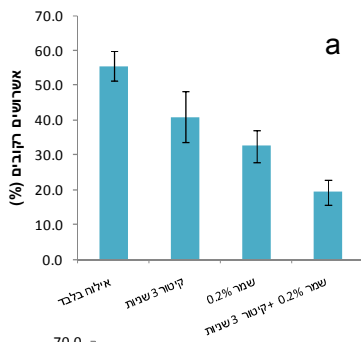
הטיפול בשמר הביא לירידה דרמתית בשיעור האשרושים בהם התפתח ריקבון מיימי. כמו כן נמצאה השפעה מובהקת של המינון המיושם (איור 8).



איור 8: השפעת הטיפול במדביר הביולוגי- שמר על התפתחות ריקבון מימי באשרושי בטטה מאוחסנים.

4.3.4 בחינה של שילובי טיפולים שנמצאו יעילים בהפחתת המחלה - העלות הגבוהה בישום שמר בריכוז גבוה

והקושי לעלות במינונים של טיפולי חום וטיפולים כימיים מבלי ליצור נזק לרקמת האשרושים הביאו לבחינה של שילוב טיפולים, שנועד ליצור השפעה תוספתית ואף מועצמת (סינרגיסטית).



יישום טיפולי חום, הברשה במים חמים ב- 50°C או טיפול בקיטור למשך 3 שניות, לפני הטיפול בשמר במינון 0.4% פגע ביעילות הטיפול והביא לעליה בשיעור האשרושים הרקובים ביחס לטיפול בשמר בלבד במינון זה. שיעור האשרושים הרקובים בטיפול בשמר בריכוז 0.4% בלבד עמד על 5% בעוד שבשילוב טיפולי הברשה במים חמים ב- 50°C או טיפול בקיטור למשך 3 שניות שיעור זה עמד על 15.3% ו-10.6% בהתאמה (תוצאות אינן מוצגות). לעומת זאת שילוב טיפול הברשה במים חמים ב- 50°C עם טיפול בשמר במינון 0.2% הראה סינרגיזם בין שני הטיפולים והעלה את יעילות הטיפול בצורה משמעותית. שיעור האשרושים הרקובים בטיפול בנפרד בשמר בריכוז 0.2% ובטיפול בהברשה במים חמים ב- 50°C עמד על 32.5% ו-40.7% בהתאמה. לעומת זאת שילוב שני הטיפולים הנייל הביא לשיעור אשרושים קובים של 11.8% (איור 6a). לשילוב טיפול בהברשה במים חמים ב- 50°C עם טיפול השמר בריכוז 0.2% הייתה השפעה אדטיבית על יעילות הטיפול. בשילוב הטיפול בקיטור למשך 3 שניות עם טיפול בשמר בריכוז 0.2% נראתה עלייה ביעילות הטיפול אך לא נראתה השפעה אדטיבית כבטיפול הקודם. שיעור האשרושים הרקובים לאחר טיפול בקיטור למשך 3 שניות בלבד עמד על 40.9% ו-19.2% שילוב שני הטיפולים הנייל הביא לשיעור אשרושים קובים של 19.2% (איור 6b). שילוב הטיפולים בספורקיל בריכוזים 0.05% ו-0.1% עם טיפולי השמר לא הראה שינוי ביעילות הטיפולים. שיעור הרקבנות עמד על 29.2% ו-20.1% בהתאמה בשילוב עם טיפול בשמר בריכוז 0.2% ו-20.1% ו-11.3% בהתאמה בשילוב עם טיפול השמר בריכוז 0.4% (תמונה 6c).

איור 9: בחינת שילוב טיפולי הדברה, בעלי יעילות חלקית, על התפתחות ריקבון מימי באשרושי בטטה מאוחסנים.

4.4 זיהוי ואפיון המרכיבים באשרוש הבטטה המעודדים את נביטת נבגי הפטרייה - בהמשך להגדרת

הזן המסחרי של הבטטה ("ג'ורג'יה ג'יי") כזן רגיש במיוחד לפטריית הריזופוס וכן ההכרה בקושי בהדברת המחלה, נראה היה שהבנת הגורם לרגישות המוגברת יש בה בכדי לסייע בפיתוח כלים להדברת המחלה. לצורך כך בחרנו להתמקד בחומרים מסיסים במים המופקים מרקמת האשרוש ובחינת פעילותם על נבגי הפטרייה. השפעת המרכיבים השונים על נביטת נבגי הפטרייה נבחנה במבחן ביולוגי.

