

דו"ח שנתי לתוכנית מחקר מספר 16-0510-430

שנת המחקר 3 מתוך 3 שנים

**רגישות דיפרנציאלית של רקמת בפרי האפרסמון היא הגורם המרכזי  
להופעת מחלת הכתם השחור במטע ובאחסון**

מוגש לקרן המדען הראשי של משרד החקלאות

ע"י

דב פרוסקי - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית אחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן  
חיה פרידמן - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית אחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן  
אולג פייגנברג - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית אחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן  
דליה מאורר - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית אחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן

Dov Prusky, Dept. of Postharvest Science, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail:  
[dovprusk@volcani.agri.gov.il](mailto:dovprusk@volcani.agri.gov.il)

Haya Friedman, Dept. of Postharvest Science, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail:  
[hayafr@volcani.agri.gov.il](mailto:hayafr@volcani.agri.gov.il).

Oleg Feygenberg, Dept. of Postharvest Science, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail.:  
[fgbole@volcani.agri.gov.il](mailto:fgbole@volcani.agri.gov.il)

Dalia Maurer, Dept. of Postharvest Science, ARO. PO.Box 6. Bet Dagan 50250.

E-mail: [daliam@agri.gov.il](mailto:daliam@agri.gov.il)

## תקציר

הצגת הבעיה- מחלת הכתם השחור הנגרמת ע"י הפטרייה *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl מהווה את אחד הגורמים העיקריים לפגיעה בכמות ואיכות פירות האפרסמון מזן Triumph בזמן האחסון. נבגי הפטרייה גובטים וחוזרים לפרי האפרסמון במשך תקופת גידולו, אך הפטרייה נשארת ברוב המקרים כהדבקה רדומה באתר ההדבקה עד לאחר הקטיף או כאשר גורמים סביבתיים כמו גשמים ולחות גבוהה בסמוך למועד הקטיף מעודדים מחדש את התפתחותה ואת הופעת הסימפטומים. בזמן האחסון הפטרייה הרדומה מחדשת את התפתחותה ומאכלסת את הפרי.

מטרות המחקר - בעבודה זו אנו משווים בין הגורמים הפיזיולוגיים הבאים לידי ביטוי ברקמת העוקץ וברקמת הפיטם היכולים לתרום להבנת מניזם ההגנה של רקמת הפיטם להתקפת הפטרייה.

שיטות העבודה ותוצאות עיקריות- בשנים אחרונות בחנו את היעילות של מווסתי צמיחה כאמצעי למניעת התפתחות של מחלות וכמוכן שיפור איכות הפרי. בחינה של מספר מווסתי צמיחה כמו מעכבי אתילן, AVG, ו-MCP לא הראו תוצאות חיוביות בגלל בעיות טכניות בניסוי במטע, וגם MCP לא שיפר משמעותית את קושי הפרי לעומת הטיפול המסחרי ב-GA. לכן כל המחקר שלנו התמקד בעבודה בסופרלון. העבודה כללה ניסויי מטע וניסויי מעבדה בהם בחנו את השפעת הטיפול של מווסתי צמיחה ובאופן ספציפי על פרמטרים שונים המשפיעים על איכות הפרי (פליטת אתילן וקצב נשימה), דחיית הבשלה ומניעת התפתחות סדקים ע"י הגברת צפיפות התאים של הפרי וכמו כן על רגישות למחלת הכתם השחור. לאחר ניסויים רבים נמצא שטיפול בסופרלון דוחה הבשלה, מקטין סדקים ומפחית את רמת הנגיעות באלטרנריה.

מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות- בניסוי מסחרי בשנה אחרונה שסיכם את כל הטיפולים שניתנו במשך כל השנים, נמצא ששני טיפולים בסופרלון 0.05% בסוף אוגוסט וספטמבר הגדילו את שיעור הפרי ליצוא ב-9% עם רווח נוסף של 900 שקל לדונם לעומת הטיפול המסחרי. אבל במקביל לבחינת היעילות של סופרלון במטע נבחנה האפשרות של טיפול מווסתי צמיחה GA וסופרלון לאחר הקטיף. ניסויים אלו הובילו להשוות הטיפול המסחרי לפני הקטיף המקובל לעומת הטיפול בטבילה בלבד בגיברלין לאחר הקטיף אם תוצאות מפתיעות שקיימת אפשרות להחליף הטיפול המסחרי ובצורה זו להפחית את ניזקי הטיפול המסחרי ב-GA המקטין היכול בשנים עקבות לטיפול המסחרי.

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: פן/לא

חתימת החוקר: \_\_\_\_\_ תאריך: \_\_\_\_\_

רשימת פרסומים והרצאות שנבעו מתוצאות המחקר: אין

מעריכים מומלצים לבדיקת הדוח המדעי

1. פרופ' אלי פליק, מכון וולקני ([efallik@volcani.agri.gov.il](mailto:efallik@volcani.agri.gov.il))

2. דר יורם פוקס, מכון וולקני ([vtufuchs@volcani.agri.gov.il](mailto:vtufuchs@volcani.agri.gov.il))

3. יצחק קוסטו, שה"מ ([itzhak.kosto@gmail.com](mailto:itzhak.kosto@gmail.com))

### מבוא

פירות האפרסמון מאוחסנים למשך 3 חודשים בקירור בטמפ' של 0 מ"צ, בשלב זה לרוב מתרחשת התחדשות של מחלת הכתם השחור אבל בצורה איטית יחסית. במעבר לשלב חיי מדף המחלה מואצת ומוגברת, הריקבון והכתמים השחורים מתרבים ומתעצמים. כתוצאה מכך מקצרים את זמן האחסון על מנת לשמור על איכות הפרי ולנסות למנוע איבודי פרי ככל הניתן. יתרונות האחסון בקור הם בהארכת עונת האפרסמון ושיווקו גם תקופה ארוכה לאחר סיום העונה ומועד הקטיפה המסחרי ובעיכוב נביטת נבגי האלטרנריה בקור. חסרונות אחסון זה מאופיינים בהתרככות הפרי, הזדקנותו וכתוצאה מכך התגברות מחלות כמו מחלת הכתם השחור.

אחת הבעיות הגדולות בגידול פרי האפרסמון היא מחלת הכתם השחור הנגרמת ע"י הפטרייה *Alternaria alternata (Fr.) Keissl* המתבטאת ככתמים שחורים ע"ג הפרי ובהמשך גורמת להתרככות ולריקבון הפרי. פירות נגועים במחלה זו נפסלים לשיווק, פרי פסול הוא פרי אשר לפחות 1% משטח פניו מכוסה בכתמי אלטרנריה. מחלה זו גורמת להפסדי יכול גדולים מדי שנה המתבטאים כאמור בהפסדים כלכליים גדולים.

בחורף 2011 כ-40% מסך היבול נפסל עוד לפני שאוחסן וכ-25% נוספים מהפרי נפסלו לאחר האחסון. מרבית הסימפטומים של אלטרנריה ממוקמים מתחת לעלי גביע ומרוכזים במקומם של הסדקים שככל הנראה נוצרים עקב גידול מוגבר של רקמה זו. כאשר מתבוננים במקרי ההדבקה לפני הקטיפה ניתן לראות הבדל במיקום סימפטומי המחלה, מרבית האכלוס ע"י הפטרייה מתרכז בעוקץ הפרי, מתחת לעלי הגביע. דבר היכול להצביע על רגישות דיפרנציאלית בפרי עצמו בין חלקו העליון לחלקו התחתון, הבדל זה נשמר לאורך כל חייו של הפרי כולל בזמן אחסונו. בנוסף עוצמת האכלוס כאשר מתרחשת בשני החלקים מופחתת משמעותית גם כן בחלקו התחתון של הפרי. מספר גורמים צוינו כמעודדים התקפת אלטרנריה: 1. תנאי לחות גבוהה בטמפרטורה מתאימה; 2. עוצמת המדבק; 3. סדקים ברקמה מתחת לעלי גביע.

הפטרייה יכולה לשרוד כתפטר או כספורות על גבי שאריות צמחים נרקבים למשך זמן ארוך או כהדבקה רדומה בזרעים ואז הפטרייה מחדשת את גדילתה יחד עם הזרע ותוקפת אותו. לאחר ייצור הספורות דרך הפצתם העיקרית מצמח לצמח היא ע"י הרוח אך גם ע"י מים דרך הקרקע, בע"ח, כלים חקלאיים לא נקיים וכו'. הפטרייה ידועה כפתוגן הפוגע בעיקר בתוצרת חקלאית לאחר הקטיפה, לרוב רקמות חלשות הנתונות לעקות, הזדקנות ופציעה רגישות יותר לאלטרנריה מאשר רקמה בריאה. מקורם של נבגי הפטרייה הוא בשדה או במטע או ברקמה נרקבת. הם מאלחים את הפרי עוד במטע בשלבי גידול מוקדמים והודרים דרך סדקים או פתחים קטנים. באפרסמון סדקים אלו נמצאים לרוב תחת עלי הגביע באזור העוקץ. לעיתים מצליחים הנבגים לחדור ישירות דרך הקוטיקולה. במנגו לדוגמא החדירה היא דרך עדשתיות במהלך הגידול.

### מטרות המחקר

מטרת המחקר היא להשוות בין הגורמים הפיזיולוגיים הבאים לידי ביטוי ברקמת העוקץ וברקמת הפיטם היכולים לתרום להבנת מכניזם ההגנה של רקמת הפיטם להתקפת הפטרייה תוך כדי שימוש של מוסתי צמיחה. נבדקו מספר גורמים המשפיעים על פיזיולוגיה של הפרי ושיכולים להשפיע על פליטת אתילן וקצב נשימה בזמן

גידול הפרי כגורמים המגבירים הבשלה, התפתחות סדקים ורגישות מוגברת של אזור העוקץ למחלת הכתם השחור של אלטרנריה והתרככות הפרי.

### מבוא וסקירת ספרות

#### פרי האפרסמון (*Diospyros kaki cv.*)

האפרסמון נחשב לפרי חשוב מסחרית בעולם לרוב במדינות אסייתיות. כמות האפרסמון שיוצרה נכון לשנת 2007 הגיעה ל 3.3 מיליון טון. כ- 70% הגיע מסין 10% מקוריאה 7% מיפן. באירופה פרי האפרסמון פחות נפוץ בגלל אופי הצרכנים וחוסר בתנאי הסביבה והאקלים הים תיכוניים המתאימים לגידולו (Del Bubba et al., 2009).

בישראל, פרי האפרסמון נחשב לגידול ייצוא חשוב. מרבית מטעי האפרסמון מתרכזים באזור השרון והזון הנפוץ הוא זן Triumph. האפרסמון נחשב לפרי קלימקטרי בשלבי גידול מוקדמים בגלל תגובתו לאתילן המאופיינת בפיק קלימקטרי המתבטא בעליית קצב הנשימה ובפליטת האתילן. לעומת שלבי גידול והבשלה מאוחרים בהם לא נצפה פיק קלימקטרי זה, בהשוואה לפירות קלימקטריים קלאסיים כמו תפוח או בננה בהם הפיק מגיע דווקא בשלבי גידול מאוחרים (Itamura and Sun., 2009). האפרסמון הוא פרי עפיץ מאוד בגלל ריכוז גבוה של תכולת טאנינים מסיסים שיכולים להיות דימרים, אוליגומרים ופולימרים של מולקולת catechin הקשורים בקשרים בין C4 ל C8. פנולים אלו יוצרים תרכובת יחד עם חלבוני הרוק בפה במהלך האכילה ושוקעים על גבי הלשון וזו תחושת העפיצות המוכרת בה חשים כאשר אוכלים פירות כדוגמת האפרסמון. כמו כן, האפרסמון עשיר בסוכרים כמו סוכרוז, פרוקטוז וגלוקוז ומכיל 12.5% סוכר (Del Bubba et al., 2009) בנוסף מכיל האפרסמון וויטמינים A, K, C. כאשר ויטמין A מגיע מהקרוטנואידים הנמצאים בקליפה ובציפה ולכן הוא נחשב לפרי חשוב מבחינה בריאותית.

#### שינויים פיזיולוגיים

Salvador וחבריו (2007) חילקו את ההבשלה וההתבגרות של הפרי לשישה שלבים שונים כאשר השינויים שחלים בפרי החל מתחילת העונה ועד סופה מתחלקים לכמה מישורים:

1. הראשון הוא בשינויי הצבע החלים בפרי כאשר בתחילת העונה צבעו ירוק ובסיומה הוא בגוון כתום-אדום.
2. השני הוא במוצקות הפרי בתחילת העונה הפרי מוצק (70N) וככל שמתקדמים בזמן מוצקותו יורדת (20N בסוף העונה). מדד זה חשוב מאוד ליכולת האחסון לטווח ארוך ולשיווק.
3. מבחינת פליטת אתילן קיימת עלייה עד לשלב השלישי וממנו ואלך נצפית ירידה עד לריכוז אפסי בשלב השישי.
4. מבחינת כמות הטאנינים המסיסים (ST) גם כן נצפתה ירידה לאורך ששת השלבים החל מ- 0.78% בשלב הראשון ועד 0.36% בשלב השישי ובהתאמה יש עלייה בטאנינים הלא מסיסים בשלבי הקטיף המסחרי.
5. מדדי ה-pH ו-TSS לא השתנו במהלך התקופה הנ"ל על פי Salvador (2007).

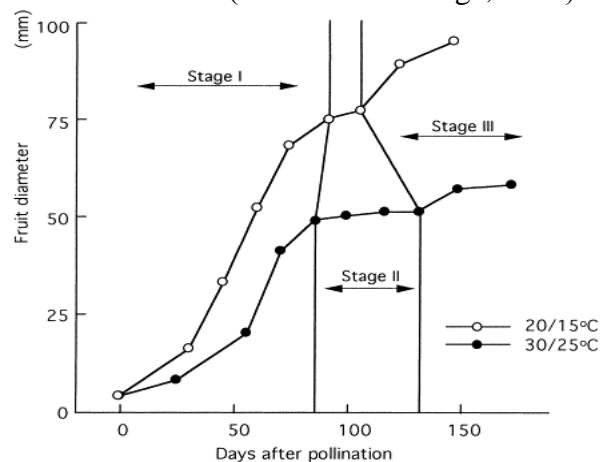
Del Bubba וחובריו (2009) גם כן בחנו את השינויים הפיזיולוגיים המתרחשים במהלך גדילת והבשלת האפרסמון. אך הם בחנו את הפרי בנוסף לצבע הפרי, ולכמות הטאנינים מסיסים כמו Salvador גם מבחינת משקל הפרי, תכולת ויטמין C, ריכוז סוכרים במהלך העונה.

כמו כן נמצא כי בזמן התפתחות הפרי נראית שכבה קוטיקולרית אשר מכסה את קליפת הפרי ומגנה מפני עקות ביוטיות ואביוטיות, מבקרת הפסדי מים ומעבר גזים וחוסמת חדירת פטריות. נמצא כי מתרחשת ירידה בכמות השעווה ככל שהפרי גדל ומבשיל בכלל ולאחר קטיף בפרט (Lara et al., 2013).

### שלבי גידול הפרי

לפירות האפרסמון עקומת גידול סיגמואידית כפולה המחולקת לשלושה שלבים. כאשר שלבים 1 ו-3 הם שלבי גידול מהיר ושלב 2 מאופיין בהאטה בגדילה, האטה זו מיוחסת לטמפ' הגבוהות יחסית ביום ובלילה בעונת הקיץ של אזור הים התיכון הנמשכת בין החודשים אוגוסט – ספטמבר (Sugiura et al., 1991). מודל זה מספק מידע לגבי פרמטרים כמו זיהוי השלב הקריטי ותחזית לגבי גודל הפרי. גידול פירות האפרסמון אורך בממוצע בין 120-190 יום תלוי בזן ובתנאי הסביבה. משך שלבים 1,2 ו-3 הוא 40-50, 20-40, 60-100 בהתאמה (Mowat and George, 1996).

איור 1: עקומת גידול סיגמואידית כפולה של פירות האפרסמון בשני תנאי טמפרטורה:



### Higuchi et al. 1998

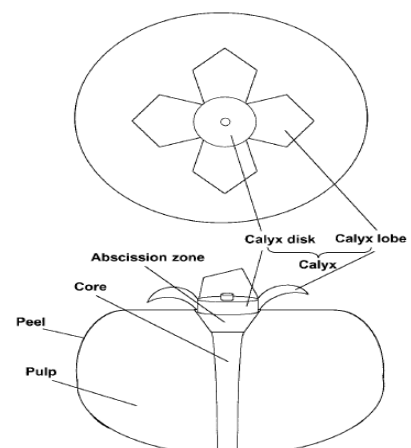
לאפרסמון ייחודיות בכך שהוא בעל אונות גביע גדולות (calyx lobes), ולאונות אלו תפקיד חשוב בגדילתו

ובהתפתחותו. ידוע כי גדילת הפרי והבשלתו מעוכבת כאשר מסירים אונות אלו בשלבים מוקדמים (1 או 2). (Hirano et al., 1995).

