

מניעת התפתחות נזקי צינה בפירות וירקות באחסון

Prevention of chilling injury development during postharvest storage of fruits and vegetables

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ע"י

אמנון לרס - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
חיה פרידמן - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
ויקטור רודוב - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
רון פורט - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
אמנון ליכטר - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
נעם אלקן - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
אלי פליק - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
לנה פוברנב - המחלקה לאיכות מזון ובטיחותו, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
דורון הולנד - המחלקה למדעי עצי הפרי, מינהל המחקר החקלאי, נווה יער
הרי פריס - המחלקה לחקר ירקות, מינהל המחקר החקלאי, נווה יער
דוד נסטל - המחלקה לאנטומולוגיה והיחידות לנמטולוגיה וכימיה, מינהל המחקר החקלאי, מרכז
וולקני
ויקטור אלחנתי - המחלקה להנדסת מערכות חישה, מידע ומיכון, מינהל המחקר החקלאי, מרכז
וולקני
זאב שמילוביץ' - המחלקה להנדסת מערכות חישה, מידע ומיכון, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
רות בן-אריה - החברה למחקר ופיתוח קירור ואיסום פירות ק"ש בע"מ
דני גמרסני - החברה למחקר ופיתוח קירור ואיסום פירות ק"ש בע"מ
טלי גולדברג - החברה למחקר ופיתוח קירור ואיסום פירות ק"ש בע"מ
אילן פארן - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
יונתן אלקינד - המכון למדעי הצמח וגנטיקה בחקלאות, הפקולטה לחקלאות, האוניברסיטה העברית
בירושלים
יובל כהן - המחלקה למדעי עצי הפרי, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני

Amnon Lers, Dept. of Postharvest Science, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail: alers@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

Victor Rodov, Dept. of Postharvest Science, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail: vrodov@volcani.agri.gov.il

Ron Porat, Dept. of Postharvest Science, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail: rporat@volcani.agri.gov.il

Amnon Lichter, Dept. of Postharvest Science, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail: vtlicht@volcani.agri.gov.il

Noam Alkan, Dept. of Postharvest Science, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail: noamal@volcani.agri.gov.il

Elazar Fallik, Dept. of Postharvest Science, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail:

efallik@volcani.agri.gov.il

Elena Poverenov, Dept. of Food Quality and Safety, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail:

elenap@volcani.agri.gov.il

Doron Holland, Dept. of Fruit Tree Sciences, Newe Ya'ar Research Center, P.O. Box 1021, Ramat Yishay, 30095. E-mail: vhhollan@volcani.agri.gov.il

Harry S. Paris, Dept. of Vegetable Research, Newe Ya'ar Research Center, P.O. Box 1021, Ramat Yishay, 30095. E-mail: hsparis@volcani.agri.gov.il

David Nestel, Dept. of Entomology and the Nematology, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail: nestel@agri.gov.il

Victor Alchanatis, Dept of Agricultural Engineering, Sensing, Information and Mechanization Engineering, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail: victor@volcani.agri.gov.il

Ze'ev Schmilovitch, Dept of Agricultural Engineering, Sensing, Information and Mechanization Engineering, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail: veshmilo@volcani.agri.gov.il

Ruth Ben Arie, Fruit Storage Research Laboratory, Kiryat Shmona 10200. E-mail: Ruth@lab-path.co.il

Dan Gamrasni, Fruit Storage Research Laboratory, Kiryat Shmona 10200. E-mail: dang@migal.org.il

Tali Goldberg, Fruit Storage Research Laboratory, Kiryat Shmona 10200. E-mail: talig@migal.org.il

Yonatan Elkind, The institute of Plant Sciences and Genetics in Agriculture, The Hebrew University of Jerusalem. E-mail: yonatan.elkind@mail.huji.ac.il

Ilan Paran, Dept. of Vegetable Research, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail: iparan@volcani.agri.gov.il

Yuval Cohen, Dept. of Fruit Tree Sciences, ARO, P.O. Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail: vhyuvalc@volcani.agri.gov.il

1. תקציר

מבוצע מחקר למניעת בעיית היווצרות נזקי צינה באחסון הפוגעים בתוצרת. מטרת המחקר - לקדם את הידע על מנת לאפשר אחסון מסחרי של התוצרת בטמפרטורה נמוכה ככל האפשר ללא התפתחות נזקים /פגיעה באיכות של פלפל, מנגו ורימון. מטרת המחקר - מציאת שיטה בלתי הרסנית לגילוי מוקדם של נזקי צינה; פיתוח טיפולים פיזיולוגיים להגדלת הסבילות לצינה ע"י שילובי טיפולים; פיתוח "טיפול קור" הנדרשים לטיפול הסגר; יצירת תשתית לתמיכה בהשבחה גנטית לשיפור סבילות הפרי לקור באחסון. בוצע מעקב אחר האירועים הראשוניים המובילים לנזקי צינה תוך בחינת שיטות ספקטראליות שונות. נמצא שניתן למדוד זהירות אור הנובעת מחימצון שומנים קודם להופעת הנזק ושיטה זו יחד עם פלורוסנציה של כלורופיל ברקמות ירוקות מהוות גישות בעלות פוטנציאל לזיהוי מוקדם של נזק הצינה במספר גידולים שונים ששימשו במחקר זה. שיטה נוספת וחדשנית שנמצאה במנגו כבעלת פוטנציאל לזיהוי מוקדם של נזקי צינה הינה זיהוי מוקדם של שינוי בפרופיל הנדיפים. נבחנה מידת קיום שונות גנטית לסבילות/רגישות לצינה בפרי בקישואים, זני/קווי מנגו, רימון, פלפל, בזיל ועגבנייה לצינה והממצאים תומכים בקיום שונות גנטית. ברימון אף הייתה התקדמות משמעותית במחקר לאיתור סמנים מולקולריים הנמצאים בתאחיזה עם סבילות הפרי לצינה באחסון. ניסויים שבוצעו עם נבטי קישואים תומכים באפשרות קיום קשר ברמת הסבילות לצינה הקיימת בפרי לבין זו הנצפית בנבטים צעירים אך דרוש מחקר נוסף, תוך שימוש במערכות נוספות כגון העגבניה והפלפל על מנת לבסס זאת. בוצעו ניסויים להתאמת תנאי "טיפול קור" הנדרשים לקטילת מזיקים שנוכחותם מונעת יצוא ברימון, מנגו, אבוקדו ופלפל וההשפעה על החרקים. הממצאים בהיבט זה של המחקר מקדמים בצורה משמעותית את יכולת ביצוע טיפולי הסגר ליצוא חקלאי בגידולים אלו בוצע מחר לקידום פיתוח טיפולים לאחר הקטיף לשיפור הסבילות לצינה וטיפול האקלום נמצא כאחד הטיפולים המבטיחים. המחקר שבוצע במספר כיוונים שונים קידם את הידע ושיתוף הפעולה בהיבט מניעת נזקי צינה באחסון ומתוכננים מחקרים נוספים לביסוס והרחבת הממצאים. כיוון בעל פוטנציאל יישומי רב הינו תמיכה בהשבחה לפיתוח זנים חדשים שפירותיהם מותאמים יותר לאחסון בקור.

.....

הצהרת החוקר הראשי:

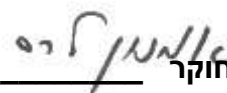
הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא (מחק את המיותר)

*במידה וכן, על החוקר להמציא פרטים על הגוף שבאמצעותו מופץ הידע (כמו: שה"ם)

תאריך: 30/7/2017

חתימת החוקר



2. מבוא

האחסון בקור הינו כלי יעיל שכן מוביל להארכת משך חיי המדף ודחיית תהליכי התכלות (McGlasson et al., 1979), אולם מוגבל ע"י רגישות הרקמה הצמחית לקור/צינה. למרות המחקר שבוצע עד היום, גידולים רבים חייבים לאחסן בטמפרטורה יחסית גבוהה, דבר המגביל בצורה משמעותית את משך האחסון האפשרי ומקטין מאוד את כושר התחרות ביצוא. הרגישות לצינה מונעת אפשרות יישום טיפול הסגר ועל כן מגבילה את היצוא. המגבלה העיקרית באחסון בטמפרטורה נמוכה, היא רגישות הרקמה הצמחית לקור המובילה לנזקים אשר מוגדרים באופן כולל כנזקי צינה למרות שמתבטאים בצורות שונות וברקמות שונות אולם המכנה המשותף לכולם הינו העובדה שטמפרטורת הצינה מהווה את הגורם הראשוני להתרחשותם כשהרגישות לה נקבעת ממאפייני הרגישות לקור של הצמח והפרי/הירק. דוגמאות שונות לנזקי צינה הינם התמוטטות הרקמה המתבטאת הרבה פעמים בשקיעות של קליפת הפרי והשחרות של העלים או רקמת הפרי החיצונית או הפנימית, פגיעה בתהליך ההבשלה הגורם לעיתים להבשלה חלקית, החשת תהליכי ניתוק אברי הצמח וירידה בערך התזונתי או מאפייני הטעם והארומה או פגיעה במאפייני איכות נוספים. היבט מרכזי של נזקי הצינה הוא שאתרי הנזק בהם יש פגיעה בתאים ודליפת תוכנם, מהווים אתר מועדף להתפתחות פתוגנים והגברה מהירה של רקבונות דבר הגורם לפסילת התוצרת. למרות המחקר שבוצע עד היום ושכלול התאמת תנאי האחסון לגידולים החקלאיים השונים, גידולים רבים חייבים לאחסן בטמפרטורה גבוהה יחסית, דבר המגביל בצורה משמעותית את משך האחסון. היבט נוסף בו הרגישות לצינה מהווה מגבלה הינו הכרח בחלק משווקי היצוא לבצע טיפולים לקטילת חרקי הסגר על ידי חשיפה לטמפרטורה נמוכה המשמשת כטיפול הסגר אך רגישות הפרי מונעת את האפשרות ליישם טיפול קור זה ועל כן מגבילה את היצוא שלו.

נזק צינה הינו נזק פיזיולוגי שמתרחש בצמחים רגישים כאשר הם נחשפים לטמפרטורה נמוכה, אך מעל סף הקפיאה, בד"כ בין 0 ל-15 מ"צ (Raison and Lyons, 1986; Flores et al., 2009). נזקי הצינה יכולים להתבטא במופע שונה ומגוון ולהשפיע באופן שלילי על איכות הפירות. החשיפה לטמפרטורה נמוכה בפרי/ירק רגיש גורמת לשינויים בתהליכים מטבוליים רבים, להופעת סימפטומים נראים לעין ולבסוף למוות של התאים (Sevillano et al., 2009; Lukatkin et al., 2012). ההנחה המקובלת כיום היא שהאירוע הראשוני בנזק הצינה מתרחש בפגיעה בליפידים ובמבנה הממברנות (Lyons, 1973; Lyons et al., 1979; Flores et al., 2009). תגובה שניונית משמעותית המתרחשת לאחר חשיפה לצינה היא עלייה ברמתם של תרכובות חמצן פעילות (Flores et al., 2009) וגרימת נזקים כימצוניים ברקמת הצמח (Kaniuga, 2008). חלק ממנגנוני ההגנה הינם מטבוליים ואנזימים אנטיאוקסידטיביים, לנטרול הנזק החימצוני (Mittler, 2002).

מחקרים לגבי הבסיס הפיזיולוגי והגנטי לרגישות או הסבילות של צמחים שונים לנזקי צינה מראים בבירור מעורבות של מערכות פיסיולוגיות וביוכימיות ספציפיות ברמת העמידות לקור. קיים בסיס גנטי ברור ובמקרים רבים הוכח הקשר או המתאם אף לביטוי גנים בודדים להם חשיבות והשפעה רבה לגבי מידת הרגישות לנזקי הצינה (Kurbidaeva and Novokreshchenova, 2011; Knight and

(Knight, 2012; Miura and Furumoto, 2013). המידע הבסיסי הקיים בעולם בנושא זה לא נוצל לשימוש יישומי משמעותי בתוכניות להשבחת זנים שפירותיהם יהיו בעלי סבילות משופרת לצינה באחסון לאחר הקטיפה. רוב המחקר שפורסם עד כה בנושא התגובה והסבילות לקור בוצע בצמחי מודל ויש חשיבות רבה ללימוד הנושא גם בצמחים בעלי חשיבות חקלאית (Sherman et al., 1987; McCollum, 1990; Chew and Halliday, 2011). בנוסף, בהרבה מקרים המחקר בוצע ברקמה וגטטיבית, עלים, ויש צורך לבצע מחקר דומה בפירות על מנת ללמוד אם אותן מערכות גנטיות ופיסיולוגיות פועלות ברקמות השונות בתגובה לצינה. המידע הבסיסי הקיים בעולם בנושא זה לא נוצל עד כה לשימוש יישומי משמעותי בתוכניות להשבחת זנים שפירותיהם יהיו בעלי סבילות משופרת לאחסון בקור לאחר הקטיפה ונראה שקיים פוטנציאל רב לקידום כיוון זה.

במסגרת מחקר זה בוצע מחקר ופיתוח לצורך התגברות על בעיית היווצרות נזקי צינה באחסון. מטרת המחקר הכללית הינה לקדם את הידע היישומי והבסיסי על מנת לאפשר אחסון מסחרי של תוצרת חקלאית טרייה בטמפרטורה נמוכה ככל האפשר ללא התפתחות נזקי צינה או פגיעה באיכות המוצר. לצורך כך בוצע מחקר במספר כיוונים שונים שהצלחה בכל אחד מהם יכולה להוביל לשיפור של יכולת האחסון בטמפרטורות נמוכות יותר מאלו המיושמות כיום. מלבד שימוש במערכות מודל במחקר הבנתי המחקר מתמקד בגידולים חשובים מבחינה חקלאית וכלכלית בישראל: פלפל, מנגו ורימון בהם נושא הרגישות לצינה באחסון מהווה מגבלה מסחרית בשיווק ורווחיות הענפים.

מטרות המחקר העיקריות:

1. מציאת שיטה בלתי הרסנית לגילוי מוקדם של נזקי צינה המתרחשים במהלך אחסון בקור של תוצרת טרייה. שיטה כזו תאפשר ויסות תנאי אחסון התוצרת בצורה דינאמית בטמפרטורה נמוכה ככל הניתן ללא גרימת נזק לתוצרת וכן תהיה כלי חשוב במחקר הצינה.
2. פיתוח טיפולים פיזיולוגיים להגדלת הסבילות לצינה באחסון והארכת חיי המדף על ידי בחינת שילוב טיפולים.
3. פיתוח "טיפול קור" הנדרשים לקטילת מזיקים קריטיים שנוכחותם מונעת יצוא לשווקים מסוימים בגידולים רימון, מנגו ופלפל (טיפול הסגר - "קרנטינה").
4. יצירת תשתית לתמיכה בהשבחה גנטית לשיפור סבילות פרי באחסון עבור רימון, מנגו ופלפל תוך שיתוף פעולה של חוקרים המתמחים בהשבחה בגידולים אלו וניצול גנוטיפים קיימים. במחקר זה תבוצע בשלב ראשון סריקה לאפיון השונות מבחינת סבילות לצינה באחסון.

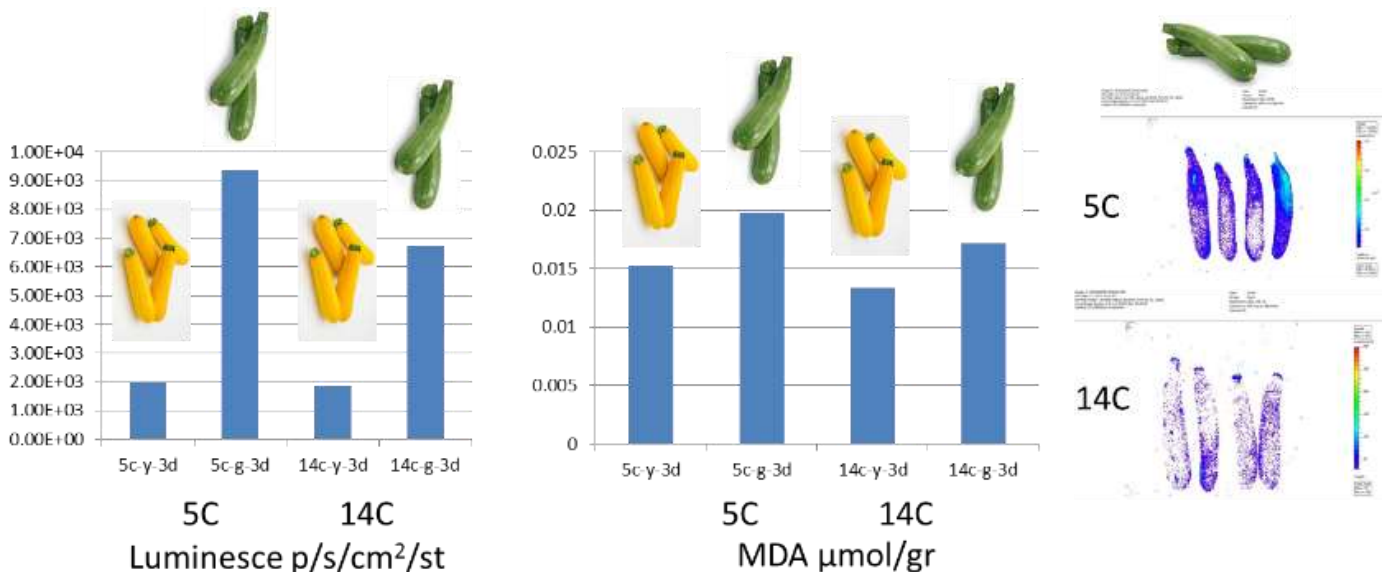
3. פירוט עיקרי הניסויים ותוצאות המחקר

3.1. שימוש במערכות מיכשור שונות לבחינת שיטות ספקטראליות לא הרסניות לזיהוי נזק צינה

בשלב מוקדם של התפתחותם

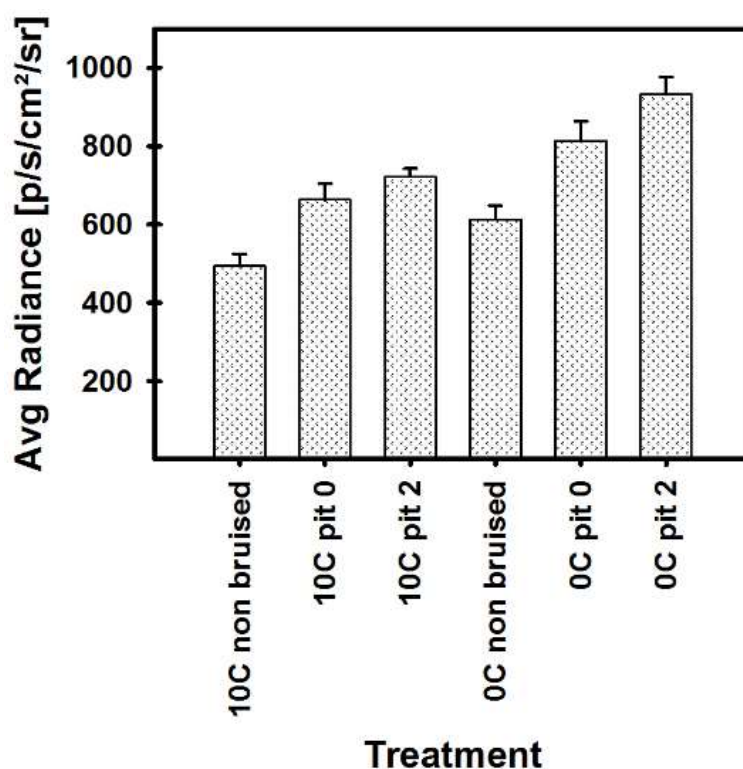
חיה פרידמן, אנטון פנק, ילנה קומולוש, ויקרם סינג, בטינה קוכאנק

מטרתנו בפרויקט הייתה למצוא כלים לא הרסניים המתבססים על ספקטרוסקופיה כדי לזהות שינויים שמקורם מטמפרטורה נמוכה קודם להופעת סימפטומים ויזואליים של נזק (שינויים הפיכים). במחקר שנערך במעבדתו של ויקטור רודוב, ומתואר בפרק 3.2 תודגם אפשרות השימוש מדדי פלורוסנציה המדווחים על פעילות המערכת הפוטוסינטטית, יעילותה מדד ביצוע, כדי לזהות נזקי צינה במלפפון. במחקר שנערך בשנים הקודמות של מחקר זה הראינו שניתן להשתמש בלומיניסנסיה שנמדדה באמצעות מכשיר ה-IVIS שנרכש במיוחד לפרויקט מחקר זה (מערכת ההדמיה למדידת שחרור פוטונים של אור), כדי להבחין בשינויים תלויי טמפרטורה קודם הופעת סימפטומים ויזואליים של נזק שאינם הפיכים. לומיניסנסיה היא תוצאה של פליטת אור ללא עירור ניתן לבטא אותה ברדיאנס, אך לעיתים משתמשים ברדיאנס גם לתיאור פליטה של אור שמקורו מפלורסנציה או כתוצאה מהחזר אור. הלומיניסנסיה הנמדדת מקורה מתהליך חמצון חומצות שומן המתרחש ומוגבר בעת חשיפה לעקת צינה. כדי לוודא שאכן לומיניסנסיה קשורה בחמצון שומנים בחנו בקישואים צהובים וירוקים לאחר אחסון בקור בטמפרטורה המהווה עקה (5 מ"צ) לעומת אחסון ב 12 מ"צ למשך שלושה ימים, את חמצון השומנים באמצעות שיטת MDA המאפשרת מדידה של תוצר החימצון של השומנים, Malondialdehyde. על פי התוצאות נראה שיש מתאם בין מדד הלומיניסנסיה לבין תוצאות כימות ה-MDA, בעיקר בקישואים הירוקים (איור 1-3-1). עבודה אחרת שהתבצעה במקביל בפרי המנגו, שגם הוא רגיש לצינה, מצאה מתאם דומה בין רמת הלומיניסנסיה הנמדדת לאחר חשיפה לעקת צינה לבין רמת ה-MDA הנמדד (ראה דיווח בפרק 3.6 של דו"ח זה).



איור 1-3-1: רמת הלומיניסנסיה וה-MDA בקישואים לאחר אחסון. קישואים ירוקים וצהובים אוחסנו למשך 3 ימים ב 5 או ב 14 מ"צ ואח"כ צולמו ב IVIS (שמאל) ונקבעה רמת חמצון השומנים באמצעות MDA (אמצע). בצד ימין תמונה של הלומיניסנסיה כפי שצולמה באמצעות מכשיר ה-IVIS לצורך ביצוע הכימות.

מרבית העבודה על הלומיניסנסיה לבחינת האפשרות לשימוש בה לצורך חיזוי נזק צינה ראשוני בוצעה ברקמה ירוקה של פרי/ירק ויש חשיבות גבוהה להבין עד כמה ניתן להשתמש בה במגוון פירות וירקות בעלי מאפיינים שונים כגון הצבע החיצוני של הפרי וקיום פיגמנטים שונים העלולים להשפיע על מדד זה. כדי לראות אם מדידה הזו מוגבלת רק לרקמות ירוקות, נבחנה השפעת הטמפרטורה על התפתחות גומה בדובדבנים בעקבות פגיעה פיזית ברקמת הפרי. נראה בכל הדובדבנים שאוחסנו ב 0 מ"צ למשך יומיים רמת הלומיניסנסיה הייתה גבוהה יותר מאשר הפירות שאוחסנו ב 10 מ"צ, למרות שמראה הדובדבנים היה דומה (איור 2-3.1). עוד נראה שהמכה עצמה גרמה לעליה בלומיניסנסיה, מה שמתאים לכך שמדידת הלומיניסנסיה יכולה לדווח על נזק עתידי.

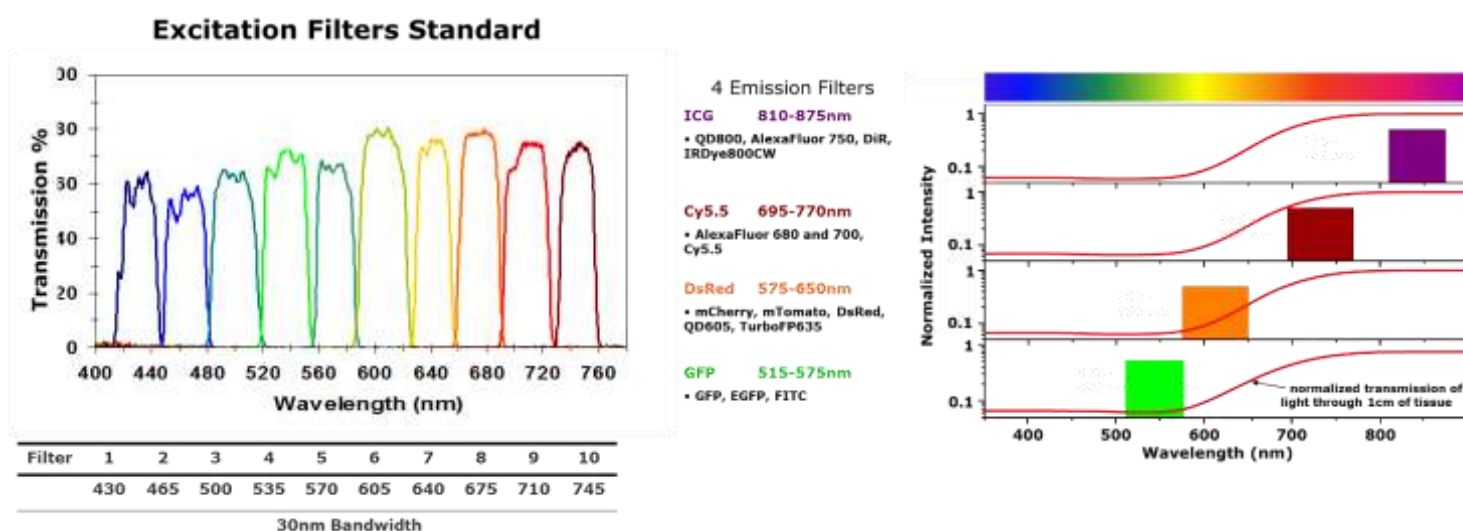


איור 2-3.1: רמת הלומיניסנסיה בדובדבנים לאחר חשיפה לקור והשפעת פגיעה פיזית בפרי. נמדדה רמת הלומיניסנסיה שמקורה מחמצון שומנים בדובדבנים מזן "לפינס" שאוחסנו למשך יומיים או ב 0 מ"צ או ב 10 מ"צ באמצעות ה-IVIS. קודם לאחסון, הדובדבנים הוכו פיזית במכה מכוילת וקבועה למשך 10 שניות כדי לבדוק את ההשפעה לעומת דובדבני ביקורת (non bruised). כעבור יומיים בחלק מהדובדבנים התפתחה גומה עמוקה (pit 2) באזור המוכה, ובחלקם לא נמצאה גומה (nit 0).

לכל אחד מהכלים שצינו לעיל לצורך חישה מוקדמת של שינויים מוקדמים המתרחשים ברקמת הפרי עקב עקת הצינה יש בעיות צפויות בעת שיבוצע ניסיון לפתח מערכת אחידה תוך יישום השימוש בהן

בגידולים חקלאיים ופירות שונים: א. מדידה של השינוי במדדי הפלורוסנסיה המהווים אינדיקציה לפגיעה ביעילות הפוטוסינתטית הינה שיטה המתאימה לרקמות ירוקות המכילות כלורופיל ובהן מערכת פוטוסינתטית פעילה; ב. עוצמת הלומינסנסיה שמקורה מנזקי חימצון שומנים על פי המחקר שבוצעה במסגרת פרויקט זה הינה מאוד נמוכה וצריך מכשיר מאוד רגיש כדוגמת ה IVIS כדי לקלוט את הסיגנל וגם כאן היה צורך באיסוף פוטונים במשך זמן ארוך יחסית כחצי שעה כדי לראות את האפקט באופן משמעותי.

לאור זאת, החלטנו לבדוק באם ניתן לזהות תגובה לעקת צינה המתבטאת כפלורנסיה באורכי גל שונים שעוצמתה גבוהה מזו של לומינסנסיה, שאולי תמצא במתאם לנזק הצינה ותהיה רלוונטית יותר למטרות יישומיות ותיתן מדידות ברמה משמעותית. לצורך זה נעשה שימוש במכשיר ה IVIS המאפשר עירור באמצעות 10 פילטרים שונים ומדידת הפלורוסנסיה הנפלטת באמצעות ארבעה פילטרים שונים (איור 3-3.1).



איור 3-3.1: אפשרויות אורכי גל העירור (שמאל) ואורכי גל הפליטה (ימין) במכשיר ה IVIS. צירוף כל אורכי גל העירור והפליטה מאפשרים מדידה ב 30 צירופים שונים של עירור/פליטה (אורך גל העירור נמוך יותר מאורך גל הפליטה של הפלורוסנסיה).

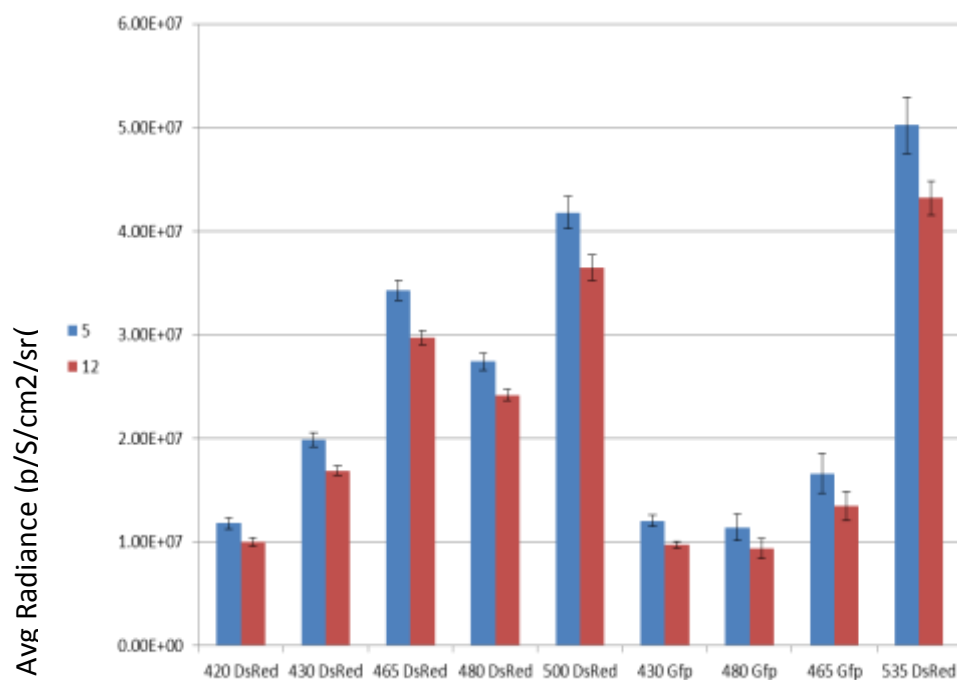
הניסוי בוצע על מספר גידולים שונים הנבדלים ברגישותם ומאפייני הרקמה החיצונית וצבעה כולל: קישואים, מלפפונים, דובדבנים ובננה. בקישואים הבדיקה בוצעה לאחר 10 ימים באחסון ולאחר לא ניתן היה לזהות הבדלים ויתכן שתקופה זו ארוכה מדי בשביל לקבוע פרמטרים ספקטראליים לנזק שהינו עדיין הפיך. לעומת זאת, במלפפון הבדיקה בוצעה לאחר 3 ימים ובשלב הזה לא נמצא נזק בלתי הפיך במלפפון. נראה שלמלפפונים שהיו 3 ימים באחסון בטמפרטורה של 5 מ"צ יש פלורנסיה גבוהה מאשר לאלה שהיו ב- 12 מ"צ (איורים 3-3.1; 5-3.1). מעניין לציין, שבנוסף לאמור לעיל, התקבל הבדל עצום בפלורנסיה שמקורה מעירור ב 420 נ"מ ופליטה ב 695-770 נ"מ בין מלפפונים שהיו ב 12 לעומת 5 מ"צ, כאשר פליטת הפלורוסנסיה הייתה גבוהה יותר במלפפונים ששהו ב- 12

מ"צ (תוצאות לא מוצגות). תוצאות דומות לאיורים 4-3.1; 5-3.1, התקבלו גם בחשיפה של בנות לקור ליום אחד (תוצאות לא מוצגות).

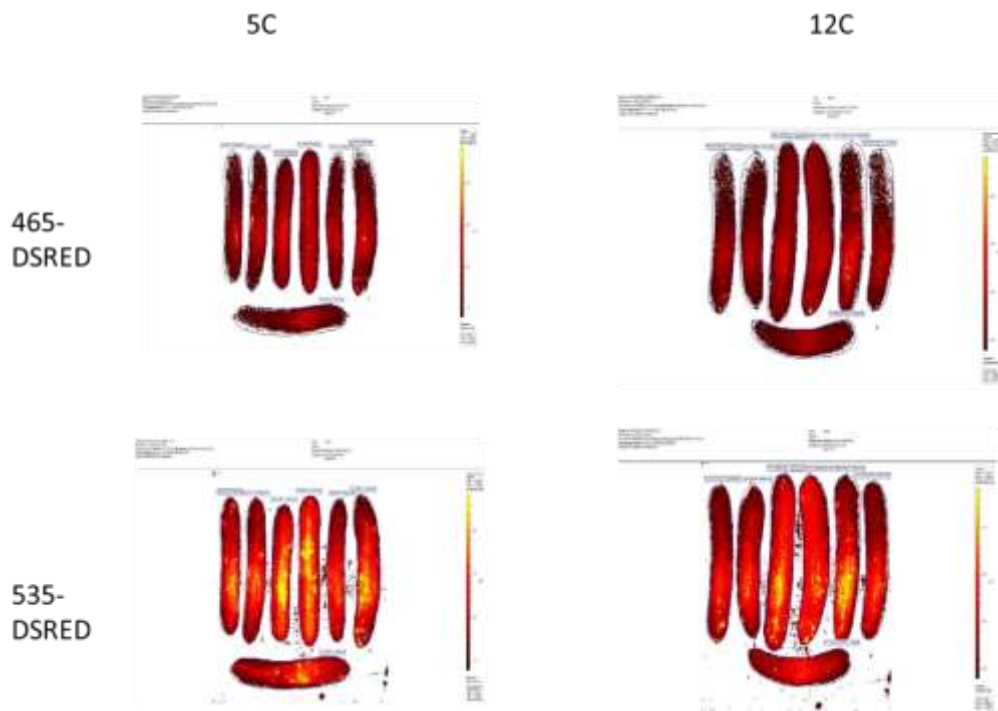
מטרת העבודה הייתה למצוא סיגנלים ספקטראליים באמצעים לא הרסניים מפרי שנחשף לקור (בדגש על מלפפון וקישוא). האתגר היה למצוא את הסיגנלים הללו בשלבים הפרה-סימפטומטיים, כדי שאפשר יהיה בעתיד לפתח סנסורים שיוכלו להתריע על השינויים המתרחשים ברקמה כתוצאה מחשיפה לקור התקופת הזמן בה הנזקים הנגרמים לרקמת הפרי עקב עקת הקור ניתנים לתיקון והינם הפיכים ועל כן התראה מוקדמת כזו תאפשר שינויי תנאי האחסון למניעת פגיעה משמעותית באיכות ונזק מסחרי. נעשה שימוש בארבעה מכשירים שונים שיכולים לתת סיגנל ספקטראלי מפרי: א. מד-DA-meter: הנותן הערכה לרמת הכלורופיל ברקמה באמצעות מדידת בליעה בשני אורכי גל; ב. מולטיפלקס: מכשיר המאפשר עירור וקריאת פלורסנטיה/החזרת אור במספר אורכי גל בו-זמנית; ג. הנדי פי (Handy PEA): מכשיר למדידת יעילות פוטוסינתטית של הכלורופלסט באמצעות מדידת שינויי פלורסנטיה של המערכת הפוטוסינתטית; ד. מד לומיניסנטיה ופלורסנטיה (IVIS): מכשיר רגיש מאוד לפוטונים של אור אשר ניתן לשלב בו הרכבים שונים של פילטרים המתוארים באיור 3-3.1. הניסויים עם מד ה-DA-meter הראו שלא ניתן להשתמש במדד המתקבל ממנו לזיהוי מוקדם של נזקי צינה. הניסויים עם מכשיר המולטיפלקס מעלים את האפשרות שיתכן שעירור בתחום האור הכחול או ה-UV ומדידת הפליטה בתחום האור האדום או האדום רחוק תאפשר הבחנה בין פירות שהיו בטמפרטורות שונות (נמצא עבור קישואים צהובים וירוקים) אולם בשלב זה עדיין לא ברור עד כמה יכול להיות השימוש במידע ממכשיר זה לצורך חיזוי מוקדם של הנזקים מצינה. מכשיר Handy PEA נמצא יעיל ביותר לאבחון הבדלים בין תוצרת טרייה המאוחסנת בטמפרטורה נמוכה לבין זו המאוחסנת בטמפרטורה קרה אך שאינה מהווה עקת צינה משמעותית לפרי. האבחון תוך שימוש בכלי זה בעל יכולת לזהות את השינויים כבר בשלב הפרה-סימפטומטי במיוחד תוך שימוש בפרמטר של (PI Performance Index). המגבלה העיקרית של השימוש במכשיר זה הינה כמובן ההתאמה רק לרקמות ירוקות שיש בהן פעילות פוטוסינתטית. כאמור, מכשיר ה-IVIS מאפשר מדידות גם של לומיניסנטיה וגם של פלורסנטיה. לומיניסנטיה היא מדד מצוין לזיהוי הבדלים בין פירות ירוקות חשופי עקת קור בהשוואה לפרי ללא חשיפה לעקה דומה או שנחשף לקור שמבחינת רקמת הפרי הנבדק עדיין אינו מהווה עקת צינה (בהתאם לסף הרגישות לצינה השונה בכל גידול וגידול). תצפיות אלו מתבססות על הצלחנו להראות זאת במספר מגוון של מוצרים (מנגו, דובדבן, קישוא, מלפפון, אבוקדו). החיסרון המשמעותי ביותר של הלומיניסנטיה הינו שרמת הקרינה הנפלטת מאוד חלשה ויש צורך להגביר את הסיגנל המתקבל בצורה משמעותית לפני שניתן יהיה להשתמש בו כסמן מוקדם לקיום עקת צינה. בוצעו ניסויים על מנת לנסות ולמצוא שינויים בפלורסנטיה באורכי גל שונים אחרים כסמנים לקיום עקה מוקדמת לצינה ברקמת הפרי/ירק. כרגע נראה שברקמות ירוקות (מלפפון, בננה) ניתן להשתמש בפלורסנטיה של עירור ב 420-430 ובדיקת האות בתחום ה-515-650. תוצאות אלה נתמכות על ידי תוצאות המולטיפלקס (אם כי ב-IVIS ההבדלים הרבה יותר

ברורים). יתכן והשינויים הללו קשורים לפעילות הכלורופיל (עירור 430 נמ' (כלורופיל 465 A נמ' (כלורופיל B) וקריאה באמצעות פילטר הקורא בין 697-770 נמ'). בדובדבנים מצאנו שניתן להבחין בין פירות המאוחסנים בטמפרטורות השונות באמצעות אורכי הגל של עירור ב 430-465 נמ' ופליטה בתחום האדום רחוק 810-875 נמ'. תוצאות המולטיפלקס עבור קישואים תומכות בתוצאות ה-IVIS, ולכן החשיבות של הממצאים הללו גדולה יותר. בשלב זה החסרון של המדידה הזו היא שרמת הפלורסנסיה דווקא של הפירות שאוחסנו בטמפרטורה הגבוהה היתה גבוהה יותר מאשר של הפירות שאוחסנו בטמפרטורה הנמוכה ולא היו מדידות של זמן 0 כדי לבחון אם ניתן להשתמש במידע הזה לצורך אבחון.

היכולת לזהות שינויים שמקורם מטמפרטורה נמוכה עוד לפני הופעת סימפטומים תאפשר לקבל החלטות לגבי אופן הטיפול בתוצרת החקלאית. לדוגמה בבננה אם אפשר יהיה לזהות בננה שנחשפה לקור בשלב מוקדם יתכן וניתן יהיה להתאים טיפול ספציפי באתילן להבחלתה.

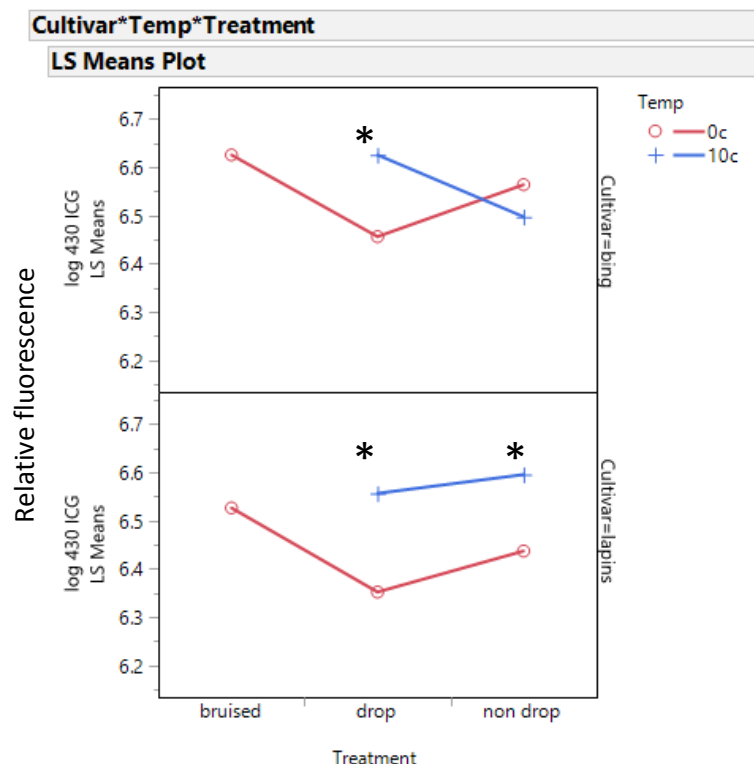


איור 3.1-4: פלורסנסיה שנפלטת ממלפפונים באורכי הגל השונים לאחר אחסון בקור. נמדדה רמת הפלורסנסיה שנפלטת בתחום שבין 515-575 (GFP) ובתחום 575-650 (DsRed) כתוצאה מעירור באורכי גל 420-535 נמדדה במכשיר ה-IVIS. מלפפונים אוחסנו ב 12 מ"צ (עמודה אדומה) וב- 5 מ"צ (עמודה כחולה) למשך שלושה ימים בחושך. המלפפונים הועברו בהחשכה למכשיר ומדידה שנייה נלקחה לאנליזה.