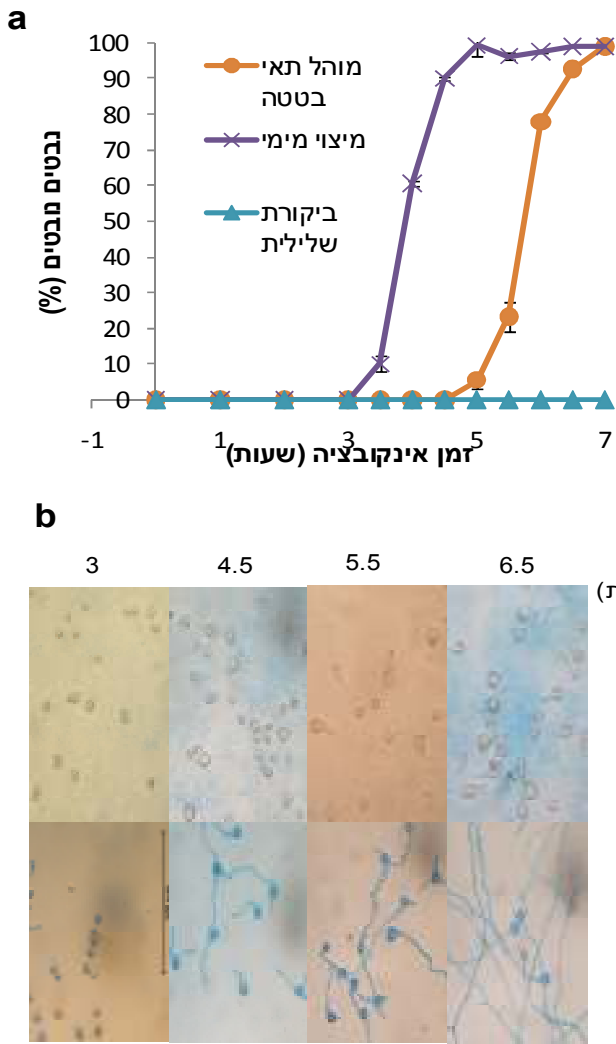
בסריקה ראשונית שבוצעה על ידי מיצוי המרכיבים המסיסים במים מרקמת האשרוש והפרדתם בקולונה המפרידה על פי משקל מולקולארי, במכשיר FPLC, נמצאה רק פרקציה המעודדת את נביטת נבגי הפטרייה ואיתה בחרנו להמשיך לבידוד החומר הפעיל (תוצאות אינן מוצגות).

4.4.1 השפעת מיצוי מימי מאשרושי בטטה על נביטת נבגי הפטרייה- על מנת לבחון את השפעות החומר הממוצה

על נבגי הפטרייה, הוספנו אותו למים סטריליים, מדיום בו נבגי הפטרייה אינם נובטים. נבחנו השפעת החומר הממוצה על שיעור הנביטה לאורך זמן וכן השינוי במבנה המורפולוגי של הנבגים במהלך הנביטה. כביקורת חיובית שימש מוהל תאי בטטה ומים סטריליים ששימשו כביקורת שלילית.

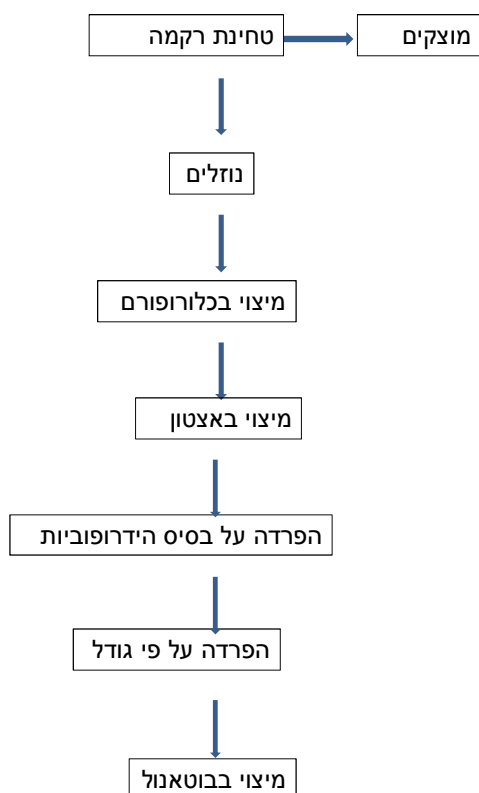
נביטת הנבגים בנוכחות החומר המעודד, המבודד חלקית מציפת הבטטה, הייתה מהירה יותר כאשר שיעור הנבגים הנובטים עמד על 99% לאחר 5 שעות בלבד מתחילת ההדגרה בעוד ששיעור הנבגים הנובטים במוהל תאי בטטה עמד על 99% רק לאחר 6.5 שעות (איור 10a). בנבגים אשר נבטו במוהל אשרושי בטטה קדמה להצצת נחשון הנביטה התנפחות של הנבג וקוטר הנבג גדל משמעותית (איור 10b). רק לאחר 5 שעות מתחילת ההדגרה נראתה נביטה ראשונית של 5% מהנבגים במוהל אשרושי בטטה. בעוד שבמיצוי החומר המעודד נצפתה נביטה בשיעור של 10% מהנבגים כבר לאחר 3.5 שעות (איור 10a). בהשפעת החומר המעודד נחשון הנביטה, התפתח מהר יותר אך היה צר יותר וכמעט וחסר הסתעפויות בהשוואה לנחשון הנביטה בנבגים הנובטים במוהל תאי בטטה (איור 8b). בביקורת, מים סטריליים, לא נצפתה נביטה כלל גם לאחר 24 שעות הדגרה.