Hirano וחובריו הראו בעבודתם כי לשלב הראשון חשיבות גדולה בהתפתחות האפרסמון. הם מצאו כי כאשר מסירים את אונות הגביע בשלבי גידול מוקדמים נוצר עיכוב בגדילה ובהתפתחות הפרי (Hirano et al., 1995). עיכוב זה נוצר כתוצאה מיבוא נמוך של מוטמעים לצמח, בנוסף הם מצאו כי יש הצטברות של יותר סוכרוז ופחות הקסוז ומתרחשת ירידה בנשימה שנמדדה ע"י פליטת  $CO_2$  לאחר הסרת האונות אך בשלב 3 לא נצפית שום ירידה בנשימה או עיכוב בגדילה.

איור 2: חלקי האפרסמון בחיתוך אורכי

### Nakano et al. 2003



### פליטת אתילן

ההורמון הגזי אתילן מופרש מפירות האפרסמון במהלך גדילתם ובגרותם ויכול להוות מדד להתפתחות, כיוון שככל שהפרי צעיר יותר פליטת האתילן גדולה יותר. תופעה זו נמדדה ע"י מעקב אחר 2 משפחות גנים המתורגמות לאנזימי מפתח בביוסינטזה של אתילן ACC Syntase (1-3) ו- ACC Oxidase(1-2). נאקאנו וחובריו ערכו ניסוי בו הם לקחו פירות צעירים, כ- 65 יום לאחר לבלוב, ובדקו את ביטוי גנים אלו בציפה ובקליפה (איור 2), הם הוכיחו כי משפחות גנים אלו אכן מתבטאות בצורה משמעותית בפירות אלו אך גם ראו כי קיים הבדל בכמות ביטוי הגנים הללו בציפה ובקליפה. DK-ACS1 ו- DK-ACS2 הגיעו לפיק כ- 3-4 ימים לאחר הקטיף. DK-ACO1 ו- DK-ACO2 לעומת זאת כבר זוהו בזמן אפס בכמות נמוכה ועלו בצורה דרמטית ביום השני לאחר הקטיף. בנוסף, פירות בוגרים שנקטפו כ- 165 יום לאחר לבלוב הראו ביטוי רק של ACS1 דבר שהוכיח כי לאתילן תפקיד בבגרות והבשלה (Nakano et al., 2003). דבר נוסף שנצפה הוא פליטת אתילן גבוהה באזור עלי הגביע וברקמת הניתוק לעומת אזור הליבה והציפה בין,  $80-100 \text{ nLg}^{-1}\text{h}^{-1}$  לעומת  $10-12 \text{ nLg}^{-1}\text{h}^{-1}$  בהתאמה.

### מוצקות הפרי

מוצקות הפרי היא מדד קריטי לקביעת זמן חיי מדף של פרי וביקושו ע"י הצרכן. פירות אפרסמון עוברים שינויים טקסטוראליים נרחבים בזמן הבשלתם שבסופם מרקם הפרי הוא כמרקם ג'לי, דבר שנרצה לדחות ככל הניתן. ההתרככות מורכבת משינויים מבניים רבים במרכיבי הפוליסכרידיים. הפקטין וההמי - צלולוז הם פוליסכרידיים חשובים המרכיבים את דופן התא, הם עוברים דגרדציה בזמן הבשלה, דה פולימריזציה והתמוססות. לאנזימים כמו פוליגלקטורונאז (PG), צלולאז (Cel) ואקספנסיין (EXP) תפקיד בהתרככות זאת. אנזימים אלו מורכבים ממשפחות גנים גדולות. בבחינת ביטוי גנים אלו בפירות בוגרים נמצאו 3 גנים ממשפחת ה- Cel באפרסמון, לקחו mRNA של DK-Cel1,2 וראו שהוא מצטבר כבר בזמן הקטיף וכמותו יורדת ככל שמתרחקים ממועד זה לעומת DK- Cel 3 שזוהה רק לאחר שהפרי רך לחלוטין, כ- 3 שבועות באחסון. בעגבנייה לעומת זאת זוהו 7 גנים ממשפחת ה- Cel כאשר 4 ו 7 בוטאו בחוזקה ברקמה מתרחבת דבר הממחיש את תרומתם להתרחבות התא. באפרסמון תפקיד כל אחד מהם אינו ידוע לחלוטין אך בעל קשר הדוק עם הבשלה והתרככות שלאחר הקטיף, הבאים לידי ביטוי בהתרחבות הפרי. הגן DK-PG1 לא זוהה בזמן הקטיף והצטבר בצורה הדרגתית במהלך האחסון. DK-Exp1,2 התנהגו בצורה דומה וזוהו כבר מרגע הקטיף דבר הממחיש את הקשר של משפחה זו לא רק עם גדילה והתפתחות אלא גם עם הבשלה. בין אנזימים אלו קיימת סינרגיה שיכולה להיות קריטית כאשר מדובר בפירוק דופן התא דבר המוביל להתרככות הפרי אותה נרצה לדחות ככל הניתן. (Kubo et al., 2003)

### אחסון פירות האפרסמון

פירות האפרסמון מאוחסנים למשך 3 חודשים בקירור בטמ' של 0 מ"צ, בשלב זה לרוב מתרחשת התחדשות של מחלת הכתם השחור אבל בצורה איטית יחסית. במעבר לשלב חיי מדף המחלה מואצת ומוגברת, הריקבון והכתמים השחורים מתרבים ומתעצמים. כתוצאה מכך מקצרים את זמן האחסון על מנת לשמור על איכות הפרי

ולנסות למנוע איבודי פרי ככל הניתן. יתרונות האחסון בקור הם בהארכת עונת האפרסמון ושיווקו גם תקופה ארוכה לאחר סיום העונה ומועד הקטיף המסחרי ובעיכוב נביטת נבגי האלטרנריה בקור. חסרונות אחסון זה מאופיינים בהתרככות הפרי, הזדקנותו וכתוצאה מכך התגברות מחלות כמו מחלת הכתם השחור (Prusky et al., 1981).

#### מחלת הכתם השחור באפרסמון

אחת הבעיות הגדולות בגידול פרי האפרסמון היא מחלת הכתם השחור הנגרמת ע"י הפטרייה *Alternaria alternate* (Fr.) Keissl המתבטאת ככתמים שחורים ע"ג הפרי ובהמשך גורמת להתרככות ולריקבון הפרי. פירות נגועים במחלה זו נפסלים לשיווק, פרי פסול הוא פרי אשר לפחות 1% משטח פניו מכוסה בכתמי אלטרנריה. מחלה זו גורמת להפסדי יכול גדולים מדי שנה המתבטאים כאמור בהפסדים כלכליים גדולים. (Prusky et al., 1981, 2001). בחורף 2011 כ-40% מסך היבול נפסל עוד לפני שאוחסן וכ-25% נוספים מהפרי נפסלו לאחר האחסון.

התפשטה ברחבי העולם והגיעה כמעט לכל מקום בו מגדלים אפרסמון בין המדינות הנפגעות טורקיה, ספרד, יפן, סין, קוריאה, איטליה, ברזיל וישראל (Nakagawa et al., 2008). מרבית הסימפטומים של אלטרנריה ממוקמים מתחת לעלי גביע ומרוכזים במקומם של הסדקים שכל הנראה נוצרים עקב גידול מוגבר של רקמה זו. כאשר מתבוננים במקרי ההדבקה לפני הקטיף ניתן לראות הבדל במיקום סימפטומי המחלה, מרבית האכלוס ע"י הפטרייה מתרכז בעוקץ הפרי, מתחת לעלי הגביע (Prusky et al., 1981) דבר היכול להצביע על רגישות דיפרנציאלית בפרי עצמו בין חלקו העליון לחלקו התחתון, הבדל זה נשמר לאורך כל חייו של הפרי כולל בזמן אחסונו. בנוסף עוצמת האכלוס כאשר מתרחשת בשני החלקים מופחתת משמעותית גם כן בחלקו התחתון של הפרי. מספר גורמים צוינו כמעודדים התקפת אלטרנריה: 1. תנאי לחות גבוהה בטמפרטורה מתאימה; 2. עוצמת המדבק; 3. סדקים ברקמה מתחת לעלי גביע.

#### טווח פונדקאים ומחלות להן גורמת אלטרנריה

אלטרנריה היא פטרייה בעלת מגוון רחב של פונדקאים. כזאת היא פוגעת במגוון רחב של צמחים כמו תפוח עץ מקבוצת Red Delicious וגורמת למחלת ה- moldy core, כמו כן תוקפת פירות הדר וגורמת למחלת ה- Black rot (Isshiki et al., 2001). באפרסמון היא גורמת למחלת Black spot (Prusky et al., 1981) בעגבניות גורמת למחלת ה- Stem canker disease (Gilchrist and Grogan, 1976). כמו כן היא תוקפת ירקות כמו פלפל, ברוקולי, גזר, דגניים, תפוז ועוד (Thomma 2003), לכן ניתן להגדירה כ- Polyphagous facultative parasite. נמצא כי כמעט כל גידול המותקף ע"י סוג מסוים של אלטרנריה מותקף גם על ידי *Alternaria alternata* ממין *alternata* (Rotem, 1994) לדוגמא כאשר בודדו את גורם המחלה *A. solani* מצמחים ממשפחת הסולניים נמצאו גם נבגים של *A. alternata* במקום הנגוע בפירות עגבנייה. (Grogan et al., 1975) כנ"ל בפלפל (Halfon-Meir and Rylski 1983) ובפקעות של תפוז"א (Droby et al., 1984) כלומר *A. alternata* מהווה בעיה קשה לתחום הגידולים בארץ ובעולם.

במרבית מקרי ההדבקה בפירות אפרסמון ההדבקה נשארת רדומה ונראית כנקודות שחורות קטנות בקוטר של 0.5-1 mm עד שינוי התנאים למצב טוב לחידוש ההדבקה. לרוב מצב זה מתרחש לאחר שלב הקטיף, מרבית הסימפטומים מתפתחים בזמן האחסון. במקרים כמו גשם או/ו לחות גבוהה ההדבקות הרדומות בפצעים/סדקים

שמתחת לעלי הגביע מתחדשות והפטרייה תוקפת עוד בזמן גידולו של הפרי ע"ג העץ. בשנים האחרונות קיימת עליה ברמת המחלה שיוחסה לירידת גשמים בסמוך למועד הקטיף המסחרי, בחודשים אוקטובר-נובמבר שגרמו לפגיעה קשה בכמות התוצרת המשווקת (Prusky et al., 1981).

**איור 3:** הדבקה טבעית של אלטרנריה באפרסמון לאחר קטיף מסחרי



**דרכי התמודדות עם מחלות**

**השפעת מווסתי צמיחה על התמודדות עם מחלות**

ג'יברלין (GA's) הם משפחת הורמונים צמיחיים המעודדים פריחה בעיקר בצמחים הדורשים יום ארוך או תנאי קור, מעודדים נביטת זרעים והתארכות העוקץ.

ידועים כיום מעל 100 ג'יברלינים שונים (Richards et al., 2001) כאשר הנפוצים הם GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub>, GA<sub>7</sub>. מבקר תהליכי התבגרות וגדילה דבר שבא לידי ביטוי בעיכוב פרוק הכלורופיל ועיכוב בסינטזת אנטוציאנין וקרוטנואידים במספר פירות בניהם עגבנייה, הדרים, תות ואפרסמון. GA<sub>3</sub> עיכב את הפיק הקלימקטרי בבננה, משמש ואפרסמון וגרם לעלייה במוצקות הפרי בדובדבנים (Ben Arie et al., 1996). GA<sub>3</sub> באפרסמון עיכב התרככות והפחית נגיעות לפטרייה *A. alternata*, בחסה ובסלרי הפחית הסתדקות מתחת לעלי הגביע שזהו סימפטום של הזדקנות ע"י עיכוב הגדילה ובכך בעצם הפחית ריקבון הנגרם ע"י פטריות ספציפיות לגידולים אלו (Perez et al., 1995).

**GA<sub>3</sub> באפרסמון** - שימוש במווסתי צמיחה באפרסמון משפיע על התפתחות מחלות בשני אופנים: האחד הוא ע"י הפחתת רגישות הרקמה לפתוגנים והשני הוא בעיכוב הבשלה ודחיית הקטיף. כיום התמודדות המקובלת עם מחלות טרום קטיף ומחלות אחסון באפרסמון היא דרך ריסוס בג'יברלין (GA<sub>3</sub>) 50 mg L<sup>-1</sup>. מועד הריסוס מתרחש כ- 2-3 שבועות לפני מועד הקטיף המסחרי בעונת הסתיו (Kobiler et al., 2010). שימוש בריסוס זה מונע התרככות ומשפר איכות פרי באחסון לטווח ארוך (Ben Arie et al., 1992, 1993, 1996). הג'יברלין מעכב הבשלה ובכך דוחה את הקטיף בשבועיים עד שלושה ובעצם מאריך את עונת האפרסמון. העיכוב מתבטא בדחיית שינוי צבע הפרי ובעיכוב קצב גדילתו. ריסוס ב-GA<sub>3</sub> שומר טוב יותר על מוצקות הפרי לאחר אחסון בקור בהשוואה לפירות שאינם מטופלים ומעכב הצהבה ונשירת עלים ב- 3 שבועות. בנוסף, תכולת הפחמימות גבוהה יותר בדופן התא בפירות מטופלים לעומת פירות הביקורת דבר התורם לעיכוב ההתרככות (Ben Arie et al., 1996).

תופעה נוספת לה תורם GA<sub>3</sub> היא בעיכוב מטבוליזם של אוליגומרים המרכיבים את דופן התא. טיפול ב-GA<sub>3</sub> גרם לעיכוב בגדילה בייחוד בשלב 3 של העקום הסיגמואידי (איור 1) של פירות האפרסמון שאמור להיות שלב של גידול מהיר. גידול הפרי בדומה לשלב 2 היה איטי. GA<sub>3</sub> עיכב את הבשלת הפרי והתבגרותו, עיכב את שינוי צבע הפרי והתרככותו. בעקבות עיכוב זה נצפה עיכוב גם בקצב הנשימה בפירות



המטופלים ב-  $GA_3$ . נצפתה ירידה הדומה לירידה המתרחשת בשלב ה 2 שנמשכה עד למועד הקטיפה. (Nakano et al., 1997).

טיפול בג'יברלין מבקרת פעילות האנזים אנדוגלוקנאז (EG) המיוצר ע"י הפטרייה אלטרנריה הגורמת למחלת הכתם השחור בפירות אפרסמון. אנזים זה גורם לדגרדציה הצלולוז המצוי בדופן התאים של הפירות ע"י פירוק קשרים פנימיים במולקולה. פטריות רבות מסוגלות לנצל לגדילתן את הצלולוז כאשר הוא מהווה מקור פחמן יחיד במצע וזאת הודות לכושרן להפריש אנזימים מפרקי צלולוז. פירוק הצלולוז ע"י אנזימים של פטריות ספרופיטיות ופרזיטיות גורם להיחלשות דופן התא, דבר המוביל לפינוי דרך להדירה והתפשטותן ברקמות הצמח ושימוש בחומר המפורק כמקור מזון זמין. בכך מופחתת כמותו וצפיפותו והרקמה מתרככת. עיכובו של האנזים שומר על מוצקות הפרי ומפחית הדבקה ע"י אלטרנריה (Eshel et al., 2000, 2002). בנוסף נמצא ע"י אשל וחובריו כי האנזים לבדו מסוגל לגרום לסימפטומים זהים לאלו הנוצרים ע"י הפתוגן.

**ציטוקינין** - ציטוקינין הוא הורמון צמחי המעודד התחלקות תאים ובכך משפיע על גדילה. בנוסף, הוא משפיע על יציאה מתרדמה של פקעות לטראליים. ציטוקינין מעכב הזדקנות עלים, מגביר סינתזה של כלורופיל ומעודד ביוסינטזה של אתילן.

**אתילן ו-MCP** - אתילן משפיע על מגוון תהליכים התפתחותיים בניהם הבשלה והזדקנות. למרות שהוא הכרחי להבשלה בפירות קלימקטרים הגישה הרווחת כיום היא שיש למנוע חשיפה לאתילן או להקטין אותה עד כמה שניתן בזמן הקטיפה והאחסון על מנת למנוע את הזדקנות הפרי ואת העלייה ברגישות למחלות.

לאתילן תפקיד חשוב ומרכזי בהתרככות פרי האפרסמון הנחשב לפרי קלימקטרי בשלבי גידול מוקדמים, הוא גורם לשינוי בביטוי הגנים לאנזימים הקשורים בדגרדציה דופן התא. ההתרככות מואצת לאחר הסרת העפיצות ומשפיעה מאוד על איכות הפרי. לדוגמא הזן "Saijo" מתחיל להתרכך כבר 4 ימים לאחר הסרת העפיצות דבר המשפיע מאוד על חיי המדף וכיוצא בזאת על שיווק (Nakagawa et al. 2008).