איור 3.1-5: פלורסנסיה של מלפפונים לאחר 3 ימי אחסון בקור, מדידה ב IVIS. התמונות היוו את בסיס לאנליזה הכמותית המצוינת באיור 3.1-4.

בדובדבנים נמצא שנזקים של שקיעת רקמה, גומה, מקורם מנזק קור וכתוצאה מפגיעה פיזית ושהזן "בינג" עמיד יותר מהזן "לפינס" להתפתחות הגומה. מטרתנו הייתה לבחון האם אפשר למצוא פרמטרים ספקטרליים, כבר בשלב מוקדם, המבחינים בין השינויים שיתחוללו ברקמה בחשיפה לקור של 0 לעומת 10 מ"צ. בחנו את כל 30 הצירופים של אורכי גל לעירור ופליטה של הפלורוסנסיה ובאיור 3.1-6 מוצגת התוצאה שיתכן ויש לה משמעות ביולוגית המובילה למסקנות הבאות: א. יש הבחנה בין שני סוגי הדובדבן מבחינת הרגישות לקור (רגיש ועמיד); ב. עבור הזן הרגיש "לפינס" רמת הפלורסנסיה ב 10 מ"צ גבוהה מזו של 0 מ"צ גם עבור כאלה שהופלו וגם עבור כאלה שלא הופלו כלל; ג. בדובדבנים משני הזנים שקיבלו מכה מכוילת הייתה רמה גבוהה יותר של פלורסנסיה מאשר בטיפולים האחרים. בשלב זה לא ברור מה המקור לפלורסנסיה הזו.



איור 6-3.1: פלורסנסיה של דובדבנים לאחר חשיפה לקור. דובדבנים משני זנים "בינג" (גרף עליון) ו"לפינס" (גרף תחתון) אוחסנו למשך יומיים ב 0 או ב 10 מ"צ. קודם לאחסון הדובדבנים נחשפו לפגיעה פיזית (bruised) כמתואר באיור 2-3 או הופלו (drop) בהשוואה לביקורת (no drop). רמת הפלורסנסיה של צירופי אורכי הגל נסרקה ב-IVIS ומוצגות תוצאות של עירור ב 430 נ"מ ופליטה ב 810-875 נ"מ.

מטרת עבודתנו הייתה למצוא סיגנלים ספקטראליים באמצעים לא הרסניים מפרי (דגש על מלפפון וקישוא) שנחשף לקור. האתגר היה למצוא את הסיגנלים הללו בשלבים הפרה-סימפטומטיים, כדי שאפשר יהיה בעתיד לפתח סנסורים שיוכלו להתריע על השינויים המתרחשים ברקמה כתוצאה מחשיפה לקור בשלב בו השינויים הינם הפיכים וניתן לתקנם על ידי שינוי מהיר של תנאי האחסון. השתמשנו בארבעה מכשירים שיכולים לתת סיגנל ספקטראלי מפרי: א. מד-DA-meter: הנותן הערכה לרמת הכלורופיל ברקמה באמצעות מדדי בליעה בשני אורכי גל; ב. מולטיפלקס: מכשיר המאפשר עירור וקריאת פלורסנסיה/החזרת אור במספר אורכי גל בו-זמנית; ג. הנדי פי Handy PEA: מכשיר למדידת יעילות פוטוסינתטית של הכלורופלסט המבוסס על שינויי פלורסנסיה כתוצאה משינויים בפעילות המערכת הפוטוסינתטית; ד. מד לומינסנסיה ופלורסנסיה (IVIS): מכשיר רגיש מאוד לפוטונים של אור אשר מכיל מספר פילטרים שונים הניתנים לשימוש בהרכבים שונים המתוארים באיור 3. הניסויים במד ה-DA-meter הראו שלא ניתן להשתמש במד המתקבל ממנו לזיהוי מוקדם של נזקי צינה. תוצאות הניסויים שהתקבלו תוך השימוש במכשיר המולטיפלקס העלו את האפשרות שיתכן שעירור בתחום האור הכחול או ה-UV ומדידת הפליטה בתחום האור האדום או האדום רחוק תאפשר הבחנה בין פירות שהיו בטמפרטורות שונות (נמצא עבור קישואים צהובים וירוקים) אולם לא ברורה עדיין אפשרות השימוש במד זה. מכשיר ה-Handy PEA נמצא יעיל ביותר לאבחן הבדלים בין אחסון בטמפרטורה נמוכה המהווה עקת צינה לטמפרטורה גבוהה או

טמפרטורה קרה שאינה מהווה עקת צינה וזאת עוד בשלב הפרה-סימפטומטי. נמצא שבמיוחד הפרמטר של PI (Performance Index) רגיש לשינויים מוקדמים בזמן הקצר לאחר חשיפה לעקת צינה. המכשיר כמובן מתאים רק לפרי/ירק אשר הינו בעל רקמות ירוקות שיש בהן פעילות של המערכת הפוטוסינטטית הניתנת להשפעה על ידי עקת הצינה. מכשיר ה-IVIS מאפשר מדידות גם של לומינסנסיה וגם של פלורסנסיה. לומינסנסיה היא מדד מצוין לתאר הבדלים מוקדמים בצורה לא הרסנית בין פירות ירקות שנחשפו לעקת קור לעומת כאלו הנחשפים לקור שאינו מהווה עקה בהתאם לסף הרגישות שהינו שונה בכל גידול וגידול. הניסויים שבוצעו הדגימו יכולת זאת במספר גידולים חקלאיים הנבדלים ברגישותם לקור והטמפרטורה האופטימלית לאחסון (מנגו, דובדבן, קישוא, מלפפון, אבוקדו). החיסרון העיקרי של השימוש במדידת של הלומינסנסיה המתבססת על זהירה כתוצאה מחימצון שומנים ברקמת הפרי הינה שעוצמתה מאוד חלשה ויש צורך להגביר את הסיגנל אם צריך להתבסס עליה כמדד משמעותי. על מנת לבחון אפשרויות נוספות של סיגנלים ספקטראליים נבחנה פלורסנסיה המתקבלת מרקמת הפרי תחת עקת קור תוך סריקת צירופים שונים של אורכי גל לעירור ומדידת הפלורסנסיה המתקבלת. התוצאות שהתקבלו הראו שברקמות ירוקות (מלפפון, בננה לא בשלה) ניתן להשתמש בפלורסנסיה לאחר עירור ב 420-430 נ"מ ובדיקת סיגנל האור המתקבל בתחום ה 515-650 נ"מ. תוצאות אלה נתמכות על ידי תוצאות המולטיפלקס שבו יש שימוש במספר פרמטרים ספקטראליים (אם כי ב-IVIS ההבדלים הרבה יותר ברורים). יתכן והשינויים הללו קשורים לפעילות הכלורופיל (עירור 430 נ"מ (כלורופיל A), 465 (A) נ"מ (כלורופיל B) וקריאה באמצעות פילטר הקורא בין 697-770 נ"מ). בדובדבנים נמצא שניתן להבחין בתגובה לעקת הצינה בין פירות המאוחסנים בטמפרטורות השונות באמצעות שימוש לעירור הסיגנל באורכי הגל של 430-465 נ"מ וכימות הפליטה בתחום האדום רחוק 810-875 נ"מ. תוצאות השימוש במולטיפלקס עבור קישואים תומכות בתוצאות ה-IVIS, ולכן החשיבות של הממצאים הללו גדולה יותר. בשלב זה החיסרון של מדידה זו הוא שרמת הפלורסנסיה של הפירות שאוחסנו בטמפרטורה הגבוהה הייתה דווקא גבוהה יותר מאשר של הפירות שאוחסנו בטמפרטורה הנמוכה ולא נכללו מדידות של זמן 0 כדי לבחון אם ניתן להשתמש במידע הזה לצורך אבחון אם כי עקרונית ברגע שיש שינוי משמעותי בין ההתנהגות במהלך האחסון בטמפרטורות השונות ניתן לנצל לצורך דיווח.

3.2. שיטות בלתי-הרסניות לגילוי מוקדם של נזק צינה במלפפון לפני הופעת סימפטומים חיצוניים

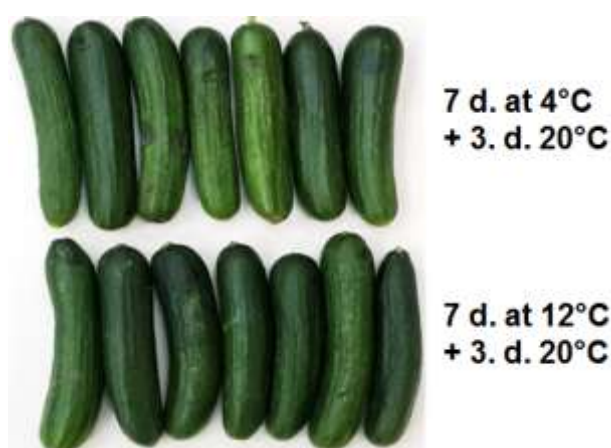
ויקטור רודוב, מיטיקו מיחירט (Mitiku Mihiret), חיה פרידמן, אנטון פנק, יעקב וינוקור, בתיה חורב, אלי פליק

מקובל היום כי תופעה ראשונית בהתפתחות עקת הצינה ברקמות צמחיות היא שינוי במצב הליפידים הממברנאליים. השינויים הינם הפיכים אם משך החשיפה לא עולה מעל סף מסוים, ואז העלאת הטמפרטורה מאפשרת חזרה לתפקוד התא תקין. לעומת זאת, לאחר חשיפה ממושכת שיבושים בתפקוד הממברנות גורמים לתופעות משניות בלתי-הפיכות המביאות למוות התא ולהופעת סימני

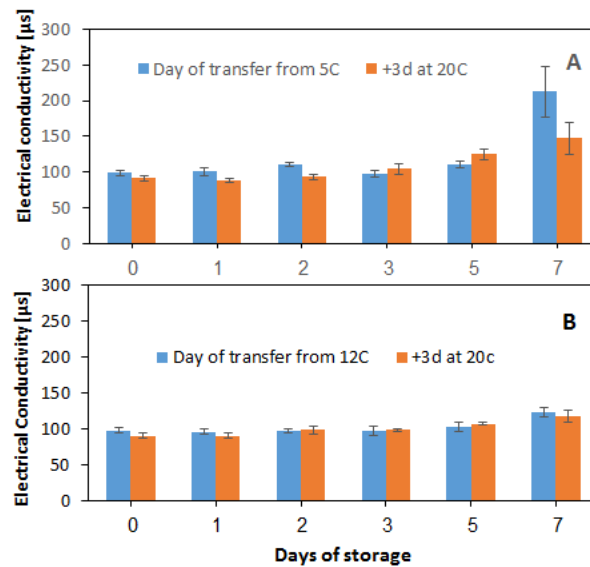
נזק. בשלב הזה, העלאת הטמפרטורה רק מגבירה את חומרת הנזק. יכולת לגילוי מוקדם של שלבים ראשוניים בהתפתחות עקת קור לפני שהיא עוברת לשלבים בלתי-הפיכים עשויה לשפר את השתמרות התוצרת ע"י ויסות דינאמי של טמפרטורת האחסון. חלק זה של הדיווח מתאר מחקר שהיה מיועד לבחון יעילות של מספר שיטות ספקטראליות בלתי הרסניות לגילוי מוקדם של עקת צינה תוך התמקדות בשימוש במלפפון כמערכת מודל.

מלפפונים מהזן קינג סטאר אוחסנו למשך יומיים (חשיפה קצרה) או שבעה ימים (חשיפה ממושכת) ב-4-5 מ"צ (טמפרטורת צינה מזיקה) או ב-11-12 מ"צ (טמפרטורה נמוכה שאינה מזיקה). לאחר האחסון בקור הפרי הועבר ל-20 מ"צ (חיי מדף) למשך 3 ימים. כל יום במהלך האחסון ובחיי מדף הפרמטרים של זהירות הכלורופיל במלפפונים נמדדו בעזרת המכשיר Handy PEA. בניסוי אחר, המלפפונים אוחסנו בשתי הטמפרטורות כפי שמתואר לעיל (4-5 או 11-12 מ"צ) למשך עד 7 ימים, עם העברה יום-ימית של מדגמי המלפפונים ל-20 מ"צ. אוטו-לומינסנציה של המלפפונים נמדדת לאחר איזון הטמפרטורה (כ-6 שעות ב-29 מ"צ) ושנית לאחר 3 ימים ב-20 מ"צ. מדידת הלומינסנציה מתבצעת בעזרת המכשיר IVIS. אחרי מדידת הלומינסנציה, אותם המלפפונים משמשים לבדיקת זליגת אלקטרוליטים, המשמשת כמדד מקובל להתרחשות נזקי צינה, בעזרת מדידת מוליכות חשמלית (בדיקה הרסנית) בעזרת מד-מוליכות TH- 2300 El-Hamma. כמו כן, נעשית בדיקה ויזואלית של הופעת סימני הנזק עקב עקת הצינה.

סימני נזק צינה חיצוניים, נראים לעין (שקעים, ריקבון מואץ, הצהבה), נמצאו במלפפונים אשר אוחסנו ב-4-5 מ"צ למשך שבוע ולאחר מכן הועברו לחיי מדף (איור 1-3.2). מדידת מוליכות חשמלית גלתה עלייה במוליכות לאחר 7 ימי אחסון ב-4-5 מ"צ כבר ביום העברתם ל-20 מ"צ (איור 2-3.2). העלייה במוליכות חשמלית מצביעה על דליפת אלקטרוליטים מתאי קליפת הפרי עקב נזק ממברנאלי עוד ביום העברתם לחיי מדף.

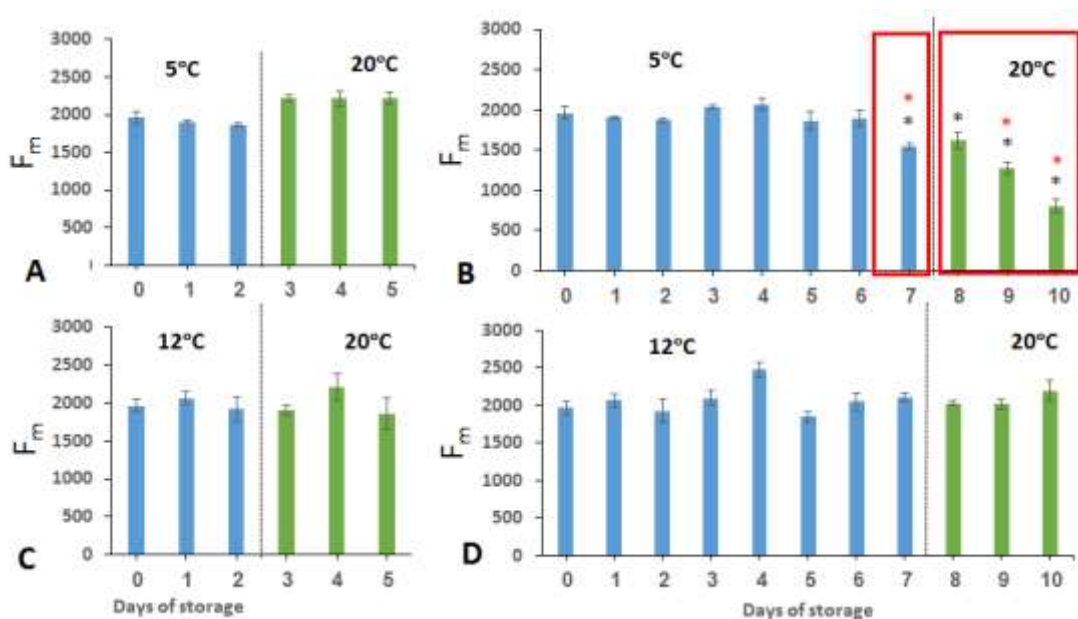


איור 1-3.2: מראה מלפפונים אשר אוחסנו למשך 7 ימים ב-4-5 או ב-11-12 מ"צ ולאחר מכן למשך 3 ימים ב-20 מ"צ.

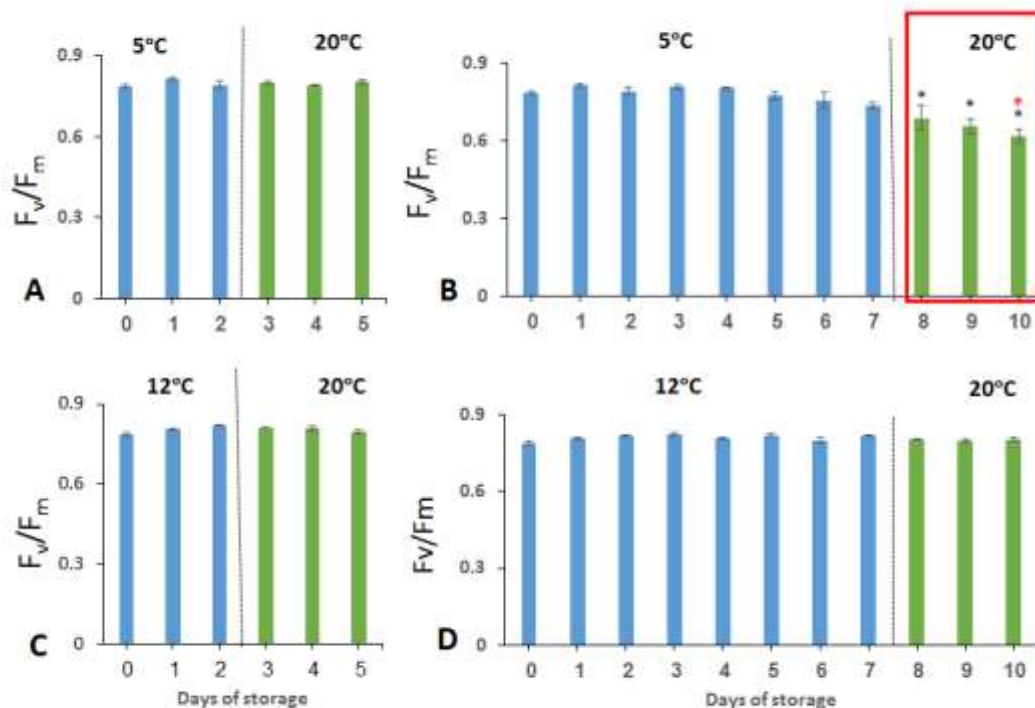


איור 2-3.2: מוליכות חשמלית של קליפת המלפפונים לאחר תקופות שונות של אחסון ב-4-5 (A) או ב-11-12 מ"צ (B), לפני ואחרי תקופת חיי מדף של 3 ימים ב-20 מ"צ. נבדק באמצעות בעזרת מד-מוליכות TH- 2300 El-Hamma

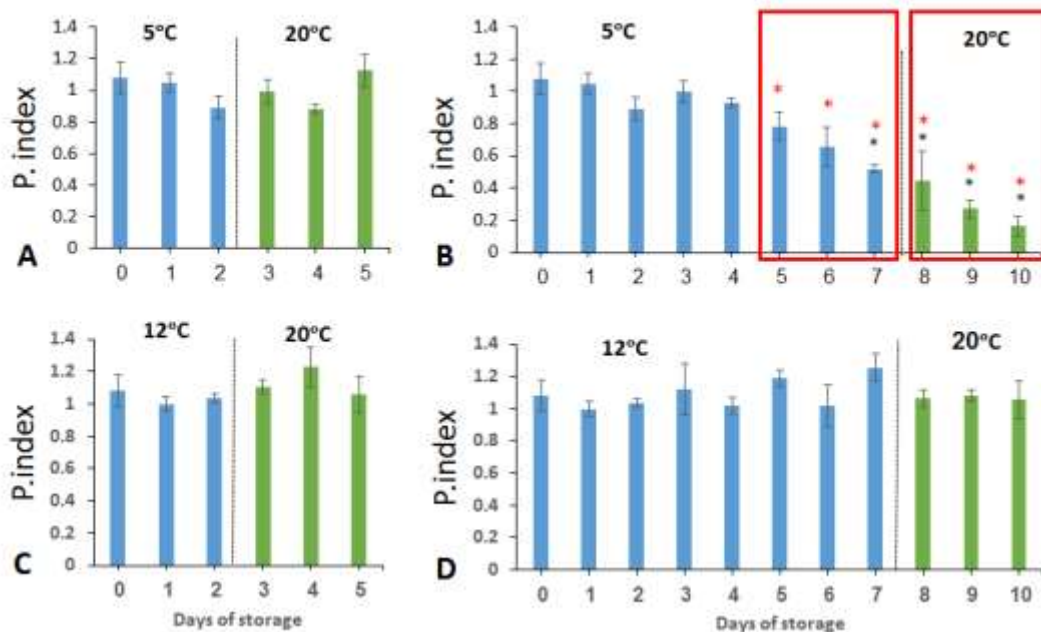
לא נמצאו שינויים מובהקים בפרמטרים של זהירות כלורופיל במלפפונים אשר נחשפו לטמפרטורת צינה מזיקה לתקופה קצרה (יומיים) או לטמפרטורה לא מזיקה ללא קשר למשך החשיפה. לעומת זאת, ירידה בפרמטרים של זהירות הכלורופיל נמצאה במלפפונים אשר נחשפו לצינה לתקופה ממושכת של 7 ימים. פרמטרים שונים של זהירות כלורופיל שונים זה מזה ברגישותם לצינה. כך, ירידה מובהקת בעוצמת פרמטר F_m (זהירה מקסימאלית) נצפה לאחר 7 ימים של החשיפה לקור (איור 3-3.2), ביום כאשר לפי מדידת המוליכות הממברנות עברו כבר דגרדציה בלתי-הפיכה.



איור 3-3.2: שינויים בזהירה מקסימאלית (F_m) של כלורופיל בקליפת המלפפונים במהלך האחסון ובחיי מדף. כוכבית אדומה: הבדל מובהק בהשוואה לזמן 0; כוכבית שחורה: הבדל מובהק בין שתי טמפרטורות האחסון. 5 ו-12 מ"צ. נמדד בעזרת המכשיר Handv PEA.



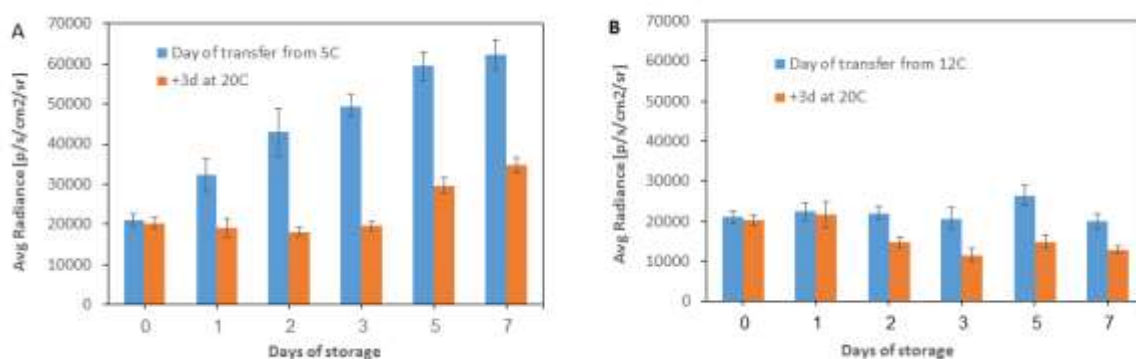
איור 4-3.2: שינויים ביחס בין זהירה משתנה לזהירה מקסימאלית (F_v/F_m) של כלורופיל בקליפת המלפפונים במהלך האחסון ובחיי מדף. כוכבית אדומה: הבדל מובהק בהשוואה לזמן 0; כוכבית שחורה: הבדל מובהק בין שתי טמפרטורות האחסון, 5 ו-12 מ"צ. נמדד בעזרת המכשיר Handy PEA.



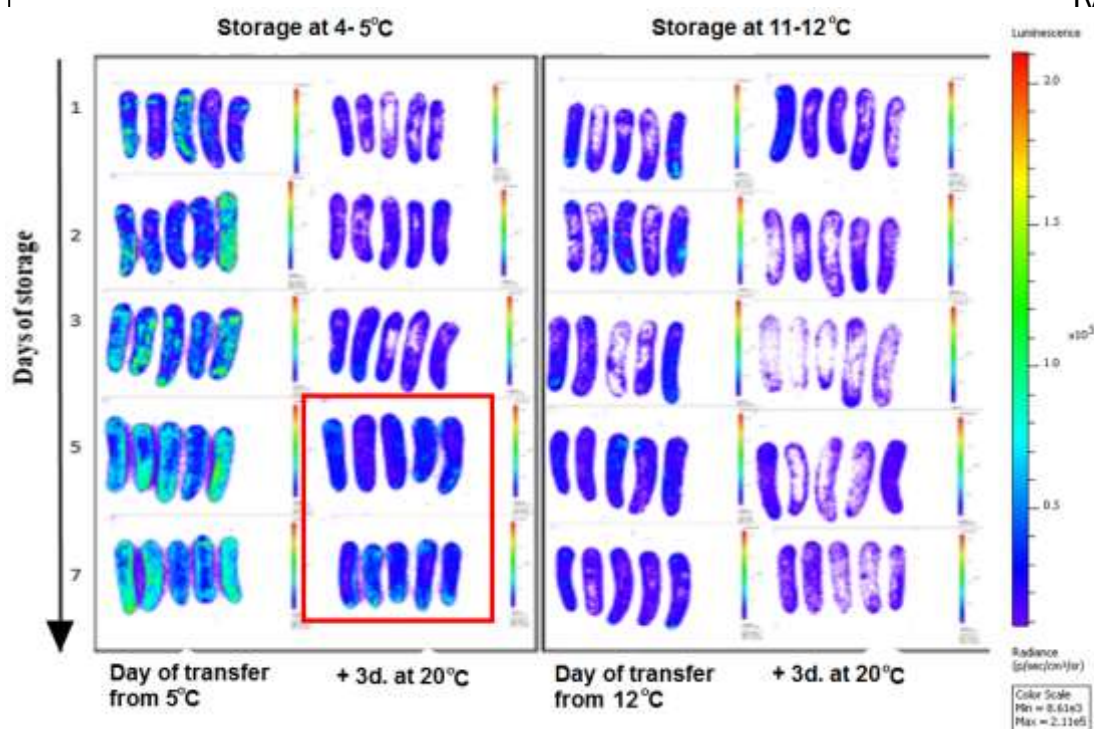
איור 5-3.2: שינויים במדד הביצוע (performance index) של זהירת הכלורופיל בקליפת המלפפונים במהלך האחסון ובחיי מדף. כוכבית אדומה: הבדל מובהק בהשוואה לזמן 0; כוכבית שחורה: הבדל מובהק בין שתי טמפרטורות האחסון, 5 ו-12 מ"צ. נמדד בעזרת המכשיר Handy PEA.

שינויים ביחס F_v/F_m מצאו רק לאחר העברת המלפפונים לחיי מדף (איור 4-3.2). לעומת זאת, נמצא כי פרמטר זהירות הכלורופיל הרגיש ביותר לצינה היה מדד הביצוע, performance index. ירידה מובהקת במדד הזה נצפה כבר לאחר ארבעה ימי חשיפה לטמפרטורה מזיקה, החל מהיום החמישי (איור 5-3.2).

מדידת אוטו-לומינסנציה של המלפפונים גם אשרה כי שינויים בלתי-הפיכים התחילו להופיע במלפפונים כאשר החשיפה לטמפרטורה מזיקה נמשכת מעל 4 ימים. איור A6 מראה כי אפילו חשיפה קצרה לטמפרטורה מזיקה גרמה להגברת הלומינסנציה אך אחרי חימום ל-20 מ"צ עוצמת הלומינסנציה חזרה לרמה התחלתית. אולם, אחרי החשיפה של 5 או 7 ימים לא נצפה חזרה מלאה ושאריות לומינסנציה נשארו במלפפונים גם בחיי מדף. ניתן לראות בכך סימנים של התחלת הנזק



איור 6-3.2: השפעת משך החשיפה לטמפרטורה מזיקה (A) או לא מזיקה (B) עם או בלי תקופה של 3 ימי מדף ב-20 מ"צ, על עוצמת האוטו-לומינסנציה של מלפפונים, מדידה ב IVIS



איור 7-3.2: הדמיה של אוטו-לומינסנציה של מלפפונים לאחר החשיפה לטמפרטורה מזיקה (4-5 מ"צ) או לא מזיקה (11-12 מ"צ) עם או בלי תקופה של 3 ימי מדף ב-20 מ"צ, מדידה ב-IVIS. המסגרת האדומה מסמנת את השלב כאשר מתחילים להופיע במלפפונים סימנים של נזק בלתי-הפיך

הבלתי-הפוך.

סיכום – חלק זה של המחקר הראה, תוך התמקדות במערכת מחקר אחת, המלפפון, כי שיטות ספקטראליות כגון מדידת פרמטרים של זהירות הכלורופיל ומדידת אוטו-לומינסנציה יכולות לזהות שלבים מוקדמים בהתפתחות עקת הצינה כמה ימים לפני הופעת סימנים חיצוניים של הנזק, ואת השלבים בהם נזקי עקת הצינה הופכים לבלתי הפיכים. ויסות טמפרטורת האחסון בשלבים הללו, במידה וניתן יהיה לקבל משוב בזמן אמת, עשוי למנוע את התפתחות הנזק. מדד הביצוע (performance index) של זהירות הכלורופיל וכמו כן אוטולומינסנציה מהווים גישות מבטיחות לגילוי מוקדם של התפתחות הנזק.

3.3. השפעת גנוטיפ של קישואים על רגישותם לצינה

ויקטור רודוב, הרי פריס, חיה פרידמן, מיטיקו מיחירט (Mitiku Mihiret), יעקב וינוקור, אנטון

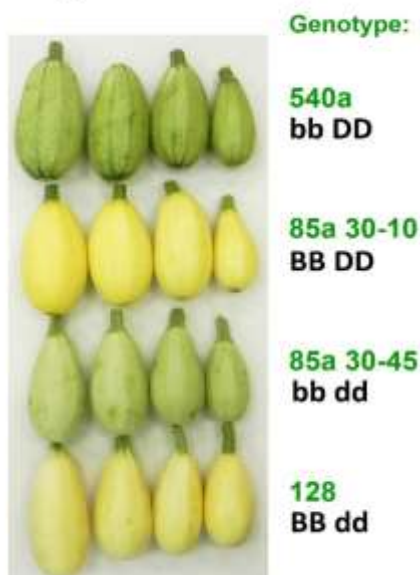
פנק, בתיה חורב, אלי פליק

אחת מהמטרות של מיזם מחקר זה הינו יצירת תשתית לתמיכה בהשבחה גנטית לשיפור סבילות פרי באחסון. מחקרים לגבי הבסיס הפיסיולוגי והגנטי לרגישות או הסבילות של צמחים שונים לנזקי צינה מראים בבירור מעורבות של מערכות פיסיולוגיות וביוכימיות ספציפיות ברמת העמידות לקור. קיים בסיס גנטי ברור ובמקרים רבים הוכח הקשר או המתאם אף לביטוי גנים בודדים להם חשיבות והשפעה רבה לגבי מידת הרגישות לנזקי הצינה. המידע הבסיסי הקיים בעולם בנושא זה לא נוצל עד כה לשימוש יישומי משמעותי בתוכניות להשבחת זנים שפירותיהם יהיו בעלי סבילות משופרת לאחסון בקור לאחר הקטיף ונראה שקיים פוטנציאל רב לקידום כיוון זה. בחלק זה של המחקר בוצע לימוד במערכת מודל של הקישוא על מנת לקדם את הידע לגבי הקשר בין גנוטיפים שונים לבין תכונת הרגישות/סבילות לצינה באחסון.

נבחנו ארבע גנוטיפים של קישוא מהטיפוס vegetable marrow בעלי גנוטיפ זהה למעט שני אללים, B ו-D. גן דומיננטי B מקנה לפרי צבע צהוב חסר כלורופיל כך שכל הקישואים הירוקים הם בעלי גנוטיפ הומוזיגוטי רצסיבי bb. כמו כן, ידוע כי במקביל הגן B מגביר את רגישות הפרי לצינה (Sherman et al., 1987; McCollum, 1990). נמצא כי פירות מהצמחים בעלי גן B מאופיינים ברמה פחותה יחסית של ויטמין E (טוקופרול) בציפה (מזוקרפ) (Tadmor et al., 2005). טוקופרול ידוע כנוגד חמצון חשוב בתא. הגן D משפיע על עוצמת צבע הקליפה, כאשר לבעלי הגן הדומיננטי D צבע הקליפה (צהוב או ירוק) הינו אינטנסיבי יחסית, ואילו לצמחים עם גנוטיפ הומוזיגוטי dd צבע הקליפה עמום יותר (איור 1-3.3). השפעת הגן D על רגישות הקישוא לצינה ועל רמת הטוקופרול אינה ידועה, כמו גם האינטראקציה שלו עם הגן B.

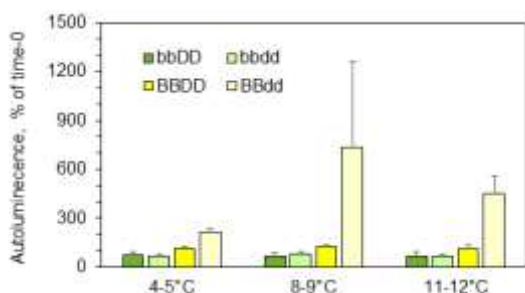
נערכו שני ניסויים, במאי-יוני 2015 ו-2016. נחקרו הקווים 540a (גנוטיפ bbDD), 85a 30-10 (גנוטיפ BBDD), 85a 30-45 (גנוטיפ bbdd) ו-128 (גנוטיפ BBdd). הפירות נקטפו מהחלקה של מרכז המחקר נווה-יער ואוחסנו ונבחנו בשלוש טמפרטורות אחסון: 4-5 מ"צ, 8-9 מ"צ ו-11-12 מ"צ. הקישואים אוחסנו למשך שבועיים בתוספת עד 4 ימי חיי מדף ב-20 מ"צ לאחר מכן. רמת הטוקופרול נבחנה בקליפת הפירות (פריקרפ) מפני שהאזור הזה הינו רלוונטי ביותר מבחינת התפתחות נזקי הצינה. מיצוי הטוקופרול ובדיקת ה-HPLC נערכו כמתואר (Tadmor et al., 2005). נוסף על כך, נבחנו רמות של כלורופילים a ו-b וכלל הקרוטנואידים בשיטה ספקטרוטומטרית (Wellburn, 1994). צבע הפרי נמדד בעזרת מכשיר Chroma Meter CR-400, מוליכות הקליפה כמדד לזליגת אלקטרוליטים והתפתחות נזק צינה (HersHKovitz et al., 2005) ופליטת הפוטונים (אוטו-לומינסנציה) של הפירות בעזרת מכשיר ה-IVIS.

Fruit appearance on the day of harvest

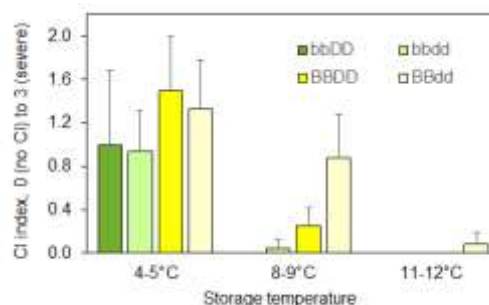


איור 1-3.3: מראה הקישואים מארבעת הגנוטיפים ביום הקטיפ

כצפוי רמת הטוקופרול בקליפת הקווים בעלי גן B הייתה פחותה בהרבה בהשוואה לקווים הירוקים בעלי גנוטיפ bb (איור 2-3.3). לא נמצא הבדל מובהק בין הגנוטיפים הירוקים הנבדלים בגן D. לעומת זאת, הגן D השפיע על רמת הטוקופרול בקישואים צהובים כך שרמת נוגד החמצון הנמוכה ביותר נמצאה בקישואים בעלי גנוטיפ BBdd כלומר צבע צהוב-בהיר (קו 128). כל ארבעת הקווים הראו סימני נזק צינה בטמפרטורת אחסון של 4-5 מ"צ אשר נמצאת מתחת לסף הסבילות של כל טיפוס הקישוא. בטמפרטורה הזאת, ההבדל בחומרת הנזק בין הגנוטיפים לא היה מובהק אם כי הקווים הצהובים נטו למדדי החומרה גבוהים במקצת. לעומת זאת, בטמפרטורה של 8-9 מ"צ הנזק לא נצפה או היה זנים בקווים הירוקים אך נמצא בקווים בעלי גן B, במיוחד בשילוב עם גנוטיפ dd (פרי בהיר). הגנוטיפ הזה הראה סימנים קלים של נזקי צינה



איור 4-3.3: השפעת גנוטיפ וטמפרטורת האחסון על עוצמת הלומינסנציה מפירות הקישואים לאחר 14 ימי אחסון. נמדד בעזרת IVIS.



איור 3-3.3: השפעת גנוטיפ וטמפרטורת האחסון על חומרה נזקי הצינה בפירות קישואים לאחר 14 ימי אחסון

אפילו בטמפרטורה של 11-12 מ"צ (איור 3-3.3).

יש לציין כי רמת הטוקופרול השפיעה ככל הנראה על עוצמת הלומינסנציה מהפירות הנובעת, כפי שצוין לעיל, מתהליכי חמצון הליפידים בתא. הקו 128, הדל במיוחד בטוקופרול, הראה לאחר האחסון עלייה משמעותית מאד (עד פי-8) בעוצמת הלומינסנציה. לעומת זאת, הקו בעל גנוטיפ BBDD הראה עלייה מתונה בלבד (עד פי-1.5 בהשוואה לזמן-0), ובשני הקווים הירוקים בכלל לא נצפתה עלייה (ואפילו ירידה קלה) בעוצמת הלומינסנציה (איור 4-3.3). יחד עם זאת, לא נצפתה התאמה מלאה בין חומרת הנזק צינה לבין עוצמת הלומינסנציה. ככל הנראה היו גורמים נוספים (כגון, הזדקנות הפרי) שהשפיעו על עוצמת הלומינסנציה בגנוטיפ הדל-טוקופרול. מצד שני, הופעת הנזק ב-4-5 מ"צ בקווים הירוקים לא באה לידי בעלייה בעוצמת הלומינסנציה. יתכן והסיבה לכך היא מועד מאוחר מדי (14 יום) של המדידה. כמו כן, נמצאה רק התאמה חלקית בין מוליכות חשמלית של הפירות לבין חומרת נזקי הצינה (התוצאות לא הוצגו). צבע של כל הפירות דהה באופן משמעותי במהלך האחסון, במיוחד בטמפרטורה גבוהה יחסית של 11-12 מ"צ (איור 5-3.3).

Fruit appearance after 14 days of storage

85a 30-45
bb dd

128
BB dd

540a
bb DD

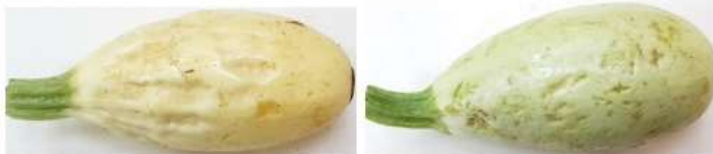
85a 30-10
BB DD

Storage
temperature:

5°C

8°C

11°C



Chilling injury appearance

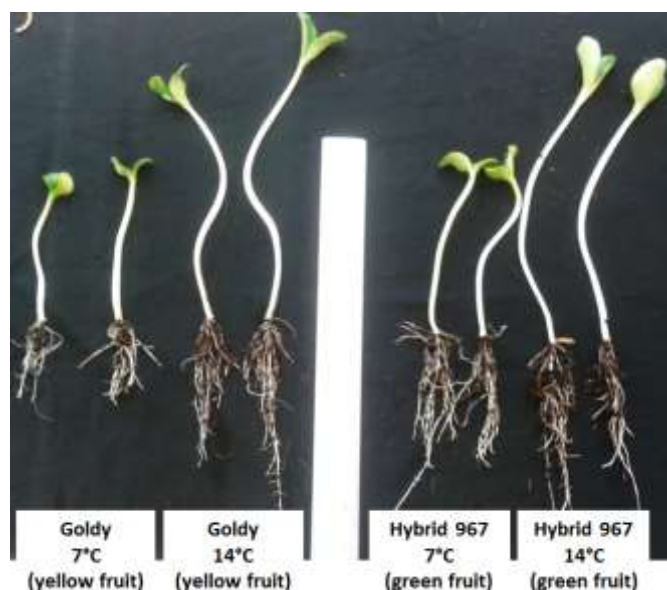
איור 5-3.3: מראה הקישואים מארבעת הגנוטיפים לאחר 14 ימים של אחסון בטמפרטורות שונות. למטה: קישואים מגנוטיפים שונים עם סימני נזק צינה בולטים

3.5 השפעת גנוטיפ של קישואים על רגישותם לצינה בשלב הנבטים

ויקטור רודוב, הרי פריס, חיה פרידמן, פליקס מנסה (Felix Mensah), אנטון פנק, יעקב וינוקור

על מנת ללמוד על המתאם האפשרי הקיים בין רגישות לצינה ברמת הפרי לעומת זו הקיימת כבר בנבטים הצעירים נעשה שימוש במערכת המודל של הקישואים בדומה למתואר בפרק 3.4. הונבטו זרעים של שני זני קישוא מטיפוס צוקיני, גולדי ומכלוא 697, הנבדלים בצבע הפרי הנקבע ע"י הגן B. לזן גולדי גנוטיפ BB ופירות צהובים רגישים מאד לצינה. למכלוא 697 גנוטיפ bb ופירות בצבע ירוק-כהה בעלי רגישות פחותה יחסית לצינה. מטרת הניסוי הייתה לבחון האם ההבדלים הגנטיים ברגישות לצינה מתבטאים כבר בשלב התפתחותי מוקדם של נבטים והאם ניתן לגלות הבדלים כאלו בעזרת שיטות ספקטראליות בלתי-הרסניות כגון מדידת אוטו-לומיניסנציה ופרמטרים של זהירות כלורופיל. הזרעים הונבטו בתוך מצע גידול למשך 4 ימים ב-27 מ"צ בחושך ולאחר מכן הנבטים הוחזקו למשך 3 ימים בחושך ב-7 או ב-14 מ"צ. הטמפרטורה של 7 מ"צ גורמת לנזקי צינה חמורים בקישואים צהובים אך סבילה לצוקיני ירוק. לעומת זאת, שני הזנים לא מפתחים נזק צינה ב-14 מ"צ. לאחר החשיפה ל-7 או 14 מ"צ, הנבטים הוחזקו למשך יום אחד בתא גידול ב-20 מ"צ תחת מחזור אור של 16 שעות הארה ו-8 שעות חושך.