איור 10: השפעת חומר מעודד נביטה, המבודד חלקית ממוהל תאי ציפת אשרוש בטטה, על נביטת נבגי ריזופוס במבחנה.



4.4.2 בידוד מרכיבים מעודדי נביטת נבגי ריזופוס מרקמת האשרוש- בחרנו לבודד את החומר הפעיל מציפת האשרוש, רקמה שנמצאה כמכילה ריכוז גבוה של החומר וכן נחשפת במהלך פציעת האשרוש, דבר הכרחי להתפתחות מחלה. לצורך כך ביצענו סדרה של מיצויים והפרדות במספר סולבנטים (איור 11), להם נערך מבחן פעילות ביולוגי על גבי נבגי ריזופוס, כאשר החלק שנמצא פעיל הועבר להמשך תהליך הבידוד.

איור 11: תהליך הבידוד של חומר קטן מולקולארי מציפת אשרוש בטטה, בעל פעילות המעודדת נביטת נבגי ריזופוס.



רקמת הציפה עברה הומוגנציה במעבד מזון להפרדת בין מוצקים לנוזלים. לאחר מכן בוצע מיצוי ראשוני של התמיסה הנוזלית בכלורופורם, ממס בעל פולאריות נמוכה המאפשר את הפרדת החומרים האורגאניים והידרופוביים. הפרקציה המימית נמצאה פעילה ושימשה להמשך ההפרדה. התמיסה הורתחה על מנת לגרום לדנטורציה והשקעה של חלבונים ונערך מיצוי חוזר בכלורופורם כני"ל. החומר שהתקבל בפרקציה המימית של מיצוי הכלורופורם הורחף במים מזוקקים פעמיים ובוצע מיצוי בבוטאנול, ממס פחות פולרי מכלורופורם. החומר שהתקבל בפרקציה המימית של מיצוי הבוטאנול הורחף במים מזוקקים והושקעו כלל החלבונים באצטון. המשקע שהתקבל הורחף במים מזוקקים פעמיים והועבר בקולונת הידרופובית C18 להפרדה נוספת של מרכיבים הידרופוביים שעדיין נותרו בתמיסה הפרקציה הפולרית שהתקבלה עברה הפרדת גודל במכשיר FPLC בקולונת desalting הפרקציה הפעילה שנמצאה לאחר

הפרדת הגודל עברה הפרדה נוספת בבוטאנול להפרדת האמינים. על מנת להמיס את מלחי האמינים בבוטאנול ולהוציאם מהתמיסה המימית ערכיות הדוגמה הותאמה ל-pH=8.2 בטטרציה עם סודיום הידרוקסיד. התהליך הסתיים במספר ניסיונות לזיהוי החומר הפעיל בספקטרוסקופיית מסות וב-NMR.

4.4.3 אפיון תכונות החומר המבודד חלקית

4.4.3.1 עמידות להרתחה- חשיפה לחום קיצוני גורמת לדנטורציה של חלבונים ולפירוק קשרים בין מולקולרים. במבחן ביולוגי בו נבחנה פעילות עידוד הנביטה של חומר מורתח לעומת חומר שלא הורתח. לא נמצא הבדל בקצב או מופע הנביטה של הנבגים שטופלו בתמיסה המורתחת ומקוררת בהשוואה להיקש שלא הורתח ומכאן שלא מדובר בפפטיד בעל מבנה שלישוני.