הסרת עפיצות בפירות אפרסמון מדמה את פעולת האתילן בכך שהיא מפחיתה את זמן חיי המדף ואת זמן אחסונו לרמה נמוכה יותר מפירות התפוחים הנחשבים לפירות קלימקטרים קלאסיים (Salvador et al., 2007).

לכן **MCP (1-Methylcyclopropene)** הוא פתרון לעיכוב הבשלה והזדקנות וקל ליישום. MCP הוא תכשיר המורכב מהורמון גזי סינטטי המעכב את פעולת האתילן, כיוון שנקשר בקשר בלתי הפיך לרצפטור לאתילן, מונע את קישורו של האתילן ובכך מונע את שרשרת העברת הסיגנלים שמתרחשת עקב קישור זה.

**סופרלון** - סופרלון הינו חומר המכיל תערובת של ציטוקינין (BA) וג'יברלינים ( $GA_{4+7}$ ). כיום על פי משרד החקלאות בארץ תכשיר זה נמצא בשימוש מסחרי לתפוחים, אגסים ודובדבנים.

הפטרייה אלטרנריה פוגעת בפירות רבים בניהם תפוחים, הדברת המחלה בתפוח היא בעלת חשיבות כלכלית רבה, גם במקרה של התפוחים כמו באפרסמון היא גורמת לריקבון ומסוגלת לגרום לפסילתם של עד 80% מסה"כ הפרי במטעים מסוימים. יישום פונגיצידי (Ortiva -Top) ומווסת הצמיחה, סופרלון, במטע סיפק את ההגנה הטובה ביותר כנגד התפתחות מחלות עלים, התפתחות סדקים, נביטת נבגים והתפתחות ריקבון (Gur et al., 2013).

**טיפולים כימיים**

אחת השיטות הנפוצות כיום לטיפול לאחר הקטיף היא טבילה ב-500ppm כלור טרום אחסון. הכלור משתחרר מטבליות Sodium troclosene חומר זה האריך חיי מדף של פירות האפרסמון ע"י הפחתת מחלת הכתם השחור הנגרמת ע"י אלטרנריה. חומר זה נמצא יציב ויעיל יותר מהחומר קלציום היפוכלוריד. שני החומרים משמשים כחומרים סניטאריים ההורגים פתוגנים במגע ולא בצורה סיסטמית אשר יציבותם פוחתת ע"י אינטראקציות עם תרכובות אורגניות המשנות את pH התמיסה אך הטבליות הראו אפקטיביות גבוהה יותר בהגנה על פירות האפרסמון מפני חדירת הפטרייה. מועד טיפול זה הוא טרום אחסון ב 0 מ"צ (Prusky et al., 2001; Perez et al., 1995) נמצא כי יעילותם של תכשירים אלו קצרה יחסית ואף פוחתת באחסון.

### היפותזת העבודה

היפותזת העבודה היא שהרגישות הדיפרנציאלית לפטרייה *A. alternata* היא תולדה של שינויים פיזיולוגיים המתרחשים ברקמת מתחת לעלי גביע בפרי בזמן הגדילה וההבשלה. שינויים במדדים כמו פליטת אתילן, קצב נשימה, ביטוי של הגן ACO-2 שתורמים לפרוק כלורופיל והזדקנות מקומית, תורמים להופעת הסדקים ולעלייה ברגישות הפרי להתקפה.

תוצאותינו הראו שהשפעה על מדדים פיזיולוגיים במהלך הגידול ע"י שימוש במוסתי צמיחה יכולה להפחית רגישות למחלה ולהקטין את אחוז הפרי הנפסל לשיווק מדי שנה בעקב התקפת הפטרייה ואכלוסה בזמן הגידול והאחסון.

### תוצאות

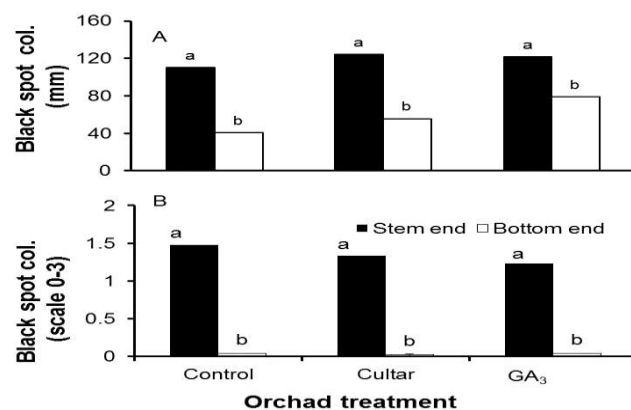
#### רגישות דיפרנציאלית לאלטרנריה בין רקמת העוקץ לרקמת הפיטם בפירות האפרסמון כבסיס לבחינת

##### תפקיד מווסתי הצמיחה

לשם בחינת השפעת שלמות הקליפה לחדירה והתבססות של הפטרייה *A. alternata* נבחנו 2 צורות הדבקה, עם וללא פצע מכוון.

התפתחות הריקבון הנגרם ע"י אלטרנריה בהדבקה ישירה ללא פצע מכוון הראתה שרקמת העוקץ בעלת רגישות גבוהה יותר ביחס לרקמת הפיטם (פי 1.5 בממוצע) שכמעט ולא נדבקה (איור 4B). תוצאות דומות התקבלו בפירות שטופלו בטיפול מסחרי ב- GA<sub>3</sub> המיועד לשיפור אחסון הפרי וגם כאשר הפרי טופל בפקלובוטראזול-קולטר, תכשיר המיועד להקדמת קטיף הפרי (איור 8), שרגישות אזור העוקץ גוברת על זו של אזור הפיטם ללא קשר לטיפול אותו קיבל הפרי במטע לפני הקטיף.

**איור 4:** רגישות דיפרנציאלית של רקמת העוקץ ורקמת הפיטם בפירות אפרסמון ב- 2 צורות הדבקה: הדבקה בפצע (A) והדבקה ישירה (B) בפטרייה *A. alternata* ב- 3 טיפולים מטע שונים: ג'יברלין, קולטר וביקורת. הדבקה בפצע הוערכה ע"י מדידת קוטר ההדבקה



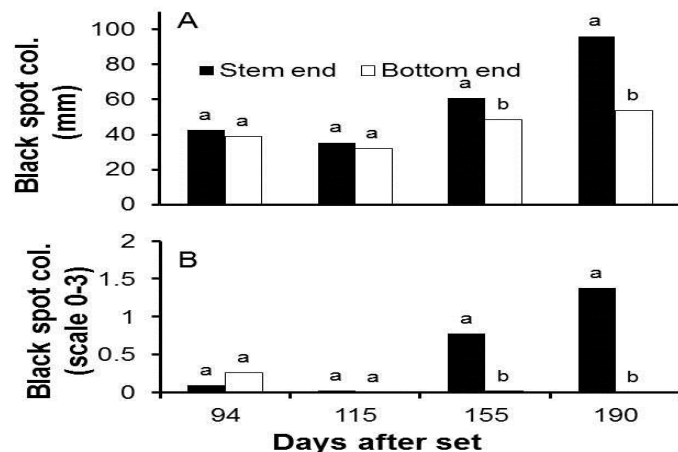
והדבקה ישירה שהוערכה ע"י סקלת העוצמה 0-3

כאשר בוצעה הדבקה ישירה עם פצע מכוון (איור 4A) רקמת העוקץ הראתה גם כן רגישות גבוהה בהשוואה לרקמת הפיטם (פי 3) ללא תלות בטיפול הניתן במטע, אך בניגוד להדבקה ללא פצע אכלוס רקמת הפיטם היה כמעט 50% פחות מרגישות של אזור העוקץ, דבר המצביע על רגישות דיפרנציאלית של רקמה זו. אנאליזה של ההתפלגות הטבעית של הנגיעות באזורי הפרי השונים מראה ב- 300 פירות במטע וכ-500 פירות בתום האחסון, שכ- 80% מכלל הפירות שהודבקו באופן טבעי, מראים סימפטומים של נגיעות בחלק העליון של הפרי מתחת לעלי הגביע ובסביבתם. דבר המדגיש את רגישות רקמת העוקץ בהשוואה לרקמת הפיטם.

### השפעת הדבקת הפרי בשלבי גידול שונים לאורך העונה על שיעור האכלוס של הפטרייה

אכלוס הרקמה ע"י אלטרנריה בפירות שהודבקו ללא פצע (איור B5) מראה שרגישות מופיעה החל מ-155 ימים לאחר החנטה. הגברת ההדבקה (קוטר הריקבון) גודל עם גידול הפרי. אזור הקליפה מתחת לעלי הגביע, בכל פעם הראה רגישות גבוהה מזו של אזור הפיטם. כאשר ההדבקה בוצעה עם פצע (איור 5A) לא נמצא הבדל ברגישות העוקץ והפיטם עד ל-115 יום לאחר החנטה. אך החל מ-155 יום לאחר החנטה אכלוס אזור העוקץ גבר מ-10% ועד ל-100% בהשוואה לאזור הפיטם, דבר המצביע על כך שגם בהדבקה ללא פצע אזור הפיטם עמיד יותר מאשר אזור העוקץ. מצד שני גם כאשר ההדבקה מבוצעת ע"י פצע, אזור העוקץ רגיש יותר לאכלוס ע"י אלטרנריה. דבר זה מצביע על כך שאזור הרקמה מתחת לעלי הגביע רגיש לאכלוס אך פציעה מעודדת אכלוס זה.

**איור 5:** הערכת הרגישות הדיפרנציאלית של רקמת העוקץ ורקמת הפיטם בפירות אפרסמון ב-2 צורות של הדבקה בפטרייה *A. alternata*. הדבקה בפצע (A) והדבקה ישירה (B) במועדים שונים לאחר חנטה (94,115,155,190). הדבקה בפצע הוערכה ע"י מדידת קוטר ההדבקה והדבקה ישירה הוערכה ע"י סקלת העוצמה 0-3.



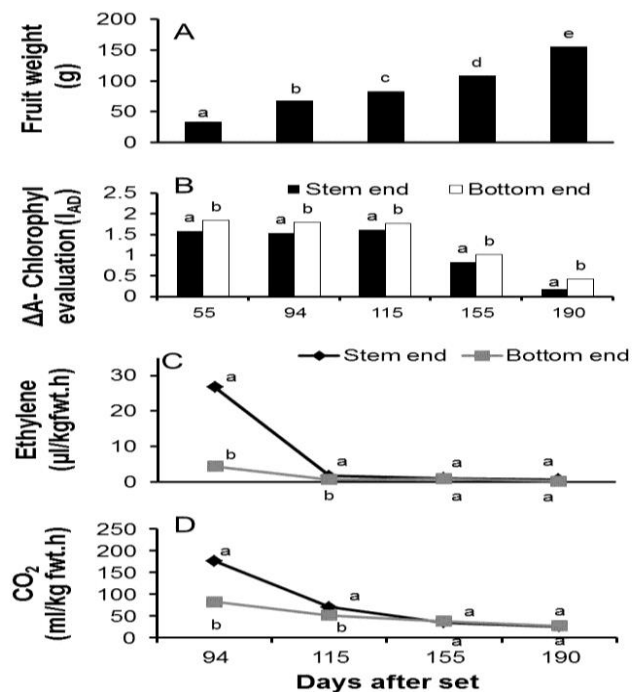
### אפיון תופעת הרגישות הדיפרנציאלית בפירות האפרסמון בין אזור העוקץ לאזור הפיטם

הרגישות הדיפרנציאלית לאלטרנריה של קליפת הפרי מתחת לעלי הגביע אופיינה ע"י מעקב אחר השינויים הפיזיולוגיים התורמים לרגישות הרקמה במשך השלבים השונים של גידול הפרי לאחר מועד החנטה.

במהלך השנים 2014-2015 נקטפו פירות האפרסמון במועדים שונים במהלך גדילתם לאחר חנטה, הקטיפים החלו כחודש לאחר חנטה, והפרי נקטף כפעם בחודש. בשנה הראשונה נתגלו שינויים פיזיולוגיים בין שני חלקי הרקמה שינויים אלו נבחנו גם בשנה השנייה של הניסויים. תוצאות של השנה שנייה מובאות בעבודה זו.

אפיון של מדדים פיזיולוגיים במהלך גידול הפרי היכולים להשפיע על הרגישות הדיפרנציאלית בין עוקץ הפרי לפיטם כללו: א. מדידת משקל הפרי לאחר כל קטיפ, ב. דרגת הבשלה על פי מדדי רמת הכלורופיל באזור העוקץ ובאזור הפיטם, ג. נשימת הפרי (פליטת ה- $CO_2$ ), ד. פליטת אתילן, ה. התפתחות השטח המכוסה בסדקים- נמדדה לאחר צביעה עם  $FeCl_3$ , ו. רגישות להדבקה ישירה בנבגי אלטרנריה. מדדים פיזיולוגיים אלו הושוו למהלך התפתחות הרגישות למחלת הכתם השחור הנגרמת ע"י אלטרנריה במשך עונת הגידול (איור 6).  
**משקל הפרי** - משקל הפרי גדל לאורך העונה בכ- 25 גרם בממוצע לחודש (איור 10A). משקל הפרי נע בין כ- 40 גרם בקטיפ הראשון, 55 יום לאחר החנטה, ועד לכ- 150 גרם בקטיפ המסחרי.

**איור 6:** רגישות דיפרנציאלית של רקמת העוקץ ורקמת הפיטם בפירות אפרסמון למדדים פיזיולוגיים שונים - רמת כלורופיל (B), משקל הפרי (A), פליטת אתילן (C) וקצב נשימה (D) שנמדד ע"י פליטת  $CO_2$ . שני מדדים אלו הוערכו בימים שונים לאחר חנטה כאשר צבע הפרי ומשקלו מהווים מדד להבשלה והתבגרות. הבדלים מובהקים נמצאו על פי מובהקות של  $P \leq 0.05$  מבחן Tukey-Kramer וסומנו באותיות a,b.



**אינדקס הכלורופיל במהלך העונה (I<sub>AD</sub>)** - בקטיפ שבוצע כ- 94 יום לאחר חנטה, אינדקס הכלורופיל ברקמת העוקץ היה בממוצע 1.6 (יחידות) ולא השתנה משמעותית עד לקטיפ השלישי, כ- 115 יום לאחר חנטה (איור 6B). החל משלב זה נצפתה ירידה באינדקס מרמה של 1.6 לרמה של 0.8 ב- 155 יום לאחר חנטה. כלומר, צבע הפרי החל להשתנות מירוק לכתום. תופעה זו מצביעה על התקדמות בתהליכי הבשלה והתבגרות הפרי. אינדקס הכלורופיל הגיעה לרמתו הנמוכה ביותר בקטיפ האחרון, כ- 190 יום לאחר חנטה עם ערך של 0.2 בממוצע באזור העוקץ. לכל אורך העונה ערך אינדקס הכלורופיל בפיטם היה גבוה מערכו בעוקץ. בתחילת העונה ערכו עומד על 1.8 בממוצע ובסופה ערך זה יורד ל 0.4 בממוצע, כלומר ירידה של כ- 77% באזור הפיטם במשך כל שלבי גידול הפרי, לעומת ירידה של כ- 87.5% באזור העוקץ. הבדל זה מצביע על שוני במועדי ההבשלה בשני צידי הפרי. כאשר על פי מדד זה רקמת העוקץ של הפרי מגיעה לבגרות מוקדמת בהשוואה לרקמת הפיטם.

### פליטת CO<sub>2</sub> ו- C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> -

פליטת האתילן כ- 94 יום לאחר חנטה היא הגבוהה ביותר, כ-  $27 \mu\text{g/kg fruit weight/h}$  ברקמת העוקץ לעומת  $4 \mu\text{g/kg fruit weight/h}$  ברקמת הפיטם (איור 6C). כ- 21 ימים לאחר מכן עדיין נצפה הבדל בכמות האתילן הנפלט בין שני אזורים אלו בפרי, כאשר הכמות שנמצאה בעוקץ היא  $1.7 \mu\text{g/kg fruit weight/h}$  ובפיטם רק  $0.6 \mu\text{g/kg fruit weight/h}$ . רק בקטיף שבוצע 155 ימים לאחר חנטה הבדלים אלו נעלמו.