כצפוי הנבטים של שני הזנים התארכו יותר ב-14 מ"צ מאשר ב-7 מ"צ עקב העקה בטמפרטורה הנמוכה יותר. במהלך החשיפה לאור בפסיגים של כל הנבטים נוצר כלורופיל והופיע צבע ירוק. יחד עם זאת, נצפה הבדל ברור באורך השורשונים בין נבטים של שני הזנים אשר נחשפו ל-7 מ"צ. לנבטי הזן גולדי ב-7 מ"צ נצפה עיכוב בגידול השורשונים (איור 3-5.1). היות ועיכוב התארכות השורשון הינו סמן ידוע לנזק צינה בנבטי מלפפונים (Saltveit, 2001) התופעה עשויה להצביע על כך שרגישות הזן גולדי לצינה באה לידי ביטוי גם בנבטים. לנבטים של שלושת הקבוצות האחרות (שני הזנים אשר גדלו ב-14 מ"צ, ומכלוא 697 ב-7 מ"צ) היה אורך השורשון דומה (איור 3-5.1).

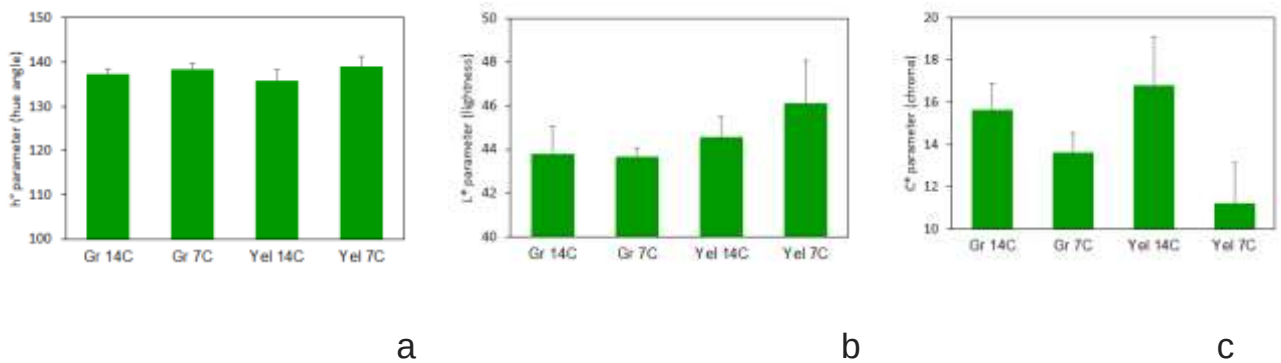


איור 3-1.5: מראה הנבטים מהזנים גולדי ומכלוא 697 אשר נחשפו למשך 3 ימים ל-7 או 14 מ"צ.

צבע הפסיגים נבדק בעזרת המכשיר Chroma-meter 400. לא נמצא הבדל משמעותי בין הטיפולים בערכי של זווית hue, כלומר צבע הפסיגים בכולם היה ירוק. יחד עם זאת, הפסיגים של הזן גולדי אשר נחשפו ל-7 מ"צ נטו לפרמטר L^* גבוה יותר ופרמטר C^* נמוך יותר משאר הטיפולים, כלומר הצבע בהיר יותר ועמום יותר (איור 2-3.5).

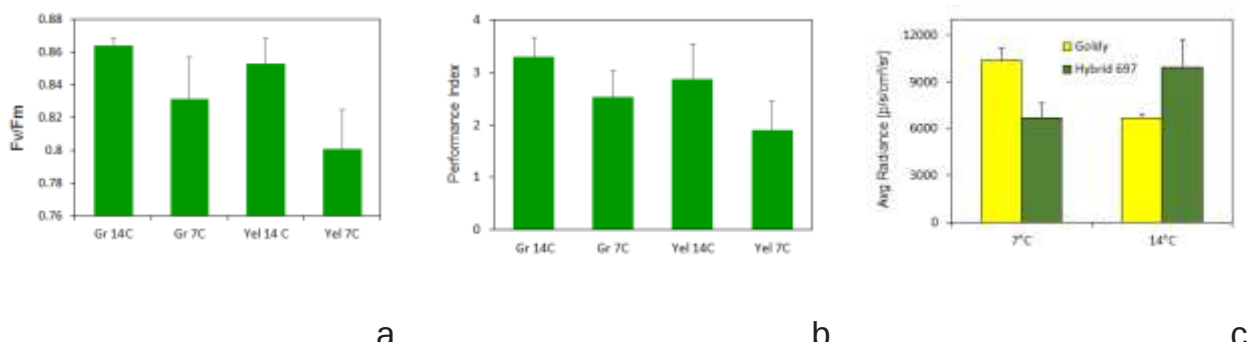
בבדיקת זהירות הכלורופיל בעזרת המכשיר Handy PEA נמצא כי נבטי הזן גולדי אשר נחשפו ל-7 מ"צ הראו ערכים נמוכים של שני פרמטרים, היחס F_v/F_m וה-performance index (איור 3-3.5, a ו-b). התופעה יכולה להצביע על עקת צינה. הנטייה לירידה מסוימת בפרמטרים האלה ב-7 מול 14 מ"צ נצפתה גם בנבטי המכלוא 697, אך הירידה הזאת הייתה פחותה ולא מובהקת מבחינה סטטיסטית.

בדיקת הפסיגים המנותקים בעזרת המכשיר IVIS ראתה עלייה מובהקת בעוצמת האוטו-לומינסנציה של פסיגי הזן גולדי אשר נחשפו ל-7 מ"צ בהשוואה ל-14 מ"צ (איור 3-3.5c). התופעה יכולה להצביע על חמצון ליפידים מואץ כתוצאה מעקת צינה. לעומת זאת, בפסיגים של מכלוא 697 פליטת הפוטונים



איור 2-3.5: אפיון צבע הפסיגים בנבטים של הזנים גולדי ומכלוא 697 אשר נחשפו למשך 3 ימים ל-7 או 14 מ"צ, לאחר יום נוסף שהארה ב-20 מ"צ. הפרמטרים: a – זווית hue, b – פרמטר L^* (בהירות), c – פרמטר C^* (chroma). נמדד בעזרת מכשיר מינולטה.

לא הוגברה ואף פחתה לאחר החשיפה ל-7 מ"צ בהשוואה ל-14 מ"צ. אפשר לתת פרשנויות שונות לרמת הלומינסנציה הגבוהה יותר בפסיגי המכלוא ב-14 מול 7 מ"צ, אך ברור שהיא מצביעה על העדר סימני נזק צינה בנבטים הללו.



איור 3-3.5: תוצאות בדיקות ספקטראליות בלתי-הרסניות של פסיגי הנבטים של הזנים גולדי ומכלוא 697 אשר נחשפו למשך 3 ימים ל-7 או 14 מ"צ, לאחר יום נוסף שהארה ב-20 מ"צ. המדדים של זהירות הכלורופיל: a – היחס F_v/F_m , b – performance index, c – עוצמת אוטו-לומינסנציה. a+b מדידה המכשיר Handy PEA, C^* בעזרת IVIS.

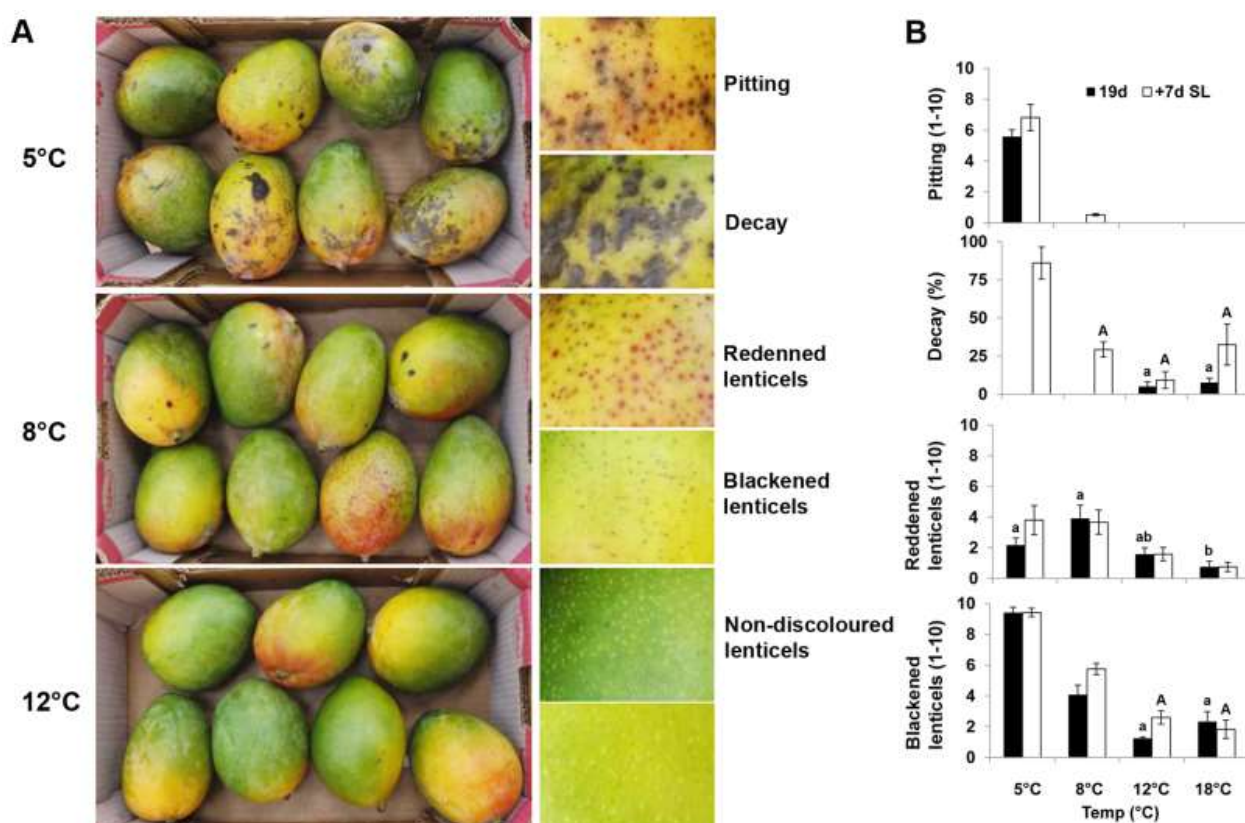
מסקנה - תוצאות הניסוי הראו מספר סימני עקת צינה (עיכוב גדילת השורשון, בהירות ועמימות של צבע הפסיגים, ירידה בפרמטרים של זהירות הכלורופיל, הגברת אוטו-לומינסנציה) בנבטי הזן הרגיש גולדי אשר נחשפו למשך 3 ימים לטמפרטורה של 7 מ"צ. באותם התנאים, הסימנים הללו לא נצפו או היו זניחים בנבטי הזן העמיד יחסית מכלוא 697. כמו כן, לא נצפו סימני העקה בנבטים של שני הזנים אשר נחשפו לטמפרטורה הלא מזיקה של 14 מ"צ. על סמך תוצאות הניסוי ניתן להניח כי אכן ההבדלים הגנטיים ברגישות לצינה באים לידי ביטוי כבר בשלב הנבטים וניתנים לגילוי בשיטות בלתי-הרסניות כמו מדידת זהירות הכלורופיל ואוטו-לומינסנציה. נדרש מחקר נוסף בנושא.

3.6. אחסון פירות מנגו בטמפרטורות תת-אופטימליות

נעם אלקן, אולג פייגנברג, דליה מאור, Sivankalyani Velu, סוניה דיסקין, בן רייט, מירב זערור, Anirudh Kumar, יובל כהן, איתי מעוז ונעה סלע.

3.6.1. אפיון תגובת פירות מנגו לצינה

פרי המנגו רגיש במיוחד לניזקי צינה לכן אחסון הפרי בטמפרטורה נמוכה מ 12°C גורמת להתפתחות ניזקי צינה ולירידה משמעותית באיכות הפרי. בבדיקה של פירות מנגו שאוחסנו ב 5°C , 8°C , 12°C או 18°C מעלות צלסיוס נמצא כי נקודות שחורות ונקודות אדומות וגומות על גבי קליפת הפרי הם ניזקי צינה אשר מתפתחים לאחר אחסון במשך שלושה שבועות בטמפרטורות נמוכות ולאחר אחסון נוסף בחי-מדף (20°C) (איור 1-3.6). ניסוי זה נבדק במשך שלוש עונות על זני 'שלי ו'קיט'

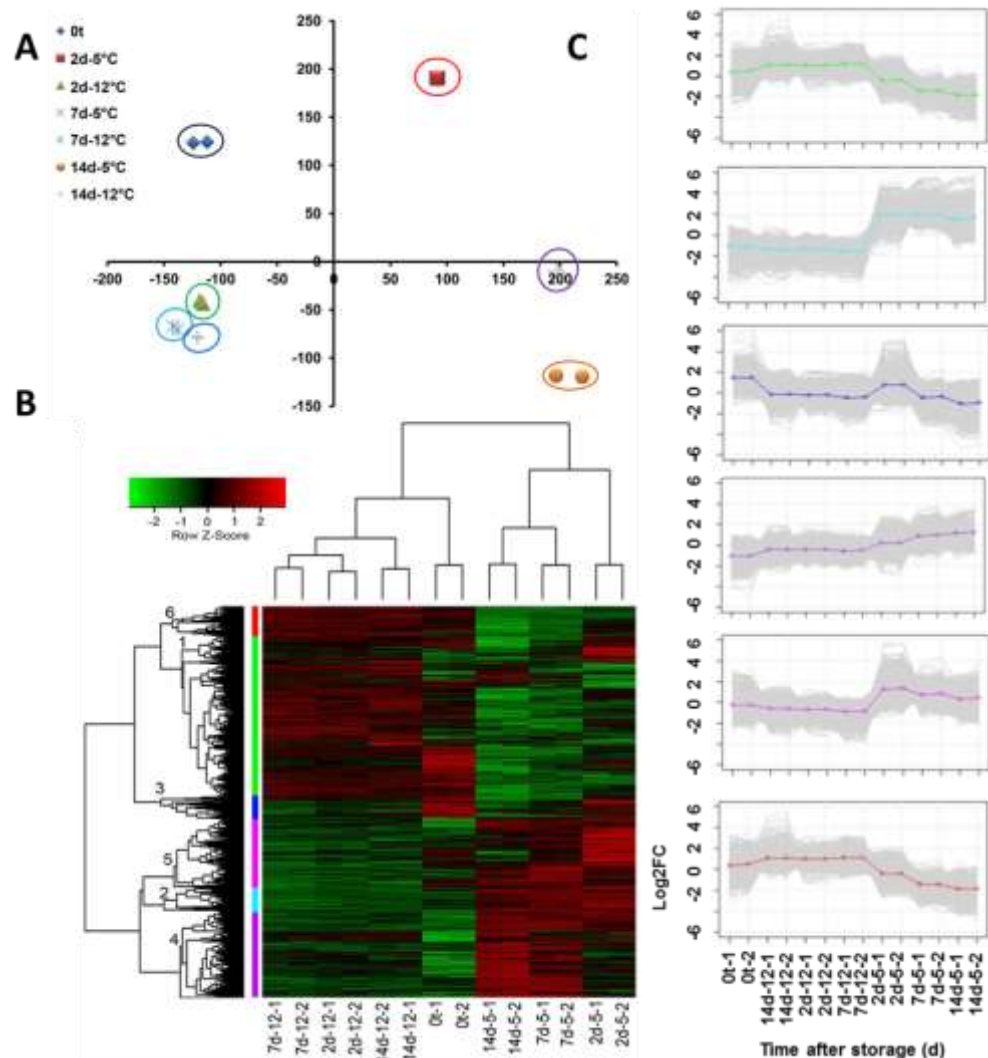


איור 1-3.6: ניזקי צינה בפירות מנגו 'קיט'. A. תמונות אופייניות של פירות לאחר אחסון בטמפרטורות השונות. B. הערכה כמותית פיזיולוגית ופתולוגית של גומות, נקודות אדומות ונקודות שחורות ושל אחוז רקבונות.

(Sivankalyani et al., 2016a)

לצורך בחינת המנגנונים הגנטיים אשר משתנים בתגובה לצינה הופק RNA מקליפה של פירות מנגו קיט בקיט, ולאחר אחסון למשך 2, 7 ו 14 ימים ב 5°C כטמפרטורת צינה או 12°C כביקורת לטמפרטורה נמוכה שאינה מהווה עקה. הטרגנסקריפטום רוצף תוך שימוש ב RNA-seq, New

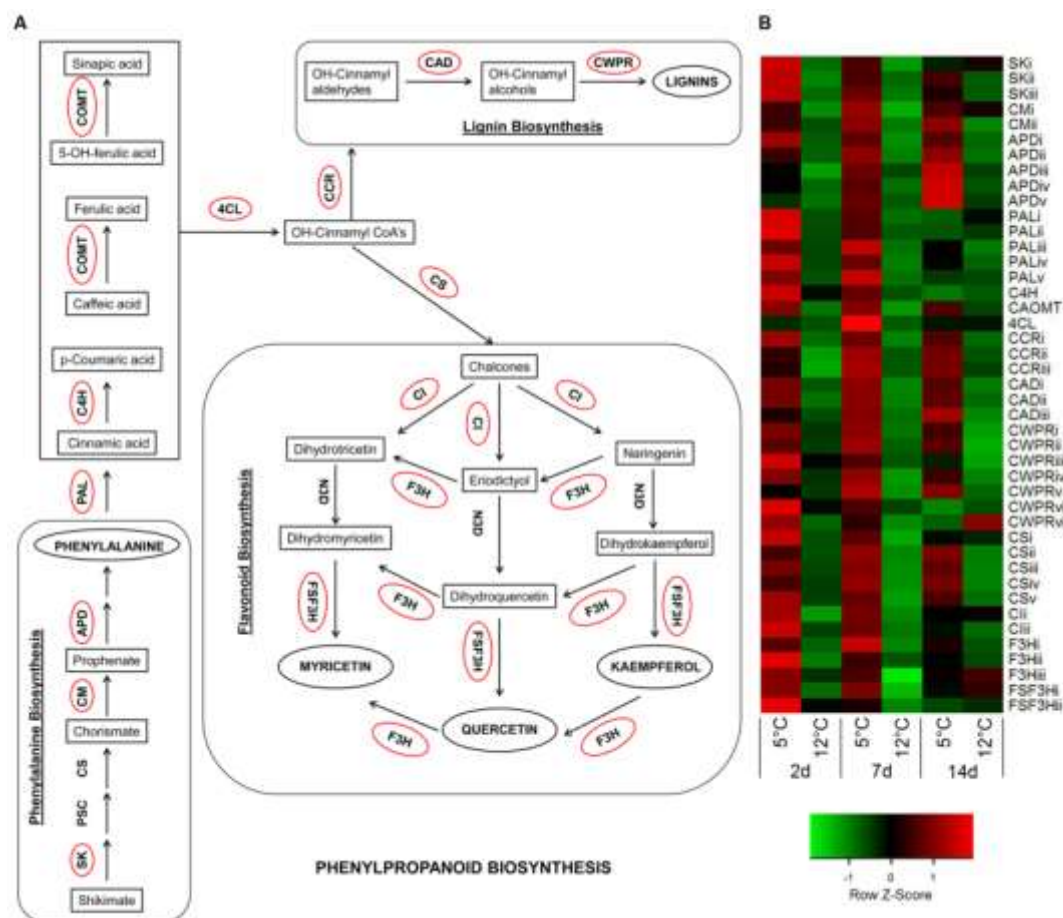
Generation Sequencing (בשיטת Illumina). מניתוח התוצאות ניתן לראות שינוי בביטוי אלפי גנים בתגובה לעקת הצ'ינה. עיקר השינוי היה בתגובה לאחסון בטמפרטורות השונות ולא בתגובה לזמני האחסון השונים (איור 2-3.6A). באופן כללי נמצאו יותר גנים שביטויים עולה מאשר גנים



איור 2-3.6: אפיון טרנסקריפטום מנגו 'ק'ט' בתגובה לאחסון בקור. A. תרשים PCA המתאר את הדגם המרחבי של שינוי בטרנסקריפטום המנגו בתגובה לתנאים שונים. B. ביטוי יחסי של כלל הגנים המגיבים לאחסון בקור. C. שישה דפוסי ביטוי שונים של גנים בתגובה לאחסון בקור.

היורדים בביטויים בתגובה לצינה.

בתגובה לצינה נמצאה עלייה בביטוי של מספר מסלולים של הובלת אותות ומסלולים ומטבולים כגון: זיהוי העקה ע"י רצפטורים, תגובות קלסיות לעקה הכוללות: תמותת תאים מכוונת (PCD), פניאלנין, פנילפרופנואיד, חמצון חומצה לינולאית, פירוק סוכרים ועוד (Sivankalyani et al., 2016b). לדוגמה, **באיור 3-3.6** ניתן לראות את עליית הגנים בתגובה לאחסון בטמפרטורות סב-אופטימאליות – הנמצאים במסלול סינתזת פניאלנין ופנילפרופנואיד ומובילים ליצירת פלבנואידים וליגנין. אותם פלבנואידים הם פנולים המשמשים כאנטי-אוקסידנטים ומגנים על הפרי.

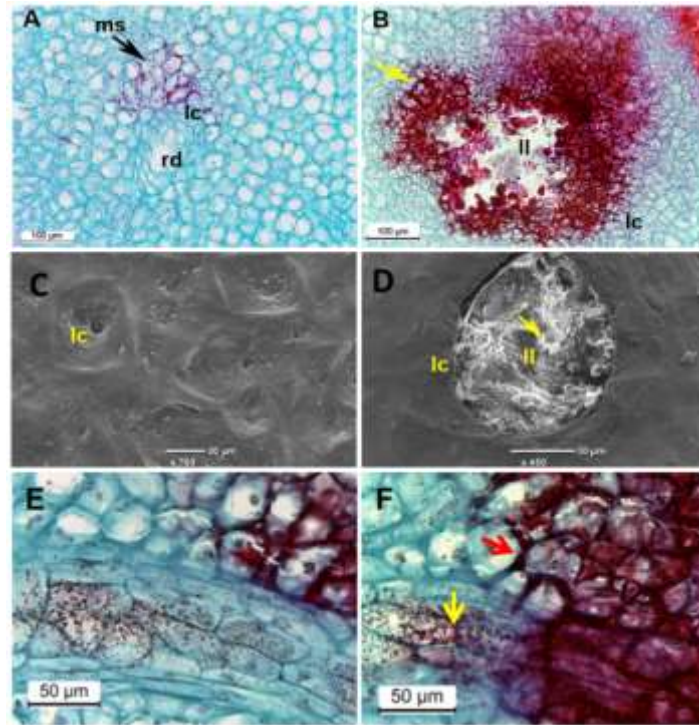


איור 3-3.6: עלייה בביטוי גנים בתגובה לאחסון בקור במסלול פנילאנין ופנילפרופנואיד. A. מסלול הביוסינתזה, גנים המסומנים באדום עלו בביטוי ב 5°C בצורה משמעותית. B. טבלת חום של הגנים במסלול (אדום: עליה בביטוי, ירוק: ירידה בביטוי).

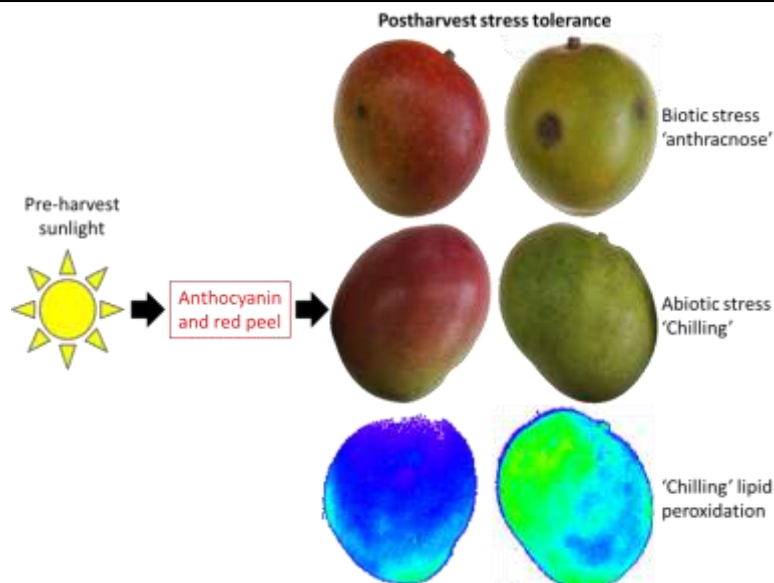
בדיקה של חתכים היסטולוגיים באזורים שהראו תסמינים של ניזקי צינה לאחר אחסון בקור, הראתה כי הנקודות האדומות והשחורות והגומות נגרמות מתמותת תאים באזור העדשתיות, אשר כנראה התרחשה בעקבות עליה בגנים הקשורים לתמותת תאים מתוכננת שהתרחשה קודם לכן (Sivankalyani et al., 2016a). כמו כן, הצביעה באדום (תוך שימוש בספרנין ופסט-גרין) מעידה על הצטברות פנולים וליגנין באזור העדשתית (**איור 3-3.6**). הצטברות הפנולים והליגנין הם כנראה תוצאה של עליה בביטוי הגנים במסלול הפנילפרופנואיד (**איור 3-3.6**). מעניין לציין כי, עליה בכמות העדשתיות הפגועות, אשר מכילות פתחים בקוטיקולה, הן נקודות אסטרטגיות לחדירה של פתוגנים. אכן, שכיחות הרקבנות המתרחשות לאחר הבשלת הפרי נמצאה בהתאמה גבוהה עם התגברות ניזקי הצינה לאחר אחסון בטמפרטורות סב-אופטימליות (**איור 1-3.6**). תמונות מחתכים היסטולוגיים עמוקים יותר באזור העדשתית מראות כי הפנולים מצטברים בדפנות התאים ובחללי התאים (**איור 4-3.6**). פנולים אלה מוסעים לתאים ולדפנות ע"י גופיפים קטנים המובלים מתעלות השרף (**איור 4-3.6**) (Sivankalyani et al., 2016a).

3.6.2. התפתחות צבע אדום בפרי והשראת סבילות לצינה בפרי

מסלול הפנילפרופנואיד מופעל לא רק בתגובה לאחסון בטמפרטורות תת-אופטימליות (איור 3-3.6), אלא גם בתגובה לחשיפה לאור השמש במטע (Sivankalyani et al., 2016a). בשונה מהתגובה לצינה, תגובה לקרינה מובילה להצטברות פלבנואידים וגם להצטברות של אנטוציאנינים אשר צובעים באדום את הקליפה של פרי המנגו. אחסון של פירות מנגו 'שלי' אדומים אשר היו חשופים לשמש



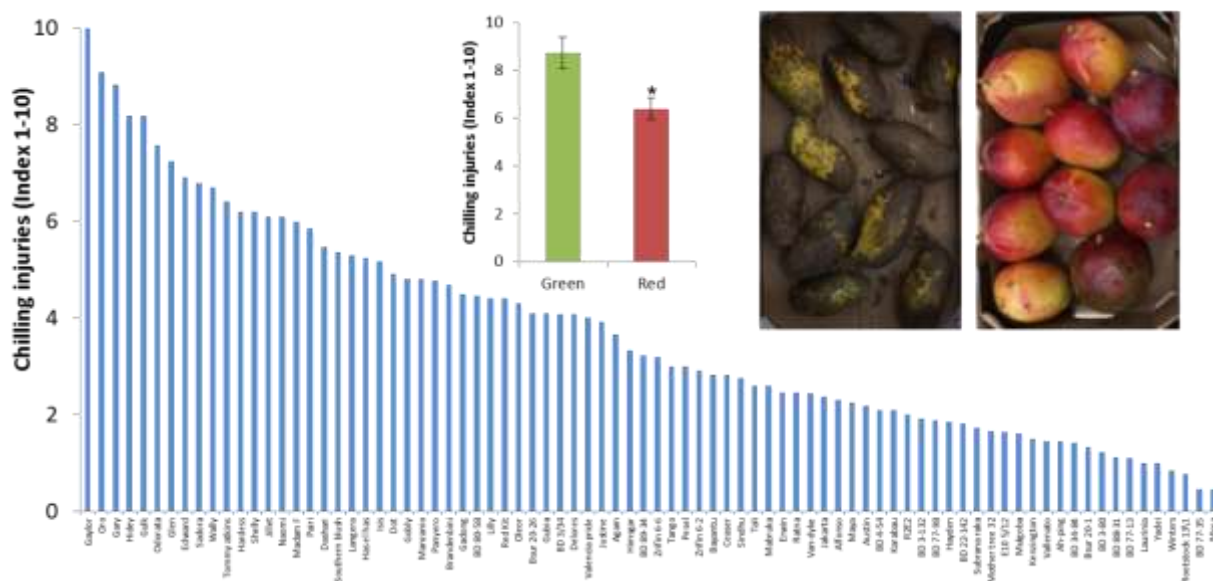
איור 3-3.6: תמונות מיקרוסקופיות של עדשתיות פגועות בפרי המנגו. A, B, E, F. חתכים היסטולוגיים של עדשתיות לאחר צביעה בספרנין ופסט-גרין. C, D. תמונות ממיקרוסקופ אלקטרוני סורק. A, C. עדשתית בריאה. B, D. נקודות שחורות - בתמונות רואים תמותת תאים באזור העדשתית והצטברות פנולים מסביב לאזור המת. F, E. אזור החיבור של עדשתית פגועה עם תעלות שרף. ms, modified stomata; ll, lenticel lumen; lc, lenticel; rd, resin duct; yellow arrow, phenolic accumulation.



איור 3-3.6: תקציר גרפי של Sivankalyani et al., 2016b. נמצא כי קרינת שמש מגבירה את הצטברות האנטוציאנינים והפלבנואידים בפירות מנגו שלי, פירות אלו הופכים לאדומים והינם יותר עמידים למחלות ולאחסון פירות מנגו בטמפרטורות תת-אופטימליות.

במטע, לעומת פירות ירוקים אשר התפתחו בחלק הפנימי של העץ ולא היו חשופים לקרינה, הראה כי פירות אשר הפעילו את מסלול ההגנה פנילפרופנואיד במטע השרו עמידות לאחר הקטיפה והיו יותר עמידים לאחסון בקור (5°C). הפירות האדומים אף הראו פחות חמצון שומנים והראו עמידות מוגברת לפטרייה הפתוגנית *Colletotrichum gloeosporioides* (איור 3.6-5,) Sivankalyani et al., (2016b)).

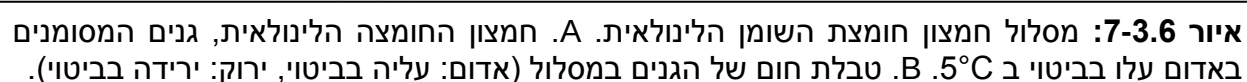
חלק מרכזי מהמחקר במיזם מיועד לבחון את קיום שונות גנטית בתכונת הסבילות/רגישות של פרי לצינה באחסון לאחר הקטיפה. לצורך בחינת כיוון זה במסגרת העבודה על פירות מנגו בצינה נבדקה מידת הרגישות של פירות מנגו מ 83 זנים שונים אשר נלקחו מהאוסף של דר' יובל כהן. לאחר אחסון ב 6°C למשך שבועיים נמצאה שונות גדולה בין הזנים השונים. בנוסף, נמצא כי זנים אדומים היו עמידים יותר לאחסון בטמפרטורות תת-אופטימליות מזנים ירוקים (איור 3.6-6).



איור 3.6-6: אפיון הרגישות של 83 זני מנגו בתגובה לאחסון ב 6°C למשך שבועיים.

3.6.3. חמצון שומנים וזיהוי מוקדם של ניזקי צינה

מסלול נוסף שהוגבר בצינה הינו המסלול של חמצון חומצת השומן הלינולאית, מסלול זה מוביל ליצירת חומצה ג'סמונית וליצירת אלדהידים מהצורה C_6 ומהצורה C_9 (איור 3.6-7).



A

14d 19d

12°C 8°C 5°C

B

MDA (nmol g⁻¹ FW)

Storage time (d)

5°C 8°C 12°C

C

14d 19d

12°C 8°C 5°C

Luminescence

Radiance (photon/cm²/s)

Color Scale
Min = 5.20e3
Max = 7.40e4

D

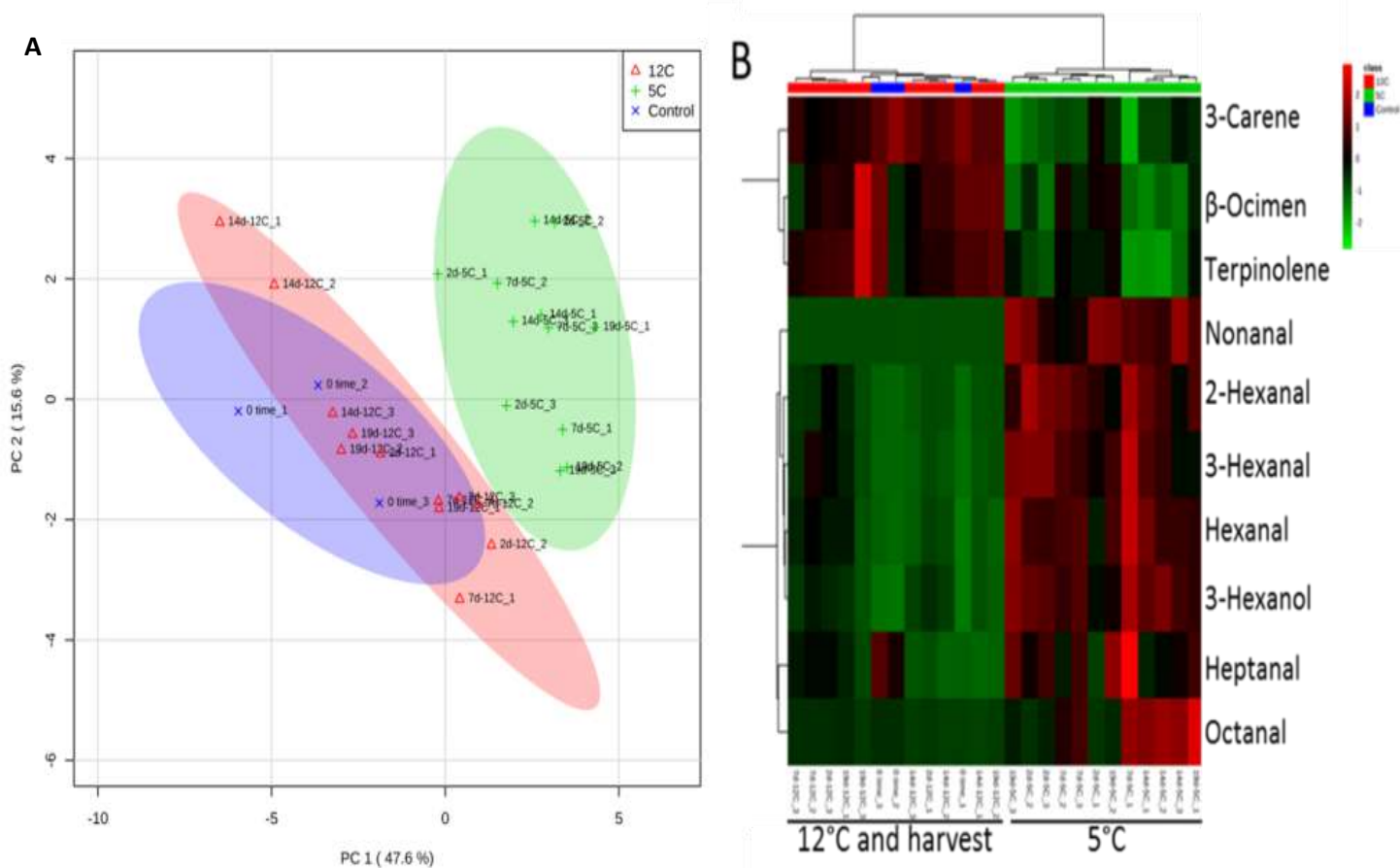
Total flux (W m⁻² sr⁻¹)

Storage time (d)

5°C 8°C 12°C

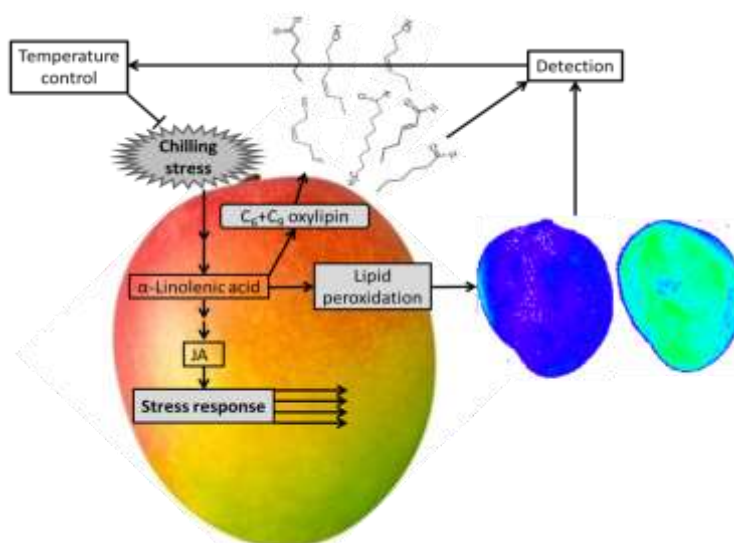
איור 3.6-8: חמצון שומנים בתגובה לצינה בפירות מגו 'קִיט' שאוחסן ב $5/8/12^{\circ}\text{C}$. תמונות מייצגות של אור נגלה. B. חמצון מלונדיאלדהיד C) (MDA). תמונות מייצגות של לומינסנציה. D. כימות הלומינסנציה.

אפיון פרופיל הנדיפים בקליפת פרי המנגו בתגובה לאחסון בקור הראה כי קיים שינוי משמעותי בנדיפים של פרי המאוחסן ב 5°C לעומת פרי המאוחסן ב 12°C (איור 9-3.6). בפרי שאוחסן ב 5°C נמצאה ירידה בנדיפים המקנים לפרי את הארומות הטבעיות והייחודיות שלו. לעומת זאת נמצאה עלייה בנדיפים אלדהידים C₆ ו C₉, תוצרי הפירוק של החומצה לינולאית (Sivankalyani et al., 2017) 9-3.6



איור 9-3.6: אפיון פרופיל הנדיפים בקליפת פרי מנגו 'קט'. A. אפיון כלל הנדיפים מוצג ע"י פיזור מרחבי בתרשים PLS-DA. טבלת חום המייצגת כמות יחסית של נדיפים בטיפולים השונים. כחול – דוגמאות מהקטיפ, אדום – פירות אשר אוחסנו ב 12 מעלות, ירוק – פירות אשר אוחסנו ב 5 מעלות צלסיוס.

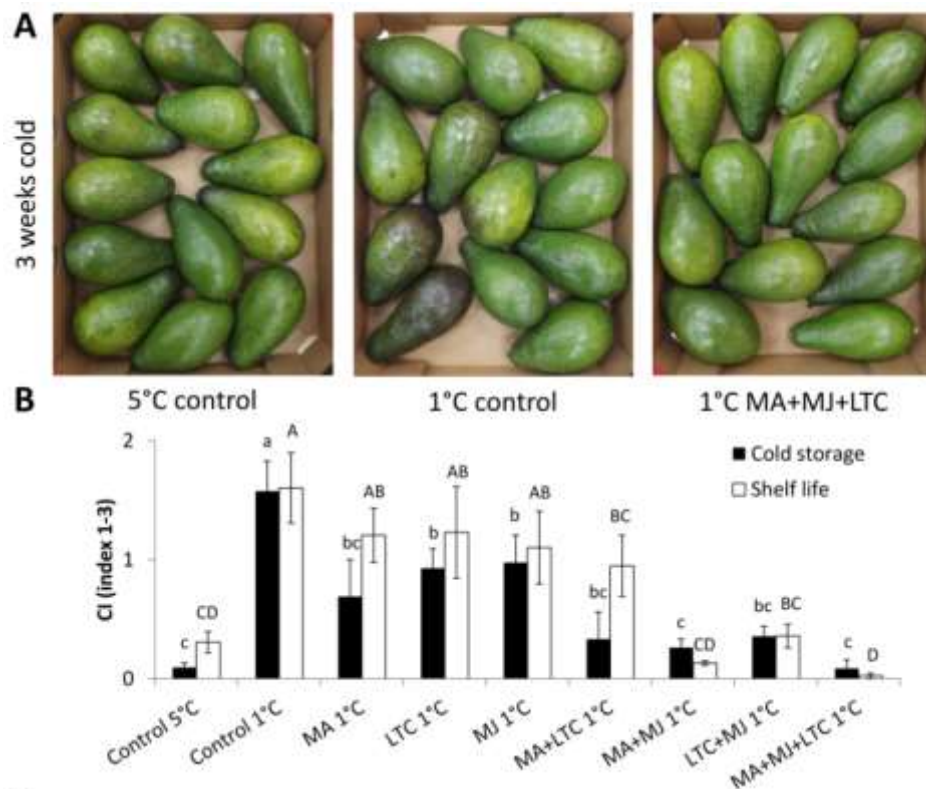
הנדיפים האלדהידים C_6 ו C_9 עולים הרבה לפני שניתן לזהות את ניזקי הצינה. אם נוכל לזהות את האלדהידים האלה (איור 9-3.6) או הלומיניסנציה (איור 8-3.6) בחדרי הקירור לפני ההתרחשות של ניזקי הצינה, נוכל לדעת שהפרי נמצא בעקת קור וצריך להעלות את טמפרטורת החדר. כך בעתיד נוכל לשלוט באופן דינאמי על טמפרטורת החדר לפי המצב הפיזיולוגי של הפרי (איור 10-3.6, Alkan, 2017 Provisional).