4.4.3.2 קביעת המשקל מולקולארי של החומר הפעיל- המשקל המולקולארי של החומר הפעיל מהווה מידע חשוב בניסיון לזהות את המולקולה. הפרדה על פי גודל החומר של הפעיל בוצעה באמצעות FPLC על גבי קולונה המפרידה על בסיס גודל (Size exclusion chromatography) (SuperdexTM75, GE). כיוול הקולונה נעשה באמצעות סטנדרטים ידועים בתנאי הרצה זהים להפרדת הגודל של החומר הפעיל. במבחן הביולוגי נמצאה פעילות בפרקציה המכילה מולקולות במשקל מולקולארי של כ-300Da.

4.4.3.3 בחינת קיום מטען חשמלי לחומר הפעיל- קישור של המולקולה הפעילה למחליפי יונים (מחליף קטיונים או אניונים) ב- pH נתון, יש בו כדי לרמוז על סוג המולקולה (חומצה אמינית או פפטיד) וכן ניתן להעריך את הנקודה האיזואלקטרית (pI) שלה על ידי מציאת ה- pH בו היא ניתקת מהליגנד. בוצעו הפרדות של החומר הפעיל בקולונה מחליפת קטיונים (SP sepharose Fast Flow, GE) ובקולונה מחליפת אניונים (Q sepharose Fast Flow, GE) בשתי רמות חומציות. מבחן פעילות ביולוגית (נביטה) לפרקציות שנקשרו ולא נקשרו לקולונות (flow through) הצביע על כך שהמולקולה הפעילה בעידוד נביטת נבגי הריזופוס לא נקשרה לליגנד בכל תנאי שנבדק. ולכן ניתן להניח כי לחומר הפעיל, בתנאים שנבדקו, אין מטען חשמלי.

4.4.3.4 אנליזת NMR לחומר הפעיל- באנליזת תהודה מגנטית CNMR ו- HNMR אשר בוצעה לחומר הפעיל התקבל כי המולקולה העיקרית בחומר היא בעלת מערך פחמנים ומימינים הזהה לזה של סוכרוז על פי הספרות. בשל הכמות הרבה של סוכרוז. בחומר הפעיל לא ניתן היה לזהות חומרים נוספים שעשויים היו להיות נוכחים בתערובת. בבדיקת פעילות של סוכרוז (Sigma) במבחן ביולוגי, בריכוזים שונים, לא נצפתה פעילות של עידוד נביטה מוקדמת של נבגים (תוצאות אינן מוצגות), ומכאן נראה שסוכרוז אינו המרכיב הפעיל.

4.4.3.5 אנליזת ספקטרוסקופיית מסות לחומר הפעיל- על מנת לזהות את הרכבו של החומר הפעיל בוצעה אנליזה בספקטרוסקופיית מסות (MS) לחומר הפעיל המבודד חלקית. התקבלו שתי מסות עיקריות של 365.1Da ו- 381.07Da. בהשוואה להרכבי מולקולות אפשריים התקבל כי הנוסחה המולקולארית של החומר העיקרי בחומר הפעיל היא $C_{12}H_{22}O_{11}$ בסטייה של 1mDa ובהתאמה איזוטופית (i-FIT) של 0.2.

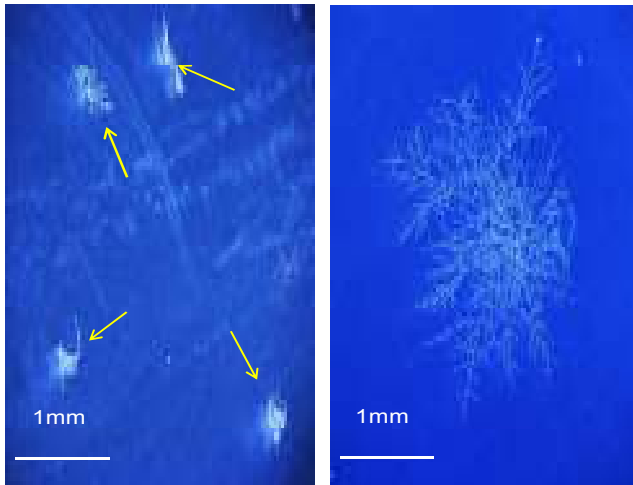
כיוון שבאנליזת ה- NMR התקבל סוכרוז כמולקולה העיקרית המרכיבה את החומר הפעיל, נערכה אנליזת MS לסוכרוז, אשר נוסחתו המולקולארית $C_{12}H_{22}O_{11}$, באותם תנאים, על מנת להשוות את אנליזת הדוגמאות לאנליזת הסוכרוז. התקבלה פרקציה עיקרית לאחר 0.54 דקות במסה של 341.1Da. ההפרש במסות בין דוגמאות לסוכרוז מתקבל בשל הוספה של מולקולות נתרן או מולקולות אשלגן לאנליט כתוצאה מתהליך היינון. לאחר הפחתה של המסה המולקולרית של היונים הנ"ל מהמסות שהתקבלו, מתקבלת מסה מולקולרית זהה למסה המולקולרית של סוכרוז.