פליטת ה- CO<sub>2</sub> הראתה תמונה דומה לזו של אתילן (איור 6D). ב- 94 ימים אחרי חנטה נצפו ההבדלים הגדולים ביותר בין העוקץ לפיטם, כאשר פליטת אתילן בעוקץ הייתה  $177 \text{ml/kg fruit weight/h}$  וזאת של הפיטם הייתה  $83 \text{ml/kg fruit weight/h}$ . כ- 21 ימים אחר כך עדיין נראו הבדלים כאשר קצב הנשימה בעוקץ עמד על  $70 \text{ml/kg fruit weight/h}$  ובפיטם על  $52 \text{ml/kg fruit weight/h}$ . אך החל ממועד זה ועד הקטיף המסחרי, כ- 190 יום לאחר החנטה, הבדלי פליטת ה- CO<sub>2</sub> מצטמצמים עד נעלמים, וכמות ה- CO<sub>2</sub> שנמדדה הייתה  $25 \text{ml/kg fruit weight/h}$  בעוקץ ו-  $27 \text{ml/kg fruit weight/h}$  בפיטם, כאשר הבדלים אלו אינם מראים הבדלים סטטיסטיים. תוצאות אלו מצביעות על כך שיש פליטה מוגברת של אתילן וקצב נשימה מהיר יותר באזור העוקץ שנעלמים במהלך גדילת והתפתחות הפרי.

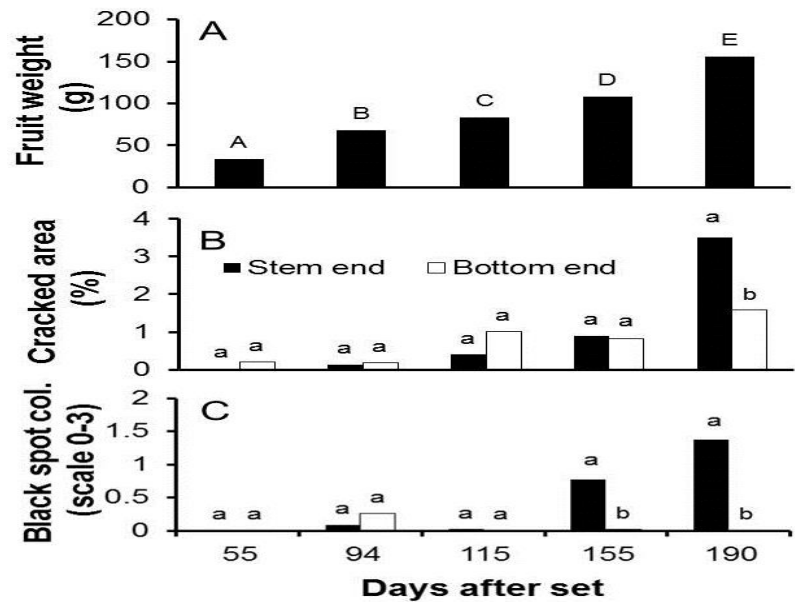
### הופעת סדקים כמדד לרגישות הפרי במהלך העונה-

הקשר בין גודל הפרי והופעת הסדקים- מעקב אחר התפתחות הסדקים ברקמה הסמוכה לעוקץ ולפיטם הראה שעד ל- 115 יום לאחר חנטה לא נצפו סדקים בין רקמת העוקץ לרקמת הפיטם. אבל החל מ- 115 יום לאחר חנטה מתרחשת עלייה בכמות הסדקים בשני האזורים ללא הבדל משמעותי בין שתי הרקמות. אך החל מ- 155 יום לאחר חנטה שטח פרי המכוסה סדקים מגיע אל מעל- ל 1% באזור העוקץ. 35 ימים אחר כך נצפית עלייה של פי 3.5 בשיעור הסדקים בעוקץ הפרי ופי 2 באזור הפיטם. בבדיקה שנערכה 190 יום לאחר חנטה נמצאה העלייה המשמעותית ביותר בשיעור השטח המכוסה סדקים ברקמת העוקץ. כאשר אחוז השטח המכוסה סדקים בעוקץ הגיע ל- 3.5% וברקמת הפיטם רק ל- 1.6%. תוצאות אלו מראות שהופעת סדקים מתרחשת בעיקר בחודש האחרון של גידול הפרי (איור 7B,A) עם הגעת הפרי למשקלו הממוצע המרבי של כ- 156g ואחוז השטח המכוסה סדקים לכ- 3.5% בממוצע בעוקץ ו- 1.6% בפיטם. תוצאות אלו מצביעות על כך שההבדלים הבולטים בהופעת הסדקים מופיעים בעיקר בחודש האחרון של הגידול.

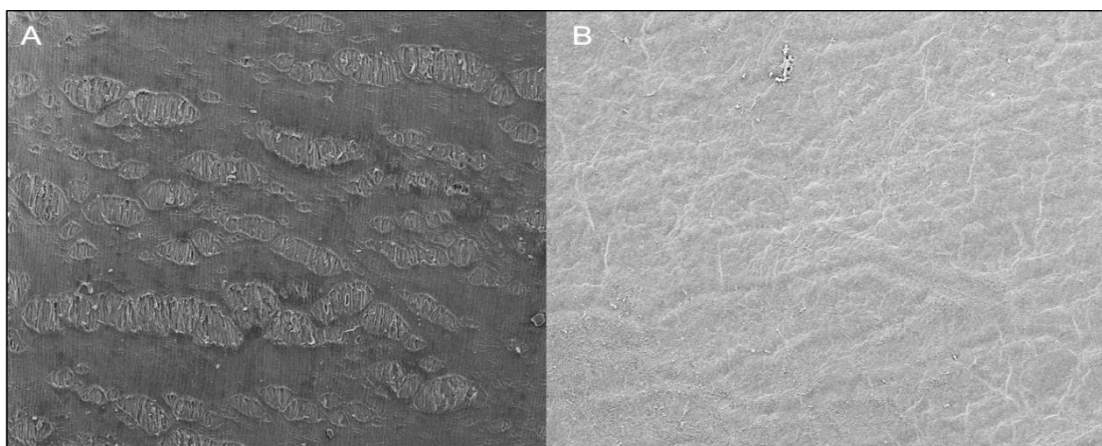
הקשר בין הופעת סדקים ונגיעות לאלטרנריה- מעקב אחר רגישות רקמות הפרי במועדים שונים לאחר חנטה מראה שרגישות הרקמה להתפתחות סימפטומים של אלטרנריה מתחילה כ- 155 יום לאחר חנטה, בעוצמה של 0.8 (אינדקס נגיעות בין 0-3) ברקמה מתחת לעלי הגביע. 35 ימים לאחר מכן יש עלייה של כ- 57% ברגישות רקמה זו ועוצמת הרגישות מגיעה ל- 1.4, בעוד שרקמת הפיטם אינה מראה רגישות כלל לאורך כל מועדי הבדיקה. ניתן ליחס את העלייה ברגישות הרקמה לאלטרנריה בחלקה, לעלייה בכמות הסדקים. בחינת הקשר בין נגיעות אלטרנריה בפרי שנקטף 190 יום לאחר חנטה כתלות בהתפתחות סדקים, מראה שרגישות זו גדולה יותר בעוקץ הפרי, מקום בו נמצא שיעור הסדקים הגבוה ביותר לעומת הפיטם. התפתחות סדקים ורגישות לאלטרנריה (איור B

C, 7 ו-8) היו נמוכים ב 50% וב- 100% בהתאמה בפיטם לעומת העוקץ במועד זה. תוצאות אלו מצביעות על הגברת הרגישות עם התפתחות סדקים אשר מוגברת בחלקו העליון של הפרי לעומת חלקו התחתון. מכיוון שהגברת רגישות זו אינה מתרחשת בצורה ישירה עם עלייה בהתפתחות הסדקים שמופיעים גם בפיטם קיימת אפשרות שגורמים נוספים מעורבים ביצירת רגישות זו.

**איור 7:** השפעת הבשלת פירות אפרסמון על התפתחות סדקים ונגיעות אלטרנריה לאורך העונה. משקל הפרי (A) מצביע על הבשלת הפרי, הערכת אחוז סדקים מסך הפרי (B) בוצע ע"י טבילה ב  $FeCl_3$  והערכת עוצמת נגיעות אלטרנריה (C) בוצעה ע"י הדבקה ישירה בתמיסת נבגים בריכוז  $10^6$ , אינקובציה ל- 5 ימים בתא לח והערכת עוצמת המדבק על פי סקלת העוצמה 0-3 כאשר 0- אין הדבקה כלל ו-3 - הדבקה בקוטר של 3-4 מ"מ.



**איור 8:** תמונה ממיקרוסקופ אלקטרוניים סורק (SEM) של הסדקים בשני מועדי קטיף המראה את רקמת קליפת העוקץ של פירות האפרסמון. (הגדלה X 500). A - 190 יום לאחר חנטה B - 55 יום לאחר חנטה. שני המועדים 55 ו-190 יום לאחר חנטה ממחישים את העלייה באחוז השטח המכוסה סדקים ב 135 ימים שעברו בין שני המועדים באזור העוקץ.



גורמים המשפיעים על יצירת/מניעת היווצרות סדקים על גבי פירות האפרסמון והשפעתם על נגיעות אלטרנריה

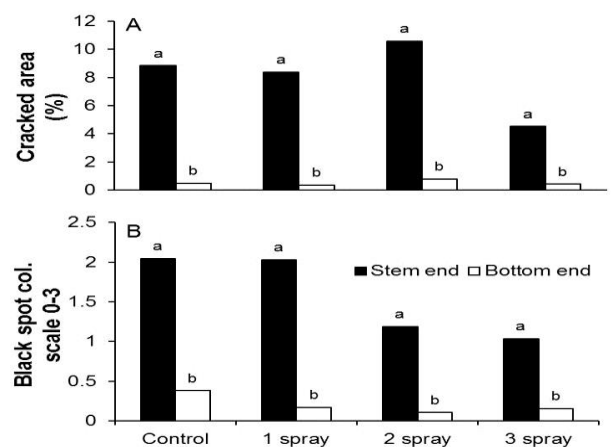
התוצאות המתארות את השיבות הסדקים מתחת לעלי הגביע, הביאו אותנו לבירור הנושא הן ע"י הפחתת עוצמתן כדרך למנוע התקפה.

### בקרה על רמת הסדקים ע"י שימוש במוסתי צמיחה

בחינת השפעת ריסוס במוסתי צמיחה על פרמטרים פיזיולוגיים ורגישות הפרי לאלטרנריה בוצעו בשנים 2014-2015-2016. הריסוסים כללו טיפולים עם סופרלון, AVG ו-MCP נוזלי. בשנה הראשונה לריסוס במוסתי הצמיחה סופרלון (Superlon<sup>R</sup>), נבחנו מספר מועדי ריסוס ומספר הריסוסים האופטימלי התורמים להפחתת שיעור הסדקים והנגיעות לאלטרנריה. כל צירוף של 1-3 ריסוסים ומועד התחלת היישום, בוצע לפני מועד הקטיף המסחרי בריכוז של 30 µg/ml. הריסוסים AVG ו-MCP נוזלי קא הראו יעילות מספקת בתנאים בהם השתמשנו.

התוצאות שהתקבלו מעידות על כך שריסוס בסופרלון הפחית את כמות הסדקים ואת רגישות הפרי לאלטרנריה לעומת פירות שלא טופלו כלל. בנוסף נמצא כי שלושה ריסוסים טובים יותר מריסוס בודד ומשני ריסוסים (איור 9).

**איור 9:** השפעת ריסוסי סופרלון בשנת 2014 על הופעת סדקים ורגישות לאלטרנריה ברקמת העוקץ ורקמת הפיטם בפירות אפרסמון. השפעת הסופרלון הוערכה על פי 2 מדדים: אחוז הסדקים מסך הפרי (A) ונגיעות לאלטרנריה (B) – מדדים אלו הוערכו בשלושה יישומים: ריסוס בודד, שני ריסוסים ושלושה ריסוסים הבדלים מובהקים נמצאו על פי מובהקות של  $P \leq 0.05$  מבחן Tukey-Kramer וסומנו באותיות a,b.



בשנת 2015, ריסוסי סופרלון נבחנו בשנית בצירופים של מועד התחלת הטיפול (40,70,100 ימים לאחר חנטה) ושני ריכוזים (20 ו 40 ח"מ). כאשר כל טיפול יושם ב- 3 ריסוסים, פעם בחודש במשך 3 חודשים (איור 9). התוצאות מוצגות להלן:

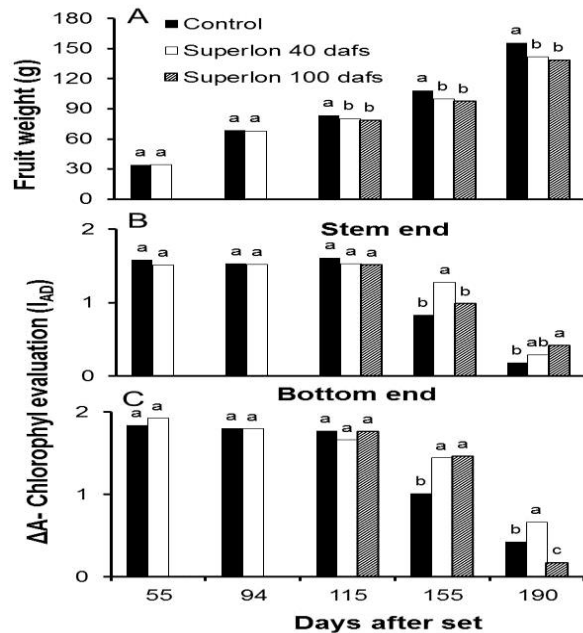
### השפעת ריסוסי סופרלון על הבשלת הפרי

משקל פרי שרוסס בסופרלון לא נבדל מפירות הביקורת עד ל- 155 יום לאחר חנטה (איור 10A). החל מ- 155 ימים לאחר חנטה (איור 10A) נצפתה הפחתה במשקל פירות מטופלים שנמשכה עד למועד הקטיף המסחרי. תכולת ריכוז הכלורופיל בפירות מטופלים במועד הקטיף הייתה גבוהה יותר ככל שסדרת הריסוסים הייתה קרובה למועד הקטיף המסחרי כ- 190 ימים לאחר חנטה (איור 10C,B). עד 155 יום לאחר חנטה לא נצפה שינוי בצבע הפירות בהשוואה לפירות הביקורת, אך החל מ- 155 יום לאחר חנטה התקיים תהליך של שבירת צבע בפירות הביקורת לעומת עיכובו בפירות המטופלים בסופרלון. בהשוואה לפירות הביקורת חל עיכוב של כ- 25% בפירוק הכלורופיל בפירות מטופלים עד מועד הקטיף

ריסוסי סופרלון, הבשלת הפרי והקשר לרגישות הדיפרנציאלית בין רקמת העוקץ לרקמת הפיטם- אינדקס הכלורופיל היה גבוה יותר ברקמת הפיטם של הפרי לעומת רקמת העוקץ החל מ- 155 יום לאחר חנטה ונשמר עד למועד הקטיף, 190 יום לאחר החנטה הן בפירות הביקורת והן בפירות מטופלים. אך בפירות מטופלים בסופרלון

הבדל זה גדול יותר בהשוואה לפירות הביקורת. אינדקס הכלורופיל ברקמת הפיטם בפירות הביקורת ב 155 יום לאחר חנטה גבוה ב 17% מרקמת העוקץ לעומת 34% בפירות מטופלים בסופרלון (100 יום לאחר חנטה) (איור 10C,B). תוצאות אלו מצביעות על כך שסופרלון יכול להשפיע על הבשלה דיפרנציאלית בין רקמת העוקץ לרקמת הפיטם.

איור 10: השפעת טיפול בסופרלון כשאתחיל בשני מועדים לאחר חנטה (40 ו 100 ימים) על משקל הפרי (A) ופירוק הכלורופיל לאורך העונה ברקמת העוקץ (B) וברקמת הפיטם (C). מדידות עבור ריסוסי סופרלון שהחלו כ- 100 ימים לאחר חנטה בוצעו כ- 115 ימים לאחר חנטה. אינדקס הכלורופיל נמדד בחמשת מועדי הקטיף. הבדלים מובהקים נמצאו על פי מובהקות של  $P \leq 0.05$  מבחן Tukey-Kramer וסומנו באותיות a,b,c



#### השפעת ריסוסי סופרלון על קצב הנשימה ופליטת אתילן

ריסוסי הסופרלון עיכבו את פליטת האתילן ב 83% בפרי שנקטף 94 יום לאחר חנטה בהשוואה לפירות הביקורת (מ-  $27 \mu\text{g/kg fruit weight/h}$  ל  $4.5 \mu\text{g/kg fruit weight/h}$ ). בפרי שנקטף החל מ- 115 יום לאחר חנטה, פליטת האתילן יורדת לרמה נמוכה ( $1.7 \mu\text{g/kg fruit weight/h}$ ) ונעלמת השפעתו של הסופרלון (איור 11B,A). קצב הנשימה הואט גם כן, כמות ה- $\text{CO}_2$  הנפלט בפרי שנקטף 94 יום לאחר החנטה, נמוכה ב 62% בהשוואה לכמות הנפלטת בפירות הביקורת ( $177 \text{ ml/kg fruit weight/h}$  ל  $66.5 \text{ ml/kg fruit weight/h}$ ). (איור 11D,C).