איור 10-3.6: מודל של זיהוי מוקדם של ניזקי צינה לצורך שליטה דינאמית בטמפרטורת האחסון לצורך מניעת ניזקי צינה והארכת משך האחסון.

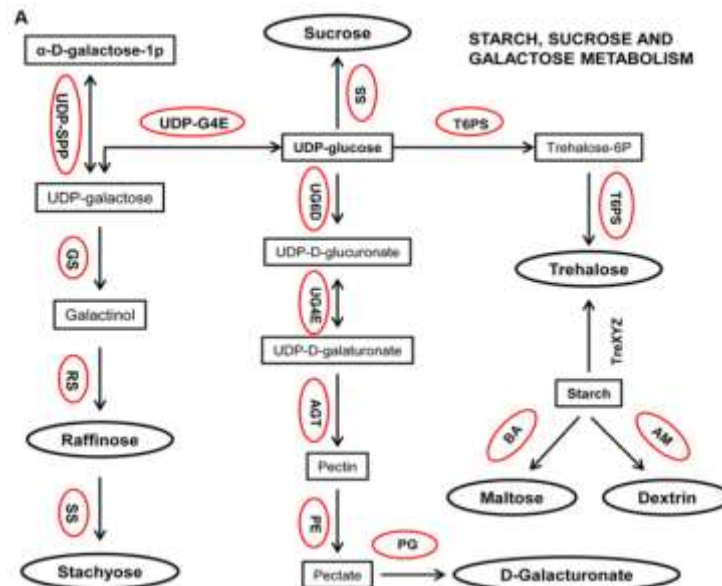
3.6.4. פיתוח טיפולי הסגר-בקור לצורך קטילת מזיקים שנוכחותם מונעת יצוא

אבוקדו - רף ה USDA קבע כי אחסון במשך שבועיים ב 1.1°C יוביל לקטילה של הזבוב על כל שלביו ויאפשר יצוא של פירות אבוקדו לארצות בהן הזבוב לא קיים. הבעיה היא שפירות אבוקדו מאוחסנים ב 5°C ואחסון בטמפרטורה נמוכה יותר תוביל להופעת ניזקי צינה. לכן, התמודדות עם הופעת ניזקי הצינה בטמפרטורה נמוכה תוביל לפתיחת שווקים חדשים. תוצאות מניסויים במשך שלוש שנים בפירות אבוקדו מזנים 'אטינגר' ו'האס' הראו כי שילוב טיפולים לאחר קטיפה: הורמון צמחי (חומצה ג'סמונית), אווירה מתואמת והורדה הדרגתית בטמפרטורה, אפשרו אחסון במשך חמישה עשר ימים ב 1°C ללא הופעת ניזקי צינה (איור 11-3.6, (Sivankalyani et al., 2015)).



איור 11-6.3: טיפול הסגר בקור לפירות אבוקדו מזן אטינגר. A. תמונות מייצגות לאחר טיפול הסגר-בקור בתוספת בחי מדף. B. רמת ניזקי צינה (אינדקס 1-3) בטיפולים שונים: אווירה מתואמת (MA), אקלימציה (LTC), מתיל ג'סמונט (MJ) ושילובם.

טיפולים אלו גרמו להארכת חיי המדף בשלושה עד ארבעה ימים וירידה משמעותית באחוז הרקבנות. תוצאות אלה מתוות את הפרוטוקול ליצוא אבוקדו לארצות אשר אוכפות קרנטינה נגד זבובי הפירות. **מנגו** - נמצא כי בתגובה לאחסון בטמפרטורה תת-אופטימאלית - פירות מנגו מגבירים את פירוק העמילן למונו-סכרידים ודי-סכרידים וכך מעלים את רמת האוסמולריות ומורידים את נקודת הקיפאון (איור 12-3.6).



איור 12-3.6: מסלול מטבוליזם של סוכר ופירוק עמילן. A. גנים המסומנים באדום עלו בביטוי ב 5°C לעומת 12°C .

רף ה USDA קבע כי אחסון במשך 18 ימים ב 2.2°C יוביל לקטילה של הזבוב על כל שלביו. הבעיה היא שפירות מנגו מאוחסנים ב 12°C ואחסון בטמפרטורה נמוכה יותר תוביל להופעת ניזקי-צינה. מתוך המחשבה כי פירות עם רמת סוכרים גבוהה הינם עמידים יותר לצינה. פירות מנגו אובחלו ע"י אתילן. הפירות הבשלים אוחסנו באווירה מתואמת עם הורדה הדרגתית בטמפרטורות. נמצא כי, שילוב הטיפולים אפשר טיפול הסגר-בקור תוך אחסון של פירות מנגו ב 2°C למשך 19 ימים (איור 13). טיפול זה משנה את התפיסה של אחסון פירות לא בשלים. ומאפשר פתיחת שווקים חדשים תוך שמירה על איכות הפרי.



איור 13-3.6: תמונות אופייניות של טיפול הסגר-בקור (2°C למשך 19 ימים ותוספת של ארבעה ימים

3.7. תגובת פרי הרימון לצינה – טיפולים להגברת סבילות בקרנטינה וזיהוי סמנים מולקולאריים

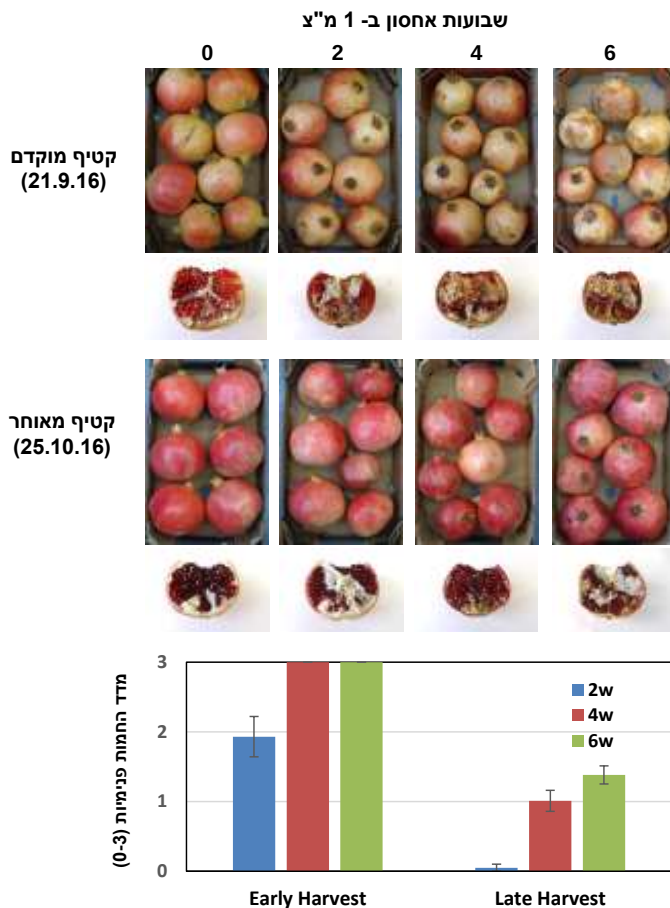
הנמצאים בתאחיזה לתכונת העמידות/רגישות לצינה

רון פורת ודורון הולנד

3.7.1. פיתוח טיפולים להגברת עמידות פירות רימון 'ונדרפול' בפני חשיפה לקרנטינה בקור

טיפול קרנטינה בקור כנגד זבוב הים התיכון דורש חשיפת הפרי לטמפרטורה נמוכה מ- 1 מ"צ למשך שבועיים לפחות, אולם טיפול זה עשוי לגרום להופעתם של נזקי צינה המתבטאים בהחממת פנימיות ולעיתים גם בנזק חיצוני על קליפת הפרי. במחקר הנוכחי בחנו את הנושאים הבאים: (1) השפעות מועד הקטיף על עמידות/רגישות פירות רימון 'ונדרפול' לצינה, ו- (2) פיתוח טיפול אקלום לצורך הגברת עמידות הפרי לטיפול הקרנטינה בקור.

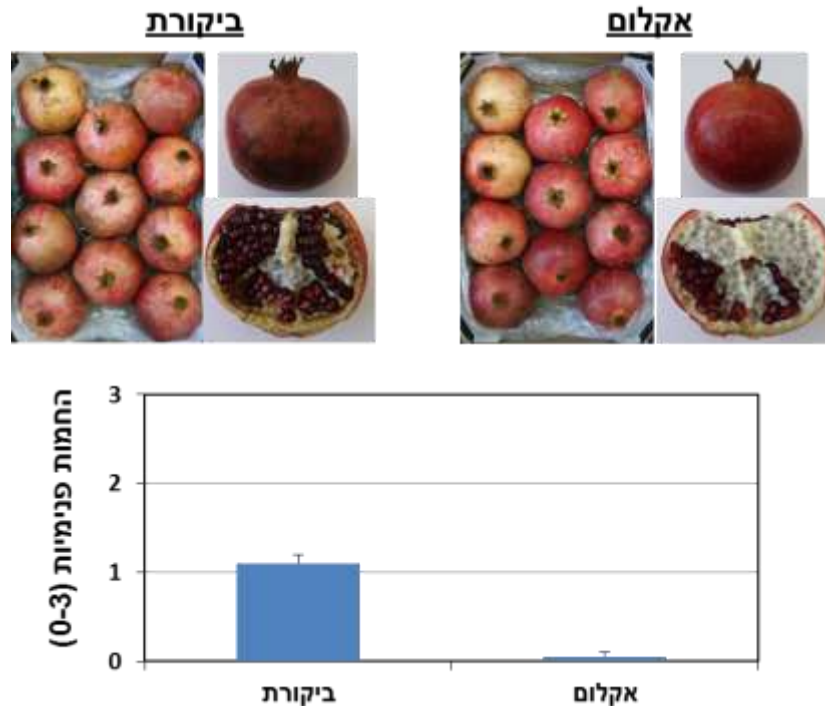
השפעות מועד הקטיף – ערכנו שני ניסויים שונים בעונת 2015 במטעי מושבי הנגב ובעונת 2016 בחוות לכיש בהם סימנו עצים וקטפנו פרי מוקדם בתחילת עונת הקטיף ופרי מאוחר בסוף עונת הקטיף (4 שבועות הפרש בין הקטיפים), ובחנו את רגישות הפרי לצינה לאחר 2, 4 ו- 6 שבועות אחסון ב- 1 מ"צ + שבוע חיי מדף ב- 21 מ"צ. התוצאות מראות שהפרי מהקטיף המוקדם היה רגיש מאוד לצינה וניזוק מאוד כבר לאחר שבועיים אחסון בקור וניזוק לחלוטין לאחר 4 שבועות בקור, ואילו הפרי מהקטיף המאוחר היה עמיד יותר לצינה וניזוק באופן בינוני רק לאחר 4 ו- 6 שבועות אחסון



איור 3.7-1: השפעת מועד הקטיף על רגישות פירות רימון 'ונדרפול' לצינה. פרי מוקדם שנקטף ב- 21.9.16 ופרי מאוחר שנקטף ב- 25.10.16 אוסן למשך 2, 4 ו- 6 שבועות ב- 1 מ"צ ושבוע ב- 20 מ"צ. התוצאות הינן ממוצעים $\pm$ ש.ת. של 5 תיבות.

בקור (איור 1-3.7).

פיתוח טיפול אקלום – בניסויים שערכנו במהלך שלוש שנות המחקר בחנו השפעות טיפולי אקלום בטווח טמפרטורות של בין 5 ל- 15 מ"צ למועדים שונים של בין 1 עד 3 שבועות על עמידות פירות רימון 'ונדרפול' לצינה, ומצאנו שטיפול האקלום האופטימאלי הוא זה שכולל חשיפה לטמפרטורה מתונה של 15 מ"צ למשך 10 ימים לפני האחסון בקור. יישום טיפול זה מונע כמעט לחלוטין התפתחות נזקי צינה לאחר 4 שבועות אחסון ב- 1 מ"צ + שבוע חיי מדף ב- 21 מ"צ (איור 2-3.7).



איור 2-3.7: השפעת טיפול אקלום (10 ימים ב- 15 מ"צ) על התפתחות נזקי צינה בפירות רימון 'ונדרפול'. שיעורי ההחמאת הפנימיות נבדקו לאחר 4 שבועות אחסון ב- 1 מ"צ ושבוע ב- 20 מ"צ. התוצאות הינו ממוצעים $\pm$ שגיאת תיבות.

דיון ומסקנות – תוצאות המחקר מראות שככל שהפרי נקטף מאוחר יותר הוא עמיד יותר לצינה, וכי מתן טיפול אקלום למשך 10 ימים בטמפרטורה מתונה של 15 מ"צ מגביר את עמידות הפרי לצינה ומאפשר יישום טיפול קרנטינה בקור כנגד זבוב הים התיכון. בזכות ממצאים אלו, נערכו השנה משלוחים מסחריים ראשוניים של פירות רימון 'ונדרפול' מישראל לארה"ב כולל יישום טיפול אקלום וחשיפה לקרנטינה בקור.

3.7.2. איתור סמנים מולקולאריים בתאחיזה לתכונת העמידות/רגישות לצינה בפירות רימון

לצורך איתור סמנים מולקולאריים (SNPs) הנמצאים בתאחיזה לתכונה של עמידות/רגישות לצינה בפירות רימון, בחנו במהלך המחקר הנוכחי את מידת רגישותם של 85 קווים שונים באוכלוסייה מתפצלת של רימון 'ונדרפול' (זן עמיד יחסית לצינה) x 'מוטי' (זן רגיש יחסית לצינה), ובכלל זה בחינת 55 פרטים בעונת 2015 ובחינת 30 פרטים נוספים בעונת 2016. לצורך אפיון התכונה, פירות רימון

נקטפו במועד ההבשלה האופטימאלי כפי שנקבע על ידי צוות ההשבחה בנווה יער, ולאחר מכן הפרי אוחסן למשך 6 שבועות בטמפרטורה נמוכה של 5 מ"צ + שבוע בחיי מדף ב- 20 מ"צ ושיעור נזקי הצינה הוערכו כאחוז ומדד החמות פנימיות.

האוכלוסייה נסרקה עם 184 סמנים מולקולאריים, מהם 172 נמצאים על המפה הגנטית של רימון. ניתוח התאחיזה בוצע באמצעות תוכנת TASSEL (GLM) המאפשרת חישוב linkage disequilibrium ו- MapQTL המחשב QTL אשר מתחשב גם בהשפעה של מיקום הסמן בנוסף להשפעה של הרכב האללים בכל סמן.

ניתוחי תאחיזה בעזרת תוצאות שהתקבלו בשנים 2015-16 - ניתוח TASSEL, באנליזה GLM, נמצאו ארבעה סמנים הנמצאים באתר LG3. סמנים אלו נמצאו בתאחיזה גם לאחוז החמות פנימיות וגם למדד החמות פנימיות (טבלה א'). למרות זאת, תאחיזות אלו לא נמצאו מובהקות במבחן Wilcoxon / Kruskal-Wallis. ניתוח תאחיזה נוסף באמצעות QTL analysis לא נמצא QTL לתכונה.

טבלה א': איתור סמנים לתכונת העמידות/רגישות לצינה באוכלוסייה מתפצלת של רימון 'ונדרפול' X 'מוטי' בעונות 2015-16 באמצעות ניתוח TASSEL.

Trait	Marker	MOTI x 100-1 MAP group	MOTI x 100-1 MAP Position	p marker	marker R ²	127-28 x Nana MAP group	127-28 x Nana MAP Position
%ln_brown_15-16	c11554_1510	LG3	13	17.6E-05	0.205	LG3	51
ln_brown_rate_15-16	c11554_1510	LG3	13	7.90E-05	0.204	LG3	51
%ln_brown_15-16	c4930_1220	LG3	13	1.35E-04	0.19	LG3	51
ln_brown_rate_15-16	c4930_1220	LG3	13	1.38E-04	0.19	LG3	51
%ln_brown_15-16	c5074_1301	LG3	14	6.74E-04	0.16	LG3	52
ln_brown_rate_15-16	c5074_1301	LG3	14	6.9E-04	0.16	LG3	52
%ln_brown_15-16	c4100_83	LG3	14	6.44E-04	0.16	LG3	53
ln_brown_rate_15-16	c4100_83	LG3	14	6.86E-04	0.16	LG3	53

טבלה ב': איתור סמנים לתכונת העמידות/רגישות לצינה באוכלוסייה מתפצלת של רימון 'ונדרפול' X 'מוטי' בעונות 2013-14 באמצעות ניתוח QTL

Trait	MOTI x 100-1 MAP group	MOTI x 100-1 MAP Position	LOD	mu_A	mu_H	mu_B	% Expl.	Additive
%ln_browning_2013-14	LG3	59-65	7.03	85.7	7.96	62	85.3	11.85
ln_browning_rate_2013-14	LG3	48-63	7.37	2.6	0.12	1.2	94.3	0.70

ניתוחי תאחיזה בעזרת תוצאות שהתקבלו בשנים 2013-14 - באנליזה נוספת של צמחים שנבדקו בשנים 2013-14 נמצא QTL באתר LG3 באזור התואם עם הסמן שנמצא בתאחיזה בניתוח TASSEL (GLM). ערכי ה-LOD של QTL הינם מעל סף המובהקות של 6.1 עבור אחוז הנגיעות ו-7.0 עבור מדד הנגיעות (טבלה ב').

ניתוחי תאחיזה בעזרת תוצאות שהתקבלו בשנים 2011-12 - בשנים 2011-12 אפיינו את תכונת העמידות/רגישות לצינה בקרב אוסף זני הרימון בנווה יער, ונערכה אנליזה של תאחיזה בין תכונות האחסון באמצעות כ-400 סמני SNPs. באמצעות אנליזה GLM ו/או MLM נמצאו מספר אתרים בתאחיזה לתכונת העמידות/רגישות לצינה אך אתרים אלו לא נמצאו בתאחיזה ($p < 0.05$) מובהקת באנליזה Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests. עם זאת, השוואה בין ניתוח התאחיזה באוכלוסיית F2 לבין ניתוח התאחיזה באוסף הראתה כי ישנה התאמה בשלושה אתרים באזורים הגנטיים האחוזים לרגישות להחמות פנימיות (טבלה ג').

דיון ומסקנות – טבלה ג' מסכמת את כלל המידע שהתקבל אודות איתור סמנים מולקולאריים לתכונת עמידות/רגישות לצינה ברימון. התוצאות שהתקבלו בשנים 2011-12 מתייחסות לאפיון אוסף זני הרימון בנווה יער, ואילו התוצאות שהתקבלו בשנים 2013-14 ו-2015-16 מתייחסות לאפיון אוכלוסייה מתפצלת של הזנים 'ונדרפול' X 'מוטי'. סה"כ זוהו 6 סמנים באתר LG3 ו-2 סמנים באתר LG5 (טבלה ג'). אחד הסמנים באתר LG3 (c2580_2752) נמצא אחוז באוסף אך לא נסרק באוכלוסייה 100-1 x MOTI. מומלץ לבדוק האם קיימת תאחיזה גם באוכלוסייה. כמו כן המידע הגנטי שנאסף במהלך השנים האחרונות ישמש כבסיס לאיתור ואימות גנים מועמדים הקשורים לעמידות/רגישות לצינה ברימון.

טבלה ג': סיכום תוצאות איתור סמנים לתכונת העמידות/רגישות לצינה באוכלוסייה מתפצלת של רימון 'ונדרפול' X 'מוטי' ובאוסף זני הרימון בנווה יער באמצעות ניתוח GLM, MLM ו/או QTL.

Trait	LG	127-28 x Nana LG	MOTI x 100- 1 Locus		Associated SNPs
In browning rate 2011	LG3	51		Collection MLM	c5074_130 1
In browning rate 2012 (% & rate)	LG3	53		Collection MLM	c4100_83
In browning 2015-16 (% & rate)	LG3	51	13	F2 GLM	c11554_15 10
	LG3	51	13	F2 GLM	c4930_122 0
	LG3	52	13	F2 GLM	c5074_130 1
	LG3	53	13	F2 GLM	c4100_83
In browning 2011 (% & rate)	LG3	120.334		Collection GLM	c2580_275 2
In browning rate 2013-14	LG3	120-130	48-63	F2 QTL	
%In browning 2013-14	LG3	130-148	59-65	F2 QTL	
%In browning 2013-14	LG3	131	57	F2 GLM	
In browning 2011 (% & rate)	LG5	6		Collection GLM	c6646_964
In browning (% & rate)	LG5	16	19	F2 GLM	c11256_27 3
In_browning_rate (2015)	LG5	16	19	F2 QTL	

3.8. פיתוח טיפולים להגברת עמידות פירות פלפל בפני חשיפה לקרנטינה בקור

אלי פליק, שרון אלקלעי-טוביה, יעקב פרצלן, אסתר נמני-לביא ודוד נסטל

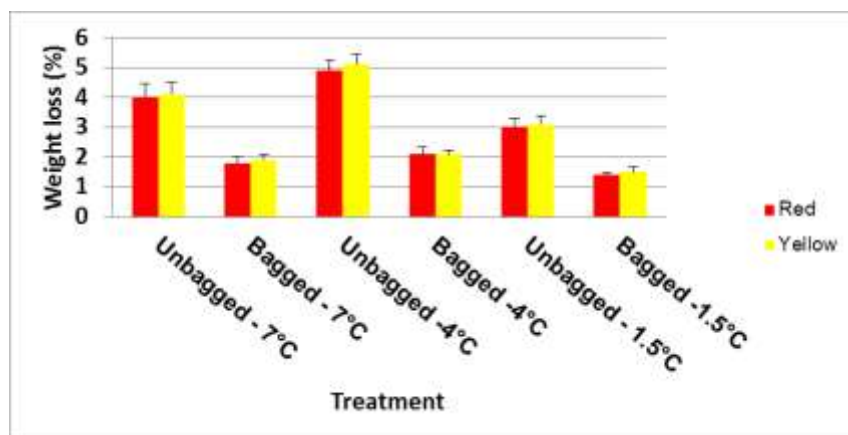
לאחר שפותח פרוטוקול הסגר לקטילת זבוב הים התיכון (*Ceratitis capitata*) בפלפל אדום (Fallik et al., 2012) הוחלט לבחון את הפרוטוקול בקטילת הזבוב בפלפל צהוב הידוע כרגיש יותר מבחינת איכותו לאחר הקטיפה, בהשוואה לפלפל אדום. מטרת המחקר הייתה לבחון את השפעת טיפולי הקור, כטיפול הסגר, על איכות פרי אדום וצהוב שאוחסנו ב-4 ו-1.5 מ"צ בתוך ביטנה. במקביל, נבחן קצב קטילת שלבים שונים של רימות הזבוב בפרי אדום וצהוב על ידי טיפול של 1.5 מ"צ ורגישותם הפיסיולוגית של הרימות שגדלו בשני הפירות השונים.

השפעת טיפולי קור בפלפל מסחרי מזן אדום וצהוב-פרי אדום מזן קנון ופרי אדום מזן דינמו נקטפו בערבה במהלך 2014/2015. הפרי הובא למחלקה לאחסון ונשטף במים חמים ב-55 מ"צ למשך כ-15 שניות, על גבי מברשות. הפירות אוחסנו ב-1.5 מ"צ למשך 21 ימים (טיפול הסגר בהדרים) לפחות ו-3 ימים נוספים ב-20 מ"צ (חיי-מדף). בתום תקופת האחסנה וחיי המדף נבחנו המדדים הבאים: איבוד משקל, מוצקות, אחוז ריקבון ונזק צינה. נערכו 4 קטיפים בין החודשים דצמבר ועד מרץ. כל טיפול כלל 3 קרטוני יצוא של 5 ק"ג פרי/קרטון. על מנת לעקוב אחר ההשפעה על החרקים נמדדה קנטיקת הקטילה של הרימות ב-1.5 מ"צ לכימות הימצאות רימות חיות או מתות ואיפיון קנטיקת הקטילה של רימות הזבוב, בשלושת שלבי התפתחותן. בדיקה זו גם אפשרה לקבל מידע על רגישותן של הרימות לטיפול הקור. כן בוצעה בחינת תכולת חלבונים ושומנים ברימות חיות על מנת לבחון את האפשרות כי תזונת הרימות בזן האדום והצהוב מעורבת בהבדלים שנמצאו ברגישותן לקטילתן על ידי טיפולי הקור,

3.8.1. השפעת טיפולי קור בפלפל מסחרי מזן קנון, פרי אדום וזן דינמו, פרי צהוב על מדדי

איכות שונים

ככל שטמפרטורת האחסנה הייתה נמוכה יותר, הן הזן האדום והן הזן הצהוב, איבוד המשקל בשני זנים אלה פחת בתום תקופת האחסנה וחיי המדף (איור 3.8-1). אריזת הפרי בביטנה הקטינה באופן

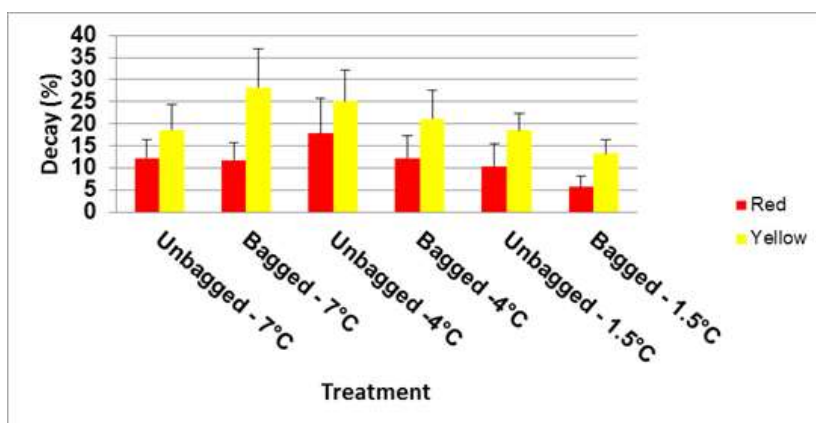


איור 3.8-1: איבוד משקל של פרי אדום מזן קנון וצהוב מזן דינמו לאחר 21 ימים ב-7, 4 או 1.5 מ"צ + 3 ימים נוספים ב-20 מ"צ. ממוצע לארבעה קטיפים. כול טיפול כלל 3 קרטונים של 5 ק"ג/קרטון

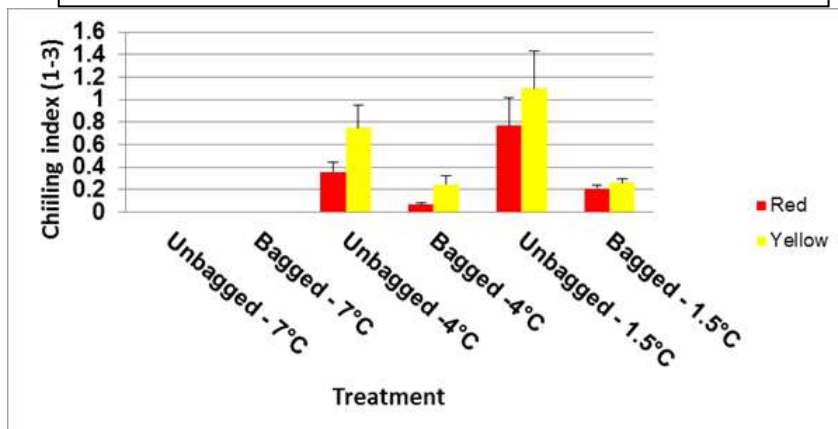
משמעותי את איבוד המשקל. פרי צהוב איבד מעט יותר משקל מפרי אדום, אך לא נמצאו הבדלים מובהקים בין זני הזנים הללו במדד זה.

טמפרטורת האחסנה ואריזת הפרי בביטנה השפיעו על מוצקות הפרי; אחסנה בטמפרטורה של 1.5 מ"צ, בשילוב עם אריזה, הקטינה באופן משמעותי את התרככות הפרי, בהשוואה לאחסנת הפרי בטמפרטורה של 7 או 4 מ"צ, עם או ללא ביטנה (תוצאות לא מוצגות). פלפל צהוב נמצא מעט גמיש יותר מפלפל אדום, בעיקר כשהפרי לא נארז.

פרי צהוב, ארוז או ללא אריזה נמצא עם אחוז ריקבון גבוה משמעותית, ברוב הטיפולים, בהשוואה



איור 2-3.8: איבוד משקל של פרי אדום מזן קנון וצהוב מזן דינמו לאחר 21 ימים ב-7, 4 או 1.5 מ"צ + 3 ימים נוספים ב-20 מ"צ. ממוצע לארבעה קטיפים.



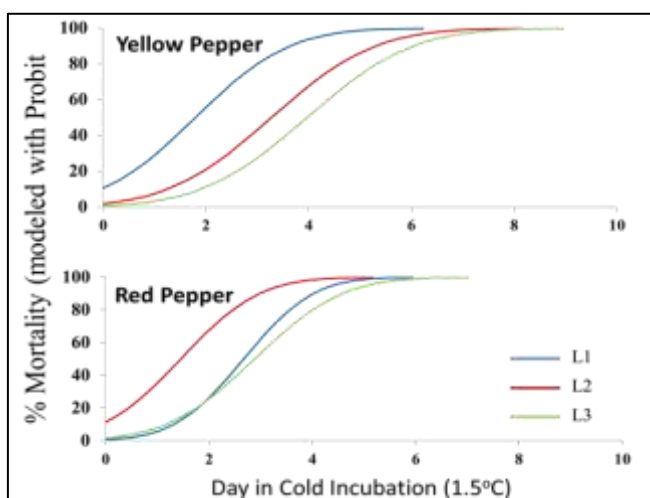
איור 3-3.8: נזקי צינה של פרי אדום מזן קנון וצהוב מזן דינמו לאחר 21 ימים ב-7, 4 או 1.5 מ"צ + 3 ימים נוספים ב-20 מ"צ. ממוצע לארבעה קטיפים.

לפרי אדום (**איור 2-3.8**). ככול שטמפרטורת האחסנה הייתה נמוכה יותר, כך אחוז הפרי הרקוב היה נמוך יותר, הן בפרי האדום והן בפרי הצהוב. אחוז הריקבון הגבוה ביותר נמצא בפרי צהוב שנארז ואוחסן ב-7 מ"צ (כ-27% ריקבון) (**איור 2-3.8**). פירות שאוחסנו ללא אריזה סבלו מנזקי צינה גבוהים, בעיקר בפרי הצהוב. ככל שטמפרטורת האחסנה הייתה נמוכה יותר, נזקי הצינה היו גבוהים יותר (**איור 3-3.8**). אריזת הפרי האדום והצהוב הקטינה באופן מובהק את אחוז נזקי הצינה, כאשר פרי אדום שנארז בביטנה ואוחסן ב-4 מ"צ נמצא עם נזקי צינה נמוכים ביותר.

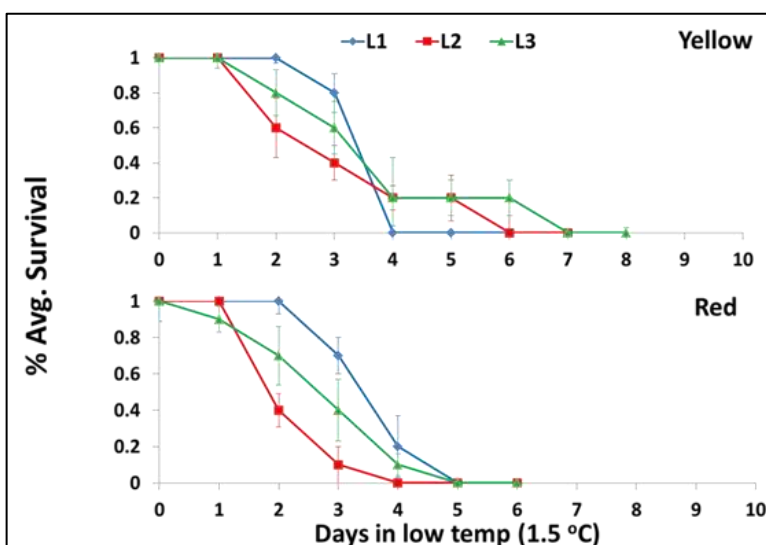
3.8.2. קצב שיעור תמותת רימות הזבוב בפלפל אדום מזן קנון וצהוב מזן דינמו

איור 4-3.8 מראה את קצב קטילת (הישרדות) שלוש דרגות רימות הזבוב בפרי צהוב ואדום. רגישות הרימות לטיפול קור בפרי אדום הנו גבוהה, בהשוואה לרגישות הרימות בפרי הצהוב וקטילתם מתרחשת מוקדם יותר. רגישות רימת L1 גבוהה יותר מרגישות L3 שנמצאה כעמידה ביותר לטיפול הקור רימה זו נקטלה בפרי האדום כעבור 5 ימים בהשוואה ל-7 ימים בפרי הצהוב (איור 4-3.8).

איור 5-3.8 מראה את תוצאות מודל הפרוביט לגבי קצב קטילת הרימות השונות בפרי הצהוב והאדום. זמן קטילת 99% (LT_{99}) של הרימות בפרי צהוב היה 6.23 לרימה בדרגה ראשונה (L1), 8.16 לרימה בדרגה שנייה ו-8.956 לרימה בדרגה שלישית. בניגוד לפרי הצהוב, LT_{99} בפרי אדום היה 5.94 לרימה בדרגה ראשונה, 5.16 לדרגה שנייה ו-7.02 לדרגה שלישית.



איור 5-3.8: קצב קטילת רימות הזבוב (L3, L2, L1) בפרי צהוב מזן דינמו ואדום מזן קנון שאוחסן ב-1.5 מ"צ



איור 4-3.8: שיעור קטילת (שרידות) רימות הזבוב בפלפל צהוב מזן דינמו ואדום מזן קנון שאוחסן ב-1.5 מ"צ

3.8.3. תכולת חלבונים ושומנים ברימות מתפתחות

תכולת השומן ברימות שהתפתחו בפרי צהוב הייתה נמוכה באופן משמעותי מהכמות שנמצאה ברימה באותה גיל שהתפתחה בפרי אדום (תוצאות לא מוצגות). ביום התשיעי והעשירי, תכולת השומן ברימה מדרגה 3 שהתפתחה בפרי צהוב היה בממוצע חצי, בהשוואה לתכולת השומן שנמצאה ברימה מאותה דרגה ושינונה מפרי אדום. לא נמצאו הבדלים בתכולת החלבונים ברימות מדרגה שניה ושלישית שהתפתחו בפרי צהוב או אדום (תוצאות לא מוצגות).

טמפרטורת האחסנה המיטבית של פלפל הנה 7 מ"צ. אולם, על מנת לייצא פרי זה לארצות הסגר, היה צורך לפתח פרוטוקול לטיפול הסגר שיאפשר, מחד, לקטול את זבוב הים התיכון, ומאידך, לא לפגום באיכות הפרי בתום תקופת האחסנה הממושכת וחיי המדף. מצאנו כי הדבר אפשרי בפרי אדום בו טמפ. של 4 מ"צ מובילה לקטילה של הזבוב על כל שלביו (Fallik et al., 2012). בשנת

המחקר השנייה בחנו את האפשרות לבחון את השפעת טיפול ההסגר על איכות פרי צהוב הידוע כרגיל יותר לאחסנה לאחר הקטיף (Maalekuu et al., 2003). מצאנו כי שילוב של שטיפה חמה ואריזה מאפשרת לאחסן פלפל בטמפרטורות תת-אופטימליות המהוות טיפול הסגר כנגד זבוב הים התיכון, כמעט מבלי לפגום באיכותו. כצפוי, פרי אדום נמצא עמיד יותר לנזקי צינה מפרי צהוב כיוון שידוע כי פירות אדומים איכותיים יותר באחסנה ממושכת מפירות צהובים. אולם, גם פרי צהוב יכול לעבור את טיפול ההסגר ב-4 או 1.5 מ"צ, כמעט מבלי לפגום באיכותו.

על מנת להשלים את המידע לגבי ההבדל ברגישות הזנים השונים לטמפרטורות התת-אופטימליות והשפעתן על קטילת הזבוב, בחנו את רגישות הרימות לטיפול ההסגר וקצב קטילת רימות אלו. התוצאות מציעות רגישות שונה לקור של רימות זבוב הים התיכון שהתפתחו בפרי פלפל אדום וצהוב. למרות שחשיפת רימות הזבוב ל-1.5 מ"צ קטלו את כול הרימות לאחר 10 ימים. רימות הזבוב נמצאו יותר רגישות לטיפול קור בפרי אדום מאשר בפרי צהוב. בנוסף, רימה בדרגה שנייה (L2) נמצאה רגישה יותר לטיפול קור כאשר ההדבקה הייתה בפרי האדום, בהשוואה לרימה בדרגה ראשונה (L1) שנמצאה הרגישה ביותר לטיפול בפרי צהוב. בשני הזנים, רימה בדרגה שלישית (L3) נמצאה עמידה יותר לטיפול הקור. הבדלים ברגישות הרימות לטיפול הקור נובעת, כנראה, מטיב המרכיבים התזונתיים הנמצאים בפרי האדום וטעימות זן זה לרימה. דבר זה גורם לרימה לאכול יותר מהפרי האדום, בהשוואה לפרי הצהוב והדבר בא לידי ביטוי בהצטברות שומנים וחלבונים ברימה. העובדה שרימת L2 רגישה יותר מ-L12 ו-L3 לקור בפרי אדום מחזקת את ההיפותזה כי פרי אדום מעודף על ידי הרימה מפרי צהוב. ידוע כי רימת L2 צוברת מהר יותר מטבוליטים, ושיעור המטבוליזם גבוה יותר בשלב זה יותר מאשר בשלב L1 ו-L3. לכן, הרגישות הגבוהה של רימת L2 בפרי אדום קשורה לשיעור המטבוליזם הגבוה ברימה, דבר הגורם למוות מהיר יותר בסביבה קרה. בפרי צהוב L2 נמצא פחות רגיש והדבר, יתכן ונובע, משיעור מטבוליזם נמוך כתוצאה טעימות נמוכה יותר של זן זה. אולם, יש להמשיך ולחקור את ההיפותזה הנ"ל.

3.9. השפעת אחסון בטמפרטורת צינה על איכות תזונתית ומרכיבי ארומה בפלפל

אלי פליק, Kumar Lama, יעקב פרצלן, שרון אלקלעי-טוביה

היבט חשוב של השפעת טמפרטורת צינה הינו מידת ההשפעה על איכויות תזונתיות ותכולת מרכיבי טעם וארומה ויש חשיבות גבוהה למחקר של היבט זה. היכולת להתאים שיטות אחסון, פיתוח טיפולים מקדימים לאקלימצייה של הפרי לעקת הצינה, פיתוח שיטות לזיהוי מוקדם של נזקי צינה הינם חשובים אך במקביל יש צורך במידע לגבי ההשפעה של עקת הצינה על מרכיבים שיש להם חשיבות מסחרית כגון איכות תזונתית וסנסורית. בוצע מחקר בפלפל על מנת להעמיק את הידע, שכמעט ואינו קיים, בהיבט חשוב זה של השפעת עקת הצינה על איכות התוצרת הטרייה באחסון לאחר הקטיף. הניסויים נערכו עם הזן האדום קנון והזן הצהוב דינמו שנקטפו בדצמבר, פברואר ומרץ. הפירות נשטפו בהתאם להמלצות ונארזו בביטנת Xtend, Xf-100 (סטפק, בע"מ, תפן, ישראל). פירות ללא ביטנה שמשו כביקורת. הפירות אוחסנו ב-7 מ"צ (טמפרטורה מיטבית לפלפל) וב-4 ו-1.5 מ"צ למשך 21 ימים ועוד 3 ימים ב-20 מ"צ. המרכיבים התזונתיים נבדקו כמתואר (Lama et al., 2016). כלל הפנולים נבדקו עם ראגנט Folin-Ciocalteu (סיגמא-אולדריץ). חיזור תרכובת הריאגנט משחרר תוצר כחול באורך גל של 765 nm. התוצאות בוטאו בשווה ערך לחומצה גאלית. פעילות נוגדי חמצון הידרופילים נבדקו בעזרת ABTS וטרולוקס והתוצאות בוטאו בטרולוקס אקוויאלנט. ויטמין סי נבדק בעזרת קיט (HI3850, ascorbic acid test kit – Hanna Instruments, RI, USA). התוצאות בוטאו במ"ג ל-100 ג רקמת פלפל טרייה. כל טיפול הכיל 5 חזרות, כשכול חזרה הכילה 3 פירות (סה"כ 15 פירות לטיפול). חומרי ארומה – נבדקו בעזרת גז-כרומטוגרף-מס ספקטרה (אג'לנט טכנולוג'יסט, קליפורניה, ארה"ב) על ידי הכנת רקמה טחונה של פלפל בפלח וספיחת הנדיפים בעזרת SPME (סופלקו, פנסילבניה, ארה"ב). הנדיפים זוהו על ידי ספרית נדיפים מול סטנדרטים. לאנליזה סטטיסטית התוצאות נותחו בעזרת JMP על ידי מבחן חד-או דו-כיווני. קורלציה זוגית נעשתה למצאו הבדלים מובהקים בין המדדים החשובים שבדקנו.

3.9.1. השפעה על תכולת מרכיבים תזונתיים

טבלה 1-3.9: תכולת וויטמין סי (מ"ג ל-100 ג') בפלפל אדום מזן קנון ופלפל צהוב מזן דינמו שנארז בביטנת Xtend, בהשוואה לפרי לא ארוז, לאחר 21 ימים באחסנה ב-1.5, 4 ו-7 מ"צ ו-3 ימים נוספים ב-20 מ"צ. נערכו 3 קטיפים (H1 – דצמבר, H2 – פברואר, H3 – מרץ) ובכול קטיפ נבדקו ל-15 פירות לטיפול.