4.5 אפיון השינוי ברגישות נבגים מטופלים בחומר המעודד המופק מציפת בטטה

כאמור, החומר הפעיל גורם לנביטה מוקדמת של הנחשון, כאשר שלב ההתנפחות הנבג אינו מושלם ונחשון הנביטה שנוצר צר וארוך לעומת זה הנוצר בנביטה טבעית במדיום עשיר כגון מוהל תאי בטטה. ניתן לשער שההתפתחות המוקדמת והא-נורמאלית של הנבג נובעת מחשיפתו לתנאי עקה, ואחת ההוכחות להיותו "מוחלש" היא רגישות מוגברת לטיפול בחום.

4.5.1 אפיון השפעת נביטת הנבגים בנוכחות חומר מעודד על התבססותם במצע מזון

בהמשך נבחנה השפעת הנביטה בנוכחות החומר המעודד על המשך התבססות הפטרייה וצימוח התפטיר על פני מצע מזון. הנבגים נזרעו על פני מצע מזון עשיר לאחר הנבטה בנוכחות חומר מעודד ומוהל תאי אשרוש. באמצעות בינוקולאר נערך מעקב אחר התפתחות הנבגים ויצירת המושבות על גבי המצע. מוהל תאי אשרוש עודד התפתחות תפטיר ואת התבססות הריזואידים במצע המזון בעוד שבנבגים שנבטו בהשראת החומר המעודד נראתה התפתחות



13

תפטיר מועטה ביותר. קוטר התפטיר אשר התפתח מנבגים שנבטו במוהל תאי אשרושים היה גדול פי-7 לעומת קוטרו בנבגים שנבטו בחומר המעודד למרות נביטתם המוקדמת (איור 12).

איור 12: השוואת התפתחות תפטיר ע"ג מצע PDA לאחר השראת נביטה של נבגי ריזופוס במוהל תאי אשרוש בטטה לעומת חומר מעודד מבודד חלקית.

חומר מעודד

מוהל תאי אשרוש

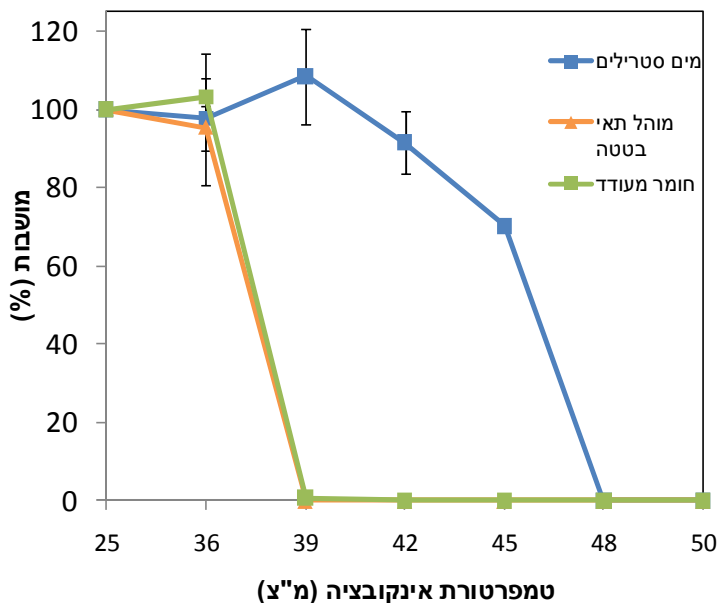
4.5.2 אפיון השפעת נביטת הנבגים בנוכחות חומר מעודד על רגישותם לחום - לאחר אינקובציה של הנבגים במוהל תאי בטטה או חומר מעודד או מיים סטריליים, למשך זמן המשרה את תחילת נביטת הנחשון (בשני הראשונים) הנבגים נחשפו במבחנת אפנדורף, לחימום בטמפרטורות שונות. שיעור השרידות של הנבגים נבדק על ידי זריעתם על פני מצע מזון עשיר (PDA) ובדיקת מספר המושבות שהתפתחו. נראה כי רגישות הנבגים לחימום עולה בעקבות השראת נביטתם ע"י החומר המעודד שבודד. בכל הטיפולים, לאחר הדגרה של הנבגים ל 25 דקות בטמפרטורה של

36°C , 95-100% מהנבגים פיתחו מושבה על פני

מצע ה-PDA. לאחר הדגרה בטמפרטורה של

39°C , שיעור הנבגים שפיתחו מושבות על פני מצע המזון היה נמוך מ 1% בנבגים שהושראה נביטתם המוקדמת על ידי מוהל תאים או החומר המעודד, לעומת זאת לנבגים אשר הודגרו במים, נמצאו עמידים לטמפי זאת ואף לגבוהות ממנה. 70.2% מהנבגים שהודגרו במיים, פיתחו מושבות גם לאחר חשיפה ל- 45°C משך 25 דקות, ורק לאחר חימום ב 48°C לא נראתה התפתחות מושבות כלל על פני מצע המזון (איור 13).