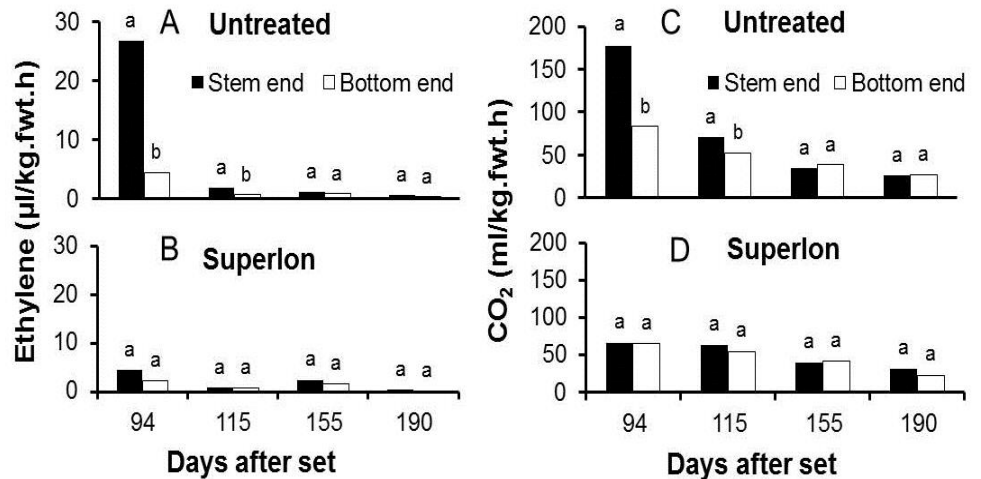
מעקב אחר פליטת אתילן ו- $\text{CO}_2$  במועדים מאוחרים יותר לאחר חנטה לא הראו הבדלים בין טיפול הסופרלון לטיפול הביקורת. תוצאות אלו מצביעות על השפעתו הייחודית של הסופרלון על 2 תופעות חשובות המבקררות הבשלת הפרי בשלב מאוחר של גידולו.

ריסוסי סופרלון, פליטת אתילן ו- $\text{CO}_2$  והקשר הרגישות הדיפרנציאלית בין רקמת העוקץ לרקמת הפיטם- במעקב אחר פליטת האתילן נצפה הבדל ב 94 וב- 115 יום לאחר חנטה רק בפירות הביקורת, כאשר בזמן זה פליטת אתילן גבוהה יותר בעוקץ הפרי פי 83.5% ו- 63% בהתאמה מאשר ברקמת הפיטם (איור 11B,A). מעקב אחר שאר המועדים והטיפולים לא הראה הבדל סטטיסטי בין העוקץ לפיטם. תוצאות אלו מצביעות על עיכוב בהזדקנות והבשלה להם גורם אתילן ע"י הסופרלון. כנ"ל לגבי כמות ה- $\text{CO}_2$  הנפלטת, רק בפירות הביקורת נצפה הבדל דיפרנציאלי בין רקמת העוקץ לרקמת הפיטם ב- 94 ו 115 ימים לאחר חנטה. (איור C



70.6 ml/kg fruit weight /h ו- 83 ml/kg fruit weight /h לעומת 177 ml/kg fruit weight /h (11D), לעומת 52 ml/kg fruit weight /h בהתאמה.

איור 11: פליטת אתילן (A,B) ופליטת CO<sub>2</sub> (C,D) ברקמת העוקץ ורקמת הפיטם של פירות אפרסמון המטופלים במוסות הצמיחה סופרלון במועדים שונים לאחר חנטה. טיפול בסופרלון החל כ-40 ימים לאחר חנטה אחת לחודש במשך 3 חודשים, אתילן ו- CO<sub>2</sub> נמדדו ומוצגים ערכים של היום השני למדידה.



#### השפעת ריסוסי סופרלון על התפתחות סדקים במהלך העונה

במועדים מוקדמים לאחר חנטה (עד ל- 115 יום) לא נצפה הבדל סטטיסטי בין הטיפולים בשיעור הסדקים הן באזור העוקץ והן באזור הפיטם. החל מ- 115 יום לאחר חנטה הטיפול בסופרלון הפחית את כמות הסדקים הנוצרים על גבי הפרי במהלך גדילתו ובגרותו. אך עוצמת הסדקים גברה בחודש האחרון לגידול הפרי ובמועד הקטיפה האחרון (190 יום לאחר חנטה). הריסוס בסופרלון הפחית את רמת הסדקים ב- 1.6% בהשוואה לטיפול הביקורת (איור 12A).

ריסוסי סופרלון, התפתחות סדקים והקשר לרגישות הדיפרנציאלית בין רקמת העוקץ לרקמת הפיטם - פרי שטופל בסופרלון הראה רמה נמוכה יותר של סדקים בחלקו התחתון בהשוואה לחלקו העליון ב- 190 יום לאחר חנטה ב- 42% בטיפול הביקורת ו- 59% בטיפול הסופרלון שהחל 100 ימים לאחר חנטה. החל מ- 115 יום לאחר חנטה מופיעים סדקים בשני האזורים, בכל הטיפולים, אך רק בזמן הקטיפה המסחרי יש עליה משמעותית ברמת הסדקים באופן כללי ובין שני הרקמות מופיעים הבדלים דיפרנציאליים אשר מודגשים לאחר ריסוס בסופרלון (איור 12B,A).

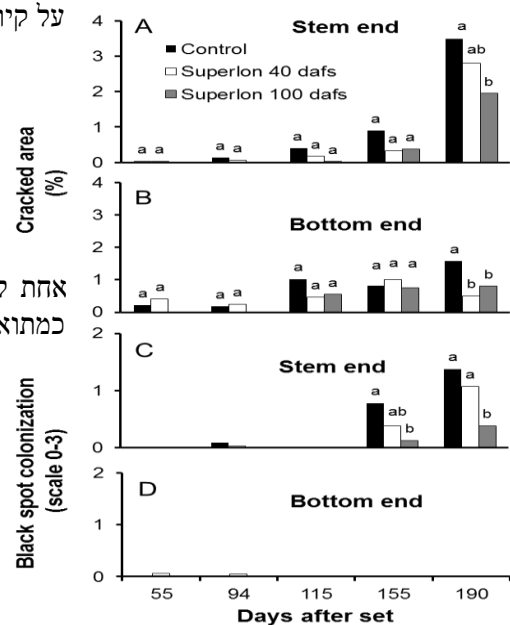
#### השפעת ריסוסי סופרלון על נגיעות לאלטרנריה במהלך העונה

רגישות לאלטרנריה נצפתה החל מ- 115 יום לאחר חנטה. רגישות זו גברה בעיקר באזור העוקץ עד ליום הקטיפה (190 יום לאחר חנטה) לעומת הנגיעות הנמוכה באזור הפיטם. המעניין הוא ששני מועדי הטיפול בסופרלון (40,100 יום לאחר חנטה) הפחיתו את התפתחות הנגיעות בין 40%-60% (איור 12C) בהשוואה לפירות הביקורת.

תוצאות אלו מצביעות על כך שלעלייה ברגישות הרקמה לאלטרנריה באזור העוקץ יכולה להיות מוסברת בחלקה ע"י העלייה בכמות הסדקים ככל שמתרחקים ממועד החנטה. בנוסף, למוסתי צמיחה יעילות טובה בהתמודדות עם יצירת הסדקים המשפיעים על חדירות הרקמה לנבגי אלטרנריה. אך הרגישות להזדקה בפיטם הינה תוצאה ממנגנון אחר הקיים בפרי.

**ריסוסי סופרלון, נגיעות לאלטרנריה והקשר לרגישות הדיפרנציאלית בין רקמת העוקץ לרקמת הפיטם-** מעקב אחר רגישות רקמת העוקץ ורקמת הפיטם לאלטרנריה הראה כי הרגישות הדיפרנציאלית באזור העוקץ גבוהה יותר מאזור הפיטם לחדירת נבגי אלטרנריה ב-100%. לכל אורך עונת הגידול לאחר חנטה רגישות רקמת הפיטם אפסית ורגישות רקמת העוקץ עולה ככל שהפרי גדל ומבשיל אך ריסוס בסופרלון מפחית רגישות זו. טיפול בסופרלון בזמן 100 יום לאחר חנטה גורם להפחתה ברגישות זו ברקמת העוקץ ב-72% ב 190 יום לאחר חנטה בהשוואה לעוקץ טיפול הביקורת (איור 12D,C). תוצאות אלו מצביעות על כך שסופרלון גורם לעיכוב בבגרות והבשלת הפרי והפחתת הסדקים גורמת להפחתת נגיעות אך חוסר הנגיעות בפיטם והופעת סדקים מצביע על קיומם של גורמים נוספים המגבירים את יכולת התמודדות רקמת זו.

**איור 12:** התפתחות סדקים (C,D) וחדירות פירות האפרסמון ברקמת העוקץ ורקמת הפיטם לאלטרנריה (A,B) במועדים שונים לאחר חנטה. פירות האפרסמון טופלו במוסת הצמיחה סופרלון אשר החל בשני מועדים לאחר חנטה (40,100) ויושם אחת לחודש במשך שלושה חודשים. אחוז הסדקים מסך הפרי הוערך כמתואר קודם וחדירות הפרי לנבגי הפרטייה הוערכה על פי סקלת העוצמה 0-3. הבדלים מובהקים נמצאו על פי מובהקות של  $P \leq 0.05$  מבחן Tukey-Kramer וסומנו באותיות a,b.



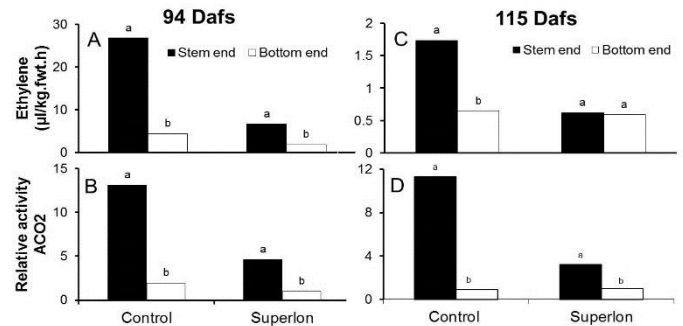
### השפעת ריסוסי סופרלון על ביטוי יחסי של גנים הקשורים לביו-סינטזה של אתילן

בהשוואה לפליטת האתילן (איור 13) ניתן לראות שהביטוי של ACC Oxidase 2 הוא בהתאמה לפליטת האתילן שנמדדה מפירות מטופלים ולא מטופלים ב-94 וב-115 יום לאחר חנטה, כאשר בטיפול הביקורת פליטת אתילן גבוהה יותר בעוקץ הפרי בהשוואה לפיטם ולטיפול הסופרלון בשני המועדים כנ"ל לגבי ביטוי הגן ACC Oxidase 2.

מעקב אחר ביטוי הגן ACC Oxidase 2 ברקמה מתחת לעלי הגביע לאורך העונה הראה ירידה פי 126 בערכים של ביטוי הגן ברקמה מתחת לעלי הגביע כאשר משווים בין רמת ביטוי ביום ה-94 לבין 190 יום לאחר חנטה. כמו כן ביטוי הגן ACC Oxidase2 ירד פי 6 ברקמת הפיטם כאשר נבדקה פעילותו ב-94 יום לאחר חנטה לעומת 190 יום לאחר חנטה, יום הקטיף. ריסוס בסופרלון הפחית את הביטוי מתחת לעלי הגביע פי 2.3 ופי 2.5

ברקמת הפיטם בפירות שנקטפו 94 יום לאחר חנטה (טבלה 1). בפועל נצפתה הפחתה בביטוי גן זה בכל הפירות שטופלו בסופרלון לאורך כל העונה לעומת פירות הביקורת.

**איור 13:** השפעת ריסוסי סופרלון על ביטוי יחסי של הגן ACC Oxidase2 (A,C) ופליטת האתילן (B,D) בשני מועדים (94,115) לאחר חנטה ברקמת העוקץ וברקמת הפיטם בפירות אפרסמון מטופלים בשלושה ריסוסי סופרלון שהחלו כ 40 ימים לאחר חנטה בהשוואה לפירות הביקורת. כמות האתילן הנפלטת הוערכה כמתואר בפסקה 2.3.3.6 והביטוי היחסי של הגן הוערך באמצעות q-PCR.



**טבלה 1:** הביטוי היחסי של הגן ACC Oxidase2 וברקמת העוקץ וברקמת הפיטם בפירות אפרסמון מין Triumph מטופלים ובסופרלון בהשוואה לפירות הביקורת. מועד תחילת הריסוסים הוא כ 40 ימים לאחר חנטה בריכוז של 40 g mL<sup>-1</sup> אחת לחודש במשך שלושה חודשים. הבדלים מובהקים נמצאו על פי מובהקות של P ≤ 0.05 מבחן Tukey-Kramer וסומנו באותיות a,b.

DAFS	Control		Superlon	
	Stem end	Bottom end	Stem end	Bottom end
94	4029.22a	669.75b	1718.8a	261b
115	1205.13a	396.72b	554.9a	149.3b
155	100.56a	31.55b	164.2a	25.3b
190	32.24a	1b	22.8a	1b

### השפעת טיפול בסופרלון על רגישות פירות אפרסמון לאלטרנריה לאחר אחסון

פירות האפרסמון שטופלו בסופרלון במטע, נקטפו ואוחסנו למשך 3 חודשים בקירור ב- 0 מ"צ. מחציתם קיבלו טיפול ב-GA<sub>3</sub> כשבועיים לפני מועד הקטיף המסחרי. טיפול זה הפחית נגיעות לאלטרנריה בהוצאה מאחסון ולאחר הוצאה מחיי מדף ושיפר את מדד מוצקות הפרי (טבלה 2). כל טיפולי הסופרלון הפחיתו את הנגיעות לאלטרנריה באחסון וחיי מדף. ההפחתה ברגישות לאלטרנריה הייתה מובהקת יותר בפרי שטופל הן בסופרלון והן ב-GA<sub>3</sub>. לא נמצא השפעה מובהקת של מווסתי הצמיחה על שיפור במוצקות הפרי, בנוסף להשפעה של הטיפול ב-GA<sub>3</sub>.

After Storage	Alternaria colonization (Surface %)		Firmness (Index 1-10)	
	GA-	GA+	GA-	GA+
Control	5.0 a	4.21 a	3.76 c	6.36 a
Superlon 40 Dafs	4.3 b	2.49 b	5.88 a	5.82 a
Superlon 70 Dafs	4.4 b	3.78 ab	4.96 b	6.52 a
Superlon 100 Dafs	4.00 c	2.37 b	2.58 d	4.65 c

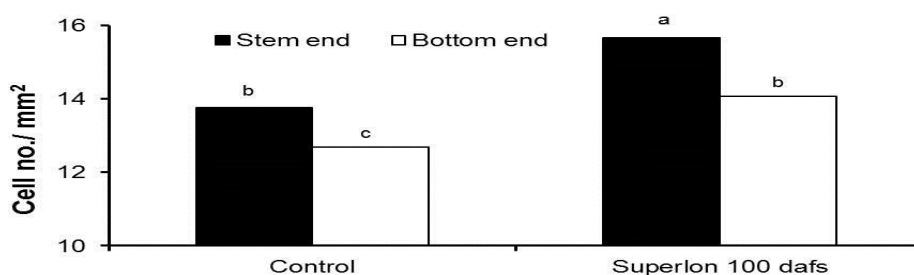
טבלה 2: השפעת טיפול משולב בסופרלון ו- $GA_3$  במטע על מוצקות הפרי והופעת סימפטומים למחלת הכתם השחור באחסון וחיי מדף בהשוואה לפירות אשר טופלו ב  $GA_3$  ופירות ללא טיפול כלל. ריסוסי סופרלון החלו במועדים שונים לאחר חנטה (40,70,100 Dafs) וכללו ריסוס אחת לחודש במשך 3 חודשים. טיפול ב  $GA_3$  בוצע כשבועיים לפני מועד הקטיפה המסחרי בריסוס בודד ובוצע על כחצי מהפירות המטופלים בסופרלון.