פלפל צהוב			פלפל אדום			טיפול
קטיפ H3	קטיפ H2	קטיפ H1	קטיפ H3	קטיפ H2	קטיפ H1	
211	193	179	211	194	188	7 מ"צ-ביקורת
202	208	179	203	207	184	7 מ"צ-ארוז
204	214	184	197	201	182	4 מ"צ-ביקורת
214	210	182	216	191	182	4 מ"צ-ארוז
195	225	165	193	206	174	1.5 מ"צ-ביקורת
222	201	172	222	211	169	1.5 מ"צ-ארוז
19	18	8	17	16	10	LSD
ממוצע של טמפרטורות האחסנה						
207	201	179	207	200	186	7 מ"צ
209	212	183	207	196	182	4 מ"צ
209	213	168	208	209	171	1.5 מ"צ
13	12	6	12	11	7	LSD
ממוצע של אריזה						
203	211	177	200	200	181	ביקורת (לא ארוז)
213	206	178	214	196	178	ארוז Xtend
11	10	5	10	9	6	LSD
מבחן השונות (P-value)						
		****			***	טמפרטורה (ט)
			*			אריזה (א)
*	*		*			ט x א

*, **, *** , **** = מובהקות ברמה של 0.05, 0.01, 0.001 ו-0.0001, בהתאמה

ברוב טיפולי הטמפרטורות הנמוכות לא נמצאו הבדלים מובהקים בתכולת ויטמין סי בזנים השונים, שנארזו או שאוחסנו ללא אריזה. בנוסף, תכולת הויטמין סי בשתי טמפרטורות האחסנה היו דומות, מלבד בקטיפ דצמבר (H1), בפרי אדום. מבחן השונות הראה כי אחסנת הפלפל באריזת Xtend לא השפיעה על תכולת ויטמין סי בכול חודשי הקטיפ. תכולת ויטמין סי עלתה במהלך חודשי הקטיפ (טבלה 1-3.9).

טבלה 2-3.9: תכולת פנולים כלליים (mmol GAE/100 mg dry weight) בפלפל אדום מזן קנון ופלפל צהוב מזן דינמו שנארוז בביטנת Xtend, בהשוואה לפרי לא ארוז, לאחר 21 ימים באחסנה ב-1.5, 4 ו-7 מ"צ ו-3 ימים נוספים ב-20 מ"צ. נערכו 3 קטיפים (H1 – דצמבר, H2 – פברואר, H3 – מרץ) ובכול קטיפ נבדקו ל-15 פירות לטיפול.

פלפל צהוב			פלפל אדום			טיפול
קטיפ H3	קטיפ H2	קטיפ H1	קטיפ H3	קטיפ H2	קטיפ H1	
302	393	380	301	435	311	7 מ"צ-ביקורת
339	410	474	333	497	435	7 מ"צ-ארוז
386	380	390	280	426	373	4 מ"צ-ביקורת
417	419	433	331	465	408	4 מ"צ-ארוז
324	387	440	256	364	333	1.5 מ"צ-ביקורת
412	470	446	350	494	429	1.5 מ"צ-ארוז
23	26	25	27	27	26	LSD
ממוצע של טמפרטורות האחסנה						
321	402	427	317	466	373	7 מ"צ
401	400	412	305	445	390	4 מ"צ
368	429	443	303	429	381	1.5 מ"צ
16	18	18	19	19	18	LSD
ממוצע של אריזה						
337	387	403	279	408	339	ביקורת (לא ארוז)
389	433	451	338	485	424	Xtend ארוז
13	15	14	15	16	15	LSD
מבחן השונות (P-value)						
****	**	**		***		טמפרטורה (ט)
****	****	****	****	****	****	אריזה (א)
***	**	****	**	****	****	ט X א

*, **, *** = מובהקות ברמה של 0.05, 0.01, 0.001 ו-0.0001, בהתאמה

תכולת הפנולים הכלליים בפרי אדום ארוז הייתה גבוהה משמעותית מתכולת הפנולים בפרי ללא אריזה בכול הטמפרטורות ובשלושת חודשי הקטיפ (טבלה 2-3.9). בנוסף, תכולת הפנולים בפירות שאוחסנו ב-1.5 מ"צ, באריזה, הייתה דומה לתכולת הפנולים בפירות הארוזים שאוחסנו ב-7 מ"צ. אולם, פירות שאוחסנו ב-1.5 מ"צ ללא אריזה היו עם תכולת פנולים נמוכה משמעותית, בהשוואה לשאר הטיפולים. מבחן השונות הראה השפעה משמעותית מאד של האריזה על תכולת הפנולים הכלליים. נמצאה השפעת גומלין משמעותית בין האריזה וטמפרטורת האחסנה, בכול הקטיפים. יתרה מזאת, תכולת הפנולים הלכה וירדה עם התקדמות העונה (טבלה 2-3.9).

תוצאות דומות התקבלו גם בפירות הצהובים בפירות ארוזים, בהשוואה לפירות ללא אריזה (טבלה 2-3.9). בקטיפי פברואר ומרץ, תכולת הפנולים בפרי ארוז שאוחסן ב-1.5 מ"צ הייתה גבוהה משמעותי בהשוואה לפני ארוז שאוחסן ב-7 מ"צ. מאידך, פרי שאוחסן ב-1.5, ללא אריזה, הכיל פנולים ברמה נמוכה משמעותית, בהשוואה לכול הטיפולים האחרים. מבחן השונות הראה השפעה משמעותית של טמפרטורת האחסנה והאריזה על תכולת הפנולים בזן הצהוב. השפעת גומלין משמעותית נמצאה בין הטמפרטורה והאריזה בכול מועדי הקטיפי וגם בזן זה תכולת הפנולים ירדה עם התקדמות העונה (טבלה 2-3.9).

טבלה 3-3.9: מקדם המתאם של איבוד משקל (WL), נזקי צינה (CI), חומרת נזקי הצינה (CINX), ריקבון (D), רמת סוכר (TSS), גמישות (EL), ויטמין סי (VC), נוגדי חמצון הידרופיליים (HA) ותכולת פנולים (TP) בזן פלפל אדום (קנון) לאחר 21 ימים ב-1.5 מ"צ ו-3 ימים נוספים ב-20 מ"צ, בשילוב עם אריזה.

טיפול	CI	CINX	D	TSS	EL	VC	HA	TP
WL	0.95**	0.94**	-0.17	-0.37	0.59	-0.45	-0.53	-0.58
CI		0.99****	-0.35	-0.49	0.68	-0.45	-0.63	-0.41
CINX			-0.36	-0.48	0.72	-0.48	-0.59	-0.46
D				0.92*	-0.79	0.64	0.80	-0.36
TSS					-0.83*	0.79	0.94**	-0.33
EL						-0.88**	-0.72	-0.18
VC							0.63	-0.10
HA								-0.30

*, **, ***, **** = מובהקות ברמה של 0.05, 0.01, 0.001 ו-0.0001, בהתאמה

מקדם המתאם בפרי אדום מראה על יחס גבוה וחיובי בין איבוד משקל ונזקי צינה ברמה של $P=0.01$. יחס דומה נמצא גם עם חומרת נזקי הצינה. יחס גבוה וחיובי נמצא גם בין אחוז נזקי הצינה וחומרת נזקי הצינה ברמה של $P=0.0001$. אחוז הריקבון נמצא במתאם משמעותי גבוה וחיובי עם רמת הסוכר, כאשר רמת הסוכר ותכולת נוגדי חמצון הידרופיליים נמצאו גם כן במתאם גבוה. גמישות הפרי נמצאה במתאם גבוה אך שלישי עם ויטמין סי (טבלה 3-3.9). בפרי צהוב, מקדם המתאם הראה מובהקות גבוהה וחיובית בין איבוד המשקל לנזקי הצינה ברמה של $P=0.05$. מקדם מתאם דומה נמצא גם בין אחוז נזקי הצינה לבין חומרת נזקי הצינה. תכולת סוכר נמצאה במתאם גבוה וחיובי עם ויטמין סי (טבלה 4-3.9).

טבלה 3.9-4: מקדם המתאם של איבוד משקל (WL), נזקי צינה (CI), חומרת נזקי הצינה (CINX), ריקבון (D), רמת סוכר (TSS), גמישות (EL), ויטמין סי (VC), נוגדי חמצון הידרופיליים (HA) ותכולת פנולים (TP) בזן פלפל צהוב (דינמו) לאחר 21 ימים ב-1.5 מ"צ ו-3 ימים נוספים ב-20 מ"צ, בשילוב עם אריזה.

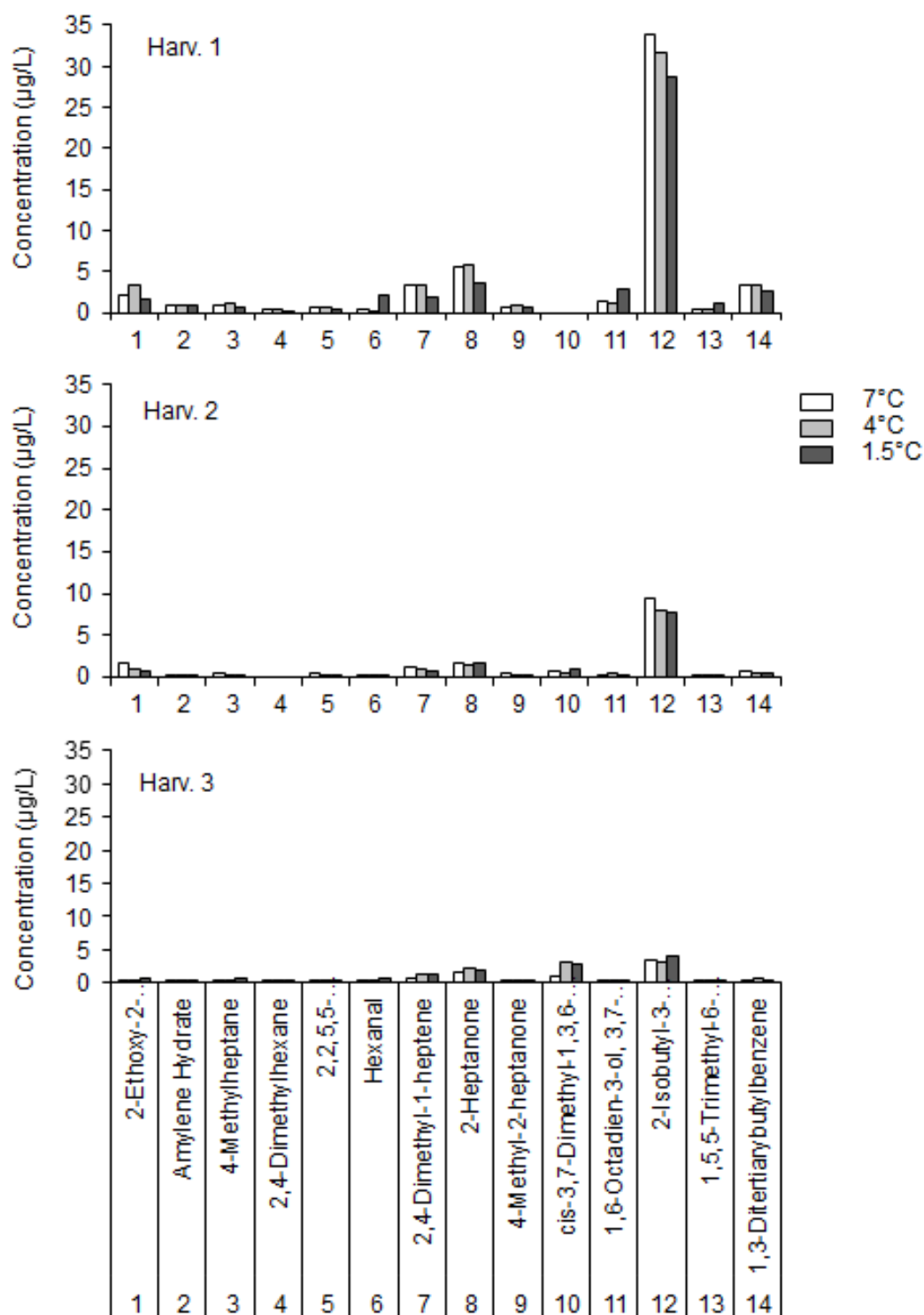
טיפול	CI	CINX	D	TSS	EL	VC	HA	TP
WL	0.86**	0.72	-0.15	-0.30	0.41	-0.24	-0.20	0.67
CI		0.89**	-0.34	-0.66	0.45	-0.38	-0.25	0.50
CINX			0.04	-0.41	0.74	-0.05	0.14	0.32
D				0.72	0.37	0.65	0.96**	-0.40
TSS					0.09	0.81*	0.53	-0.18
EL						0.29	0.37	0.42
VC							0.52	-0.31
HA								-0.51

3.9.2. השפעה על תכולת חומרי ארומה

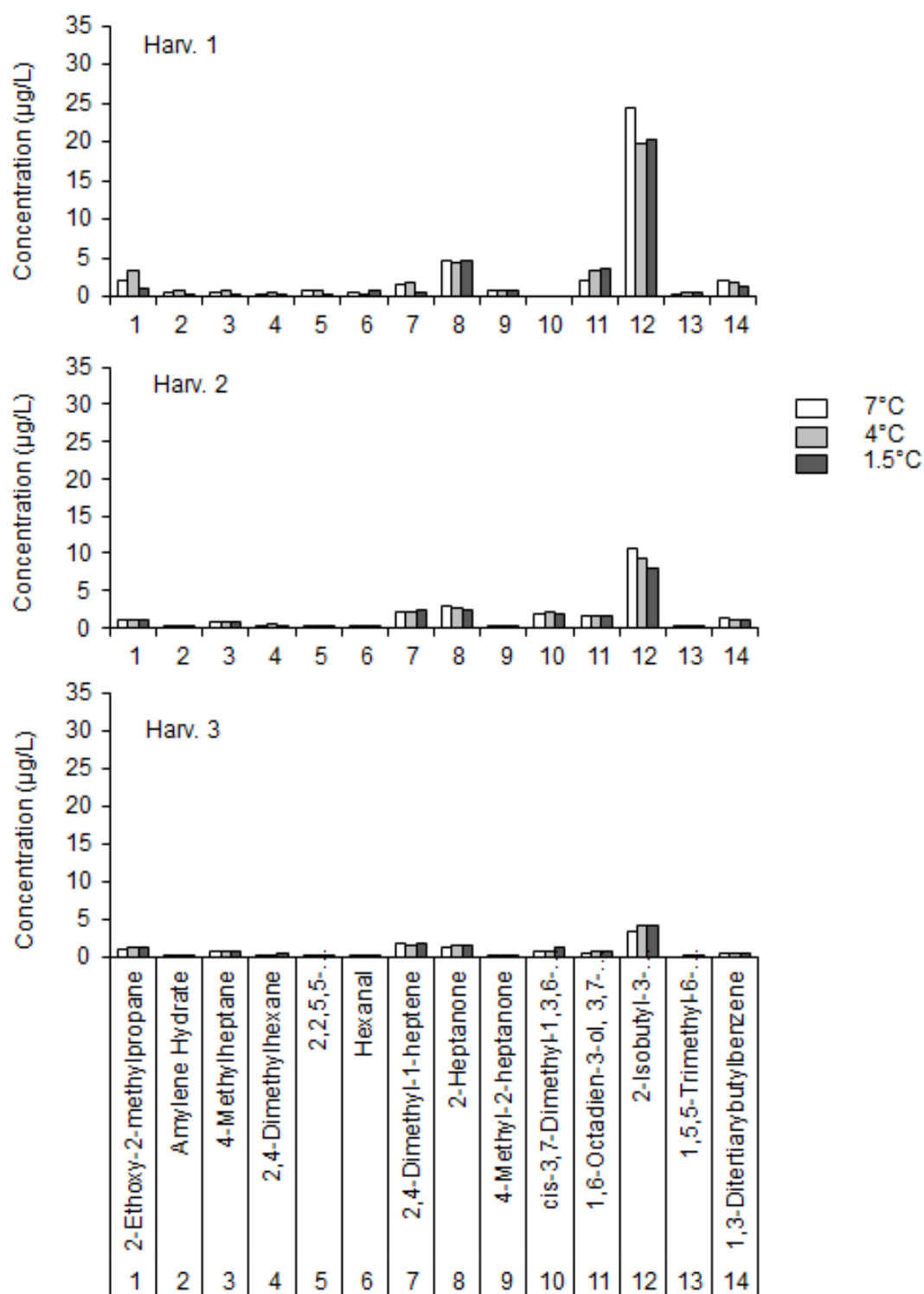
במחקר זה מצאנו וזהינו 37 חומרי ארומה בשני הזנים שבדקנו. מתוך 37 נדיפים, 14 הנדיפים המפורטים בטבלה 3.9-5 נמצאו ברמה הגבוהה ביותר.

טבלה 3.9-5: תיאור נדיפי הארומה החשובים שנמצאו בשני זני הפלפל לאחר 21 ימים בטמפרטורות השונות ו-3 ימים נוספים ב-20 מ"צ

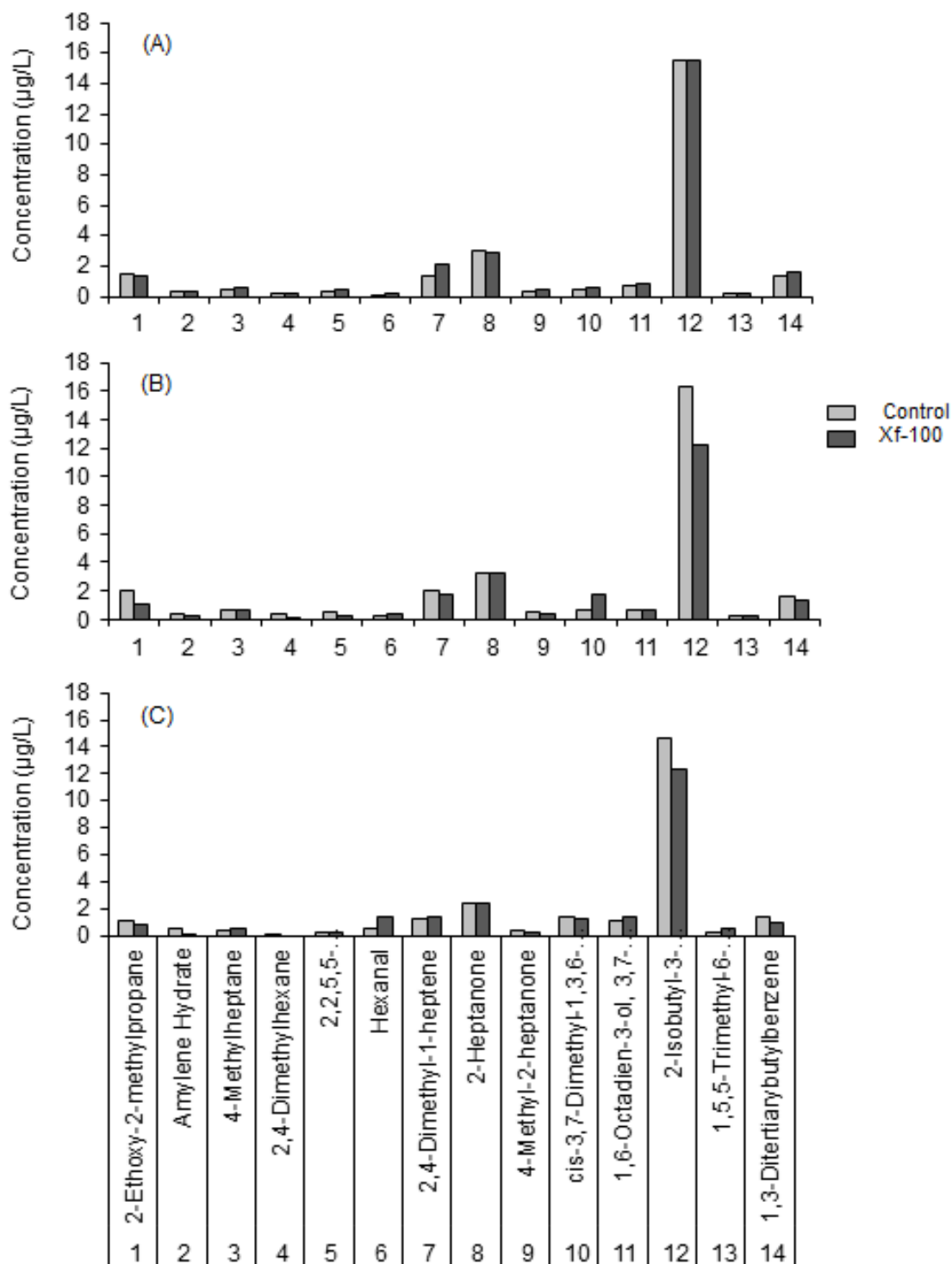
חומר מספר	נדיף	אפיון הריח
1	2-ethoxy-2-methylpropane	דמוי קומפור-חד
2	Amylene hydrate	חריף
3	4-methylheptane	מעושן
4	2,4-dimethylhexane	ירוק
5	2,2,5,5-tetramethyltetrahydrofuran	דמוי קומפור-חד
6	Hexanal	עשבוני-ירוק (לא בשל)
7	2,4-dimethyl-1-heptene	פירותי, מתוק
8	2-heptanone	פירותי, ספייסי
9	4-methyl-2-heptanone	כמו זפת-לא נעים
10	Cis-3,7-dimethyl-1,3,6-octatriene	פרחי-מתוק
11	1,6-octadien-3-ol-3,7-dimethyl-2-aminobenzoate	פרחי, פלפל ירוק
12	2-isobutyl-3-methoxypyrazine	פלפל ירוק-אדום
13	1,5,5-trimethyl-6-methylene-cyclohexene	פירותי-פרחי
14	1,3-ditertiarybutylbenzene	מתוק



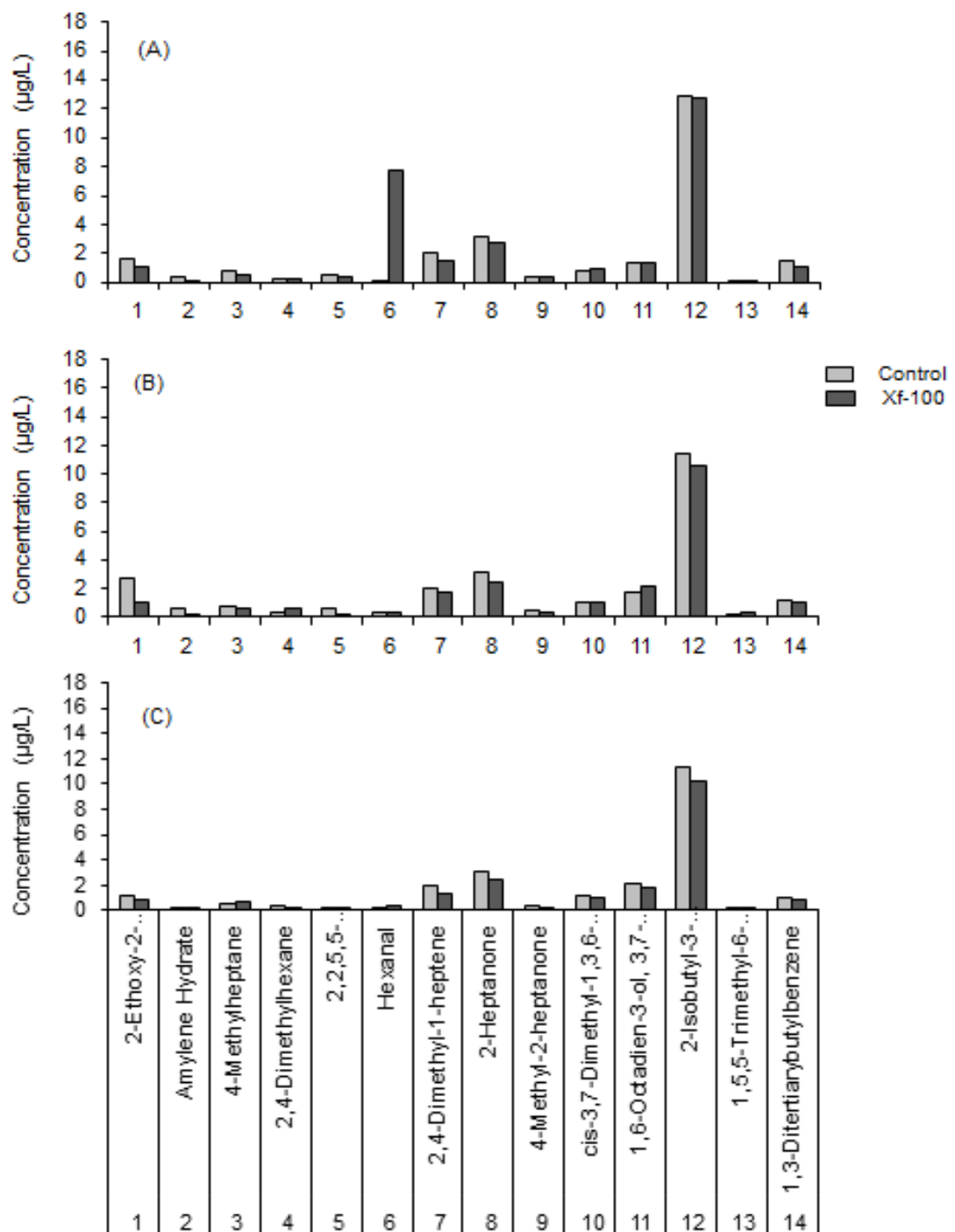
איור 1-3.9: השוואת הנדיפים העיקריים בפלפל אדום מזן קנון לאחר 3 שבועות באחסנה ב-1.5, 4 ו-7 מ"צ ו-3 ימים נוספים ב-20 מ"צ. הקטיפים נעשו בדצמבר (H1), פברואר (H2) ומרץ (H3). כל ניסוי מייצג 5 חזרות.



איור 2-3.9: השוואת הנדיפים העיקריים בפלפל צהוב מזן דינומו לאחר 3 שבועות באחסנה ב-1.5, 4 ו-7 מ"צ ו-3 ימים נוספים ב-20 מ"צ. הקטיפים נעשו בדצמבר (H1), פברואר (H2) ומרץ (H3). כל ניסוי מייצג 5 חזרות.



איור 3-3.9: השוואת הנדיפים העיקריים בפלפל אדום מזן קנון לאחר 3 שבועות באחסנה ב-1.5, 4 ו-7 מ"צ ו-3 ימים נוספים ב-20 מ"צ שנארגז בביטנת Xtend (Xf-100) או ללא אריזה. (A) 7- מ"צ, (B) 4- מ"צ, (C) 1.5 מ"צ.



איור 3-9: השוואת הנדיפים העיקריים בפלפל צהוב מזן דינמו לאחר 3 שבועות באחסנה ב-1.5, 4 ו-7 מ"צ ו-3 ימים נוספים ב-20 מ"צ שנארו בביטנת Xtend (Xf-100) או ללא אריזה. (A) 7- מ"צ, (B) 4- מ"צ, (C) 1.5- מ"צ.

פירות שנקטפו בחודש דצמבר היום עם תכולת נדיפים גבוהה יותר, בהשוואה לתכולת הנדיפים בחודש מרץ, בשני הזנים (איור 1-3.9 ו-2-3.9). פרי אדום נמצא עם תכולת נדיפים גבוהה יותר מפרי צהוב. הנדיף פירזין (12) האחראי על הריח האופייני לפלפל נמצא גבוה בשני הזנים, אך רמתו ירדה

עם הירידה בטמפרטורת האחסנה (איור 1-3.9 ו-2-3.9). הקסנאל (6) האחראי על הריח הירוק נמצא גבוה בטמפרטורות האחסנה הנמוכות, דבר המעיד על עיכוב בהבשלת הפרי.

כאשר נערכה השוואה בין פירות שאוחסנו עם או ללא ביטנה (איורים 3-3.9 ו-4-3.9), רמות הנדיפים בשני טיפולים אלה, בטמפרטורת אחסנה של 7 מ"צ, היו דומות. באופן כללי ניתן לראות כי רמות הנדיפים בפרי ארוז היו דומות או מעט נמוכות מרמות הנדיפים בפרי שאוחסן ללא אריזה. מאידך, הקסנאל (6) נמצא ברמה גבוהה בפרי צהוב ארוז שאוחסן ב-7 מ"צ (איורים 3-3.9 ו-4-3.9).

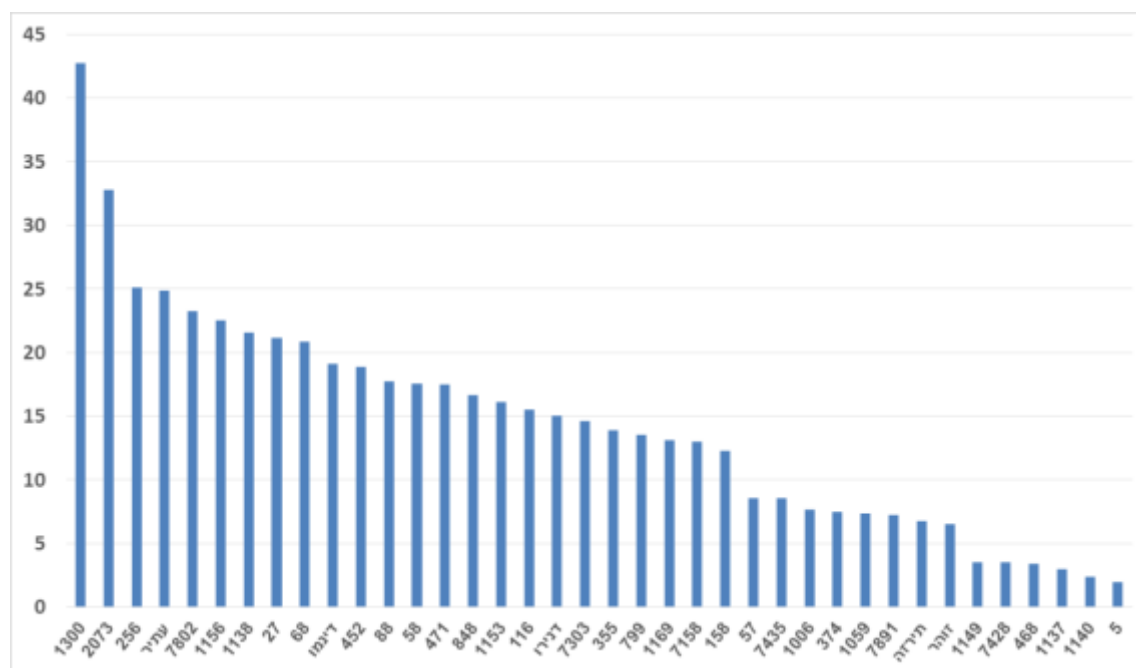
סיכום - אחסנת הפרי האדום והצהוב השטוף והארוז ב-1.5 ו-4 מ"צ הראו ירידה בהתפתחות נזקי צינה ובאנדקס נזקי צינה נמוך, ירידה משמעותית בהתפתחות ריקבון, ירידה משמעותית באיבוד משקל, ובפרי מוצק יותר, בהשוואה לפרי לא ארוז ופרי שאוחסן בטמפרטורה האופטימאלית (7 מ"צ) הרמת מובהקות של 0.05. פרי צהוב נמצא רגיש יותר להתכלות פיסילוגית (איבוד מים, גמישות ונזקי צינה) ופתולוגית (התפתחות ריקבון), בהשוואה לפרי אדום. לא נמצאו הבדלים ברמת הסוכר, בין הטיפולים השונים, בשלושת הטמפרטורות (תוצאות מהשנתיים הראשונות של המחקר). לא נמצאו הבדלים ברמות הפנולים, החומרים נוגדי חמצון וויטמין סי בטיפולים השונים, בטמפרטורות הנמוכות, בהשוואה לטיפולים שאוחסנו ב-7 מ"צ. אנליזת של השונות (Analysis of variance) הראתה כי טמפרטורת האחסנה ואריזת הפרי השפיעו בצורה מובהקת על איבוד משקל, אחוז נזקי הצינה, אינדקס נזקי הצינה, כלל תכולת הפנולים והחומרים נוגדי החמצון. נמצאה השפעת גומלין גבוהה בין הטמפרטורה לבין האריזה. זוהו 37 חומרים נדיפים האחראים על הריח 'הפרחי', 'חרירי', 'פירותי', 'ירוק' וריח 'הפלפל – פיראזין', בשלושת הטמפרטורות. אולם, ככול והטמפרטורה הייתה נמוכה יותר, כמות הנדיפים הארומטיים ירדה. רמת הנדיף 'פיראזין' (2-Isobutyl-3-methoxypyrazine) האחראי לריח ה"פלפלי" האדום והירוק, הייתה הגבוהה ביותר, בהשוואה לשאר הנדיפים. 'הקסנאל' האחראי על ריח "ירוק" (בוסר) עלה בפרי שנארג ב-Xf-100. למרות רמתם הנמוכה של החומרים הנדיפים בטמפרטורות הנמוכות, הפירות היו ארומטיים ולא חסרי ריח.

לסיכום, איכותם הפנימית, החיצונית, ובעיקר התזונתית והסנסורית, של הפרי האדום והצהוב שאוחסן ב-4 או 1.5 מ"צ, בתוך ביטנה, כטיפול הסגר כנגד זבוב הים התיכון, הייתה דומה לפירות שאוחסנו ב-7 מ"צ, בתוך ביטנה. בעתיד, היחסים בין אחסנה בטמפרטורות תת-אופטימאליות לאיכות תזונתית והסנסורית, חייבים להיבחן בזנים שונים של הפלפל על מנת לקבל מידע בהיבט המולקולארי והביוכימי על מנגנון הפעולה של היווצרות חומרי ארומה הדרושים לקבלת פרי איכותי מההיבט הצרכני.

3.10. אפיון רגישות/סבילות פירות פלפל מקווים שונים לצינה באחסון

אמנון לרס, יוסי ביבס, יונתן אלקינד ואלי פליק

לפלפל, רגישות גבוהה יחסית לקור ונזקי הצינה מתפתחים בפרי בטמפרטורות הנמוכות מ- 7 מ"צ. נזקי הצינה בפלפל מאופיינים בהתמוטטות רקמת הקליפה ושקיעה שלה וכן בהאצה בתהליך איבוד מים ומשקל שמאפיינים במיוחד את הפלפל במהלך האחסון. קיימים גם הבדלים משמעותיים במידת הרגישות לצינה כתלות בדרגת ההבשלה של הפרי, נזקי הצינה גבוהים בהרבה בפרי הירוק ועל כן בהמשך הניסויים שבוצעו בשנה השנייה של המחקר התמקדנו באפיון הנזקים והשונות ברגישות ובסבילות לצינה בפרי בשלב ההבשלה ירוק-בוגר על מנת להגדיל את רגישות האנליזות. בשנה הראשונה למחקר מחקר השוואתי לבחינת קיום שונות סבילות/רגישות לצינה בקווים מטיפוסים שונים השייכים למין התרבותי *Capsicum annuum*. בשלב זה, אנו מעוניינים לסקור קווים הרלוונטיים יותר מבחינת היכולת לשימוש מידי בתוכניות השבחה לשיפור הסבילות לצינה. ד"ר יונתן אלקינד (הפקולטה לחקלאות, השותף למחקר זה) דאג לגידול של כ-40 קווי פלפל כאלו הרלוונטיים מבחינה מסחרית וטיפולית והם גודלו בשתי חלקות בחממה בעין יהב. בוצעו כ-6 קטיפים והתוצאות המובאות



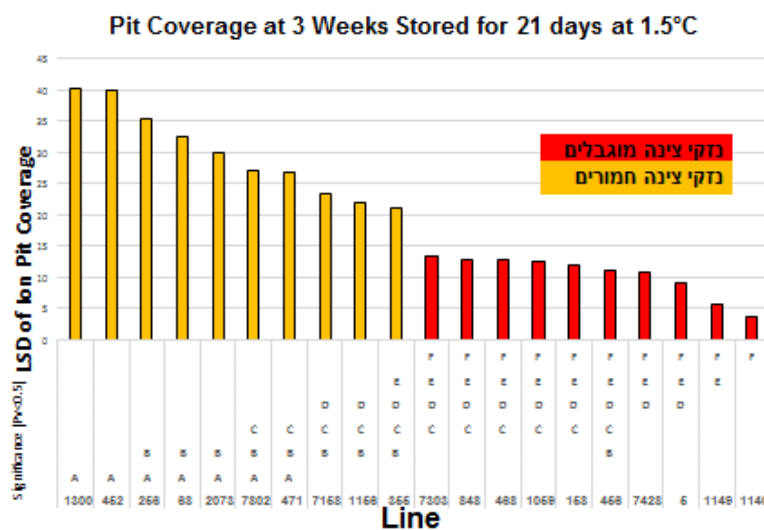
איור 3.10-1: אפיון חומרת התפתחות נזקי צינה בפירות פלפל מקווים השונים. פירות נקטפו בשלב ירוק-בוגר. אינדקס נזקי הצינה מבוסס באחוזים ומבטא את חומרת נזקי הצינה ונקבע לפי אחוז כיסוי הפלפל בחטטים כתוצאה משקיעת הרקמה לאחר אחסון הפרי למשך

באיור 3.10-1 מדגימות קיום שונות כזו שכנראה מקורה הוא גנטי.

להמשך המחקר נבחרו מתוך 40 הקווים התחלתיים 20 קווים שעל סמך תוצאות האנליזות בעונה הראשונה נבדלים באופן משמעותי לשתי קבוצות על סמך מידת הרגישות לצינה של הפרי באחסון-10 קווים המראים סבילות גבוהה יחסית ו-10 קווים המראים רגישות גבוהה יחסית. קווי פלפל אלו נשתלו שוב ב-3 חלקות בחממת הגידול בעין יהב ובוצעו כ-4 קטיפים וניסויי אחסון בצינה על מנת

לחזור ולבדוק את השונות הגנטית בתכונת הסבילות/רגישות לצינה של הפרי הירוק בעת האחסון בתנאי צינה לאחר הקטיפה.

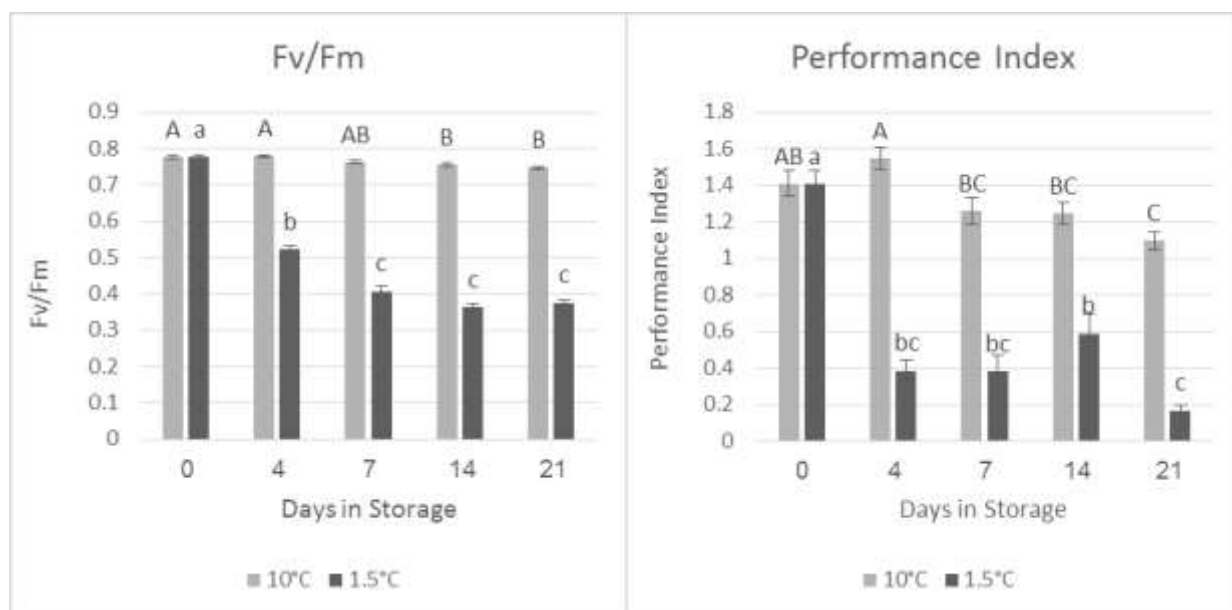
תוצאות האנליזה ההשוואתית חיזקה את הממצאים לגבי קיום הבדלים משמעותיים החוזרים על עצמם בניסויים השונים במידת הסבילות/רגישות לצינה באחסון של פרי הפלפל מהקווים/הזנים השונים.



איור 3.10-2: התפתחות נזקי צינה ב- 20 זני/קווי פלפל שגודלו בחממה מסחרית בעין יהב בעונת 2015/2016. בוצעה הערכה ויזואלית של חומרת ושטח כיסוי פגמים בקליפת הפלפל לאחר אחסון הפרי במשך שלשה שבועות בטמפרטורה של 1.5 מ"צ. קווים המוצגים באדום הינם הזנים שפירותיהם הראו יותר סבילות לצינה באחסון ובצהוב אלו שהראו רגישות גבוהה יחסית. ערכי עמודות עם סימול שונה נבדלים זה מזה במידה מובהקת (p < 0.05) במבחן Tukey.