איור 13: השפעת השראת נביטה של נבגי ריזופוס על רגישותם לטיפול חימום.



5. דיון

ריקבונות מימיים בבטטות מהווים גורם פחת עיקרי, בעיקר בשל אופיים, המלווה בהתפשטות תפטיר בקרטון השיווק ונזילה של הבטטה הרקובה על האריזה ובטטות אחרות. נראה שעיקר התפתחותם בשלב ההגלדה או בשלב השיווק, שלבים בהם הטמפרטורה עולה ולעיתים הדבר מלווה בקיומם של מים חופשיים ע"ג הבטטה. ההבדלים הדרמטיים

בין חלקות שונות בעוצמת התפרצות המחלה במהלך ההגלדה מצביעים ככל הנראה על כך שמקור המחלה בשדה. תהליך שטיפת הבטטה והכנסתה להגלדה (לחות וטמפרטורה גבוהים) מעודדים את התפרצות המחלה. האגרוטכניקה הנהוגה בערבה להפסקת השקיה ואחסון הבטטות בקרקע גורמת ככל הנראה לאסיף בגיל פיסילוגי מתקדם יחסית, דבר המגביר, ככל הנראה, את רגישותם למחלות אחסון. בספרות מתוארת עמידות של הזנים *Beauregard* ו- Hernandez, במהלך כ- 60 ימי האחסון הראשוניים להדבקה מכוונת ב- *Rhizopus stolonifer*, לאחר פציעה [12]. העמידות פוחתת משמעותית באחסון ארוך יותר, עם הזדקנות הבטטה, אם כי בחלק מהמקרים ישנו "חלון" רגישות כלומר תקופה של כ- 100 ימים שלאחריה חוזרת הבטטה למצב עמידות חלקית [12]. התופעה מדגישה את הצורך בביצוע הגלדה באופן מושכל, על פי הערכה של רגישות התוצרת לריזופוס ולא באופן "אוטומטי". בנקודת הרגישות הבאה, שלב האריזה והמשלוח, יתכן וגורמי חיטוי נוספים יקטינו את רמת האילוח וימנעו את התפרצות המחלה במהלך המשלוח הימי.

בידודים שנעשו מריקבונות יבשים, קושי נוסף באחסון ממושך של בטטה, המופיעים בקצה האשרוש ומרכזו הביאו לזיהוי ראשוני של פוזריום כגורם הסימפטומים. על גבי מצע מזון סינטטי התקבלו מושבות בעלות צבע ומופע שונה בפוזריום שבודד מהתיבשות קצה הבטטה לעומת מושבות שבודדו מכתמים קונצנטרים במרכז האשרוש. גילוי זה תואם את הדיווחים בספרות, מזנים אחרים של בטטה, הקושרים ריקבון יבש, של קצה הפקעת, ל- *Fusarium oxysporum* ו- *F. pallidoroseum* [13] בעוד שריקבון יבש המופיע בחלקים אחרים של הבטטה אופייני כ- *F. solani* [14]. הנגיעות בפוזריום מקורה ככל הנראה באילוח המתרחש בקרקע, הפטרייה חודרת דרך פצע בקליפה ומתבססת ברקמת הבטטה [13]. בתצפיות שערכנו, סימפטומים של ריקבון יבש הופיעו בהדרגה במשך האחסון, לאחר ההגלדה, כשקצב התפתחות הסימפטומים משתנה בין זני הבטטה השונים שנבחנו למרות שגודלו באותו שדה וקיבלו טיפולים זהים. נראה שהזן המסחרי 'Georgia Jet' עמיד יחסית לריקבונות יבשים וכמעט שאינו מבלבל באחסון, בתנאים בהם נשמרת שרשרת הקירור של הבטטה. עבודה זאת הציגה, עד עתה, מודל בו ניתן לסרוק זנים חדשים של בטטות באשר לכושר האחסון שלהם, תוך התחשבות במספר פגעי אחסון שאינם בהכרח בקורלציה. זן 1 נמצא בעל כושר אחסון גבוה ונראה שיש לבחון את הפוטנציאל הטמון בו לצמצום הפחת באחסון והובלת בטטות. באופן כללי, תוצאות המחקר מציעות שיטה ומידע ראשוני באשר לאפשרות לבחירת זנים נוספים של בטטה לגידול בארץ כדרך נוספת להארכת עונת האחסון ולהגדלת המגוון.