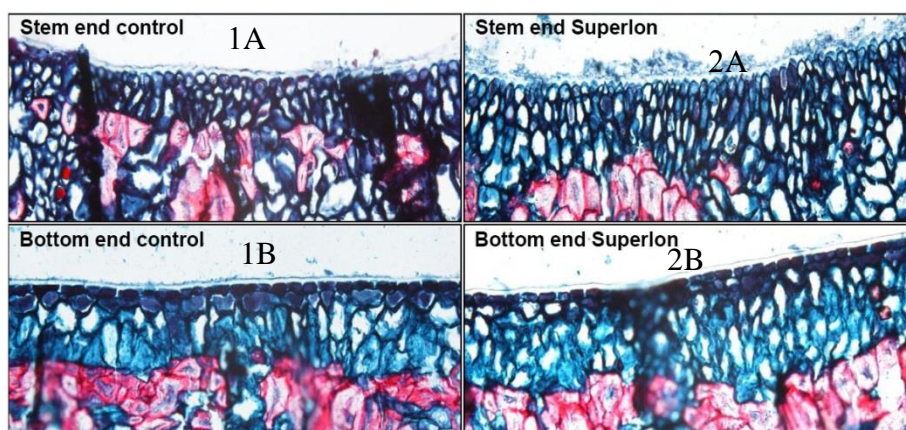
### **השפעת ריסוסי סופרלון על גודל וצפיפות התאים ברקמת העוקץ וברקמת הפיטם של פירות אפרסמון**

מעקב היסטולוגי אחר מספר התאים ליחידת שטח בצפיפת הפרי מתחת לקליפה הראה שכמות התאים בחלק התחתון של הפרי קטן מחלקו העליון ב 7% (איור 14). מעקב אחר כמות התאים בפירות שרוססו בסופרלון הראה גידול במספר התאים בשני אזורים אלו בהשוואה לפירות הביקורת ב 12% באזור העוקץ וב- 9% באזור הפיטם אך עדיין מספר התאים באזור העוקץ גבוה מאזור הפיטם ב 10% (איור 15 A-2,1). תוצאות אלו מצביעות שטיפול בסופרלון מגבירי חלוקת תאים, תופעה זו גורמת להגברת צפיפות התאים ועיבוי שכבת הקליפה בשני האזורים דבר היכול להוביל להגברת ההגנה על הפרי מפני חדירת פתוגניים.

דבר נוסף שהתגלה במהלך הבדיקות ההיסטולוגיות הוא ההבדל הפיזיולוגי בין רקמת העוקץ לרקמת הפיטם מבחינת סידור התאים בכל אחת מרקמות אלו. ברקמת העוקץ (איור 15) התאים נראים צפופים ומסודרים כעומדים והצפיפות גוברת בפרי מטופל בסופרלון. באזור הפיטם מתחת לשכבת הקוטיקולה נצפית שכבת תאים בצורת "לבנה" ומתחתיה התאים נעשים עגולים וגדולים יותר לעומת רקמת העוקץ בה התאים מאורכים יותר. גם כאן רקמת אזור הפיטם של פרי מטופל בסופרלון מראה צפיפות תאים גדולה יותר (איור 15 - B2, B1). ממצאים אלו יכולים להסביר את הרגישות הדיפרנציאלית בין שני אזורי הפרי. ניתן לשער שלשכבת התאים דמוי "לבנים" תפקיד מיוחד המעניק הגנה. צפיפות התאים בפירות מטופלים בסופרלון, יכולה לתרום גם כן להסבר עמידות הפרי כנגד אלטרנריה.

איור 14: השפעת ריסוסי סופרלון על צפיפות התאים באזור העוקץ ובאזור הפיטם של פירות אפרסמון. טיפול בסופרלון החל כ 100 ימים לאחר חנטה ובוצע אחת לחודש למשך שלושה חודשים. התאים נספרו תחת מיקרוסקופ עבור שטח של כ  $2500\text{mm}^2$  ב- 5 זכוכיות נושאות וכ- 5 חזרות עבור כל אחת מהן.





איור 15: השפעת ריסוסי סופרלון (התחלת הריסוסים כ 100 ימים לאחר חנטה, אחת לחודש במשך 3 חודשים) ברקמת העוקץ וברקמת הפיטם (2A,2B) בהשוואה לטיפול הביקורת ברקמות אלו (1A, B) מבחינת גודל וצפיפות התאים בפירות אפרסמון. תמונה ממיקרוסקופ אור בהגדלה X 20 של חיתוכי הרקמה היסטולוגי הממחישים את ההבדלים האנטומיים והפיזיולוגיים בין שתי הרקמות ובין הטיפולים.

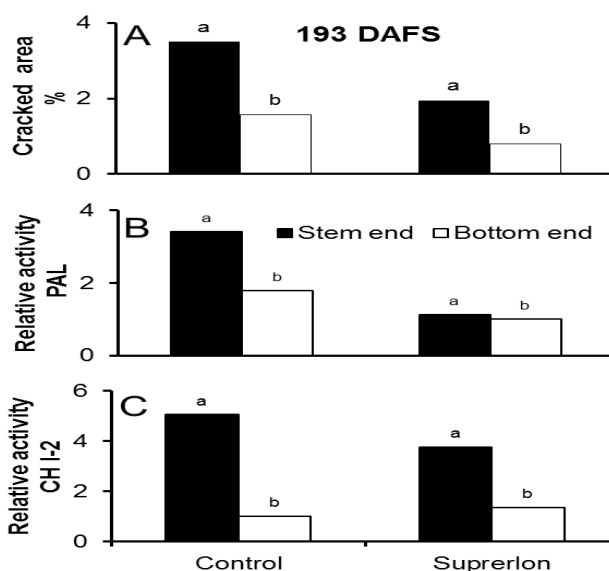
### השפעת סופרלון על ביטוי גנים הקשורים בפצעים וגודל תא בפירות אפרסמון

#### גנים הקשורים במסלול הפרו-אנטוציאנינים (PA) המגיבים לפצעים

הפרו-אנטוציאנינים (Proanthocyanins -PA) הם חומרים הגורמים לעפיצות באפרסמון ונמצאים בכמות גדולה בזמן הגדילה. נחשבים למטבוליטים משניים התורמים בהגנה מפני עקות ביוטיות ואביוטיות (Akagi et al. 2011). מעקב אחר ביטוי של שני גנים: CHI (Chalcone isomerase) ו-Pal (Phenyl ammonia lyase) - המשתבטים מסלול הפלבנואידים וידועים במעורבותם בתגובות לפצע ואינדוקציה ליצירת פנולים ברקמות. כמוכן נבדק הביטוי של הגן expansin (2EXP) הקשור לעמידות הפרי.

מעקב אחר ביטוי גנים אלו ב- 190 יום לאחר חנטה הראה כי טיפול בסופרלון הפחית את ביטוי הגנים למטבוליטים אלו בהשוואה לטיפול הביקורת. כיוון שהשפעת סופרלון על הפחתת הסדקים מתרחשת במקביל להפחתת ביטוי גנים אלו, הפחתה של PAL ו-CHI יכולה להיות תוצאה ולא הגורם להפחתת כמות הסדקים (איור 16-17).

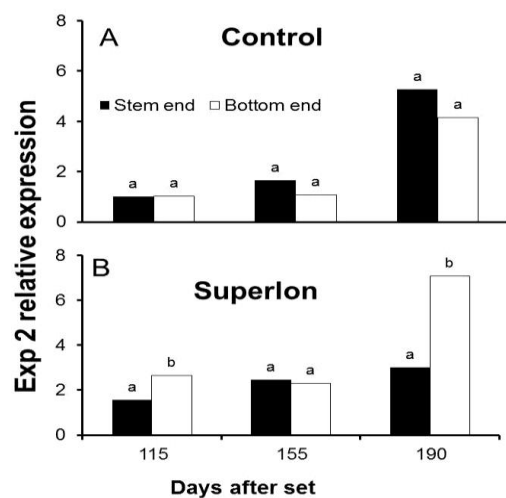
איור 16: נבחנה השפעת ריסוסי סופרלון על אחוז השטח המכוסה סדקים (A) ועל הביטוי היחסי של הגנים PAL (B) ו-CHI (C) באזור העוקץ לעומת אזור הפיטם בפירות אפרסמון כ 193 ימים לאחר חנטה בהשוואה לטיפול הביקורת. טיפול הסופרלון החל כ 100 ימים לאחר חנטה ובוצע אחת לחודש למשך 3 חודשים.



השוואת טיפולי הסופרלון בניסויים בשנים 2014 ו-2015 והשפעתם על כמות הסדקים ורגישות למחלת הכתם השחור בפירות אפרסמון.

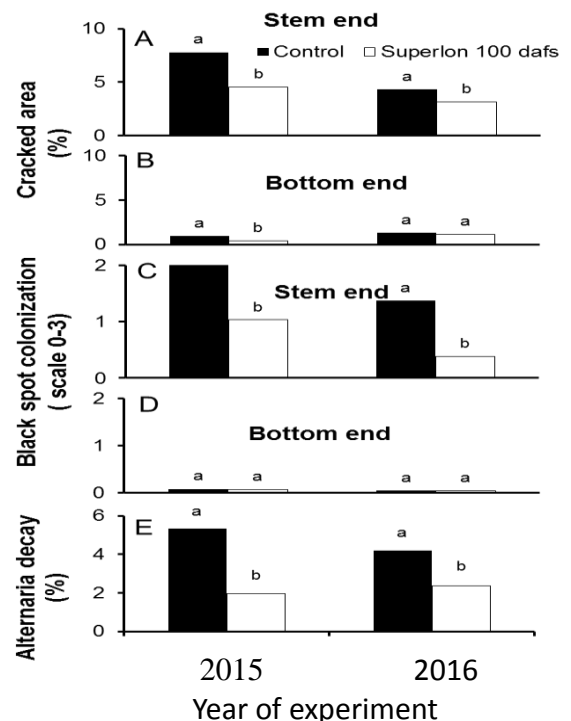
טיפול סופרלון שיושם 100 ימים לאחר החנטה בשילוב עם הטיפול המסחרי ב- GA<sub>3</sub> הפחית בכ- 30-50% את כמות הסדקים באזור העוקץ וב- 50-70% את הנגיעות ע"י הדבקה ישירה באלטרנריה (איור 18D-A). כמו כן לאחר 3 חודשי אחסון בקירור (0 מ"צ) גם כן נצפתה הפחתה ב- 30-50% בשיעור הנגיעות הטבעית של הפרי, דבר המוכיח את יעילותו של תכשיר הסופרלון בשיפור איכות פירות האפרסמון באחסון (איור 18E).

איור 17: השפעת ריסוסי סופרלון (B) על הביטוי היחסי של הגן לאקספנסין (EXP 2) בפירות אפרסמון במועדים שונים לאחר חנטה (115,155,190) בהשוואה לפירות הביקורת (A) ברקמת העוקץ וברקמת הפיטם. והביטוי היחסי הוערך ע"י q-PCR כמתואר בפסקות קודמת טיפול הסופרלון החל מ-100 ימים לאחר חנטה ובוצע אחת לחודש למשך 3 חודשים.



### השפעות הטיפול במטע על כושר אחסון פרי אפרסמון לאחר טיפול בסופרלון בשנים 2016 ו-2017

המחיר היחסי הגבוה של הטיפול בסופרלון במטע הביא אותנו יחד עם חברת "אגרו" לבחון ריכוזים מופחתים וגם הפחתת עיתוי היישום. התוצאות של הניסויים שלנו במשך מספר שנים הביאו אותנו לבחון בעיקר יישומיים של חודשי אוגוסט בכל שנה.



**איור 18:** השפעת טיפולי סופרלון במשך השנים 2015,2016 מבחינת אחוז השטח המכוסה סדקים ברקמת העוקץ וברקמת הפיטם (B,A), מבחינת הנגיעות הטבעית בהדבקה ישירה למחלת הכתם השחור הנגרמת ע"י *alternaria* (C,D) A ומבחינת אחוז הפרי הפסול לאחר אחסון (E). יישום הסופרלון החל כ 100 ימים לאחר חנטה אחת לחודש למשך 3 חודשים. הבדלים מובהקים נמצאו על פי מובהקות של  $P \leq 0.05$  מבחן Tukey–Kramer וסומנו באותיות a,b.

**טבלה מס. 3** איכות אפרסמונים שטופלו בשני מועדים החל משלבים שונים (תחילת אוגוסט וספטמבר) לאחר החנטה, נקטפו ב 27.11.15 ואחסנו 3.5 חודשים. בדיקת נגיעות באלטרנריה וקשיות ידנית נעשתה על כ 80 פירות 4 X חזרות לכל טיפול. למדידת חוזק הפרי והצבע נלקחו 20 פירות 4 X חזרות לכל טיפול.

פרי פסול (נגיעות מעל 1%)	נגיעות (שטח פרי)	צבע (h)	קושי (ניוטון)	% סופרלון	מועד טיפול
A 60.7	A.2.2	57.4	C 25.9	0	טיפול מסחרי
B 32.3	B0.6	66.1	A 35.7	0.05	מוקדם 70 י.ל.ח.
AB 43.3	B 0.9	62.3	BC 29.3	0.1	
B 35.5	B 0.8	64.9	A 34.2	0.2	
B 25.0	B 0.6	60.8	B 29.8	0.05	מאוחר 100 י.ל.ח.
B 29.0	B 0.7	66.1	BC 28.5	0.1	
B 41.4	B 0.9	72.6	A 36.7	0.2	

מועד הטיפול	% סופרלון	משקל הפרי ממוצע (גרם)	צבע (h°)	נגיעות (% שטח הפרי)	% פסולים מסה"כ משקל	מוצקות (מדד ידני 1-10)
מסחרי	-	176.9	58.1	3.7	26.6	6.1
אמצע (100 י.ל.ח.) יולי	0.025	167.5	59.9	2.5	18.1	6.8
	0.05	164.9	63.3	2.4	12.9	6.7
	0.1	156.9	63.8	1.8	9.1	7.1
מאוחר (130 י.ל.ח.) אוגוסט	0.025	162.2	62.1	3.5	14.9	6.9
	0.05	167.1	61.5	3.0	12.0	6.4
	0.1	157.6	63.5	1.6	11.8	7.9

**טבלה מס. 4**  
איכות אפרסמונים שטופלו

בשני מועדים (100 ו 130 י לאחר חנתה), נקטפו מאוחר ב 3.12.15 ואחסנו 3.5 חודשים. בדיקת נגיעות באלטרנריה וקשיות ידנית נעשתה על כ 80 פירות 4 X חזרות לכל טיפול. למדידת חוזק הפרי והצבע נלקחו 20 פירות 4 X חזרות לכל טיפול.

#### **ניסויים ליישום מסחרי של סופרלון בשנים 2015-2016 (שני ריסוסים בסופרלון במטע)**

ניסויים בחורף 2015 ציינו את האפשרות שניתן להפחית את הריכוז של סופרלון עד 0.025% מבלי להפחית את יעלות הטיפול. באותה שנה נבחנה האפשרות להקטין לא רק את הריכוז אל גם את כמות הטיפולים, מ-3 ריסוסים לשתי טיפולים בריכוז 0.05% החל מאמצע אוגוסט. גישה זו מאפשרת הוזלה במחיר השימוש של התכשיר.



צבע ( $h^\circ$ )	שטח נגוע באלטרנריה (% ממוצע)	קושי ידני (1-10)	
51.70±0.53	4.08±0.48	6.95±0.14	טיפול מסחרי אחסון מור השרון
65.07±0.65	1.98±0.16	8.73±0.08	סופרלון טיפול יחיד אחסון מור השרון
55.84±0.58	0.74±0.08	7.28±0.14	טיפול מסחרי אחסון המחלקה לאחסון
64.52±0.84	0.45±0.10	9.15±0.12	סופרלון טיפול יחיד אחסון המחלקה לאחסון

**טבלה מס. 5** איכות אפרסמונים שטופלו במועד אחד (130 יום לאחר חנתה), נקטפו ב- 28.11.15 ואוחסנו 3.5 חודשים לאחר ריסוס מסחרי ב- GA. בדיקת נגיעות באלטרנריה וקשיות ידנית נעשתה על כ- 80 פירות X 4 חזרות לכל טיפול. למדידת חוזק הפרי וצבע נלקחו 20 פירות X-4 חזרות לכל טיפול.

התוצאות המוצגות ב**טבלה מס. 5** הינם של פירות שנקטפו ב- 28.11.2015. במקביל לאחסון במור השרון (אחסון בבית אריזה), נדגמו 5 קרטונים של פרי מכל טיפול שאוחסנו במחלקה לאחסון ב 0 מ"צ. כמו כן גם בתום האחסון (7/3/2017) הועברו 5 קרטונים של פרי מכל טיפול מבית האריזה מור למחלקה לאחסון לבדיקה. הפרי מבית האריזה ומהמחלקה לאחסון נבדקו במקביל. שני טיפולי סופרלון החל מאמצע אוגוסט 2015 הפחית את עוצמת הריקבון מ-4.08% ל-1.98% כמעט ב-50% בפרי שנשמר בבית אריזה מור. דוגמה אחרת של אותם מיכלים שנשמרו במחלקה לאחסון הראה שטיפול בסופרלון הפחית בכמעט 40% משעור הנגיעות. השפעת סופרלון היתה מלווה בקושי פרי גבוהה ושמירה של צבע יותר ירוק לעומת פרי הביקורת. תוצאות אלו מצביעות שמנגנון הפעולה של סופרלון הינו ע"י דחית ההבשלה כפי שתואר בניסויים הקודמים.