נבחנו האפשרות להשתמש במחקר עם הפלפל במדדי הפלאורוסנציה של הכלורופיל, F_v/F_m וה- PI, Performance Index, שתוארו בפרק 3.2 כמדד לזיהוי קיום עקת צינה במלפפון. כיוון שהמחקר בפלפל נערך על פרי בוגר שהינו ירוק ובעל רקמה מתפקדת מבחינה פוטוסינטטית יש מקום לבחון את השימוש במדד זה ככלי לאבחון של מידת הסבילות/רגישות לצינה באחסון. לשם כך בוצעו ניסויים מקדימים תוך שימוש בפרי ירוק מהזן Romance שפירותיו הירוקים-בוגרים אוחסנו בטמפרטורת צינה של 1.5 מ"צ וטמפרטורה נמוכה של 10 מ"צ, שאינה מהווה עקת צינה כביקורת. שני המדדים הפלאורוסנצטיים נמדדו בזמנים שונים במהלך האחסון בקור לשם בחינת ההשפעה על שינוי בערכיהם. כפי שניתן לראות באיור 3.10-3 ניתן לראות שיש בפירות שאוחסנו בתנאי צינה ירידה מובהקת בשני המדדים כבר אחרי 4 ימים. ההשפעה של האחסון על המדדים הללו בפירות שאוחסנו בטמפ' מיטבית של 10 מ"צ מינורית והם נשארים יחסית גבוהים לאורך כל תקופת האחסון. לעומת זאת בטמפרטורה של 1.5 מ"צ המהווה עקת צינה, מדד ה- F_v/F_m מתחיל לרדת כבר ביום הרביעי לאחסון לרמת ביניים ומגיע לשפל לאחר שבוע בו הוא נשאר לאורך הניסוי. מדד ה- PI יורד לשפל כבר ביום הרביעי ונשאר בו לאורך כל תקופת האחסון בקור. תוצאות אלה מעידות על כך שאת מדד ה- PI כדאי למדוד רק בארבעת הימים הראשונים לאחסון ולעומת זאת מדד F_v/F_m מגיב יחסית יותר לאט לעקת הצינה ונראה שכדאי למדוד לאורך שבוע הראשון בעת האחסון בקור. תוצאות אלו דומות

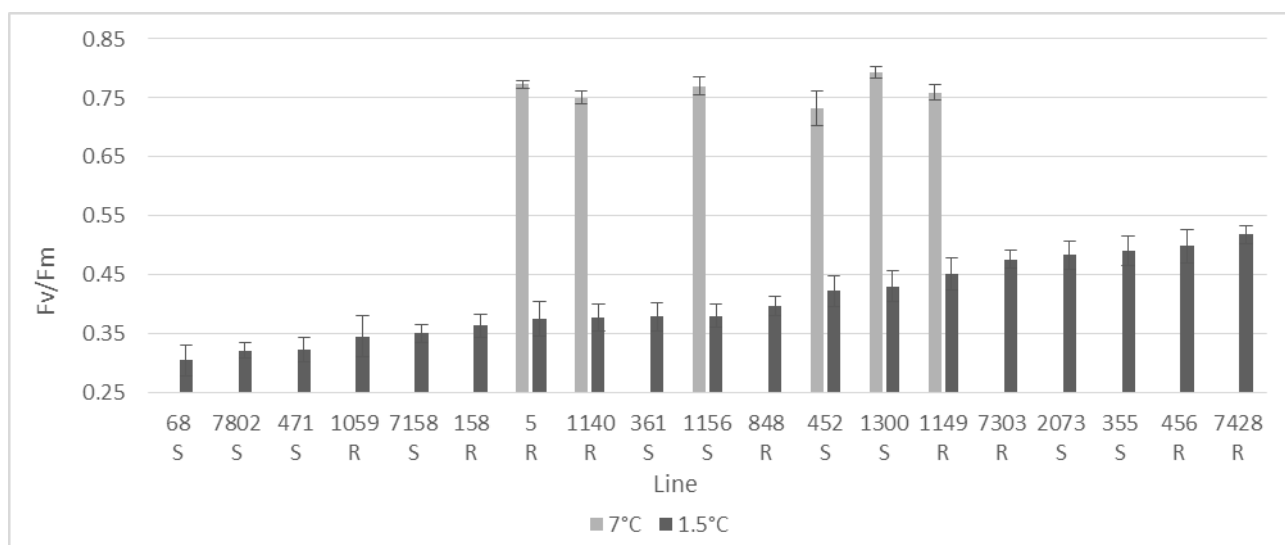
בהיבט התגובה המהירה והרגישה יותר לצינה של מדד ה- PI לתוצאות שהודגמו בעת ביצוע הניסויים המקבילים בפרי המלפפון בפרק 3.2.



איור 3-3.10: מדד הפלואורוסנציה Fv/Fm (גרף שמאלי) ומדד במדד הביצוע PI (performance index) (גרף ימני), בפירות ירוקים מזן 'Romance' שאוחסנו לתקופות שונות בטמפ' צינה 1.5 מ"צ ובטמפ' מיטבית 10 מ"צ. בכל קבוצה נבדקו 7 פרטים. המדידות בוצעו באמצעות מכשיר Handy PEA. אותיות גדולות וקטנות מסמלות הבדלים ברמת מובהקות 1% לפי מבחני Tukey שנעשו לכל טמפ' אחסון בנפרד.

על מנת לבחון את אפשרות השימוש במדד הפלואורוסנציה Fv/Fm בוצעה אנליזה של מקטעי פרי ירוק בשל מ- 9 קווים שאופיינו כבעלי סבילות גבוהה יחסית לאחסון בתנאי צינה ומ- 10 קווים שפירותיהם הוגדרו כבעלי רגישות יחסית רבה יותר לתנאי צינה וזאת על פי אפיון ויזואלי של נזקי הצינה שהתפתחו כמתואר באיורים 1-3.10 ו- 2-3.10. לא נמצא מתאם ברור בין הגדרת מידת הרגישות לצינה על פי מדד ויזואלי לבין תוצאות מדידות המדד הפלואורוסנטי (איור 3-3.10). במחקר מקביל שמבוצע בפרי העגבנייה לאפיון השונות הגנטיות לתכונת הסבילות לצינה באחסון של פרי העגבנייה בקווים שונים באוכלוסיית RIL בו נעשה שימוש בפרי ירוק בוגר כן נמצא מתאם גבוה בין הירידה במדד הפלואורוסנציה Fv/Fm לבין רגישות הפרי לאחסון בתנאי צינה על פי מדד ויזואלי של התפתחות נזקי צינה (תוצאות לא מובאות). כיוון שמדד הפלואורוסנציה ידוע במחקרים רבים

כמדד יחסית אמין להערכת מידת רגישות/סבילות לצינה יש מקום לחזור על ניסויים אלו בפלפל על מנת לוודא את הממצאים הנ"ל.

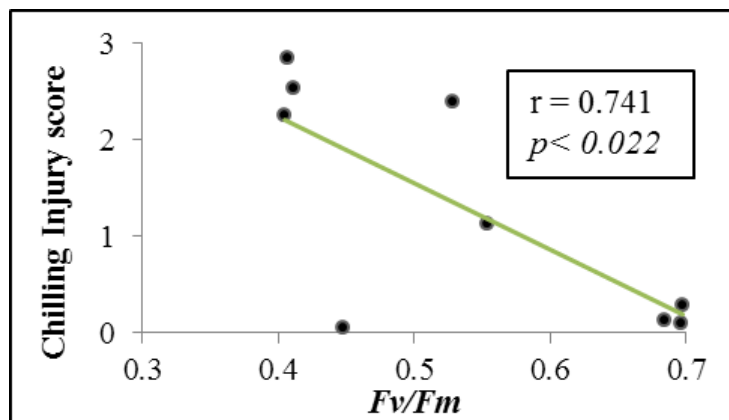


איור 3.10-4: מדד הפלואורסנציה Fv/Fm בפירות ירוקים מהקווים הנבחרים לאחר אחסון למשך 8 ימים בטמפ' צינה 1.5 מ"צ ובטמפ' מיטבית 7 מ"צ. נבדקו 9 קווים שהוגדרו כבעלי פירות סבילים יחסית לצינה (R) ו-10 קווים שפירותיהם הוגדרו כרגישים (S). מדד ה-Fv/Fm בטמפרטורת ביקורת של 7 מ"צ נבדק רק עבור 6 קווים מייצגים על מנת להראות שאין הבדלים בטמפרטורה זו שאינה מהווה עקת צינה.

בוצעו ניסויים על מנת להתחיל ולבחון את הקשר האפשרי בין מידת הסבילות/רגישות לצינה באחסון לבין מאפיינים של המערכת האנטיאוקסידטיבית. כאמור קיים די הרבה ידע בספרות במערכות צמחיות שונות לגבי מיתאם בין פעילות גבוהה יותר של מרכיבים במערכת האנטיאוקסידטיבית לבין סבילות טובה יותר לעקת צינה בצמחים. נערכו ניסויים לבחינת רמת פוטנציאל הפעילות הכללית של המערכת האנטיאוקסידטיבית בפירות פלפל מהקווים השונים (Miller and RiceEvans, 1997), וכן פעילות של מרכיבים אנזימטיים ספציפיים כגון קטלאז (Catalase) ואסקורבט פראוקסידאז (Ascorbate Peroxidase) אולם התוצאות עד כה לא תומכות בקשר בין מרכיבים אנטיאוקסידטיביים שנבדקו לבין מידת הסבילות או הרגישות לצינה באחסון.

נערכו ניסויים לבחינת מידת המתאם בין תגובת הפרי לצינה לאחסון לבין זו של הרקמה הווגטיבית, העלים או נבטים צעירים. מציאת קשר בתגובה לצינה בים הפרי לרקמה הווגטיבית יכולה להיות בעלת משמעות לצורך פיתוח דרכים לסריקה מהירה של קווי פלפל לאפיון תגובה לצינה וכן לתמיכה בהשבחה לא רק לצורך זיהוי קווים בהם הפרי בעל סבילות משופרת לאחסון בקור אלא גם לקווים בעלי יכולת עדיפה להתמודד עם עקת קור בזמן הגידול אשא לעיתים מהווה בעיה משמעותית בבתי הגידול. בוצעו ניסויים לבחינת המתאם בין רגישות/סבילות פרי הפלפל מהקווים השונים לאחסון לבין מידת הרגישות לצינה בעלים שהוגדרו בטמפרטורת צינה של 1.5 מ"צ תוך שימוש במדד הפלואורסנציה Fv/Fm שכאמור הודגם במערכות עלים רבות יחסית להוות מדד רגיש לקיום נזקי צינה. בניסויים אלו, שתוצאותיהם אינן כלולים נמצאה שונות במדד הפלואורסנציה אך לא ניתן היה

להדגים קיום מתאם ברור בין תכונת הרגישות/סבילות בפרי לבין זו שאופיינה בעלים של קווי הפלפל השונים. בניסויים דומים שבוצעו בעגבנייה אשר במהלכם אופיינו קווי אוכלוסיית RIL בהם נמצאה שונות בתכונת הסבילות לצינה של הפרי בשלב ירוק-בוגר לעקת צינה באחסון נמצאה מידה מסוימת



איור 5-3.10: בחינת המתאם בין סבילות לעקת צינה בפרי ועלה העגבנייה. בוצעה הערכה ויזואלית של מידת קיום נזקי צינה בפירות עגבנייה בשלב ירוק-בוגר (chilling injury score) בקווי אוכלוסיית RIL ובמקביל נמדד ערך Fv/Fm בעלים של אותם קווים (Fv/Fm) לאחר חשיפה לטמפרטורת צינה של 1.5 מ"צ למשך 14 יום.

של מתאם ברמת הסבילות לצינה של הפרי באחסון לבין זו של העלים (**איור 5-3.10**). אולם גם במערכת זו של העגבנייה המתאם אינו מאוד גבוה וכנראה ישנם הבדלים מהותיים במערכות הקובעות את מידת הרגישות/סבילות לצינה בשני סוגים אלו של רקמות, הפרי והעלה ויש לבצע ניסויים נוספים על מנת לבחון שאלה זו.

נבחנה האפשרות לבצע סריקה או אפילו סלקציה של נבטי פלפל ועגבנייה צעירים על מנת לנסות ולזהות בשלבים מוקדמים ביותר קווים שהינם בעלי סבילות גבוהה יותר לצינה. בניסויים המוקדמים שבצענו התעוררו קשיים עקב שונות בנביטת הזרעים של הקווים השונים מה שהוביל לשונות בגודל הצמחים דבר שיכול להשפיע על מידת הרגישות לצינה. בנוסף לכך נושא כיול התנאים מבחינת תנאי גידול ויישום תנאי עקת הקור היוו בעיה. לאור בעיות אלו וכן התצפיות הראשוניות לגבי חוסר קיום מתאם ברור בין תכונת הסבילות לצינה בפרי לבין זו שנצפתה בעלים הוחלט להמתין עם ניסויים נוספים בכיוון מחקר זה ולבצעם שוב לאחר שיהיו בידינו מספר קטן של קווי פלפל שפירותיהם באופן ברור נבדלים במידת הרגישות לצינה באחסון על מנת לבחון את האפשרות להבדיל ביניהם על פי מידת הרגישות לצינה בשלב הנבט.

3.11. הפחתת נזקי צינה בפירות מנגו באחסון

טלי גולדברג, דני גמרסני, שאול נשיץ, אלה צבילינג, היבא איברהים, לילך ברקוביץ, רונן שפיר,

יוסי יפין, הראל אגרא

הטמפרטורה הנמוכה ביותר בה ניתן לאחסן את מרבית זני המנגו ללא התפתחות נזקי צינה נעה בין 10 ל-13 מ"צ (Yahia, 2011). נזקי הצינה מופיעים בעיקר בקליפת הפרי בצורת צריבות וגומות, בהן אף קיימת רגישות גבוהה להתפתחות רקבונות. הנזקים בציפת הפרי מופיעים בעיקר במהלך חייו-מדף לאחר האחסון בקירור וגורמים לשינויי גוון אפורים ולהתפרקות הרקמה. כמו-כן מתבטאים נזקי הצינה בהבשלה לא אחידה, באובדן ניחוח וטעם (Medlicott et al., 1990) ובשינוי במגוון החומרים הנדיפים בקליפת הפרי ובציפה (Nair et al., 2004). ככל שהפרי נקטף בשל יותר פוחתת רגישותו לנזקי צינה (Mohammed and Brecht, 2002), אך לרוב לא ניתן לאחסן פרי בשל ליותר משבועיים ותקופה זו קצרה מדי למטרות משלוח ייצוא או ויסות השיווק. בניסוי זה נבחנו מספר משטרי קירור להפחתה של נזקי צינה בפירות מנגו מזן 'קיט' וכן בוצעו מספר בדיקות לזיהוי מוקדם של עקת הקור במהלך אחסון הפירות:

קירור הדרגתי לטמפרטורות אחסון נמוכה מטמפרטורת האחסון המקובלת (Galvez et al., 2010; Yang et al., 2012). ההנחה היא שהחשיפה ההדרגתית לטמפרטורות יורדות, הקרויה 'אקלום', משרה עמידות בפני התפתחות הנזק ברקמות הפרי.

'חימום ביניים' (Intermediate warming) של הפירות, במהלך תקופת אחסון בטמפרטורת הצינה, עוד בטרם התהוו נזקי צינה בלתי הפיכים. טמפרטורת החימום, משך זמן החשיפה לחום ותדירות החשיפה משתנה מפרי לפרי (Wang, 2010). חשיפה קצרה לטמפרטורות גבוהות, במהלך השהות בקור, גורמת לעלייה בקצב חילוף החומרים המאפשר תיקון של נזק שנגרם לרקמות כנראה על-ידי פירוק של חומרים רעילים שהצטברו בהן במהלך שהותם בקור. בכך עולה חדירות קרומי התא והעמידות לקור עולה (Patel et al., 2016).

יישום של חומצות אורגניות כגון חומצה ג'סמונית וסליצילית מגבירות אף הן את עמידות הפירות כנגד הנזקים. מנגנון העמידות המשוער הוא שפעול של אנזימים נוגדי חימצון בפרי המעכבים את התפתחות הנזקים (Cao et al., 2009; Sayyari et al., 2011).

שימוש בחיישני Dynamic Controlled Atmosphere (DCA) המזהים שינוי בפלורסנציה של הכלורופיל (chlorophyll fluorescence) בתגובה לעקת חמצן (stress) ועל פיו ניתן למצוא את רמת החמצן המינימאלית לאחסון הפרי. מחקרים חדשים מצביעים על כך שהתגובה הפלורסנטית של פירות באחסון יכולה להיות אף מושפעת מטמפרטורת האחסון (Wright et al., 2010) כך שניתן יהיה לפתח שיטה ליישום חיישנים באיתור נזקי צינה בהתבסס על תגובה זו ותלותה בטמפרטורה.

איפיון המרכיבים הנדיפים של פירות מתנאי אחסון הנמוכים מטמפרטורת האחסון האופטימלית יכול להצביע על נזקי קור בפרי עוד בטרם הופעת הסימפטומים הפיזיולוגיים (Sivankalyani et al.,)

(2017), שכן ייצור חומרי טעם וריח במנגו מושפע, בין היתר, מטיפולים הניתנים לפרי לאחר הקטיפה, כדוגמת חשיפה לחום, קור, תנאי אוויר האחסון ועוד.

חומרים ושיטות

ניסוי I: פירות מנגו זן 'קיט', הועברו לאחסון במשטרי הטמפרטורה הבאים:

- ✓ 12 מ"צ, בקורת ללא אקלום;
- ✓ אקלום במהלך שבועיים מ-12 מ"צ ל-7 מ"צ, בקצב של כ-1 מ"צ בכל שלושה ימים לערך (Acc, Acclimatization);
- ✓ 7 מ"צ עם 'חימום ביניים', 24 שעות ב-20 מ"צ אחת לשבוע (INW, Intermediate warming). טיפול זה נבדק רק לאחר 6 שבועות באחסון;
- ✓ 7 מ"צ ללא אקלום.

בתאי האחסון הוצבו חיישני DCA.

פירות ניסוי II נטבלו במשך 120 שניות בחומצות האורגניות הבאות:

- ✓ חומצה סליצילית (SA) 2 mM, חומצה ג'סמונית (MJ) 1 mM;
 - ✓ משולב 2 mM SA + 1 mM MJ;
 - ✓ בקורת- טבילה במים.
- מחצית מהפירות מכל טיפול טבילה אוחסנו ב-7 מ"צ והמחצית השנייה עברה אקלום במהלך שבועיים מ-12 מ"צ ל-7 מ"צ (להלן "טיפול משולב").

מדגמי פירות משני הניסויים הוצאו מהאחסון לאחר 4 שבועות ו-6 שבועות והועברו לחדר ח"י מדף (20 מ"צ ו-65% לחות יחסית) למשך חמישה ימים. במועד ההוצאה מהקירור, נערכו רק בדיקות בלתי הרסניות כמפורט להלן ופירות רקובים נזרקו.

מדדי בדיקות הפרי: בדיקות בלתי הרסניות- איבוד משקל במהלך האחסון, מוצקות אלסטית באמצעות נגיפה במכשיר מתוצרת חברת Sinclair; הערכת צבע הציפה (לפי לוחות צבע של מועצת הצמחים); איכות חיצונית- רקבון עוקץ; פרי ה"ראוי לשיווק", הוגדר בנוסף לפרי התקין גם פרי עם פגם אחד בדרגה קלה לכל היותר; נזק קליפה ע"פ אחוז משוקלל (0-100): $((\text{נזק קל} + \text{נזק בינוני} \times 2) + \text{נזק קשה} \times 4) / 100$ (סה"כ הפרי בדגימה).

בדיקות הרסניות- תכולת כלל מוצקים מסיסים (כ.מ.מ) במיץ הפרי בפרקטומטר; חומצה במיץ סחוט ע"י טיטרציה עם NaOH (חושב כאחוז חומצה ציטרית); תקינות קרומי התאים ע"פ דליפת יונים שנמדדה במד-מוליכות Exttech; איכות פנימית- שינויי גוון והתפרקות הרקמה ע"פ אחוז משוקלל; טעם הפרי דורג ע"י צוות טועמים מנוסה ע"פ מתיקות, עסיסיות, חמיצות, מידת העדפה וטעמי לוואי בסולם מ-10 עד 100; בדיקת חומרים נדיפים בקליפת הפרי במכשיר GC-MS SPME. זיהוי החומרים נעשה על פי מאגר הנתונים של wily (Lalel et al., 2003). ניתוח הנתונים התבצע בתוכנת Openchrom.

ניתוח סטטיסטי לבחינת השפעת טיפולי האחסון והטבילה בחומצות נבדקה בנפרד במועדים השונים באמצעות מבחני שוניות ופוסט הוק ($p < 0.05$ Duncan).

תוצאות ומסקנות

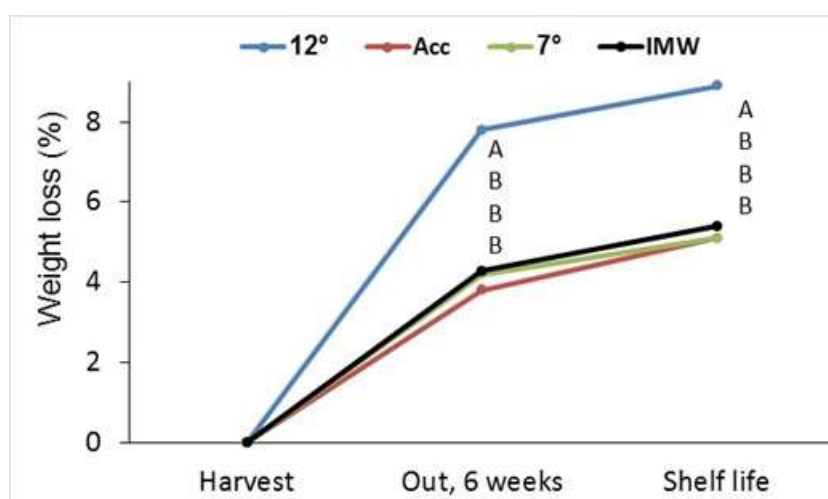
מצב הבשלת הפרי בקטיף הוגדר עם הגעת הפירות למעבדה (טבלה 1-3.11).

טבלה 1-3.11: מדדי הבשלת הפרי בקטיף (ממוצע $\pm$ ש.ת.).

מוצקות אלסטית	צבע ציפה	כ.מ.מ	חומצה ציטרית	יחס הבשלה	דליפת יונים
(IQ)	לוח צבע, 1-	(%)	(%)	(%)	
(N=20)	(8)	(N=4)	(N=4)	(N=4)	(N=4)
	(N=20)				
49.2 $\pm$ 0.59	2.7 $\pm$ 0.13	8.3 $\pm$ 0.16	0.74 $\pm$ 0.03	11.2 $\pm$ 0.56	13.3 $\pm$ 0.55

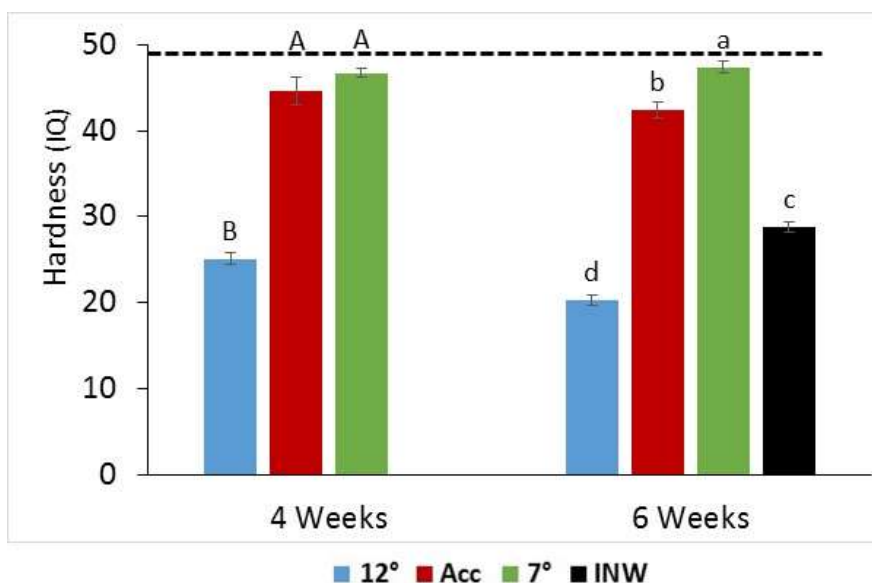
3.11.1. השפעת טיפולי אקלום ו'חימום ביניים' במהלך האחסון

איבוד משקל, מוצקות ויחס הבשלה - במהלך שישה שבועות באחסון איבדו פירות טיפולי ה'איקלום', 'חימום הביניים' וה-7 מ"צ כ-4% ממשקלם, בעוד שפירות הבקורת ב-12 מ"צ איבדו בתקופה זו כ-8% (איור 1-3.11). טיפול ה'אקלום' שמר על מוצקות הפירות, ביחס לטיפול הבקורת ו'חימום הביניים', שאמנם התרכך יותר מטיפול ה'איקלום' אך שמר על מוצקותו ביחס לטיפול הבקורת. פירות שאוחסנו ב-7 מ"צ שמרו על מוצקות גבוהה הן לאחר ארבעה שבועות באחסון והן לאחר שישה שבועות (איור



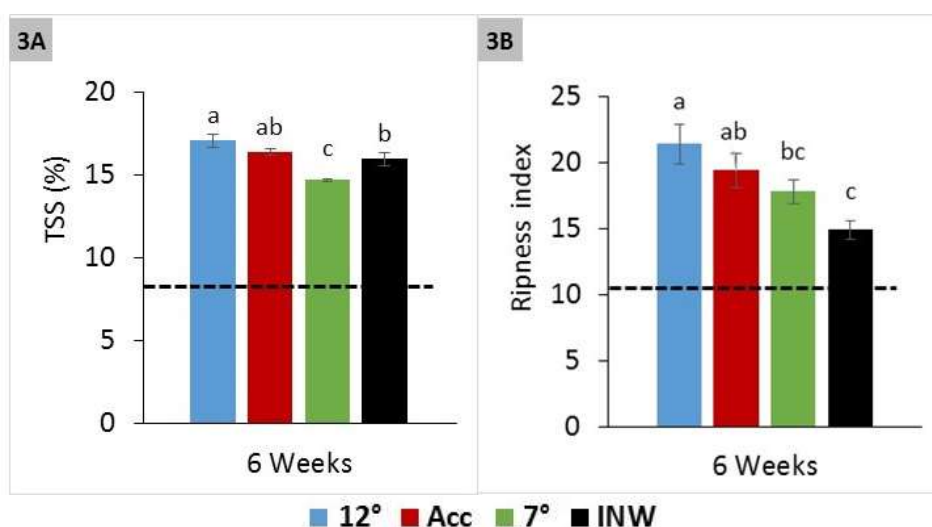
איור 1-3.11: איבוד משקל של הפרי בקטיף, לאחר שישה שבועות באחסון ולאחר חיי-מדף. Acc טיפול אקלום; INW טיפול 'חימום ביניים'. A-B להבדל מובהק בין תנאי האחסון לאחר שישה שבועות.

(2-3.11).



איור 3-3.11:2: מוצקות פירות המגו בהשפעת תנאי אחסון שונים בהוצאה מאחסון. הקו המקווקו מייצג את ערך המוצקות במועד הקטיף; Acc טיפול אקלום; INW טיפול 'חימום ביניים'. A-C להבדל מובהק בין תנאי האחסון לאחר 4 שבועות.

עם הבשלת הפרי חלה עלייה בתכולת הכ.מ.מ בפירות מכל הטיפולים שמעידה על פרוק העמילן לסוכרים פשוטים. במקביל שעור החומצות ירד (תוצאות לא מוצגות) ולפיכך יחס ההבשלה עלה. לאחר חיי-מדף של שישה שבועות באחסון נמצא כי בפירות טיפול ה'איקלום' ובפירות טיפול 'חימום הביניים' שעור הכ.מ.מ היה נמוך יותר מטיפול הביקורת וגבוה מטיפול ה-7 מ"צ (איור 3-3.11A). בטיפול ה'אקלום' התקבלה מגמה של האטת קצב ההבשלה ביחס לטיפול הביקורת, אך פירות אלו התקדמו יותר בהבשלתם ביחס לפירות שאוחסנו ב-7 מ"צ (איור 3-3.11B).



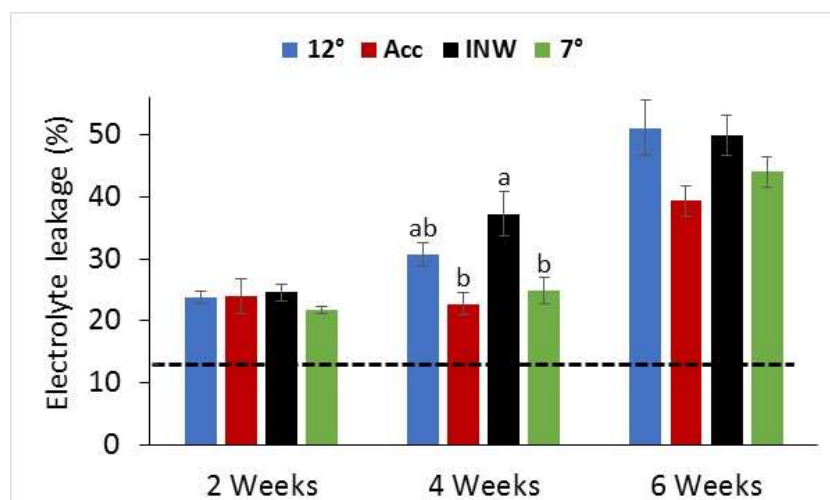
איור 3-3.11:3: שעור הכ.מ.מ (A3) ויחס ההבשלה (B3) בחיי-מדף לאחר שישה שבועות באחסון. הקו המקווקו מייצג את שעור הכ.מ.מ ויחס ההבשלה במועד הקטיף; Acc טיפול אקלום; INW טיפול 'חימום ביניים'. a-c להבדל מובהק בין תנאי האחסון בכל אחד ממועדי הבדיקה.

איכות חיצונית ואיכות פנימית - בפירות טיפול ה'אקלום' התקבלו על-פי-רוב אחוזים גבוהים יותר של פרי הראוי לשיווק, אחוזים נמוכים יותר של נזק צינה חיצוני (=נזק קליפה) ואחוזים גבוהים יותר של ציפה בריאה ביחס לטיפול האחסון האחרים (**טבלה 2-3.11**). שיעור נזקי הקליפה ובעיקר שיעור נזקי הציפה עלו עם הארכת משך האחסון, בעיקר בתום חיי-מדף בטיפול האחסון ב-7 מ"צ, בעוד שבטיפול 'חימום ביניים' הופחת בצורה ניכרת שיעור נזקי הציפה בחיי-מדף ובמובהק מטיפול האחסון האחרים.

טבלה 2-3.11: איכות חיצונית של הפירות (ע"פ 'פרי הראוי לשיווק', 'נזק חיצוני') ואיכות פנימית ('ציפה בריאה' ו'נזק פנימי') לאחר ארבעה ושישה שבועות באחסון וחיי-מדף.

A-C, להבדל מובהק בין תנאי האחסון עבור כל אחד מהמדדים הנבדקים בחיי-מדף לאחר ארבעה שבועות.	6 שבועות		4 שבועות		
	חיי מדף	הוצאה	חיי מדף	הוצאה	
a-c להבדל מובהק בין תנאי האחסון עבור כל אחד מהמדדים הנבדקים בחיי-מדף לאחר שישה שבועות.	פרי הראוי לשיווק (%)				
	13	38	43	56	12 מ"צ
	27	52	54	75	'אקלום'
	9	42	30	63	7 מ"צ
	26	44			'חימום ביניים'
בכל מועד בדיקה הודגש באפור הטיפול הטוב ביותר (מובהק סטטיסטית).	נזק חיצוני (%) (משוקלל)				
	17b	5	6B	6	12 מ"צ
	14b	10	11AB	10	'אקלום'
	28a	14	16A	10	7 מ"צ
	21ab	14			'חימום ביניים'
	ציפה בריאה (%)				
	28bc	לא נעשו	78	לא נעשו	12 מ"צ
	48b	לא נעשו	90	לא נעשו	'אקלום'
	10c	בדיקות	90	בדיקות	7 מ"צ
	95a	הרסניות		הרסניות	'חימום ביניים'
	נזק פנימי (%) (משוקלל)				
	9b	לא נעשו	1B	לא נעשו	12 מ"צ
	2b	לא נעשו	4A	לא נעשו	'אקלום'
	28a	בדיקות	1B	בדיקות	7 מ"צ
	1b	הרסניות		הרסניות	'חימום ביניים'

דליפת יונים ומבחן טעם - עלייה בשיעור של דליפת יונים משמשת כמדד לנזק לממברנות במהלך אחסון בטמפרטורה נמוכה ואמנם נראה כי מדד זה הושפע הן ממצב ההבשלה של הפירות והן מנזקי

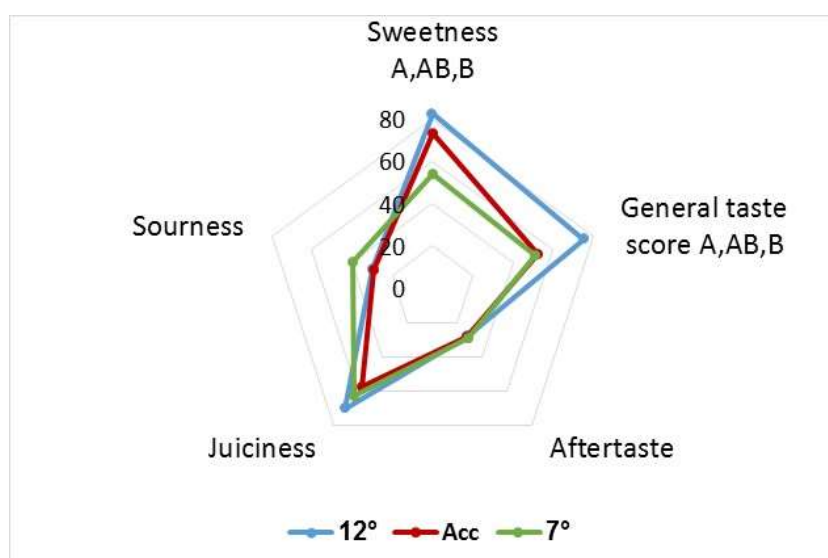


איור 4-3.11: דליפת יונים בפירות המנגו בהשפעת תנאי אחסון שונים, בחיי מדף של 4, 6 ו-6 שבועות באחסון. הקו המקווקו מייצג את שיעור דליפת היונים במועד הקטיף; Acc טיפול אקלום; INW טיפול 'חימום ביניים'. a-c להבדל מובהק בין תנאי האחסון.

הקור, כך שבפירות הביקורת, שהיו במצב הבשלה מתקדם יותר בעת ההוצאה מהאחסון, אחוז דליפת היונים גדול יותר (איור 3-11.4). יחד עם זאת ניכר כי בפירות ה'אקלום', שהיו במצב הבשלה מתקדם כדוגמת פירות הבקורת (ע"פ יחס הבשלתם, איור 3-11.3B), אחוז דליפת היונים בחיי-מדף שלאחר שישה שבועות באחסון הוא הנמוך ביותר, מה שיכול אולי להעיד על מצבם של ממברנות התאים בפירות טיפול זה. יש לציין שדווח שדליפה של מומסים מוגברת בפירות מנגו ואבוקדו קשורה בהבשלת הפירות ולא בנזקי צינה (Fuchs et al., 1989).

במבחן טעם שנערך בחיי מדף שלאחר ארבעה שבועות באחסון, פירות הביקורת הוגדרו על ידי הטועמים ברמת המתיקות ורמת הטעם הכולל הגבוהה ביותר ובאופן מובהק מפירות טיפול ה-7 מ"צ שהוגדרו כחמוצים ביותר. פירות טיפול ה'איקלום' קיבלו במדדים אילו ציון נמוך מציון פירות הבקורת אך גבוה מזה של פירות טיפול ה-7 מ"צ. במדדי הטעם של החמיצות, העסיסיות וטעמי הלוואי לא היו הבדלים מובהקים בין הטיפולים (איור 3-1.5).

חומרים נדיפים מקליפת הפרי - זיהוי של 34 חומרים נדיפים מקליפת הפרי וכימותם הצביע על כך שפירות שאוחסנו ב-7 מ"צ, לאחר 20 יום באחסון, אופיינו בייצור מופחת של חומרי ארומה, כדוגמת 1-penten-3-ol ו-cis-3-hexenol, הקשורים להבשלת פירות המנגו (Nair et al., 2004), ביחס לפירות שאוחסנו ב-12 מ"צ או בתנאי 'איקלום'. הבדלים אלו תאמו לתוצאות מוצקות הפירות, תכולת הכ.מ.מ ויחס ההבשלה, המצביעים על כך שהבשלתם של פירות טיפול ה-7 מ"צ עוכבה. ריכוז



איור 3-11.5: תוצאות מבחני הטעם של פירות המנגו בחיי-מדף שלאחר אחסון של 4 שבועות. A-B להבדל מובהק בין תנאי האחסון.

החומרים הנדיפים בפירות טיפול ה'איקלום' עפ"ר לא שונה באופן מובהק מריכוזם בפירות הביקורת, אך שונה מריכוזם בטיפול ה-7 מ"צ. מכאן שפירות אלו התקדמו יותר בהבשלתם ביחס לפירות שאוחסנו ב-7 מ"צ. ריכוזו של החומר nonanal שעלה בפירות טיפול ה-7 מ"צ, מעיד על נזקי צינה בפרי (Sivankalyani et al., 2017) (טבלה 3-3.11).

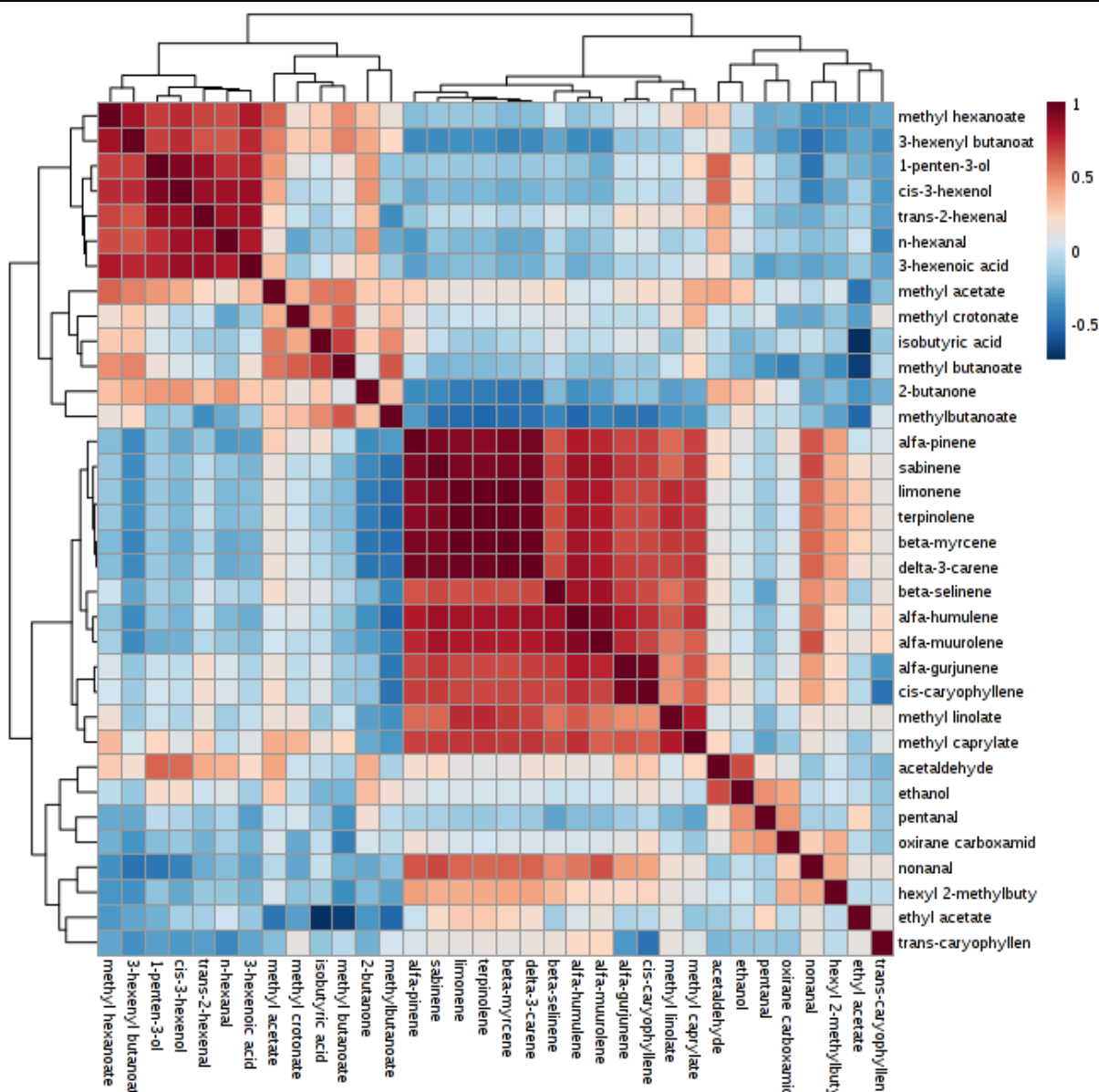
בניתוח פרופיל הנדיפים על-פי 'מפה חמה' (heat map), התקבלו שתי קבוצות בעלות קורלציות גבוהות: קבוצה I כוללת את החומרים n-hexanal, cis-3-hexenol, trans-2-hexenal, methyl ester, hexanoate, 3-Hexenoic acid, 3-hexenyl butanoate. נדיפים אלו נמצאים בריכוז נמוך יחסית בפירות טיפול ה-7 מ"צ ואילו ריכוזם בפירות טיפול ה-12 מ"צ גבוה יותר, כלומר אלו נדיפים המאפיינים את הבשלת הפרי. קבוצה II כוללת בנוסף ל-nanonal את החומרים: alfa-methyl, methyl linolate, sabinene, limonene, delta-3-carene, beta-myrcene, pinene, beta-alfa-murolene, alfa-humulene, cis-caryophyllene, alfa-gurjunene, caprylate, selinene. נדיפים אלו נמצאים בריכוז נמוך יחסית בפירות טיפול ה-12 מ"צ ואילו ריכוזם בפירות טיפול ה-7 מ"צ גבוה יותר ולכן מרמזים על עקת צינה בפרי (איור 6-3.11).

טבלה 3-3.11: חומרים נדיפים מקליפת הפרי ע"פ ממוצע לוג שטח הפיק ע"פ מדידה ב-GC-MS, לאחר 20 ימים באחסון ב-12 מ"צ, בתנאי 'איקלום' וב-7 מ"צ (עונה 2015).