בעבודה זאת נבחנו שיטות הדברה שונות בניסיון לאתר פיתרון מידי למצוקת הייצוא של אשרושי בטטה לאירופה הסובל מפחת גבוה כתוצאה מהתפתחות של ריקבונות מימיים במהלך המשלוח. ואכן נמצא שהמדביר הביולוגי שמר יעיל ביותר בהדברת המחלה, תוצאות שהופצו בין המגדלים והביאו לחידוש האמון במוצר. אלא שיש להקפיד על יישום נכון של השמר בכדי שלא לפגוע בחיוניותו. כך לדוגמה נמצא שבחלק מבתי האריזה הבטטות מיובשות בחום גבוה לאחר יישום השמר דבר שפגע בחיוניות נבגיו ועודד את התפרצות הריזופוס ברקמה. כמו כן נמצא בעבודה זאת שישום של קיטור או הברשה חמה לפני הטיפול בשמר משפר את תוצאות ההדברה. תופעה דומה נצפתה גם בעקבות השימוש בספורקיל (אמוניום רביעוני) שישום בבריכת הטבילה, ונשטף לפני ישום ה"שמר".

בגילוי והבידוד החלקי של החומר הקטן מולקולארי המעודד את נביטת נבגי הריזופוס, טמון פוטנציאל רב בהתמודדות עם נבגים אלו, העמידים מאוד לאמצעי הדברה (במצבם הלא נבט). הניסיון לזהות את החומר עדיין לא צלח בעיקר בשל הפולריות הגבוהה שלו וחוסר המטען, דבר שלא אפשר עד עתה לאתר פאזה ניחת שתקשור אותו. בימים אלו מתמקד המאמץ בעבודה בשיטות של direct phase המיועדות להפרדת חומרים פולריים. זיהוי חומר זה, יהווה שלב ראשוני בפיתוח אמצעי מכוון מנגנון להגברת רגישותם של נבגי ריזופוס לאמצעי הדברה. ואכן ניתן היה

להבחין בברור שהשראת נביטתם המוקדמת של נבגי ריזופוס הגבירה את רגישותם לטיפול חום. ניתן מכאן לפתח שיטת הדברה בה מיושם חומר המעודד את נביטת נבגי הפתוגן לפני או במשולב עם חומר הדברה.

6. רשימת ספרות:

- .1 Afek U, Orenstein J, Nuriel E. Increased quality and prolonged storage of sweet potatoes in Israel. *Phytoparasitica* 1998; 26:307-312
- .2 Ray RC, Pati SP. Biochemistry of post harvest spoilage of sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.). 1. Changes in starch, total sugar, proline and ascorbic acid contents. *Ann Trop Res* 2001;23:34
- .3 Matsuoka K, Nakamura K. Propeptide of a precursor to a plant vacuolar protein required for vacuolar targeting. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1991;88:834-838
- .4 Yeh KW, Chen JC, Lin MI, Chen YM, Lin CY. Functional activity of sporamin from sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.): a tuber storage protein with trypsin inhibitory activity. *Plant Molecular Biology* 1997;33:565-570
- .5 Hou WC, Lin YH. Dehydroascorbate reductase and monodehydroascorbate reductase activities of trypsin inhibitors, the major sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) root storage protein. *Plant Science* 1997;128:151-158
- .6 Hou WC, Lin YH. Sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) trypsin inhibitors, the major root storage proteins, inhibit one endogenous serine protease activity. *Plant Science* 2002;163:733-739
- .7 Yeh KW, Lin MI, Tuan SJ, et al. Sweet potato (*Ipomoea batatas*) trypsin inhibitors expressed in transgenic tobacco plants confer resistance against *Spodoptera litura*. *Plant Cell Reports* 1997;16:696-699
- .8 Ohto M, Nakamura-Kito K, Nakamura K. Induction of expression of genes coding for sporamin and β -amylase by polygalacturonic acid in leaf-petiole cuttings of sweet potato *Plant Physiology* 1992;99:422-427;
- .9 Harrison HF, Peterson JK, Clark CA, Snook ME. Sweetpotato periderm components inhibit in vitro growth of root rotting fungi. *HortScience* 2001;36:927-930
- .10 Shima Y, Nagahama T, Suganuma T, Kitahara K. Effect of storage conditions on deterioration of mechanically injured sweetpotato tuberous roots especially on induction of impomeamarone. *Jpn J Trop Agric* 1996;40:204
- .11 Hyodo H, Yoshioka S, Okumura K, Imai Y. Ethylene biosynthesis in sweet potato root tissue in response to infection by black rot fungus. *Nato Science Series Sub Series I Life and Behavioural Sciences* 2003;349:153-157