#### **ניסויים ליישום מסחרי בשנים 2016-2017 (שני ריסוסים בסופרלון במטע)**

ניסויים בחורף 2015 ציינו את האפשרות שניתן להפחית את ריכוז הסופרלון עד 0.05% מבלי להפחית את יעילות הטיפול. באותה שנה נבחנה האפשרות להקטין לא רק את הריכוז אל גם את כמות הטיפולים מ 3 ריסוסים לשתי טיפולים בריכוז 0.05% מתחילת ספטמבר ואוקטובר.

**טבלה מס. 6** איכות אפרסמונים שטופלו בתאריכים 04.09.16 ו-10.10.16 ונקטפו ב- 28.11.16 ואוחסנו 3.5 חודשים עד ל- 7.3.2017 לאחר ריסוס מסחרי ב- GA. בדיקת איכות ע"י אריזה מסחרית במערך של מור השרון, וכלל פרי רקוב, פרי רך ופרי עם נגיעות מ-15 מכלי פרי.

טיפול	מספר מיכלים	משקל (ק"ג)	יצוא (ק"ג)	יצוא %	מקומי (ק"ג)	מקומי %	בררה (ק"ג)	בררה %
היקש מסחרי+ GA	9	3278	1656	51	716	19	906	28
סופרלון 0.05% GA+	15	5417	3185	59	1051	22	1181	22

תוצאות מסחריות של השנה, שבוצעו ברמה מסחרית מושלמת ע"י ריסוס משקי ואריזה מסחרית, מצביעות שלאחר 3-4 שנות מחקר ניתן ליישם בצורה מיטבית את הטיפול בסופרלון תוך כדי שיפור ב-8% בשיעור הפרי ליצוא.

## דיון

רגישות דיפרנציאלית בין רקמת העוקץ, אשר מתחת לעלי הגביע ולרקמת הפיטם לאלטרנריה בפירות האפרסמון. הפטרייה *A. alternata* פוגעת בפירות האפרסמון וגורמת למחלת הכתם השחור. פטרייה זו גורמת להופעת סימפטומים כבר בזמן גידול הפרי במטע, סימפטומים אלו מתעצמים בזמן האחסון ובזמן חיי המדף. (Prusky et al., 1981) אחד הדברים הבולטים במחלה זו זהו מיקום הסימפטומים. מרבית הנגיעות הטבעית מופיעה באזור העוקץ של הפרי דבר המצביע על רגישות דיפרנציאלית בין החלק העליון לחלק התחתון של הפרי. בנוסף, פצעים/ סדקים המופיעים על גבי הפרי במהלך גידול הפרי מאופיינים באכלוס מוגבר של אלטרנריה, דבר המצביע על חשיבות הפצעים בהתחלת האכלוס בשני אזורי הפרי. מרבית הסדקים נצפו באזור העוקץ של הפרי. תופעה זו יכולה להצביע על כך שעוקץ הפרי רגיש יותר להתקפה ע"י אלטרנריה אך גם על כך שרקמה זו מושפעת מגורמים פיזיולוגיים. ניתוח ראשוני של הגורמים לתופעת הרגישות הדיפרנציאלית מראה שקיים קשר בין תגובת שני אזורי הפרי לבין רגישות הפרי למחלת הכתם השחור ואחוז השטח המכוסה סדקים. סדקים אלו נמצאו בעיקר בחלק העליון של הפרי מתחת לעלי הגביע ובסביבתם בהשוואה לחוסר בהם בחלקו התחתון.

**סדקים כגורם לרגישות דיפרנציאלית בפירות אפרסמון.** -סדקים תוארו בעבר במספר פירות כמו תפוחים, ענבים והדרים כגורם להפסדים כלכליים רציניים (Sekse, 1995). בעגבניות נמצאו שני סוגי הסתדקויות עיקריים: 1. הסתדקות המבקעת את האפידרמיס בצורה מעגלית מסביב ומתחת לצלקת העוקץ כמו שקורה בפירות האפרסמון.

2. הסתדקות רדיאלית שגורמת לביקוע האפידרמיס מאזור צלקת העוקץ ועד לאזור הפיטם. הסתדקות באפרסמון כוללת התפצלות של האפידרמיס מסביב לעלי הגביע והצלקת ומתרחשת בעוצמה גדולה בחודש האחרון לפני מועד הקטיף המסחרי (Voisey et al., 1970).

ההסתדקויות בעגבנייה הוסברו ע"י מספר גורמים בניהם השקיה לא סדירה, חשיפת הפירות לטמפ' גבוהות הגורמות למכות שמש, אנטומית הפירות, הבדלים גנטיים, גידול לא סדיר, הבדלי טמפ' בין יום ללילה ולחות גבוהה. הופעת הסדקים הושפעה גם מביטוי שונה של הגן  $\beta$ -galactosidase (Moctezuma et al., 2003) ומעובי שכבת הקוטיקולה (Matas et al., 2004). התפתחות סדקים בפירות האפרסמון נצפתה בעיקר כחודש לפני מועד הקטיף המסחרי אך ההבדלים המרביים בין האזורים המכוסים סדקים, האזור התחתון והאזור העליון של הפרי, נצפים בעת הקטיף כאשר הפרי מגיע לגודלו המקסימאלי, כאשר באזור העוקץ נצפים כפי 2 יותר סדקים מאזור הפיטם. בטיפול שבוצע על מנת לבחון את השפעת גודל הפרי על התפתחות הסדקים ע"י מתן משטרי השקיה שונים ניתן לראות שהשקיה העלתה פי 2 את השטח המכוסה סדקים באזור העוקץ.

באנאליזה שבוצעה לבחינת הקשר בין הופעת הסדקים ורגישות הפרי לאלטרנריה, הועלתה האפשרות שנבגי אלטרנריה מסוגלים לחדור ישירות דרך הקוטיקולה אך אכלוס מהיר יותר של הרקמה מתרחש כאשר הם חודרים דרך סדקים או פצעים (Prusky et al., 1981). ההדירה הישירה מתרחשת לרוב במהלך עונת הגידול, במטע בתנאי לחות אך הדבקה זו נשארת רדומה עד למועד הקטיף. בזמן אחסון הפרי בקירור כאשר הפרי מזדקן, הפטרייה מתפתחת לאיטה ובזמן חיי מדף מתעצמת. חדירת הפטרייה דרך פצעים או סדקים לעומת זאת תלויה בלחות היחסית במטע לאכלוס הרקמה ומגבירה את תהליך ההזדקנות המתרחש ברקמה פצועה.

יש לשים לב שלא בכל המקרים קיים קשר בין האזור המכוסה סדקים לבין הרגישות למחלת הכתם השחור מכיוון שקיימים מקרים בהם קשר זה הוא תלוי רקמה. כלומר, הדבקה של החלק התחתון של הפירות עם נבגי אלטרנריה הראה ברוב המקרים אכלוס מינימאלי עד אפסי למרות העובדה שנתגלו בו סדקים בעוד שהאזור העליון המכוסה סדקים הראה אכלוס גבוה בעיקר בחודש הגידול האחרון. הבדלים דיפרנציאליים אלו בין שתי הרקמות מבחינת רגישותן לאלטרנריה יכולים להצביע על כך שקיימים גורמים נוספים מלבד סדקים התורמים לעליית רגישות רקמת העוקץ. גורמים כמו פליטת אתילן וייצור  $CO_2$  השונים בין שני אזורים אלו במהלך הגדילה וההתפתחות. ערכי האתילן וה- $CO_2$  היו גבוהים יותר באזור העוקץ מאשר באזור הפיטם עד 115 יום לאחר חנטה. כאשר ב- 94 יום לאחר חנטה ריכוז האתילן הגיע לכפי 400% בעוקץ לעומת הפיטם.

**הקשר בין פליטת האתילן ו  $CO_2$  לבין הרגישות הדיפרנציאלית בפירות אפרסמון.**-עלייה בפליטת האתילן בפירות צעירים לעומת פירות בוגרים דווחה ע"י Nakano וחבריו (2003) אשר הציעו שביוסינטזת האתילן בפירות אפרסמון צעירים קטופים מושרית בתחילה ע"י עלי הגביע ומושפעת מעקת מים דרך אקטיבציה של הגן ACC synthase (DK- ACS2). האתילן המיוצר בעלי הגביע של פירות האפרסמון עובר בצורה דיפוזית לרקמות אחרות בפרי כמו רקמת הקליפה ורקמת הציפה ומשמש כסיגנל שניוני המעודד ביוסינטזה עצמית של אתילן ברקמות אלו. ביוסינטזה זו מובילה לפרץ ייצור של אתילן.

על פי Nakano וחובריו (2003) ניתן להסביר את כמות האתילן הגבוהה שנפלטת מעוקץ פירות האפרסמון בעבודה זו ע"י כך שייצור ופליטת אתילן מתחילה באזור העוקץ וגורמת לאקטיבציה באזור הפיטם ע"י דיפוזיה של ההורמון דרך רקמות הפרי השונות. אפשרות זו נתמכת ע"י העובדה שביטוי הגן  $ACO_2$  בפירות האפרסמון היה גבוה באזור העוקץ פי 6-7.5 בהשוואה לאזור הפיטם. הבדלים אלו בביטוי הגן ופליטת האתילן וה-  $CO_2$  יכולים להשרות את ההבדלים הדיפרנציאליים ברגישות שתי הרקמות ולהסביר את ההזדקנות המוקדמת המאופיינת בהבדלים באינדקס הכלורופיל הנמוך באזור העוקץ בהשוואה לאזור הפיטם.

התוצאות המוצגות בעבודה זו מציעות את חשיבות ייצור האתילן ע"י אונות הגביע אשר ככל הנראה מעבירות סיגנל לאקטיבציה ייצור האתילן כהבדל דיפרנציאלי בין העוקץ לפיטם וכתופעה המשפיעה על תגובת הפרי בתקופת הגדילה הסופית. מחקרים רבים מדווחים על חשיבות ייצור האתילן בזמן גדילה והזדקנות של פירות צעירים בהתהוות (Eaks, 1970; Guinn, 1976; Nakano et al. 2003). בעבודה זו מוצעת האפשרות שייצור של אתילן בשלבי גידול מוקדמים של הפרי יכול להשפיע בשלב מאוחר יותר על תגובת הרקמה להתקפת פטרייה. אנו מעריכים שלמרות שהדבקות של פתוגניים שלאחר הקטיף מתרחשות באמצעות חדירה ישירה דרך פצעים או סדקים, התעוררות ההדבקות הרדומות תלויה מאוד בשינויים פיזיולוגיים המושרים ברקמה בזמן גדילת הפרי (Prusky et al., 2013). הזדקנות מקומית מוקדמת יחד עם הסתדקות הפרי יכולים לתרום לרגישות המוגברת למחלת הכתם השחור הנגרמת ע"י אלטרנריה. ע"י הבנת תהליך אכלוס הרקמה ע"י אלטרנריה, מכניזם הפעולה של הפטרייה והגורמים המשפיעים על רגישות המארח בהתעוררות הדבקות רדומות ניתן לפתח דרכים חדשות לטיפול והתייעלות בהתמודדות בבקרה ומניעה של המחלה בנוסף על הטיפולים הניתנים כיום לפני ואחרי הקטיף. (Prusky et al., 2013)

**השפעת מווסת צמיחה על הרגישות הדיפרנציאלית לאלטרנריה בפירות אפרסמון.** - רגישות פירות האפרסמון לאלטרנריה מאופיינת בשינויים פיזיולוגיים המתרחשים ברקמה הגורמים להתפתחות סדקים. דרך סדקים אלו הפתוגן יכול לחדור לרקמה ולהתחיל באכלוסה. הבדלים דיפרנציאליים המאופיינים במהירות הבשלה שונה בין אזור העוקץ ואזור הפיטם יכולים להתרחש כתוצאה מפליטת אתילן גבוהה וקצב נשימה מוגבר באזור העוקץ דבר המוביל לעליה באחוז משטח הפרי המכוסה סדקים וכתוצאה מכך לעליה בהתפתחות מחלת הכתם השחור הנגרמת ע"י אלטרנריה. עבודה זו מראה שטיפול במווסת הצמיחה 'סופרלון' משפיע משמעותית על חלק מתגובות המארח אשר לרוב גורמות להתפתחות מוגברת של רקבון של אלטרנריה. השפעות הסופרלון כוללות: 1. עלייה של כ- 10% בחלוקת התאים בחלק העליון ובחלק התחתון של פירות האפרסמון בהשוואה לפירות הביקורת. 2. 85% ו- 75% עיכוב בפליטת אתילן ו-  $CO_2$  בהתאמה בשלבי גידול והתפתחות מוקדמים של הפרי. 3. 60-40% עיכוב בביטוי  $ACO_2$  לכל אורך תקופת הגידול באזור העוקץ ובאזור הפיטם. 4. עיכוב בהבשלת הפרי כפי שנצפה בעיכוב בפירוק הכלורופיל בפירות מטופלים בהשוואה לפירות הביקורת. 5. הפחתה של כ- 45% באחוז השטח המכוסה סדקים. 6. 50-40% הפחתה במקרי ההדבקה הטבעית ל BSD אחרי 3 חודשי אחסון. קיימים דיווחים אשר מעידים על כך שפירות האפרסמון מגיבים לקבלת טיפול במווסת צמיחה בזמן גדילת הפרי. תגובות

אלו מובילות לשינויים פיזיולוגיים בעלי חשיבות הורטיקולטורלית. יישום  $GA_3$  על פירות אפרסמון בריסוס כטיפול שבועיים לפני הקטיף גורם לעיכוב בהבשלת פירות ולעיכוב בהתרככותם (Ben Arie et al., 1986, 1996). עיכוב בהתרככות יוחס לאפקט של ההורמון הצמחי  $GA_3$  על מטבוליזם דופן התא.  $GA_3$  גורם לעיכוב שינויים בדופן התא שנמצאו קשורים בהתרככות, בניהם פירוק למלת הביניים, היפרדות של הפלזמלמה מדופן התא, איבוד קוהרנטיות וצפיפות דופן התא הראשונית (Ben Arie et al., 1996). שינויים אלו בדופן התא משפיעים על ייצור האנזים אנדוגלוקנאז של *A. alternata* צריכה על מנת לאכלס את הרקמה. בדופן התא בפירות שטופלו ב  $GA_3$  נמדדה פחות פעילות של אנדוגלוקנאז ב-49% בהשוואה לפירות הביקורת. תוצאות אלו מציעות לשינויים הורמונאליים המשפיעים על הבשלת פירות קיימת השפעה ברורה על מקרי אכלוס ע"י *Alternaria*.

**השפעת שימוש במוסתי צמיחה על פליטת אתילן וקצב נשימה בפירות אפרסמון.** - בעבודה זו נצפתה עלייה ב 400% ו 100% בפליטת האתילן וה-  $CO_2$  בחלק העליון של הפרי בארבעת החודשים הראשונים לאחר חנטה. עלייה זו היא בעלת אפקט קריטי לשלבים המאוחרים של תגובת הפרי (Biton et al., 2014). פעילות מוגברת זו של אתילן ו  $CO_2$  בתקופה זו של גדילת האפרסמון לא לגמרי ברורה. Nakano (2003) מציע שאיבוד מים שמתרחש בזמן גדילת הפרי משרה את ייצור האתילן. על אף זאת קשה להסיק האם זו עקת המים המעודדת את ייצור האתילן שמעודד את פליטת ה  $CO_2$  (Salveit, 1999). פירות שטופלו בסופרלון מראים עיכוב פי 5 ו 2.3 בפליטת האתילן וביטוי הגן  $ACO2$ , בהתאמה. דבר המצביע על כך שטיפול בהורמון צמחי הוא בעל השפעה משמעותית על ביוסינזת האתילן בתקופת גידול הפרי, אך לא ברור איזה משני ההורמונים הצמחיים BA או  $GA_{4+7}$  תורם יותר לעיכוב בפליטת האתילן. טיפול ב BA בארבידופסיס גרם לעיכוב בשינויים המורפוגנטיים בהיפוקוטייל שמאפיינים תגובת לאתילן לא ע"י השפעה על רגישות הרקמה אלא ע"י ייצור אתילן. תוצאות דומות נצפו בפירות אפרסמון שטופלו בסופרלון, עיכוב משמעותי בביטוי היחסי של הגן הקשור בביוסינזת אתילן -  $ACO2$  במרבית מתקופת הגידול של הפירות עד לחודש ממועד הקטיף המסחרי. באפונה סינית נצפתה תגובה דומה ברקמת ההיפוקוטייל במתן BA (Kim et al., 2001). Kim וחבריו הציעו ש-BA מעכב את פליטת האתילן באמצעות דיכוי ביטוי הגן  $VR-ACO1$ .