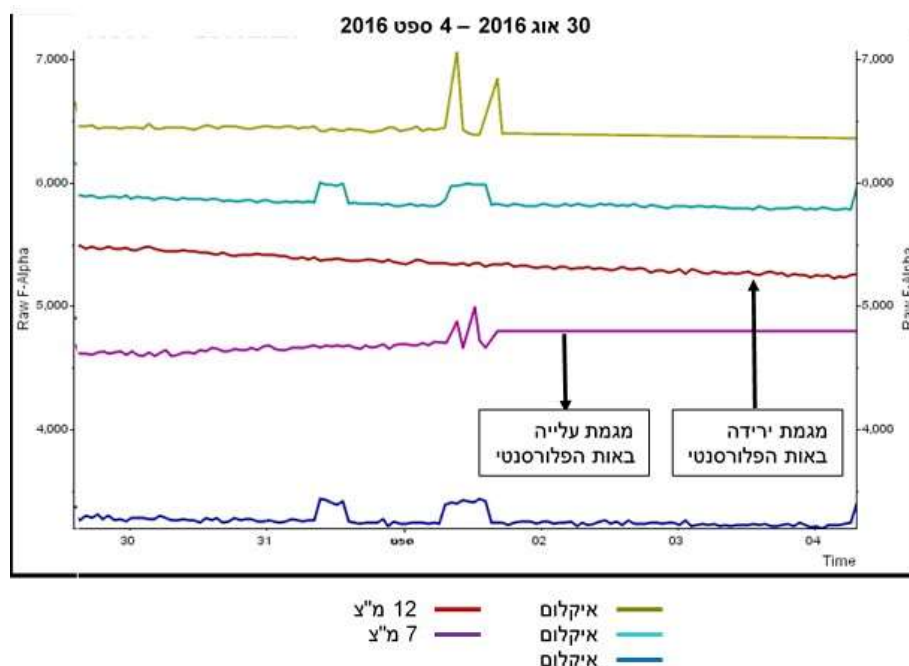
שם החומר	12 מ"צ	איקלום	7 מ"צ
acetaldehyde	6.00ab	6.27a	5.69b
ethanol	6.10	6.41	6.11
methyl acetate	6.67ab	6.77a	6.11b
2-Butanone	6.05ab	6.15a	5.99b
ethyl acetate	5.84	5.87	6.48
Isobutyric acid	5.87	6.05	5.32
1-Penten-3-ol	6.47a	6.36a	5.52b
Pentanal	6.69	7.06	6.96
methyl butanoate	6.88a	6.65ab	6.45b
methyl crotonate	5.56	5.03	4.22
methyl 2-methylbutanoate	5.89	5.86	5.34
n-hexanal	7.71	7.74	7.50
trans-2-hexenal	7.61a	7.54a	6.96b
cis-3-hexenol	8.11a	8.14a	7.62b
methyl hexanoate	6.56a	6.45a	6.15b
3-Hexenoic acid, methyl ester	6.98a	6.83ab	6.30b
alfa-pinene	7.42	7.51	7.64
beta-myrcene	8.11	8.08	8.41
delta-3-carene	8.93	8.94	9.07
limonene	8.05	8.02	8.29
sabinene	6.12	6.21	6.47
terpinolene	8.14	8.10	8.43
nonanal	6.65b	6.81ab	6.92a
methyl linolate	6.25	5.86	6.16
methyl caprylate	6.41	6.24	6.21
3-hexenyl butanoate	6.39a	6.13a	4.48b
oxirane carboxamide, 2-ethyl-3-propyl	5.28b	5.99a	5.86a
hexyl 2-methylbutyrate	5.82	5.96	6.06
alfa-gurjunene	7.49	7.68	7.65
trans-caryophyllene	8.40	8.03	8.56
cis-caryophyllene	6.50	6.87	6.73
alfa-humulene	8.08	8.10	8.26
alfa-muurolene	6.60	6.63	6.95
beta-selinene	7.59	7.65	7.85

a-b להבדל מובהק בין תנאי האחסון.

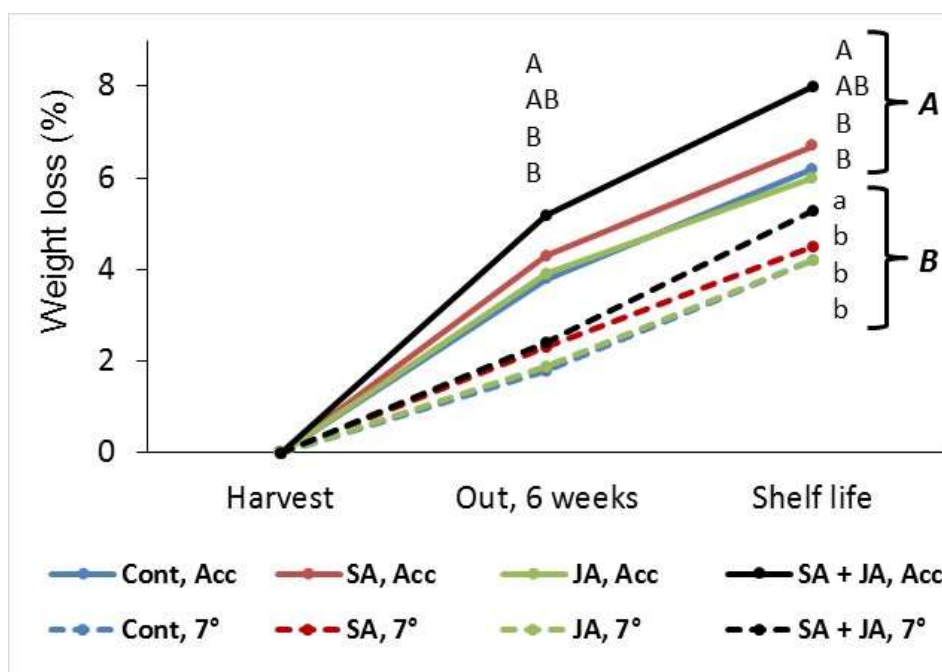
איור 6-3.11: מפה חמה לייצוג קורלציות בין הנדיפים (1: מייצג קורלציה גבוהה; -0.5: מייצג חוסר קורלציה).



חיישני DCA לאיתור עקת צינה - מעקב אחר חיישני DCA הצביע על כך כי כבר בימים הראשונים של האחסון (30 באוגוסט – 4 בספטמבר) נמצאו הבדלים בין טיפולי האחסון. בניגוד לעקת חמצן, בה מתקבלת קפיצה פתאומית בפלורוסנציה (F- Alpha) כתגובה לירידה בריכוז החמצן בתא האחסון, הרי שבניסוי, זה בו הפירות אוחסנו באווירה אטמוספירית, השינוי בפלורוסנציה התקבל כתגובה להבדלי הטמפרטורה. בעוד התגובה הפלורוסנטית בתא האיכלום היתה במגמה אחידה, הרי שבתא ה-12 מ"צ אות הפלורוסנציה נמצא במגמת דעיכה ואילו בתא ה-7 מ"צ הוא נמצא במגמה של עלייה. ההנחה היא שהאות הדועך מצביע על התקדמות בהבשלה ואילו האות העולה הינו תגובה לקור וביטוי לעקה אליה נחשף הפרי כבר בתחילת האחסון (איור 7-3.11).



איור 7-3.11: אותות הפלורסנציה (F-Alpha) במהלך שבוע האחסון הראשון בתנאי איכולם, 12 מ"צ ו-7 מ"צ. יש לציין שהפיקים הנראים ב-31.08 וב-01.09 מקורם מחשיפה לאור (פתיחת התאים) ואינם תגובה לתנאי האחסון.

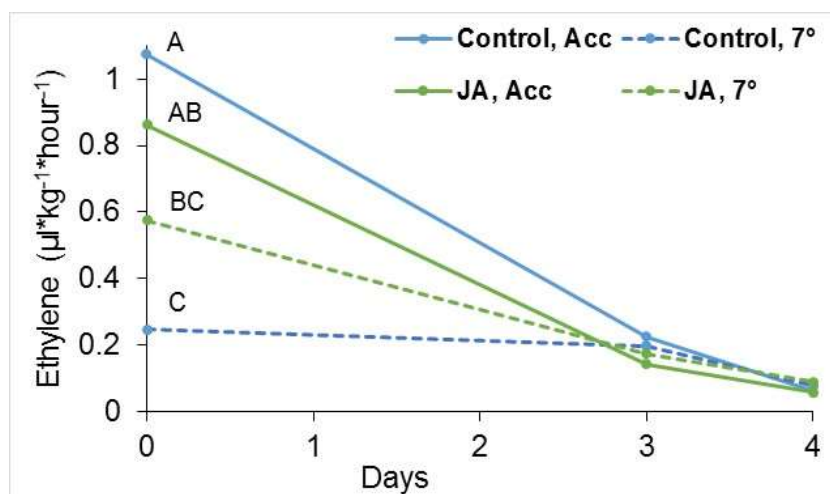


איור 8-3.11: איבוד משקל של הפרי בקטיפ, לאחר שישה שבועות באחסון ולאחר חיי-מדף. Acc טיפול אקלום; SA חומצה סליצילית; JA חומצה ג'סמונית. A-B להבדל מובהק בין החומצות בטיפול המשולב. a-b להבדל מובהק בין החומצות באחסון ב-7 מ"צ. A-B להבדל מובהק בין ממוצע הטיפול המשולב וממוצע האחסון ב-7 מ"צ.

3.11.2. השפעת הטיפול המשולב: טבילה בחומצות אורגניות טרום האחסון ואיקלום במהלך

האחסון

בסוף חיי-מדף שלאחר שישה שבועות באחסון, איבדו פירות הטיפול המשולב כ-2% יותר ממשקלם ביחס לפירות שאוחסנו ב-7 מ"צ ללא איקלום. בכל אחת מאווירות האחסון, עם וללא 'איקלום', ניכר כי הפירות שטופלו בחומצה סליצילית וחומצה ג'סמונית ביחד איבדו ממשקלם יותר מאשר פירות הטיפולים האחרים (איור 8-3.11). קצב ייצור האתילן בפירות שאוחסנו ב-7 מ"צ היה נמוך ביחס לפירות הטיפול המשולב. לאחר שלושה ימים בחיי-מדף, קצב ייצור האתילן ירד, ולא נמצאו הבדלים בין הטיפולים (איור 9-3.11). פירות שנטבלו בחומצה ואוחסנו ב-7 מ"צ הגבירו את ייצור האתילן, ביחס לביקורת ללא חומצה, בעוד שבפירות הטיפול המשולב, קצב ייצור האתילן הואט ביחס לביקורת. במהלך תקופת האחסון, לא התקבלו הבדלים בין מוצקות הפירות שאוחסנו ב-7 מ"צ והללו נשמרו מוצקים ביחס למוצקות פירות הטיפול המשולב. מבין טיפולי השילוב, בחיי-מדף שלאחר אחסון של שישה שבועות, פירות שנטבלו בחומצה סליצילית היו המוצקים ביותר ביחס למוצקות הפירות שנטבלו בחומצות האחרות. יחס ההבשלה של פירות טיפול החומצה הג'סמונית שאוחסנו ב-7 מ"צ היה הגבוה ביותר אף ביחס לרוב טיפולי ה'שילוב' ובבחינת תוצאות אחוז דליפת היונים לא התקבלה מגמה ברורה



איור 9-3.11: קצב ייצור האתילן לאחר שישה שבועות באחסון ובמהלך חיי מדף. A-C להבדל מובהק בין הטיפולים ובין תנאי האחסון.

(טבלה 4-3.11).

בסוף חיי מדף שלאחר שישה שבועות באחסון, פירות הטיפול המשולב אופיינו באחוזים גבוהים יותר של פירות הראויים לשיווק ואחוזי ציפה בריאה גבוהים יותר ביחס לפירות שאוחסנו ב-7 מ"צ. ניכרת מגמה לפיה טיפול החומצה הג'סמונית וכן טיפול החומצה הג'סמונית + החומצה הסליצילית, שיפרו את אחוז הציפה הבריאה ביחס לטיפולי הביקורת, באחסון בתנאי 'איקלום' או ב-7 מ"צ (טבלה 5-3.11).

טבלה 3.11-4: מדדי הבשלת פירות הטיפול המשולב וטיפול האחסון ב-7 מ"צ בחיי-מדף שלאחר אחסון של שישה שבועות.

טיפול משולב 7 מ"צ		
מוצקות, מכשיר סינקלייר (IQ)		
26.3A	21.1C	בקורת
26.9A	23.9B	ח. סליצילית
26.7A	21.5C	ח. ג'סמונית
26.4A	20.9C	ח. סליצילית + ח. ג'סמונית
יחס הבשלה		
16.7 BC	17.5 AB	בקורת
17.3 ABC	16.8 BC	ח. סליצילית
19.1 A	17.2 ABC	ח. ג'סמונית
15.3 C	17.1 BC	ח. סליצילית + ח. ג'סמונית
דליפת יונים (%)		
33.9 BC	35.4 ABC	בקורת
32.3 C	34.4 ABC	ח. סליצילית
38.1 ABC	36.2 ABC	ח. ג'סמונית
40.9 A	39.9 AB	ח. סליצילית + ח. ג'סמונית

A-C להבדל מובהק בין הטיפולים בשני תנאי האחסון.

טבלה 3.11-5: איכות חיצונית של הפירות (פרי הראוי לשיווק, נזק צינה חיצוני, רקבון) ואיכות פנימית (ציפה בריאה ונזק צינה פנימי) בחיי-מדף שלאחר אחסון של שישה שבועות בפירות הטיפול המשולב (טבילה בחומצות ואחסון בתנאי איקלום) ובאחסון ב-7 מ"צ.

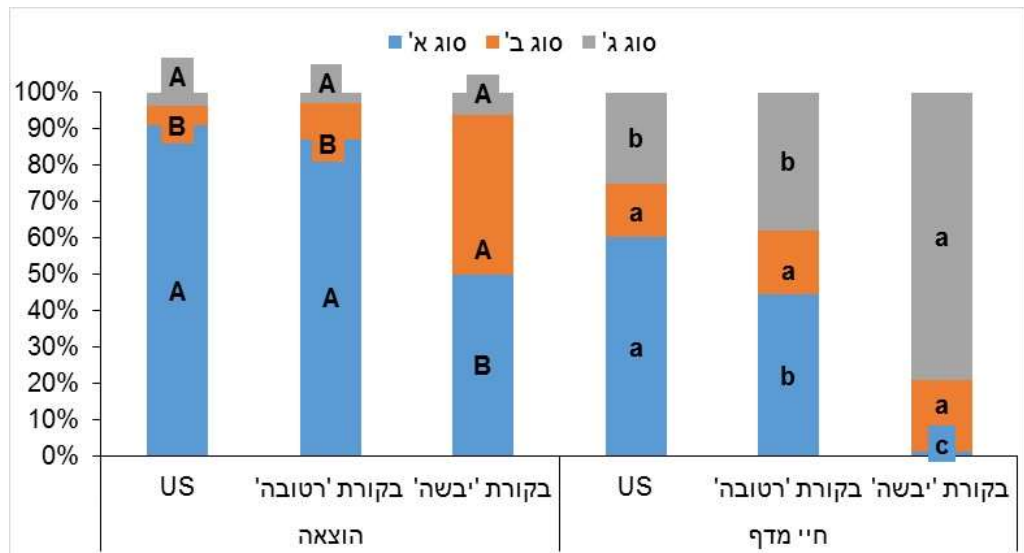
'שילוב' 7 מ"צ		
פרי הראוי לשיווק (%)		
27C	56A	בקורת
27C	54AB	ח. סליצילית
42ABC	62A	ח. ג'סמונית
29BC	65A	ח. סליצילית + ח. ג'סמונית
נזק צינה חיצוני (%) משוקלל		
31	19	בקורת
34	35	ח. סליצילית
19	27	ח. ג'סמונית
30	26	ח. סליצילית + ח. ג'סמונית
ציפה בריאה (%)		
11C	39B	בקורת
19AB	36B	ח. סליצילית
22B	71A	ח. ג'סמונית
26B	66A	ח. סליצילית + ח. ג'סמונית

A-C להבדל מובהק בין הטיפולים בשני תנאי האחסון.

3.11.3

השפעת טיפול אולטרסאונד על אחסון מנגו

פירות מנגו מזן 'מאיה' נחשפו לטיפול אולטרה סאונד, באמבט בנפח 320 ליטר למשכי זמן של 5 דקות, 10 דקות ו-30 דקות בטמפ' החדר. כביקורת שמשו פירות שנטבלו באמבט מים ללא אולטרה סאונד, בקורת 'רטובה', וכן פירות בקורת 'יבשה'. היקף הרקבנות נבדק לאחר אחסון של 4 שבועות בטמפ' של 12 מ"צ וכן לאחר 7 ימים בחדר חיי-מדף (20 מ"צ, 60% לחות). יתרונו של טיפול האולטרסאונד, הן על טיפול הבקורת ה'רטובה' והן על טיפול הבקורת ה'יבשה', בלט בעיקר בחיי-



מדף ואחוזי הפירות סוג א' היו 60%, 44%-ו 20% בהתאמה. לא נמצאה השפעה של משך זמן החשיפה (איור 10-3.11). בחינת הטיפול במניעת נזקי צינה ייערך בעונה 2017.

איור 10-3.11: ממוצע אחוז פירות סוג א', סוג ב', סוג ג', בהשפעת טיפול האולטרה סאונד, במועד ההוצאה מהאחסון ובסוף חיי-מדף. אותיות A-B, a-b מייצגות הבדלים מובהקים בין הטיפולים בהוצאה מהאחסון ובחיי-מדף, בהתאמה.

סיכום

זו השנה השלישית בה בחנו את הארכת משך אחסון המנגו ע"י טיפולים פיזיקליים ו/או כימיים, באמצעות מספר משטרי אחסון וטבילת הפרי טרום האחסון בחומצות אורגניות שונות, לשם הגברת עמידות הפירות בפני נזקי אחסון בטמפרטורות נמוכות.

בתהליך ה'אקלום' הורדה טמפרטורת תא האחסון מ-12 מ"צ ל-7 מ"צ במהלך שבועיים. כתוצאה מכך הואט קצב ההבשלה ביחס לטיפול הבקורת, אך פירות אלו התקדמו יותר בהבשלתם ביחס לפירות שאוחסנו ב-7 מ"צ. לאחר שישה שבועות באחסון, בפירות מטיפול ה'אקלום' נמצאו פחות נזקי קליפה ולפיכך היו אחוזים גבוהים יותר של פרי ראוי לשיווק. גם במדדים הנוספים כגון קשיות ויחס הבשלה, לטיפול ה'אקלום' היה יתרון על-פני אחסון רציף ב-7 מ"צ אשר עיכב את עליית שיעור הכ.מ.מ, עיכב את פירוק החומצה (ומכאן, יחס ההבשלה היה נמוך יותר) ופגע באיכות הפרי לשיווק כתוצאה

מרקבונות ונזקי צינה. מבין טיפולי האחסון, פירות 'חימום הביניים' התאפיינו בשעור הציפה הבריאה הגבוהה ביותר ולמרות ששיטה זו קשה ליישום בהיקפים מסחריים, מומלץ להמשיך ולבחון אותה בעונות הבאות.

בבדיקת החומרים הנדיפים מקליפת פירות טיפול ה'איקלום', נמצא שעל-פי-רוב פרופיל חומרים אלו לא שונה באופן מובהק מזה של פירות הבקורת, אך הללו שונים באופן מובהק מפרופיל הנדיפים של פירות טיפול 7 מ"צ. מכאן, קצב הבשלת פירות טיפול ה'אקלום', הואט, דבר המאפשר להאריך את משך אחסונם אך יחד עם זאת הבשלת הפירות התקדמה ואיכותם, בתום האחסון, הייתה טובה. כמו כן, לחומרים הנדיפים השפעה על טעם הפרי ולפיכך הדמיון בין פירות טיפול ה'איקלום' לפירות הבקורת עשוי להצביע על קבלת טעם של פרי בשל וטעים, בשונה מפרי שאוחסן ב-7 מע"צ שהבשלתו עוכבה במידה רבה (טבלה 3, איור 5). אפיון פרופיל הנדיפים נועד לזהות סמנים המעידים על עקת צינה של הפרי באחסון. יתכן כי אלו יוכלו לשמש בעתיד לפיתוח טכנולוגיות זיהוי של עקת הצינה בפרי המאוחסן בשלבים מוקדמים, עוד בטרם הופעת הנזק הפיזיולוגי. ע"י כך ניתן יהיה להעלות את טמפרטורת האחסון ובכך למנוע את התפתחות נזקי צינה.

בטיפול 'חימום הביניים' אוחסנו הפירות ב-7 מ"צ ואחת לשבוע הועברו ל-20 מ"צ למשך 24 שעות. בסוף חיי-מדף שלאחר האחסון, פירות טיפול זה התאפיינו בתכולת סוכר גבוהה, מוצקותם נשמרה ביחס לטיפול הבקורת ושעור נזקי הציפה הופחת בהם במובהק מטיפול האחסון האחרים. חשוב לציין שלמרות התוצאות הטובות, יישום השיטה בהיקפים מסחריים הינו מורכב.

מעקב אחר chlorophyll fluorescence על-ידי חיישנים שהוצבו בתאי האחסון השונים מצביעים על תגובת הפרי לאחסון בקור כבר בימים הראשונים של האחסון. יש להמשיך ולפתח את השיטה במטרה ליישומה באיתור נזקי צינה.

בניתוח תוצאות הטבילה בחומצות אורגניות ניכרת מגמה לפיה החומצות תרמו להתקדמות ההבשלה בתנאי עקת הקור ועיכבו את התקדמותה בתנאי ה'איקלום'. מגמה זו נתמכה באופן חלקי במספר מדדי הבשלה: קצב ייצור האתילן (איור 9) וכן מוצקות אלסטית, יחס הבשלה ואחוז דליפת יונים (טבלה 4).

לאור מימצאי ניסויי זה ובהסתמך על תוצאות הניסויים בעונות הקודמות (2014-2015), המלצתנו להמשיך היא לבחון אחסון מנגו מזן 'קיט' בהיקף חצי מסחרי בתנאי 'איקלום', בהנחה שקרור הדרגתי מ-12 ל-7 מ"צ במשך כשבועיים, יאפשר לפירות להתקדם בהבשלתם תוך הפחתת נזקי הצינה ביחס לאחסון רציף ב-7 מ"צ. הצלחה של ניסוי כזה עשויה לאפשר ויסות של כמויות הפרי בשווקים, בעונת הקטיפה, והארכה של עונת שיווק הפירות. כמו-כן, לאחר שמצאנו בעונה 2016 כי טיפול אולטרסוני מפחית את היקף הרקבונות באחסון, ייבחן בהמשך טיפול אולטרסוני לפירות במטרה להפחית נזקי צינה באחסון.

סיכום ודיון כולל

במחקר זה מתבצע שילוב של מספר גישות מחקריות וקבוצות מחקר שונות שהמשותף לכולן היא היעד של קידום הידע והטכנולוגיה לצורך מזעור התפתחות נזקי צינה באחסון בקור על מנת לאפשר שימוש בטמפרטורות נמוכות יותר. במחקר המבוצע לצורך מציאת שיטה בלתי הרסנית לגילוי מוקדם של נזקי צינה בוצע שימוש מחקרי במקביל על ידי מספר קבוצות מחקר המעורבות במספר אמצעים שאינם הרסניים, ובמיוחד אמצעי חישה ספקטראליים, תוך שימוש במספר גידולים שונים, על מנת לבחון את אפשרויות השימוש בהן לצורך זיהוי מוקדם ככל האפשר של נזקי הצינה. בשנים האחרונות יש מחקר רב לחקר אפשרויות שימוש באמצעי דימות שונים לצורך זיהוי תגובת צמחים לעקבות סביבתיות (Humplik et al., 2015). המכשירים העיקריים בהם נעשה שימוש ואשר יכולים לתת סיגנל ספקטראלי מפרי כוללים מד-DA-meter - הנותן הערכה לרמת הכלורופיל ברקמה באמצעות מדדי בליעה בשני אורכי גל; מולטיפלקס - מכשיר המאפשר עירור וקריאת פלורסנסיה/החזרת אור במספר אורכי גל בו-זמנית; Handy PEA - מכשיר למדידת יעילות פוטוסינתטית של הכלורופלסט המבוסס על שינויי פלורסנסיה כתוצאה משינויים בפעילות המערכת הפוטוסינתטית; מד לומיניסנסיה ופלורסנסיה (IVIS) - מכשיר רגיש מאוד לפוטונים של אור אשר מכיל מספר פילטרים שונים הניתנים לשימוש בהרכבים שונים. הניסויים במד ה-DA-meter הראו שלא ניתן להשתמש במד המתקבל ממנו לזיהוי מוקדם של נזקי צינה. תוצאות הניסויים שהתקבלו תוך השימוש במכשיר המולטיפלקס העלו את האפשרות שיתכן שעירור בתחום האור הכחול או ה-UV ומדידת הפליטה בתחום האור האדום או האדום רחוק תאפשר הבחנה בין פירות שהיו בטמפרטורות שונות אולם לא ברורה עדיין אפשרות השימוש במד זה. מכשיר ה-Handy PEA נמצא יעיל ביותר לאבחון הבדלים בין אחסון בטמפרטורה נמוכה המהווה עקת צינה לטמפרטורה גבוהה או טמפרטורה קרה שאינה מהווה עקת צינה וזאת עוד בשלב הפרה-סימפטומטי. זאת בהתאם למידע הקיים בספרות המבסס את השימוש במד זה לאומדן תגובת הרקמה הצמחית לעקבות אביוטיות שונות, כולל עקת צינה (Baker and Rosenqvist, 2004; Mishra et al., 2014; Porcar-Castell et al., 2014; Bresson et al., 2015; Su et al., 2015). במחקר שנערך בגידולים שונים, כולל מלפפון, פלפל וגם במחקר בפרי עגבנייה בשלב ירוק בוגר (תוצאות לא כלולות בדיווח זה) נמצא שבמיוחד הפרמטר של (PI) Performance Index, שגם הוא מתקבל כתוצאה מחישוביות של מדדים פלורוסצנטיים וקינטיקת השינויים שלהם בעת המדידה ונמצא ככלי יעיל למדידת תגובה לעקבות אביוטיות (Zivcak et al., 2014; Silvestre et al., 2008), רגיש לשינויים מוקדמים בזמן הקצר לאחר חשיפה לעקת צינה ומאפשר זיהוי שינויים לתגובה לצינה מוקדם יותר ממד ה-Fv/Fm שנמצא בשימוש בד"כ במחקר עם צמחים לזיהוי שינויי בתגובה לעקת צינה. המגבלה העיקרית בשימוש בשיטות המבוססות על פלורוסנסיה של כלורופיל לזיהוי שינויים מוקדמים בתגובה לצינה הינה כמובן התאמה רק לפרי/ירק אשר הינו בעל רקמות ירוקות שיש בהן פעילות של המערכת הפוטוסינתטית הניתנת להשפעה על ידי עקת הצינה. יחד עם זאת יש חשיבות יישומית רבה גם בפיתוח המיועד לסוג כזה של גידולים. לדוגמא שיטת ה-DCA (Dynamic Controlled Atmosphere) מאפשרת בקרה בזמן אמת של

ריכוזי הגזים באווירת האחסון של תוצרת טרייה אשר מבוססת על חישת שינויים בפלורוסנסיה של הכלורופיל בקליפת הפרי במצב של עקה כתוצאה מאווירת חמצן לא מתאימה (Prange et al., 2012; Wright et al., 2003). אמנם גם שיטה זו מוגבלת לגידולים אשר מכילים כלורופיל פעיל בקליפתם אולם יש כבר פיתוח של יישומים מסחריים בהתבסס על שיטה זו.

מחקר רב גם הוקדש לבחינת אפשרות השימוש בממד הלומינסנסיה הנפלט כתוצאה מחימצון ליפידים (Havaux et al., 2006) ואשר מתרחש גם במהלך השלבים הראשוניים של החשיפה לעקת צינה בפרי. נעשה שימוש במכשיר ה-IVIS, שנרכש במיוחד לפרויקט מחקר זה מאפשר מדידות בפירות יחסית גדולים גם של לומינסנסיה וגם של פלורוסנסיה. לומינסנסיה הינה בעלת פוטנציאל גבוה לשמש מדד מצוין לתאר הבדלים מוקדמים בצורה לא הרסנית בין פירות ירקות שנחשפו לעקת קור לעומת כאלו הנחשפים לקור שאינו מהווה עקה בהתאם לסף הרגישות שהינו שונה בכל גידול וגידול. בשונה מממד הפלורוסנסיה של כלורופיל יכולה להיות התאמה לגידולים שונים בתכונותיהם כיוון שבכולם אמור להתרחש חימצון ליפידים בתגובה לצינה באחסון והשאלה הינה האם תהליך פליטת האור משמעותי מספיק על מנת לאפשר חישתו כולל קיום מרכיבים אשר יכולים למסך זהירה זו ממכשיר מדידה חיצוני. הניסויים שבוצעו הדגימו את האפשרות להשתמש בכלי זה במספר גידולים חקלאיים הנבדלים ברגישותם לקור והטמפרטורה האופטימלית לאחסוןם כולל מנגו, דובדבן, קישוא, מלפפון, אבוקדו ואף בעלי בזיל (תוצאות לגבי בזיל אינן כלולות בדו"ח זה). תוצאות הניסויים מורים על כך שהחיסרון העיקרי של השימוש במדידת של הלומינסנסיה המתבססת על זהירה כתוצאה מחימצון שומנים ברקמת הפרי הינו שעוצמתה מאוד חלשה ויש צורך להגביר את הסיגנל אם צריך להתבסס עליה כמדד משמעותי. אנו בוחנים כרגע את האפשרות להעלות את רגישות לסיגנל האור על ידי הוספת מרכיבי ביניים אשר ישמשו כמגביר של האות באמצעים שונים. על פי התוצאות נראה שיש מתאם בין מדד הלומינסנסיה לבין תוצאות כימות ה-MDA המשמש כמדד ראשוני לרמת חימצון הליפידים המתרחשת בפועל לאחר החשיפה לעקת הצינה

כיווני מחקר נוספים כללו סריקת של צירופים שונים של אורכי גל לעירור ומדידת הפלורוסנסיה המתקבלת. התוצאות שהתקבלו הראו שברקמות ירקות (מלפפון, בננה לא בשלה) ניתן להשתמש בפלורוסנסיה לאחר עירור ב 420-430 נ"מ ובדיקת סיגנל האור המתקבל בתחום ה 515-650 נ"מ. תוצאות אלה נתמכות על ידי תוצאות המולטיפלקס שבו יש שימוש במספר פרמטרים ספקטראליים (אם כי ב-IVIS ההבדלים הרבה יותר ברורים).

כיוון מחקר נוסף שלא היה כלול בתוכנית המחקר המקורית אולם הינו מאוד רלוונטי לנושא הינו בהיבט של חקר מדדים שיאפשרו זיהוי מוקדם של קיום עקת צינה התבצע במנגו בו נחקרה האפשרות של שינויי דגם המטבוליטים הנדיפים הנוצרים על ידי הפרי ומצטברים בחדר האחסון. לגישה זו יכולה להיות יתרון כיוון שיש סיכוי שנדיפים אלו מצטברים בחלל חדר האחסון בו מאוחסנת התוצרת הטרייה ועל כן ניתן לדגום את השינויים החלים בה במדידה שאינה הרסנית ויכולה להתבצע בצורה מתמשכת. גילוי שינוי דגם של פרופיל הנדיפים במידה ומתרחש עוד לפני מעבר של הנזק למצב שאינו הפיך יכול לשמש כמדד בזמן אמת לשם דיווח ושינוי של תנאי האחסון למניעת נזקים.

נושא שינויים במרכיבי ארומה בתוצרת הטרייה כתוצאה מעקת צינה ידוע ואף נחשה לנזק צינה ובעבודה זו אף אופיינה משמעותו לאיכות של פרי הפלפל באחסון. במחקר שבוצע לאחרונה בעגבנייה דווח על שינויים משמעותיים בדגם הנדיפים להם משמעות באיכות הארומה של הפרי כתוצאה מחשיפה לעקת צינה (Zhang et al., 2016). שינויים אלו לוו בשינוי בדגם הביטוי של גנים ביוסינטטיים רלוונטיים ואף בשינויים בדגם המתילציה של הגנום שיתכן וקשור לתהליך השינוי שתואר בדגם הנדיפים. אמנם במחקר זה מדובר בשינויים שנמדדו 8 ימים לאחר מועד החשיפה לעקת הצינה אולם בהחלט יתכן ששינויים מסוימים בדגם המטבוליטים הנדיפים מרחש תוך זמן קצר בהרבה לעקת הצינה ועל כן יכולים לשמש כמדד לזיהוי מוקדם של עקת הצינה בשלב שהנזקים עדיין הפיכים. התוצאות שנמצאו במנגו במחקר זה בהחלט תומכות בגישה זו ויבוצע מחקר המשך לבחינת אפשרות השימוש היישומי במדדים אלו.

כאמור שינוי במדדי ארומה נחשב כנזק צינה המופיע בגידולים שונים ופוגע באופן משמעותי באיכות התוצרת (Maul et al., 2000) על כן אפיון השינויים החלים בהיבט זה הינם חשובים מבחינה יישומית. לדוגמא בטיפול האיקלום, אשר ידון בהמשך, ואשר ידוע כטיפול יעיל למניעת נזקי צינה הוביל לשמירה יחסית טובה של פרופיל הנדיפים בפירות מנגו לאחר אחסון בטמפרטורה של 7 מ"צ ונמצא לא שונה באופן מובהק מזה של פירות הבקורת בעוד שהיה שוני מובהק מפרופיל הנדיפים של פירות שנשמרו ב 7 מ"צ ללא טיפול איקלום מקדים.

בפלפל לא דווח עד כה על ההשפעה של אחסון בטמפרטורות צינה על מרכיבי איכות של טעם וארומה. באופן כללי לא נמצאו הבדלים משמעותיים ברמות פנולים, חומרים נוגדי חימצון וויטמין סי וסוכר בפירות פלפל אשר אוחסנו בטמפרטורות נמוכות. יחד עם זאת בדומה לדיווחים בעגבנייה (Zhang et al., 2016) נמצא שככל שהטמפרטורה נמוכה יותר כמות הנדיפים הארומטיים ירדה ויתכן שהמנגנונים האחראיים לשינויים אלו במיוחד במטבוליטים הארומטיים דומים לאלה שהוצעו בעגבנייה להיות אחראיים לשינויים אלו. יחד עם זאת הממצאים לגבי חוסר שינוי משמעותי במרכיבים האחרים תומך בפיתוח גישות שיאפשרו אחסון של פרי הפלפל בטמפרטורות נמוכות יותר.

במחקר שבוצע לשכלול טיפולי קרנטינה בקור בגידולים השונים יש התקדמות משמעותית אשר בראש ובראשונה מקדמת את אפשרות יישום טיפולי הקור לצורך קרנטינה בצורה מסחרית. פיתוח שיטה בלתי הרסנית לזיהוי מוקדם של נזקי צינה יש לו משמעות רבה גם לגבי טיפולי הקרנטינה כיוון שתאפשר, במידה ותפותח שיטה, לעקוב אחר המתרחש בזמן אמיתי בעת חשיפת התוצרת הטרייה לתנאי צינה קיצוניים בטיפול הקרנטינה על מנת למנוע נזקים בלתי הפיכים לרקמת התוצרת הטרייה. בניסויים שבוצעו בפירות אבוקדו מזנים 'אטינגר' ו'האס' נמצא ששילוב טיפולים לאחר קטיף: הורמון צמחי (חומצה ג'סמונית), אווירה מתואמת והורדה הדרגתית בטמפרטורה, אפשרו אחסון במשך חמישה עשר ימים ב 1 מ"צ ללא הופעת ניזקי צינה. במנגו נבחנה גישה חדשה אשר בה נבדקה האפשרות ששינוי פעיל של מצב ההבשלה של הפרי לשלב בשל יותר יכול לאפשר סבילות טובה יותר לצינה באחסון. פירות מנגו הובחלו ע"י אתילן והפירות הבשלים אוחסנו באווירה מתואמת עם הורדה הדרגתית בטמפרטורות. נמצא כי, שילוב הטיפולים אפשר טיפול הסגר-בקור תוך אחסון של פירות

מנגו ב 2 מ"צ למשך 19 ימים. טיפול זה משנה את התפיסה של אחסון פירות לא בשלים. ומאפשר פתיחת שווקים חדשים תוך שמירה על איכות הפרי. גם בפלפל נושא פיתוח של יישום שיטות קרנטינה הינם תנאי לפתיחת שווקים חדשים בעלי פוטנציאל ייצוא ורווח כלכלי לחקלאים. טמפרטורת האחסנה המיטבית של פלפל הנה 7 מ"צ. אולם, על מנת לייצא פרי זה לארצות הסגר, היה צורך לפתח פרוטוקול לטיפול הסגר שיאפשר, מחד, לקטול את זבוב הים התיכון, ומאידך, לא לפגום באיכות הפרי בתום תקופת האחסנה הממושכת וחיי המדף. נמצא כי הדבר אפשרי בפרי אדום בו טמפ. של 4 מ"צ מובילה לקטילה של הזבוב על כל שלביו. נבחנה השפעת טיפול ההסגר גם על איכות פרי צהוב הידוע כרגיש יותר לאחסנה לאחר הקטיף. נמצא כי שילוב של שטיפה חמה ואריזה מאפשרת לאחסן פלפל בטמפרטורות תת-אופטימליות המהוות טיפול הסגר כנגד זבוב הים התיכון, כמעט מבלי לפגום באיכותו. כצפוי, פרי אדום נמצא עמיד יותר לנזקי צינה מפרי צהוב כיוון שידוע כי פירות אדומים איכותיים יותר באחסנה ממושכת מפירות צהובים. אולם, גם פרי צהוב יכול לעבור את טיפול ההסגר ב-4 או 1.5 מ"צ, כמעט מבלי לפגום באיכותו.

השימוש בגישה של קידום מצב ההבשלה של פרי המנגו לצורך שיפור סבילותו לצינה למעשה מתבססת על המידע הקיים לגבי הקשר בין מצב הבשלה מתקדם יותר בפירות לבין סבילות טובה יותר לצינה כמו לדוגמה בפלפל (Lin et al., 1993). תוצאה זו גם נמצאת בהתאמה לממצאים גם במנגו אשר נמצאו במחקר זה ולפיהם פירות שצברו יותר אנטוציאנינים כתוצאה מהפעלה של המסלול הפנולפרופונאידי היו סבילים יותר לצינה באחסון. בד"כ התקדמות של תהליך ההבשלה נמצאת במתאם עם עליה בתכולת מטבוליטים שנוצרים במסלול ביוסינטטי זה וכן עם הממצא של סריקת קווי מנגו שונים בהם זנים שהיו יותר אדומים כתוצאה מצבירה טובה יותר של אנטוציאנינים היו עמידים יותר לאחסון בטמפרטורות צינה יחסית לזנים שפירותיהם ירוקים. ממצאים אלו גם נתמכים במידע הקיים לגבי פעילותם של האנטוציאנינים כאנטיאוקסידנטים (Hernandez et al., 2009) ויתכן שיש חשיבות לפעילותם זו על מנת לנטרל את העקה החימצונית העולה בעת חשיפת רקמות הפרי לעקת הצינה. בעלים הוצע תפקיד דומה של האנטוציאנינים לנטרול מסויים של עקת הצינה (Zhu et al., 2013). ממצאים אלו גם מתאימים לתוצאות הניסויים ברימון בו נבחן הקשר בין מועד הקטיף למידת הרגישות לצינה באחסון ואשר לפיהם פרי מקטיף מאוחר יותר שיתכן והינו בשל יותר הינו בעל סבילות טובה יותר לעקת הצינה באחסון.

יש חשיבות גבוהה לפיתוח שיטות וטכנולוגיות יישומיות שיאפשרו שיפור יכולת האחסון בקור של תוצרת טרייה. אחת הגישות כוללת שילוב מספר טיפולים במקביל על מנת לאפשר השגת סבילות טובה יותר. במנגו כפי שהוזכר לגבי פיתוח טיפולי קרנטינה נמצא של שילוב טיפולים לאחר קטיף: באבוקדו טיפול בהורמון חומצה ג'סמונית, אווירה מתואמת והורדה הדרגתית בטמפרטורה, אפשרו אחסון במשך 15 ימים ב 1 מ"צ ללא הופעת ניזקי צינה. הורדה הדרגתית של הטמפרטורה למעשה מאפשרת אקלימצייה של רקמת הפרי לקור לפני חשיפה לטמפרטורה המהווה עקת צינה. האקלימצייה מאפשרת לתאים להפעיל מערכות הגנה אשר מאפשרות התמודדות טובה יותר והגנה, לפחות חלקית בפני הצינה (Janska et al., 2010). במנגו תהליך האקלימצייה שנבחן כלל הורדה

טמפרטורת האחסון מ-12 מ"צ ל-7 מ"צ במהלך שבועיים. בפירות מטיפול זה נמצאו פחות נזקי קליפה ולפיכך היו אחוזים גבוהים יותר של פרי ראוי לשיווק. גם במדדים הנוספים כגון קשיות ויחס הבשלה, לטיפול האיקלום היה יתרון על-פני אחסון רציף ב-7 מ"צ אשר פגע באיכויות הפרי לשיווק. גם ברימון נמצא כי מתן טיפול אקלום למשך 10 ימים בטמפרטורה מתונה של 15 מ"צ מגביר את עמידות הפרי לצינה ומאפשר יישום טיפול קרנטינה בקור כנגד זבוב הים התיכון. גם לאמצעי האריזה יש חשיבות ביכולת הסבילות של עקת הצינה. בפלפל נמצא שפירות שאוחסנו ללא אריזה סבלו מנזקי צינה גבוהים, בעיקר בפרי הצהוב. אריזת הפרי האדום והצהוב הקטינה באופן מובהק את אחוז נזקי הצינה. טיפול נוסף שנבחן בפרי המנגו הינו טיפול אולטרסוני של הפרי לפני האחסון אשר נמצא מפחית את היקף הרקבנות באחסון בשלב זה לא ידוע האם יש אפשרות שטיפול זה יפחית גם נזקי צינה באחסון.