- .12 Holmes GJ, Stange RR. Influence of wound type and storage duration on susceptibility of sweetpotatoes to *Rhizopus* soft rot Plant Disease 2002;86:345-348
- .13 Ray RC, Ravi V. Post harvest spoilage of sweetpotato in tropics and control measures. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2005;45:623-644
- .14 Clark CA. End rot, surface rot, and stem lesions caused on sweet potato by *Fusarium solani*. Phytopathology 1980;70:109-112

7. סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה
<p>הארכת משך האחסון של הזן 'Georgia Jet' וצמצום הפחת, הנובע ממחלות, במהלך האחסון וההובלה הימית.</p> <p>מטרות ספציפיות: (א) אפיון גורמי הפחת העיקריים באחסון והובלה ימית של בטטות; (ב) בחינת זנים חדשים באשר לכושר אחסון; (ג) בחינת גישות הדברה ידידותיות לסביבה להפחתת הרקבון המימי הנגרם על ידי ריזופוס באחסון והובלה הימית; (ד) פיתוח שיטת הדברה מכוונת, על ידי זיהוי חומרים המעודדים את התפתחות פטריית הריזופוס באשרוש המאוחר ושימוש בהם להגברת רגישות הפתוגן.</p>
עיקרי הניסויים והתוצאות
<p>(א) אפיון גורמי פחת עיקריים בתשעה זני בטטה, ובחירת זן רגיש ועמיד להמשך מחקר</p> <p>(ב) פיתוח שיטת אילוח מלאכותי בריזופוס</p> <p>(ג) בחינה של מגוון שיטות ידידותיות לסביבה למניעת התפתחות הרקבון המימי עד קנה מידה חצי מסחרי</p> <p>(ד) פיתוח מבחן ביולוגי לזיהוי חומרים מעודדי ריזופוס בציפת אשרוש בטטה</p> <p>(ה) פיתוח שיטה כרומטוגרפית, רב שלבית, לבידוד מרכיבים פעילים מקליפת בטטה</p>
מסקנות מדעיות והשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?
<p>(א) גורם הפחת העיקרי באחסון והובלת בטטות הינה פטריית הריזופוס-הגורמת לריקבון מבחן זנים הצביע (ב) הזן המסחרי, ג'ורג'יה ג'ט ('Gorgia jet') הנהוג בארץ, בולט ברגישותו למחלה, לעומתו נמצא זן העמיד לחלוטין למחלה.</p> <p>(ג) המדביר הביולוגי "שמר" יעיל ביותר בהדברת המחלה,</p> <p>(ד) יישום של קיטור או הברשה חמה לפני הטיפול בשמר משפר את תוצאות ההדברה.</p> <p>(ה) בודד חלקית מציפת הבטטה חומר קטן מולקולארי המשרה נביטה מוקדמת של נבגי הפתוגן.</p> <p>(ו) השראת נביטתם המוקדמת של נבגי ריזופוס הגבירה את רגישותם לטיפול חום. ניתן מכאן לפתח שיטת הדברה בה מיושם חומר המעודד את נביטת נבגי הפתוגן לפני או במשולב עם חומר הדברה.</p>
בעיות שנתרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות

<p>המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתרה לביצוע תוכנית המחקר?</p>
<p>לא זוהה החומר המעודד את הפתוגן שבודד חלקית מציפת הבטטה</p>
<p>הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב - <u>ציטט</u> 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.</p>
<p>Eshel D. (2011). Non-chemical approaches for postharvest quality management of underground vegetables. Stewart Postharvest Review 7:1-7.</p> <p>Schneider A., Levi M., Kakongi N., Teper-Bamnlker P., Lichter A. and Eshel D. (2011) Induction of pathogen sensitivity as part of a control strategy: A case study of <i>Rhizopus stolonifer</i> rot of sweet potato. Phytoparasitica (in press)</p> <p>Eshel D. Gillet D., Kfir Y., Eltachan L., Amichay M., Shemer Z., Shnider A. and Firon N.(2009). Cultivars postharvest screening of sweet potatoes. Sade Vayerek (in Hebrew) 11:12-15.</p>
<p>17פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)</p>
<p>רק בספריות <</p>
<p>ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט) <</p>
<p>חסוי – לא לפרסם <</p>