בעבודה זו אזור העוקץ של פירות האפרסמון שלא רוססו בסופרלון, בזמן הקטיף ביטא פי 32 יותר את הגן  $ACO2$  מאזור הפיטם. לכן ניתן להציע שסופרלון ככל הנראה תורם לעיכוב הסינגל לתהליך האקטיבציה לפליטת אתילן המשתחרר מאונות הפרי ובכך מפחית את ייצור האתילן המיוצר ע"י חלקים אחרים בפרי.

Tadeo וחבריו (1995) דיווחו ש- GA בהדרים מעכב את ההתרחבות הרדיאלית של השורשים בעוד שאתילן עושה את הפעולה ההפוכה ודווקא גורם להתרחבותם בנוסף הם הציעו שלג'יברלין אנדוגני קשר בעידוד הפעלת תגובת אתילן. במנגו, Turnbull וחבריו (1996) דיווחו שטיפול בג'יברלין עיכב את הבשלת הפירות ע"י עיכוב במועד הפריחה ב 4 שבועות בעוד שטיפול באתילן גרם להקדמת תהליך ההבשלה. אחת ההשפעות המזיקות של אתילן על איכות הפרי היא בזירוז פירוק הכלורופיל (Salveit, ).

(1999). השפעת מווסתי צמיחה כמו BA ו- $GA_{4+7}$  על עיכוב דגרדצית הכלורופיל מתועדת היטב (Han, 2001) עלי חבצלות שרוססו ב BA ו- $GA_{4+7}$  מנע את הצהבתם לאחר הקטיף (Han, 2001) ע"י עיכוב ההזדקנות כתוצאה מעיכוב בביוסינטזת האתילן. גם בקליפת הדרים  $GA_3$  ו-BA מעכבים קטבוליוזם של כלורופיל, חומצות אמינו וסוכרים מחזרים (Goldschmidt et al., 1977). בפירות אפרסמון טיפול בסופרלון עיכב את פירוק הכלורופיל בחודש האחרון של גידול הפרי (155 ו-190 ימים לאחר קטיף). המעניין הוא שאתילן לא זוהה כמעט במדידות חודש אחרון טרום קטיף אך ביטוי יחסי של  $ACO_2$  בחלק העליון היה 164 יותר מבזמן הקטיף בעוד שחלק התחתון הוא היה פי 31. תוצאות אלו יכולות להצביע על כך שקיימות רמות אתילן נמוכות שלא ניתנות לגילוי אשר מיוצרות בחודש האחרון לגידול הפרי ומגבירות את התפתחות הסדקים על גבי הפרי ובכך מגבירות את הרגישות למחלת הכתם השחור.

**השפעת שימוש במווסתי צמיחה על התפתחות הסדקים ורגישות למחלת הכתם השחור פירות באפרסמון.** - לקשר בין השטח המכוסה סדקים ומקרי מחלת הכתם השחור של אלטרנריה גם בפירות שטופלו בסופרלון וגם בפירות הביקורת הייתה משמעות לאזור הפרי. בעוד שנצפה קשר הדוק בין המצאות סדקים ורגישות לאלטרנריה באזור העוקץ, אזור הפיטם של פירות האפרסמון היה כמעט ועמיד לחלוטין להתפתחות של אלטרנריה בנוכחות אחוז נמוך של שטח המכוסה סדקים. עד היום לא ידוע מהו המכניזם היוצר עמידות זו המתפתחת ברקמת הפיטם. אף על פי שלא נצפו הבדלים בעובי הקוטיקולה בין שני צידי הפרי (Biton et al., 2014) יתכן שצבירת תרכובות המיוצרות בשלבי גידול מוקדמים משפיעה על הרגישות הדיפרנציאלית (Prusky, 1996). נמצא בעבודה זו כי ריסוס בסופרלון הגדיל את כמות התאים ע"י הגברת חלוקת התאים אך לא נמצא שוני ברוחב התאים כפי שדווח במספר מערכות אחרות (Sanchez et al., 2005). יתכן ותגובת תאי הצמח לציטוקינין היא ע"י ויסות ביטוי אנזימים הקשורים למטבוליזם של ציטוקינין וע"י כך משרים תגובת עמידות ובכך מספקים הסבר אפשרי לעמידות רקמת החלק התחתון בפירות אפרסמון.

**השפעת שימוש מווסתי צמיחה על פירות אפרסמון לאחר אחסון.** -ניתוח מקרי הדבקה טבעיים באלטרנריה של פירות אפרסמון מטופלים בסופרלון לאחר 3 חודשי אחסון מראה עיכוב של כ 50% דבר המצביע על יעילות מווסת הצמיחה כווסת פיזיולוגי של רגישות הפרי. סופרלון הינו יישום טרום קטיף המספק פתרון נוח ופרקטי לעיכוב יעיל של מקרי אלטרנריה כפי שנצפה בעבודות קודמות בגידולים אחרים.

אנו חוזים שבעוד אלטרנריה הינה פתוגן התוקף לאחר הקטיף והדבקה מתרחשת בחדירה ישירה דרך פצעים או סדקים שפעול ההדבקות הרדומות ועלייה ברגישות לאלטרנריה BSD ברקמת העוקץ מושפעים מאוד מהבשלה מוקדמת המושרית מפליטת אתילן בזמן גידול הפרי (Biton et al., 2014) יחד עם הסתדקות הפרי. הבנת מכניזם אכלוס הרקמה של הפטרייה והבנת המכניזם המוביל לפליטת האתילן בזמן גידול הפרי הם המפתח לפיתוח דרכים חדשות למניעת ובקרת מחלות (Prusky et al., 1995) מלבד היישומים הקלאסיים המיושמים טרום ואחרי קטיף כמו שימוש בפונגיצידי. לסיכום יש לציין שיישום

סופרלון ברמה מסחרית של שני ריסוסים בריכוז של 0.05% בתחילת ספטמבר ואוקטובר, שיפרו ב-8% את שעור הפרי ליצוא (פרוסקי וחובריו, 2017) דבר המצדיק ששימוש המסחרי של התכשיר.

## References

1. Ben-Arie, R., Saks, Y., Sonogo, L., Frank, A. 1996. Cell wall metabolism in gibberellin-treated persimmon fruits. *Plant Growth Regulation* 19: 25-33.
2. Ben-Arie, R., Sonogo, L. 1993. Temperature Affects Astringency Removal and Recurrence in Persimmon. *Journal of food science* 58(6):1397-1400.
3. Ben-Arie, R., Zutkhi, Y. 1992. Extending the Storage Life of 'Fuyu' Persimmon by Modified-atmosphere Packaging. *HortScience* 27(7):811-813.
4. Biton, E., Kobilier, I., Feygenberg, O., Yari, M., Friedman, H., Prusky, D. 2013. Control of alternaria black spot in persimmon fruit by a mixture of gibberellin and benzyl adenine, and its mode of action. *Postharvest Biology Technology* 94:82-88.
5. Biton, E., Kobilier, I., Feygenberg, O., Yari, M., Kaplunov, T., Ackerman, M., Friedman, H., Prusky, D. 2014. The mechanism of differential susceptibility to alternaria black spot caused by *Alternaria alternata*, of stem- and bottom-end tissues of persimmon fruit. *Postharvest Biology Technology* 94:74-81.
6. Del Bubba, M., Giordani, E., Pippucci, L., Cincinelli A., Checchini, L., Galvan P. 2009. Changes in tannins, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on-tree growth and ripening and in response to different postharvest treatments. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 668–677.
7. Eaks, I.L., 1970. Respiratory response, ethylene production, and response to ethylene of citrus fruit during ontogeny. *Plant Physiology*. 45, 334–338.
8. Eshel, D., Ben-Arie, R., Dinoor, A., Prusky, D. 2000. Resistance of gibberellin-treated persimmon fruit to *Alternaria alternata* arises from the reduced ability of the fungus to produce endo-1,4- $\beta$ -glucanase. *Phytopathology*. 90:1256-1262.
9. Eshel, D., Miyara, I., Ailing, T., Dinoor, A., Prusky, D. 2002. pH Regulates Endoglucanase Expression and Virulence of *Alternaria alternata* in Persimmon Fruit. *MPMI* 15:774–779.
10. Gilchrist, D. G., Grogan, R. G. 1976. Production and nature of a host specific toxin from *Alternaria alternate* f. sp. lycopersici. *Phytopathology* 66:165-171.

11. Goldschmidt, E.E., Aharoni, Y., Eilati, S.K., Riov, J.W., Monselise, S.P., 1977. Differential counteraction of ethylene effects by gibberellin A<sub>3</sub> and N<sub>6</sub>-benzyladenine in senescing citrus peel. *Plant Physiology*. 59: 193–195.
12. Guinn, G. 1976. Water deficit and ethylene evolution by young cotton bolls. *Plant Physiology*. 57: 403–405.
13. Gur, L., Reuveni, M., Stern, R., Cohen, Y. 2013. Abstracts of Presentations at the 34th Congress of the Israeli Phytopathological Society. Integrated control of *Alternaria* blotch on cv. ‘Cripps Pink’ apple fruits. *Phytoparasitica* 41:457–471.
14. Halfon- Meiri, A., Rylski, I. 1983. Internal mold caused in sweet pepper by *Altenaria alternata*: Fungal ingress. Etiology, *Phytopathology*. 73:67-71.
15. Han, S.S., 2001 Benzyladenine and gibberellins improve postharvest quality of cut Asiatic and Oriental lilies. *Horticultural Science*. 36:741-475
16. Higuchia, H., Utsunomiyab, N., Sakuratania, T. 1998. High temperature effects on cherimoya fruit set, growth and development under greenhouse conditions. *Scientia Horticulturae* 77: 23–31
17. Isshiki, A., Akimitsu, K., Yamamoto, M., Yamamoto, H.2001. Endopolygalacturonase Is Essential for Citrus Black Rot Caused by *Alternaria citri* but Not Brown Spot Caused by *Alternaria alternata*. *MPMI* 14 (6): 749–757.
18. Itamura, H., Sun, N. 2009. Postharvest physiology of persimmon fruit. *Horticulture environment biotechnology* 50(6): 546-554.
19. Kim, J.H., Kim, W.T., Kang, B.G, 2001. IAA and N<sub>6</sub>-benzyladenine inhibit ethylene-regulated expression of ACC Oxidase and ACC synthase genes in mungbean hypocotyls. *Plant Cell Physiology*. 42:1056–1061.
20. Kobilier, I., Akerman, M., Huberman, L., Prusky, D. 2011. Integration of pre- and postharvest treatments for the control of black spot caused by *Alternaria alternata* in stored persimmon fruit. *Postharvest Biology and Technology* 59: 166–171.
21. Kubo, Y., Nakano, R., Inaba A. 2003. Cloning of genes encoding cell wall modifying enzymes and their expression in persimmon fruit. *Acta Horticulturae* 601:49-55.
22. Lara, I., Belge, B., F. Goulao, L. 2013. The fruit cuticle as a modulator of postharvest quality. *Postharvest Biology and Technology*. 87: 103–112.



23. Matas, A. J., Cobb, E. D., Paolillo, D. J., Niklas, K. J. 2004. Crack resistance in cherry tomato fruit correlates with cuticular membrane thickness. *HortScience* 39(6): 1354-1358.
24. Moctezuma, E., Smith, D. L., Gross, K. C. 2003. Antisense suppression of a *β*-galactosidase gene (TBG6) in tomato increases fruit cracking. *Journal of Experimental Botany*, 54: 2025-2033.
25. Mowat, A.D., George, A.P., 1996. Environmental physiology of persimmons. The Horticultural and Food Research Institute of New Zealand, Hort. Research Publication. (<http://www.hotnet.co.nz/publication/science/persphys.htm>).
26. Nakagawa, T., Nakatsuka, A., Yano, K., Yasugahira, S., Nakamura, R., Sun, N., Itai, A., Suzuki, T., Itamura H. 2008. Expressed sequence tags from persimmon at different developmental stages. *Plant Cell Reports* 27:931–938.
27. Nakano, R., Ogura, E., Kubo, Y., Inaba, A. 2003. Ethylene Biosynthesis in Detached Young Persimmon Fruit Is Initiated in Calyx and Modulated by Water Loss from the Fruit. *Plant Physiology*. 131: 276–286.
28. Perez, A., Ben-Arie, R., Dinooor, A., Genizi, A., Prusky, D. 1995. Prevention of black spot disease in persimmon fruit by gibberellic acid and iprodione treatments. *Phytopathology*. 85 (2): 221-225.
29. Prusky, D., Ben-Arie. R. 1981. Control by imazalil of fruit storage rots caused by *Alternaria alternata*. *Association of Applied Biologists* 98: 87-92.
30. Prusky, D., Eshel, D., Kobiler, I., Yakoby, N., Beno-Moualem, D., Ackerman, M., Zuthji, Y., Ben Arie, R. 2001. Postharvest chlorine treatments for the control of the persimmon black spot disease caused by *Alternaria alternata*. *Postharvest Biology and Technology* 22: 271–277.
31. Prusky, D., Kobiler, I., Akerman, M., Miyara I. 2006. Effect of acidic solutions and acidic prochloraz on the control of postharvest decay caused by *Alternaria alternata* in mango and persimmon fruit. *Postharvest Biology and Technology* 42:134–141.
32. Rotem, J. 1994. The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology, and Pathogenicity. *The American phytopathological society. Minnesota U.S.A* 2:11-34.
33. Salvador, A., Arnal, L., Besada, C., Larrea, V., Quiles, A., P´erez-Munuera I. 2007. Physiological and structural changes during ripening and deastringency treatment of persimmon fruit cv. ‘Rojo Brillante’. *Postharvest Biology and Technology* 46: 181–188.

34. Salveit, M.E., 1999. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest. Biology and Technology*. 15: 279–292.
35. Sánchez Mde, L., Gurusinghe, S.H., Bradford, K.J, Vázquez-Ramos, J.M., 2005. Differential response of PCNA and Cdk-A proteins and associated kinase activities to benzyladenine and abscisic acid during maize seed germination. *Journal of Experimental Botany* 56: 515–523.
36. Sekse, L., 1995. Fruit cracking in sweet cherries (*Prunus avium* L.). Some physiological aspects - a mini review. *Horticultural Science*. 63:135–141
37. Sugiura, A. G.H. Zheng., K. Yonemori. 1991. Growth and Ripening of Persimmon Fruit at Controlled Temperatures during Growth Stage III. *HortScience*. 26: 574-576.
38. Tadeo, F.R.,Tudela,D., Primo-Millo,E. 1995. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid-induced ethylene stimulates callus formation by cell enlargement in the cambial region of internodal explants of *Citrus*. *Plant Science* 110: 113-119
39. Thomma, B. P. H. J. 2003. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular plant pathology* 4(4): 225–236.
40. Voisey, P.W., Lyall, L.H., Kloek, M., 1970. Tomato skin strength—its measurement and relation to cracking. *Journal of the American Society*. 95: 485–488.

**סיכום עם שאלות מנחות**

מס' מחקר: 14-0514-430

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
המחקר הושלם לפי לוח הזמנים המתוכנן בהצעת המחקר.
עיקרי התוצאות.
זיהינו רגישות דיפרנציאלית בין אזור הפטם והרקמה מתחת לעי גביע. זיהינו שהמוסט צמיחה סופרלון מעכב התפתחות סדקים, פליטת אטילן, דוחה הבשל ומעכב התפתחות מחלת הכתם השחור.
מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. ה אם הושגו מטרות המחקר לתקופת ה ו"ח ?
המסקנות המדעיות הן שטיפול בסופרלון עיכב הזדקנות, גרם של צפיפות תאים ודחית הבשלה ושיפור האיכות באחסון.
הבעיות שונתרו לפתרון /או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן.
יש לקחת בחשבון שהטיפול ב GA לפני הקטיף מפחית היבול בשנה עקבת לריסוס. תוצאות ראשוניות של השנה האחרונה (שלא דווחו כיוון שהם לא מהווים חלק מהתוכנית) הראו שטבילה GA משפרים איכות הפרי בדומה לטיפול המסחרי במטע. נושא זה יתרום רבות על היבול ואיכות הפרי בעתיד ויכול להוות מחקר חדש.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הד' ו' ת: פרסומים בכתב - ציטט ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי
הידע שנצבר כבר נמצא אצל החקלאים ויפיע מאמר באלון הנוטע.
פרסום הד' ו' ת: אני ממליץ לפרסם את הד' ו' ת: (סמן אחת מהאופציות)
<ul style="list-style-type: none"> <li>√ • ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)</li> <li>• חסוי – לא לפרסום</li> </ul>
האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? כן * - לא -
לא, כיוון שאין באפשרותי

\* יש לענות על שאלה זו רק בד ו"ח שנה ראשונה במחקר שאושר לשנתיים, או בד ו"ח שנה שניה במחקר שאושר לשלוש שנים