במחקר המיועד ליצירת תשתית להשבחה גנטית לשיפור סבילות הפרי באחסון מתבצע מחקר מקביל בשלשת הגידולים העיקריים הנכללים בפרויקט זה, רימון, מנגו ופלפל אשר במסגרתו נסרקו מספר רב יחסית של קווים וזנים לגבי תכונת הרגישות/סבילות לצינה בפרי במהלך אחסון לאחר הקטיף. כיוון זה של מחקר הינו יחסית חדשני כיוון שהינו ממקד ומדגיש את הצורך בשימת דגש על תכונות הרלוונטיות במיוחד באחסון בתהליכי ההשבחה. תכונת הרגישות/סבילות לצינה בפרי הינה בעלת חשיבות גבוהה מאוד ופוטנציאל יישומי רב כיוון שזיהוי קווים או סמנים שניתן ליישם בתוכניות השבחה לצורך שיפור תכונה זו יש לה משמעות גבוהה. אפילו האפשרות להוריד במספר בודד של מעלות את סף הרגישות הינו בעל משמעות יישומית הן באחסון והן בטיפול הקרנטינה אשר מתבססים לעיתים על חשיפה לטמפרטורות נמוכות מאוד. הממצאים של ניסויים אלו משמעותיים ביותר כיוון שבכל הניסויים שבוצעו בגידולים השונים נחשפה שונות גנטית משמעותית אפילו בין קווים וזנים אשר הינם מסחריים ועל כן שילובם בתוכניות השבחה יכולה להיות מיידית. במנגו נסרקו 83 זנים שונים ונמצאה שונות משמעותית. גם בפלפל נסרקו כ-40 קווים שונים הקרובים כולם לזנים המסחריים וכוללים הן זנים מסחריים והן קווי הורים המשמשים בתוכניות טיפוח. גם במקרה זה השונות המשמעותית שנחשפה מדגימה קיום פוטנציאל גבוה לשיפור בהיבט של תכונת הסבילות לצינה. חשיבות גבוהה של קיום המיזם הינו בהיבט של החיבור בין חוקרים המתמחים בהיבטי האחסון לבין חוקרים שמומחיותם בהשבחה גנטית של הגידולים השונים כולל יובל כהן במנגו, יונתן אלקינד בפלפל ודורון הולנד ברימון. מחקר משותף זה שהינו מתמשך מעלה את הסיכוי להשגת תוצאות יישומיות בהיבט זה. במחקר ברימון אף יש התקדמות משמעותית בהיבט זיהוי סמנים מולקולאריים שיכולים לשמש בעתיד ככלי חשוב בתוכניות השבחה מכוונות שיפור תכונת הסבילות לצינה של הפרי באחסון. שמונים וחמישה קווים שונים באוכלוסייה מתפצלת של רימון 'ונדרפול' (זן עמיד יחסית לצינה) x 'מוטי' (זן רגיש יחסית לצינה) נסרקו והממצאים מראים התקדמות בזיהוי סמנים הנמצאים בתאחיזה גנטית לתכונת הסבילות לצינה באחסון. קיום מפת סמנים באיכות טובה ברימון תומכת במחקר זה והאפשרות של זיהוי סמן מתאים לתכונת הסבילות לצינה. כיוון מחקר

רלוונטי נוסף שתוכנן במקור להיכלל במחקר זה היה חקר קיום מתאם בין רגישות לצינה ברמת הפרי לעומת זו הקיימת כבר בנבטים. קיום מתאם כזו יאפשר פיתוח גישות יישומיות שיאפשרו סריקה או סלקציה של קווים בשלב גידול צעיר, כגון נבטים, לזיהוי כאלו שהינם בעלי סבילות גבוהה של פירותיהם לעקת צינה באחסון. למרות שלא ניתן היה בשלב זה להתקדם בכיוון זה כפי שהוצע תוצאות המחקר שנערך עם נבטי הקישוא תומך באפשרות כי אכן ההבדלים הגנטיים ברגישות לצינה באים לידי ביטוי כבר בשלב הנבטים וניתנים לגילוי בשיטות בלתי-הרסניות כמו מדידת זהירות הכלורופיל ואוטו-לומינסנציה. כמובן נדרש מחקר נוסף בנושא בגידולים האחרים תוך שימוש באוכלוסיות גדולות ובמספר מדדים. למעשה השאלה המרכזית שעדיין צריכה להיבדק הינה מידת קיום המתאם בין רגישות לצינה ברקמות הוגטטיביות, במיוחד בשלב הצעיר של התפתחות הצמח, לבין זו שנמדדת ברקמת הפרי באחסון. ברור שיהיה צורך לבחון שאלה זו בכל גידול בנפרד ורק אחרי הדגמה של קיום מתאם כזה יהיה מקום לפתח שיטות מתאימות לסלקציה או סריקה. למעשה נושא סריקת קווים בשלב צעיר לצורך ברור קווים העמידים יותר לצינה נוסה בעגבנייה (Foolad and Lin, 2000, 2001; Cao et al., 2015) אולם השלב הנוסף של ההתייחסות לתכונת הסבילות לצינה בפרי באחסון לא נבדק עד כה ויש מקום להמשיך בניסויים בכיוון זה בהמשך.

השילוב של ביצוע מחקר מקביל על ידי מספר קבוצות מחקר מאפשר לימוד הדדי והעברת הידע לגבי השיטות השונות, דרכי ביצוען ומשמעות התוצאות המתקבלות. בהמשך אנו מקווים שהמחקר יניב תובנות לגבי המדדים הטובים ביותר ואף לגבי סמנים שונים לצורך הערכת והגדרת מידת הרגישות. סביר מאוד שיהיה ניתן להעביר וליישם מידע זה בין המערכות הנחקרות. אנו גם צופים שיש חשיבות רבה לביצוע המחקר המקביל בשלושת המערכות לגבי זיהוי מנגנונים ביוכימיים, פיסיולוגיים ומולקולאריים אשר מעורבים בקביעת מידת הרגישות/סבילות לצינה. זיהוי של מרכיב כזה במערכת צמחית אחת יוכל להיבחן לגבי משמעותו גם במערכות האחרות. בדומה לכך אם יזוהו גנים ספציפיים בעלי משמעות פונקציונאלית אפשרית במערכת אחת ניתן יהיה לבחון מעורבותם במקביל במערכות האחרות מה שיכול להגדיר חשיבות כללית רבה יותר שלהם בקביעת רגישות/סבילות לצינה.

בחודש אוגוסט, 2017, יערך יום עיון משותף לכל צוותי המחקר המעורבות בפרויקט זה, כמו גם חוקרים נוספים שיש להם עניין בנושא רגישות/סבילות לצינה באחסון ומניעת נזקי צינה. במפגש זה החוקרים השונים יציגו את עיקר התוצאות שנבעו ממחקריהם בנושא ויתקיים סיכום ודיון לגבי הבעיות, השיטות והתוצאות ומשמעויותיהן.

סיכום לקבוצות המחקר על פי הגדרת מטרת המחקר

מטרות המחקר הספציפיות שהוגדרו בהצעת המחקר לשנה א'	תוצאות וממצאים	מסקנות ולקחים	סטיות ושינויים מתוכנית העבודה המקורית
זיהוי האירועים הראשוניים המקדימים את היווצרות נזקי צינה בתוצרת טרייה באחסון ומציאת שיטה בלתי הרסנית שתאפשר איתורם מוקדם ככל האפשר. (פרידמן+רודוב+אלקן)	המכשירים העיקריים בהם נעשה שימוש ואשר יכולים לתת סיגנל ספקטראלי מפרי כוללים מד-DA-meter - הנותן הערכה לרמת הכלורופיל ברקמה באמצעות מדדי בליעה בשני אורכי גל; מולטיפלקס - מכשיר המאפשר עירור וקריאת פלורסנסיה/החזרת אור במספר אורכי גל בו-זמנית; Handy PEA - מכשיר למדידת יעילות פוטוסינתטית של הכלורופלסט המבוסס על שינויי פלורסנסיה כתוצאה משינויים בפעילות המערכת הפוטוסינתטית; מד לומיניסנסיה ופלורסנסיה (IVIS) - מכשיר רגיש מאוד לפוטונים של אור. הניסויים במד ה-DA-meter הראו שלא ניתן להשתמש בממד המתקבל ממנו לזיהוי מוקדם של נזקי צינה. תוצאות הניסויים שהתקבלו תוך השימוש במכשיר המולטיפלקס העלו את האפשרות שיתכן שעירור בתחום האור הכחול או ה-UV ומדידת הפליטה בתחום האור האדום או האדום רחוק תאפשר הבחנה בין פירות שהיו בטמפרטורות שונות אולם לא ברורה עדיין אפשרות השימוש בממד זה. מכשיר ה-Handy PEA נמצא יעיל ביותר לאבחן הבדלים בין אחסון בטמפרטורה נמוכה מהווה עקת צינה לטמפרטורה גבוהה או טמפרטורה קרה שאינה מהווה עקת צינה וזאת עוד בשלב הפרה-סימפטומטי. במחקר שנערך בגידולים שונים, כולל מלפפון, פלפל וגם במחקר בפרי עגבנייה בשלב ירוק בוגר נמצא שבמיוחד הפרמטר של (PI) Performance Index רגיש לשינויים מוקדמים בזמן הקצר לאחר חשיפה לעקת צינה ומאפשר זיהוי שינויים לתגובה לצינה מוקדם יותר מממד ה-Fv/Fm. 2. נמצאו כמה נדיפים בציפת המנגו באחסון שעולים לפני התרחשות ניזקי הצינה.	מדד הפלורוסנסיה של כלורופיל ובמיוחד PI רגיש ובעל פוטנציאל לזיהוי מוקדם של עקת צינה אולם מוגבל פרי המכיל כלורופיל במעטפת החיצונית. מדידת לומיניסנסיה יכולה להוות כלי רגיש אשר רלוונטי לטווח רחב של גידולים אולם כרגע סף הרגישות למדידה אינו מספק ויש לחקור אמצעים להגברת הרגישות. יש מקום להמשך מחקר ופיתוח בהיבט שימוש בנדיפים הנוצרים בתוצרת הטרייה מוקדם ועוד לפני התרחשות נזקי צינה שאינם הפיכים.	פיתוח מודלים ואלגוריתמים לא בוצע כיוון שלא נוצר בסיס מתאים שיכול לשמש בפיתוח כזה ולכן כרגע עדיין אינו ישים.

עמידות לצינה הינה ככל הנראה תכונה כמותית, אך בכל זאת זוהו מספר סמנים בתאחיזה לתכונה אשר יסייעו בפיתוח זנים ובחינת מעורבות גנים קנדידים.	נערכה סריקה של פרטים באוכלוסייה מתפצלת, וזוהו מספר סמנים (SNPs) בתאחיזה לתכונת העמידות לצינה.	אפיון והשבחה גנטית לסבילות פירות רימון לצינה. (קבוצות פורת+הולנד)
יש הבדלים בקווים/זנים השונים וכדאי להמשיך באפיון ולזהות זני קיצון.	תגובה פיזיולוגית של פירות מנגו 'שלי' ו'קייט' אופיינה. הסימפטומים הפיזיולוגיים בתגובה לצינה אופיינו מיקרוסקופית. התקבלו תוצאות ראשוניות של פרופיל ביטוי הגנים והנדיפים. אופיינה הרגישות והעמידות של 83 זני מנגו. נמצא קשר בין צבע אדום בקליפה לעמידות לצינה.	אפיון והשבחה גנטית לסבילות פירות מנגו לצינה. (קבוצות אלקן+כהן).
נחשפה שונות המשמעותית בהיבט של תכונת הסבילות/רגישות לצינה ממצא המדגים קיום פוטנציאל גבוה לשיפור התכונה בזנים מסחריים תוך שימוש בקווים הרלוונטיים לכך. עד כה הממצאים לגבי פעילות מרכיבים אנטיאוקסידטיביים בפירות הקווים השונים אינם תומכים במעורבותם בקביעת התגובה לצינה אולם לאור הממצאים בספרות שכן תומכים בקשר כזה יש לבצע מחקר המשך גם בהיבט זה בפלפל.	בוצעה סריקה של 40 קווים שגודלו בעין יהב שצומצמו ל-20 קווים העוברים אנליזה בעונת הגידול הנוכחית בפלפל נסרקו כ-40 קווים שונים הקרובים כולם לזנים המסחריים וכוללים הן זנים מסחריים והן קווי הורים המשמשים בתוכניות טיפוח. נערכו ניסויים חוזרים תוך שימוש ב-20 קווי קיצון לאישוש תוצאות בדיקת תכונת הסבילות/רגישות לצינה באחסון אשר שימשו גם לניסויים מפורטים יותר של שימוש במדדים נוספים להגדרת תכונת הסבילות לצינה, כולל פלורוסנסיה ומדדים של מערכות אנטיאוקסידטיסביות.	אפיון והשבחה גנטית לסבילות פלפל לצינה. (קבוצות לרס+פליק).

ניסויי הנבטים לא נמשכו לאור הבעיות שהתעוררו והעדיפות באנליזות השונות הגנטית לתכונת הרגישות/סבילות לצינה באחסון של הקווים השונים לפני המשך ביצוע ניסויים מסוג זה.	יש צורך בחזרות רבות של ניסויים מסוג זה עקב שונות ביולוגית כתוצאה מהשפעת תנאי הגידול וההיסטוריה. בנוסף יש צורך בשיפור והגדרה של תנאי ביצוע של הניסויים ושימוש במספר קווים הנבדלים בסבילותם לצינה ברמת הפרי באחסון. נדרש מחקר נוסף בנושא וזהו נושא בעל פוטנציאל שראוי להמשיכו.	בוצעו ניסויים ראשונים לבחינת המתאם בין רגישות לצינה בפירות פלפל ועגבנייה לבין זו הנמדדת ברקמת העלים המנותקים. בפלפל לא נמצא מתאם ברור בעגבנייה מתאם אך לא גבוה. כן בוצעו ניסויים ראשוניים בנבטי פלפל להערכת הקשר בין תגובה לצינה בנבטי פלפל אולם בגלל ריבוי הקווים וקושי טכני בהעמדת סוג כזה של ניסויים הוחלט לא להמשיכם. בקישור נבדקו נבטים של שני קווים הנבדלים ברגישות לצינה של הפרי באחסון. על סמך תוצאות הניסוי ניתן להניח כי אכן ההבדלים הגנטיים ברגישות לצינה באים לידי ביטוי כבר בשלב הנבטים וניתנים לגילוי בשיטות בלתי-הרסניות כמו מדידת זהירות הכלורופיל ואוטו-לומינסנציה.	בחינת קיום מתאם או קשר כלשהוא של מידת הסבילות לצינה בפרי, עלה ונבט צעיר. (קבוצת לרס+רודוב)
	היחסים בין אחסנה בטמפרטורות תת-אופטימאליות לאיכות תזונתית והסנסורית, חייבים להיבחן בזנים שונים של הפלפל על מנת לקבל מידע בהיבט המולקולארי והביוכימי על מנגנון הפעולה של היווצרות חומרי ארומה הדרושים לקבלת פרי איכותי מההיבט הצרכני. יש חשיבות לבצע מחקרים דומים גם בגידולים אחרים על מנת להבין את השפעת האחסון בקור גם על מרכיבים תזונתיים ומטבוליטים הקובעים את הארומה.	נבדקו תכולת מרכיבים תזונתיים וחומרי ארומה בעת האחסון של פלפל בטמפרטורה נמוכה. לא נמצאו הבדלים ברמת הסוכר, ברמות הפנולים, והחומרים נוגדי חמצון וויטמין סי בטיפולים השונים. נמצאה השפעת גומלין גבוהה בין הטמפרטורה לבין האריזה. זוהו 37 חומרים נדיפים האחראים על הריח 'הפרחי', 'חריפי', 'פירותי', 'ירוק' וריח 'הפלפל' – פיראזין, בשלושת הטמפרטורות. אולם, ככול והטמפרטורה הייתה נמוכה יותר, כמות הנדיפים הארומטיים ירדה.	מטרה שלא הוגדרה בתוכנית המקורית-השפעת אחסון בטמפרטורת צינה על איכות תזונתית ומרכיבי ארומה בפלפל

	רימון-באמצעות מתן טיפול אקלום למשך 10 ימים בטמפרטורה של 15 מ"צ בפרי של אמצע/סוף עונה ניתן ליישם בבטחה טיפול קרנטינה בקור נגד זבוב הפירות הים תיכוני. אבוקדו- כוילו טיפולי קרנטינה והתוצאות חזרו על עצמן. באמצעות שילוב טיפולים (של אוירה מתואמת, ח. ג'סמונית ואקלימציה) ניתן לאחסן פירות האס ואטינגר ב 1°C למשך 15 ימים ולאפשר טיפולי קרנטינה כנגד זבוב הפירות הים תיכוני. במנגו- טיפול זרוז ההבשלה לשיפור הסבילות לצינה משנה את התפיסה של אחסון פירות לא בשלים ומאפשר פתיחת שווקים חדשים תוך שמירה על איכות הפרי. בפלפל - שילוב של שטיפה חמה ואריזה מאפשרת לאחסן פלפל בטמפרטורות תת-אופטימליות המהוות טיפול הסגר כנגד זבוב הים התיכון, כמעט מבלי לפגום באיכותו. כצפוי, פרי אדום נמצא עמיד יותר לנזקי צינה מפרי צהוב כיוון שידוע כי פירות אדומים איכותיים יותר באחסנה ממושכת מפירות צהובים. אולם, גם פרי צהוב יכול לעבור את טיפול ההסגר ב-4 או 1.5 מ"צ, כמעט מבלי לפגום באיכותו.	ברימון - פרי בכיר רגיש מאוד לצינה בעוד פרי אפיל עמיד יחסית. כמו כן, טיפול אקלום למשך 10 ימים בטמפרטורה של 15 מ"צ הגביר מאוד את עמידות הפרי לצינה. באבוקדו- ניתן לאחסן פירות אבוקדו 'אטינגר' ו'האס' ב 1 מ"צ למשך 15 יום (טיפול קרנטינה בקור) לאחר שילוב טיפולים של אוירה מתואמת, ח. ג'סמונית ואקלימציה. מנגו- ניתן לאחסן פירות מנגו 'שלי' ו'קייט' ב 7°C למשך שלושה שבועות לאחר שילוב טיפולים של אוירה מתואמת, ח. ג'סמונית ואקלימציה. בנוסף נמצא ששינוי פעיל של מצב ההבשלה של הפרי לשלב בשל יותר יכול לאפשר סבילות טובה יותר לצינה באחסון. פירות מנגו הובחלו ע"י אתילן והפירות הבשלים אוחסנו באוירה מתואמת עם הורדה הדרגתית בטמפרטורות. נמצא כי, שילוב הטיפולים אפשר טיפול הסגר-בקור תוך אחסון של פירות מנגו ב 2 מ"צ למשך 19 ימים. בנוסף במנגו בוצע שילוב של טיפולים - פירות מנגו הובחלו ע"י אתילן ולכן הבשלתם זורזה יחד עם אחסון באוירה מתואמת והורדה הדרגתית בטמפרטורות. נמצא כי, שילוב הטיפולים אפשר טיפול הסגר-בקור תוך אחסון של פירות מנגו ב 2°C למשך 19 ימים בפלפל: שילוב של שטיפה חמה ואריזה מאפשרת לאחסן פלפל בטמפרטורות תת-אופטימליות המהוות טיפול הסגר כנגד זבוב הים התיכון, כמעט מבלי לפגום באיכותו. כצפוי, פרי אדום נמצא עמיד יותר לנזקי צינה מפרי צהוב כיוון שידוע כי פירות אדומים איכותיים יותר באחסנה ממושכת מפירות צהובים. אולם, גם פרי צהוב יכול לעבור את טיפול ההסגר ב-4 או 1.5 מ"צ, כמעט מבלי לפגום באיכותו.	פיתוח "טיפול קור" הנדרשים לקטילת מזיקים קריטיים. (קבוצות אלקן+פליק+פורת+נסטל)
--	--	---	---

הניסויים התמקדו בגידול אחד- מגנו ולא כפי שתוכנן תחילה זאת בתאום עם מרכז המיזם ועל מנת לאפשר ביצוע יעיל של המחקר בגידול הרלוונטי יותר למיזם שהוא המגנו כיוון שבו הרגישות לצינה בעיתית במיוחד וכן יש חוקרים נוספים המבצעים עליו מחר משלים..	הירידה ההדרגתית בטמפרטורה מאפשרת עמידות מוגברת לנזקי צינה. יש לבחון אחסון מגנו מזון 'קייט' בהיקף חצי מסחרי בתנאי 'איקלום', טמפרטורת אחסון של 10 מ"צ איננה מספיק נמוכה כדי לגרום לעקת הצינה ולהדגשת יעילותן של החומצות בהגברת עמידות הפרי לצינה. בהיבט שימוש בפלורוסנסיה יש להמשיך ולפתח את השיטה במטרה ליישומה באיתור נזקי צינה. ייבחן בהמשך טיפול אולטרסוני לפירות במטרה להפחית נזקי צינה באחסון.	בניסויים עם פרי המגנו מזון קייט נמצא יתרון לטיפול האקלום בו נערך קירור הדרגתי מ-12 מ"צ עד 7 מ"צ במשך שבועיים. בטיפול זה נמדדו אחוזי הפרי לשיווק הגבוהים ביותר, אחוז נזקי הצינה הנמוכים ביותר ופעילות אנטיאוקסידנטית גבוהה. בבדיקת החומרים הנדיפים מקליפת פירות טיפול ה'איקלום', נמצא שעל-פי-רוב פרופיל חומרים אלו לא שונה באופן מובהק מזה של פירות הבקורת, אך הללו שונים באופן מובהק מפרופיל הנדיפים של פירות טיפול 7 מ"צ. בטיפול 'חמום הביניים' פירות טיפול זה התאפיינו בתכולת סוכר גבוהה, מוצקותם נשמרה ביחס לטיפול הבקורת ושעור נזקי הציפה הופחת בהם במובהק מטיפולי האחסון האחרים. בוצע מעקב אחר chlorophyll fluorescence במגנו על-ידי חיישנים שהוצבו בתאי האחסון השונים מצביעים על תגובת הפרי לאחסון בקור כבר בימים הראשונים של האחסון. בוצעו ניסויים לבחינת השפעת הטבילה בחומצות אורגניות. ניכרת מגמה לפיה החומצות תרמו להתקדמות ההבשלה בתנאי עקת הקור ועיכבו את התקדמותה בתנאי ה'איקלום'. מגמה זו נתמכה באופן חלקי במספר מדדי הבשלה. נבחנה השפעת טיפול אולטרסוני על איכות המגנו- נמצא שמפחית את היקף הרקבונות באחסון.	בחינת שילובי טיפולים שלא נבחנו לשם הגדלת הסבילות לצינה באחסון. (מעבדה לאחסון קרית שמונה)
--	--	--	--

סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה
מציאת שיטה בלתי הרסנית לגילוי מוקדם של נזקי צינה המתרחשים במהלך אחסון בקור של פרי/ירק; פיתוח טיפולים פיזיולוגיים להגדלת הסבילות לצינה באחסון והארכת חיי המדף; פיתוח "טיפול קור" הנדרשים לקטילת מזיקים קריטיים בטיפול הסגר; יצירת תשתית לתמיכה בהשבחה גנטית לשיפור סבילות פרי באחסון עבור רימון, מנגו ופלפל. מטרה שנוספה- בחינת השפעת עקת הצינה על תכולת מרכיבים תזונתיים ומטבוליטים של ארומה בפלפל.
אלו ממטרות המחקר הושגו בעבודת המחקר בנוכחית
אפיון שיטות ספקטרליות להתאמתן כשיטה בלתי הרסנית לגילוי מוקדם של נזקי צינה במיוחד פלורוסנסיה ולומינסנסיה; התקדמות בפיתוח טיפולים פיזיולוגיים להגדלת הסבילות לצינה ע"י שילובי טיפולים ולצורך פיתוח "טיפול קור" הנדרשים לטיפול הסגר כולל בחינת ההשפעה על החרקים; ניסויי סריקת קווי/זני מנגו, רימון ופלפל לצורך יצירת תשתית לתמיכה בהשבחה גנטית לשיפור סבילות הפרי לקור באחסון. אפיון מרכיבי תזונה וארומה בפלפל בתנאי עקת צינה.
עיקרי התוצאות
זוהו גישות ספקטרליות לא הרסניות המאפשרות גילוי מוקדם של עקת קור במלפפונים ובקישואים עוד לפני הופעת הנזק הבלתי הפיך כשהגישות המבטיחותהינן מדדי יעילות פוטוסניתזה (פלורוסנסיה) והערכת רמת חמצון הליפידים (לומינסנסיה). אפשרות שימוש בשינוי דגם נדיפים כסמן במנגו לעקת צינה. אפיון רגישות זני מנגו, רימון ופלפל לצינה תומך בקיום שונות גנטית. ברימון התקדמות לקראת זיהוי סמנים גנטיים. בוצעו ניסויים להתאמת טובה של תנאים ושיטות לקטילת מזיקי קרנטינה תוך מניעת התפתחות נזקי צינה.
מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדו"ח?
המשך חקר אפשרות שימוש בשיטות הספקטרליות לחיזוי תגובה לקור כולל שימוש בשינוי דגם הנדיפים; פיתוח טיפולי הקרנטינה במיזם הראו התקדמות שיש להמשיך על מנת להגיע לטיפולים יישומיים; יש לנצל את השונות הגנטית לתכונת הסבילות לצינה שנמצאה לצורך פיתוח סמנים גנטיים וקווי טיפוח מתאימים לשימוש בהשבחת הגידולים. טיפולי האקלום בגידולים השונים הינם מבטיחים כמו גם הגישה החדשה של זירוז ההבשלה במנגו לשיפור סבילות לצינה ויש להמשיך במחקר יישומי בכיוונים אלו.
בעיות שונות לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך
יש להתייחס בזירות לשינויים בתגובה לקור הנובעים מהשפעות סביבתיות בגידול של הרקמה הנבדקת ולבחון השימוש בגידולים השונים. שיטות הטיפול בקור יש להמשיך לפתח על מנת להגיע לפרוטוקול ישים מסחרית. יש לבסס את משמעות התוצאות לגבי השונות הגנטית לתכונות סבילות/רגישות הפרי לצינה באחסון ולהעמיק באנליזות על לבחון את המשמעות הסטטיסטית של הממצאים. חקר קיום מתאם בתגובה לצינה בנבטים ובפרי באחסון.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב ציטט ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי
רשימת פרסומים מצורפת
פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח (סמן אחת מהאופציות)
כן – לא לפרסום: יש לצרף מכתב הסבר

הסבר לגבי הבקשה לא לפרסם את הדו"ח

כיוון שהדו"ח כולל ממצאים שיתכן ויש להם משמעות מסחרית העדיפות היא לא לפרסם בשלב זה. לדוגמא שיטת חיזוי קיום עקת צינה על פי דגם הנדיפים במנגו נבחנת להגנה מסחרית. גם המידע לגבי סבילות לצינה של הקווים השונים בגידולים השונים יש לה גם משמעות יישומית וגם מחקרית. בנוסף לאור הצורך להמשיך ולפרסם תוצאות ממחקרים אלו עדיף לא לפרסם את הדוח לפני הכנת החומר לפרסום מדעי.

- Castro, R., Fallik, E., Nemny-Lavy, E., Alkalai-Tuvia, S., Rempoulakis, P. and Nestel, D. (2016). Effects of cold post-harvest treatments of sweet bell peppers on the development of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). *Postharvest Biology and Technology*, 120: 16-22.
- Lama, K., Alakalai-Tuvia, S., Perzelan, Y. and Fallik, E. (2016). Nutritional qualities and aroma volatiles of harvested red pepper fruits stored at suboptimal temperatures. *Scientia Horticulturae*, 213: 42–48.
- Sivankalyani, V., Feygenberg, O., Maorer, D., Zaaroor, M., Fallik, E., Alkan, N. (2015). Combined treatments reduce chilling injury and maintain fruit quality in avocado fruit during cold quarantine. *PLOS One*. doi: 10.1371/journal.pone.0140522.
- Sivankalyani, S., Feygenberg, O., Diskin, S., Alkan, N. (2016). Increased anthocyanin and flavonoids in mango fruit peel are associated with cold and pathogen resistance. *Postharvest Biology and Technology*. 111: 132–139.
- Sivankalyani, V., Sela, N., Feygenberg, O., Zemach, H., Maurer, D., Alkan, N. (2016). Transcriptome Dynamics in Mango Fruit Peel Reveals Mechanisms of Chilling Stress. *Frontiers in plant science*. 7.
- Sivankalyani, V., Maoz, I., Feygenberg, O., Maurer, D., Alkan, N. (2017). Chilling stress upregulates α -linolenic acid-oxidation pathway and induces volatiles of C6 and C9 aldehydes in mango fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 65: 632-638.
- Alkan N. (2016). System and method for prevention of postharvest fruit from chilling injuries by detection of volatiles. 62441444, US Provisional Patent.
- Kashash, Y., Mayuoni-Kirshenbaum, L., Goldenberg, L., Choi, HJ., Porat, R. (2016). Effects of harvest date and low-temperature conditioning on chilling tolerance of 'Wonderful' pomegranate fruit. *Scientia Horticulturae*. 209: 286-292.
- Mihiret, M., Friedman, H., Fennec, A., Vinokur, Y., Horev, B., Fallik, E., Rodov, V. (2017) Nondestructive detection of chilling stress for improving keeping quality of fresh produce: cucumbers as a model. Oral presentation in the FRUTIC symposium held on February 7, 2017 in Berlin.

ליכטר, א., קפלנוב, ט., דעוס, א., זוטחי, י., מעוז, א., אלקן, נ., מאור, ד., פייגנברג, א., לוי, ש., פרידמן, ח., רודוב, ו. (2015). יישום אוטו-פלורסנציה לחקר שינויים באיכות תוצרת חקלאית לאחר קטיפה. עלון הנוטע.

פייגנברג, א., מאור, ד., זערור, מ., דיסקין, ., קליאני, ס., אלקן, נ. (2016). טיפולי קור כנגד מזיקי הסגר והתמודדות עם נזקי צינה באבוקדו לייצוא. עלון הנוטע.

מאור, ד., פייגנברג, א., ., קליאני, ס., דיסקין, ס., אלקן, נ. (2016). השראת עמידות בפירות מנגו אדומים כנגד רקבונות וצינה באחסון. עלון הנוטע .

- Alkan, N.** (2017). System and method for prevention of postharvest fruit from chilling injuries by detection of volatiles. (US Provisional Patent).
- Baker, N.R., and Rosenqvist, E.** (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of experimental botany* **55**, 1607-1621.
- Bresson, J., Vasseur, F., Dauzat, M., Koch, G., Granier, C., and Vile, D.** (2015). Quantifying spatial heterogeneity of chlorophyll fluorescence during plant growth and in response to water stress. *Plant Methods* **11**.
- Cao, S.F., Zheng, Y.H., Wang, K.T., Jin, P., and Rui, H.J.** (2009). Methyl jasmonate reduces chilling injury and enhances antioxidant enzyme activity in postharvest loquat fruit. *Food chemistry* **115**, 1458-1463.
- Cao, X., Jiang, F.L., Wang, X., Zang, Y.W., and Wu, Z.** (2015). Comprehensive evaluation and screening for chilling-tolerance in tomato lines at the seedling stage. *Euphytica* **205**, 569-584.
- Chew, Y.H., and Halliday, K.J.** (2011). A stress-free walk from Arabidopsis to crops. *Current Opinion in Biotechnology* **22**, 281-286.
- Fallik, E., Perzelan, Y., Alkalai-Tuvia, S., Nemny-Lavy, E., and Nestel, D.** (2012). Development of cold quarantine protocols to arrest the development of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata*) in pepper (*Capsicum annuum* L.) fruit after harvest. *Postharvest Biology and Technology* **70**, 7-12.
- Flores, F.B., Sevillano, L., Sanchez-Ballesta, M.T., and Romojaro, F.** (2009). Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. *Postharvest technologies applied to reduce its impact. Journal of the Science of Food and Agriculture* **89**, 555-573.
- Foolad, M.R., and Lin, G.Y.** (2000). Relationship between cold tolerance during seed germination and vegetative growth in tomato: Germplasm evaluation. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **125**, 679-683.
- Foolad, M.R., and Lin, G.Y.** (2001). Relationship between cold tolerance during seed germination and vegetative growth in tomato: Analysis of response and correlated response to selection. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **126**, 216-220.
- Fuchs, Y., Zauberman, G., Rot, I., and Weksler, A.** (1989). Chilling injury and electrolyte leakage in cold stored mango and avocado fruits. *Acta horticulture* **258**, 303-308.
- Galvez, A.B., Garcia, M.V., Corrales, J.C., Lopez, A.C., and Valenzuela, J.A.L.** (2010). Effect of gradual cooling storage on chilling injury and phenylalanine ammonia-lyase activity in tomato fruit. *Journal of Food Biochemistry* **34**, 295-307.
- Havaux, M., Triantaphylides, C., and Genty, B.** (2006). Autoluminescence imaging: a non-invasive tool for mapping oxidative stress. *Trends Plant Sci.* **11**, 480-484.
- Hernandez, I., Alegre, L., Van Breusegem, F., and Munne-Bosch, S.** (2009). How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? *Trends Plant Sci.* **14**, 125-132.
- HersHKovitz, V., Saguy, S.I., and Pesis, E.** (2005). Postharvest application of 1-MCP to improve the quality of various avocado cultivars. *Postharvest Biology and Technology* **37**, 252-264.
- Humplik, J.F., Lazar, D., Husickova, A., and Spichal, L.** (2015). Automated phenotyping of plant shoots using imaging methods for analysis of plant stress responses - a review. *Plant Methods* **11**.
- Janska, A., Marsik, P., Zelenkova, S., and Ovesna, J.** (2010). Cold stress and acclimation - what is important for metabolic adjustment? *Plant Biology* **12**, 395-405.
- Kaniuga, Z.** (2008). Chilling response of plants: importance of galactolipase, free fatty acids and free radicals. *Plant Biology* **10**, 171-184.
- Knight, M.R., and Knight, H.** (2012). Low-temperature perception leading to gene expression and cold tolerance in higher plants. *New Phytologist* **195**, 737-751.
- Kurbidaeva, A.S., and Novokreshchenova, M.G.** (2011). Genetic control of plant resistance to cold. *Russian Journal of Genetics* **47**, 646-661.
- Lalel, H.J.D., Singh, Z., Tan, S.C.** (2003). Distribution of aroma volatile compounds in different parts of mango fruit. *J. Hortic Sci Biotechnol.* **78**(2):131-138.
- Lama, K., Alkalai-Tuvia, S., Perzelan, Y., and Fallik, E.** (2016). Nutritional qualities and aroma volatiles of harvested red pepper fruits stored at suboptimal temperatures. *Scientia Horticulturae* **213**, 42-48.
- Lin, W.C., Hall, J.W., and Saltveit, M.E.** (1993). Ripening stage affects the chilling sensitivity of greenhouse-grown peppers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **118**, 791-795.

- Lukatkin, A.S., Brazaityte, A., Bobinas, C., and Duchovskis, P.** (2012). Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review. *Zemdirbyste-Agriculture* **99**, 111-124.
- Lyons, J.M.** (1973). Chilling injury in plants. *Annual Review of Plant Physiology* **24**, 445-466.
- Lyons, J.M., Graham, D., and Raison, J.K.** (1979). Low temperature stress on crop plants. The role of the membrane. (Academic Press, Inc.).
- Maalekuu, K., Elkind, Y., Tuvia-Alkalai, S., Shalom, Y., and Fallik, E.** (2003). Quality evaluation of three sweet pepper cultivars after prolonged storage. *Advances in Horticultural Science* **17**, 187-191.
- Maul, F., Sargent, S.A., Sims, C.A., Baldwin, E.A., Balaban, M.O., and Huber, D.J.** (2000). Tomato flavor and aroma quality as affected by storage temperature. *Journal of Food Science* **65**, 1228-1237.
- McCollum, T.G.** (1990). Gene-B influences susceptibility to chilling injury in cucurbita-pepo. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **115**, 618-622.
- McGlasson, W., Scott, K., and Mendoza Jr, D.** (1979). The refrigerated storage of tropical and subtropical products. *International Journal of Refrigeration* **2**, 199-206.
- Medlicott, A.P., Sigrist, J.M.M., and Sy, O.** (1990). Ripening of mangoes following low-temperature storage. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **115**, 430-434.
- Miller, N.J., and RiceEvans, C.A.** (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS(center dot+) radical cation assay. *Free Radical Research* **26**, 195-199.
- Mishra, A., Heyer, A.G., and Mishra, K.B.** (2014). Chlorophyll fluorescence emission can screen cold tolerance of cold acclimated *Arabidopsis thaliana* accessions. *Plant Methods* **10**.
- Mittler, R.** (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* **7**, 405-410.
- Miura, K., and Furumoto, T.** (2013). Cold Signaling and Cold Response in Plants. *International Journal of Molecular Sciences* **14**, 5312-5337.
- Mohammed, M., and Brecht, J.K.** (2002). Reduction of chilling injury in 'Tommy Atkins' mangoes during ripening. *Scientia Horticulturae* **95**, 297-308.
- Nair, S., Singh, Z., and Tan, S.C.** (2004). Chilling injury adversely affects aroma volatile production in mango during fruit ripening. *Acta Hort.* **645**, 529-536.
- Patel, B., Tandel, Y.N., Patel, A.H. and Patel, B.L.** (2016). Chilling injury in tropical and subtropical fruits: a cold storage problem and its remedies: a review. *International Journal of Science, Environment and Technology.* **5**, 1882 – 1887.
- Porcar-Castell, A., Tyystjarvi, E., Atherton, J., van der Tol, C., Flexas, J., Pfundel, E.E., Moreno, J., Frankenberg, C., and Berry, J.A.** (2014). Linking chlorophyll a fluorescence to photosynthesis for remote sensing applications: mechanisms and challenges. *Journal of experimental botany* **65**, 4065-4095.
- Prange, R.K., DeLong, J.M., Harrison, P.A., Leyte, J.C., and McLean, S.D.** (2003). Oxygen concentration affects chlorophyll fluorescence in chlorophyll-containing fruit and vegetables. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **128**, 603-607.
- Raison, J.K., and Lyons, J.M.** (1986). Chilling injury - a plea for uniform terminology. *Plant Cell and Environment* **9**, 685-686.
- Saltveit, M.E.** (2001). Chilling injury is reduced in cucumber and rice seedlings and in tomato pericarp discs by heat-shocks applied after chilling. *Postharvest Biology and Technology* **21**, 169-177.
- Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Serrano, M., and Valero, D.** (2011). Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates. *Food chemistry* **124**, 964-970.
- Sevillano, L., Sanchez-Ballesta, M.T., Romojaro, F., and Flores, F.B.** (2009). Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. *Postharvest technologies applied to reduce its impact. Journal of the Science of Food and Agriculture* **89**, 555-573.
- Sherman, M., Paris, H.S., and Allen, J.J.** (1987). Storability of summer squash as affected by gene-b and genetic background. *Hortscience* **22**, 920-922.
- Silvestre, S., Araujo, S.D., Patto, M.C.V., and da Silva, J.M.** (2014). Performance index: An expeditious tool to screen for improved drought resistance in the *Lathyrus* genus. *Journal of Integrative Plant Biology* **56**, 610-621.

- Sivankalyani, V., Feygenberg, O., Diskin, S., Wright, B., and Alkan, N.** (2016a). Increased anthocyanin and flavonoids in mango fruit peel are associated with cold and pathogen resistance. *Postharvest Biology and Technology* **111**, 132-139.
- Sivankalyani, V., Maoz, I., Feygenberg, O., Maurer, D., and Alkan, N.** (2017). Chilling Stress Upregulates alpha-Linolenic Acid-Oxidation Pathway and Induces Volatiles of C-6 and C-9 Aldehydes in Mango Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **65**, 632-638.
- Sivankalyani, V., Feygenberg, O., Maorer, D., Zaaroor, M., Fallik, E., and Alkan, N.** (2015). Combined Treatments Reduce Chilling Injury and Maintain Fruit Quality in Avocado Fruit during Cold Quarantine. *Plos One* **10**.
- Sivankalyani, V., Sela, N., Feygenberg, O., Zemach, H., Maurer, D., and Alkan, N.** (2016b). Transcriptome Dynamics in Mango Fruit Peel Reveals Mechanisms of Chilling Stress. *Frontiers in Plant Science* **7**.
- Su, L.Y., Dai, Z.W., Li, S.H., and Xin, H.P.** (2015). A novel system for evaluating drought-cold tolerance of grapevines using chlorophyll fluorescence. *BMC plant biology* **15**.
- Tadmor, Y., Paris, H.S., Meir, A., Schaffer, A.A., and Lewinsohn, E.** (2005). Dual role of the pigmentation gene B in affecting carotenoid and vitamin E content in squash (*Cucurbita pepo*) mesocarp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 9759-9763.
- Wang, C.Y.** (2010). Alleviation of chilling injury in tropical and subtropical fruits. *Acta horticulturae* **864**, 267-274.
- Wellburn, A.R.** (1994). The spectral determination of chlorophyll-a and chlorophyll-b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* **144**, 307-313.
- Wright, A.H., DeLong, J.M., Gunawardena, A., and Prange, R.K.** (2012). Dynamic controlled atmosphere (DCA): Does fluorescence reflect physiology in storage? *Postharvest Biology and Technology* **64**, 19-30.
- Wright, H., DeLong, J., Harrison, P.A., Gunawardena, A., and Prange, R.** (2010). The effect of temperature and other factors on chlorophyll a fluorescence and the lower oxygen limit in apples (*Malus domestica*). *Postharvest Biology and Technology* **55**, 21-28.
- Yahia, E.M.** (2011). Mango (*Mangifera indica* L.). In *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (Woodhead Publishing), pp. 492-567.
- Yang, Q.Z., Rao, J.P., Yi, S.C., Meng, K., Wu, J.F., and Hou, Y.L.** (2012). Antioxidant enzyme activity and chilling injury during low-temperature storage of Kiwifruit cv. Hongyang exposed to gradual postharvest cooling. *Horticulture Environment and Biotechnology* **53**, 505-512.
- Zhang, B., Tieman, D.M., Jiao, C., Xu, Y.M., Chen, K.S., Fe, Z.J., Giovannoni, J.J., and Klee, H.J.** (2016). Chilling-induced tomato flavor loss is associated with altered volatile synthesis and transient changes in DNA methylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **113**, 12580-12585.
- Zhu, J.J., Li, Y.R., and Liao, J.X.** (2013). Involvement of anthocyanins in the resistance to chilling-induced oxidative stress in *Saccharum officinarum* L. leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* **73**, 427-433.
- Zivcak, M., Brestic, M., Olsovska, K., and Slamka, P.** (2008). Performance index as a sensitive indicator of water stress in *Triticum aestivum* L. *Plant Soil and Environment* **54**, 133-139.