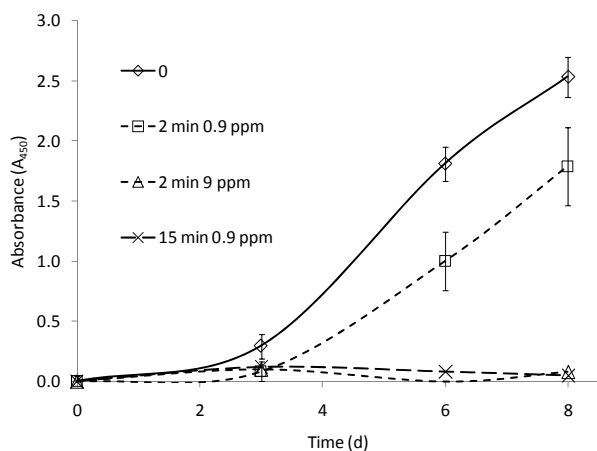


בתעשייה. 'ספורקיל' היא פורמולציה מסחרית מוגנת פטנט של chloride didecylmethylammonium שקיבלה רישוי בדרא"פ לטיפול בתפוחים, מנגו, אבוקדו והדרים ובישראל לליצי' והדרים, עפ"ר בריכוז של 120 מ"ג לליטר (מ. ברודי, מידע אישי). מטרת העבודה הנוכחית הייתה לבחון את השפעת הטיפול בשתי שיטות יישום על פטריית העובש האפור *Botrytis cinerea* שהוא אחד הפתוגנים המרכזיים באחסון של תוצרת חקלאית טרייה.

## תוצאות ודין

### חשיפה ישירה של נבגי בוטריטיס לספורקיל

נערכה סדרת ניסויים בהם נבדקה השפעת חשיפה ישירה של נבגי בוטריטיס לספורקיל במבחנה בטווח ריכוזים של 0.9 עד 90 ח"מ ובטווח זמנים של 1 עד 15 דקות. התוצאות הראו כי ריכוז של 9 ח"מ בחשיפה של 2 דקות גרם לקטילה מליאה של  $10^4$  נבגים של הפטרייה (איור 1) ותוצאה דומה התקבלה גם בריכוז של 4.5 ח"מ בדקה של חשיפה (תוצאות לא מובאות).



איור 1: השוואה של התפתחות בוטריטיס לאחר חשיפה למשך 2 דקות או 15 דקות לריכוז של 0.9 ח"מ או 9 ח"מ של ספורקיל (חומר פעיל). נבגים ( $10^4$ ) נחשפו לספורקיל במבחנות והתפתחות התפטיר נמדדה בפלטה של 48 באריות עם מצע גידול על ידי מדידת הבליעה באורך גל של 450 נ"מ במשך 8 ימים. ערכי סטיות התקן (Std) ניתנים כקווים אנכיים.

## רגישות נבגים של העובש האפור לאמוניום רביעוני בחשיפה ישירה או ביישום אולטראסוני

מאת: אבינועם דעוס, אורית דביר, שחר איש-שלום ואמנון ליכטר. המחלקה לחקר תוצרת חקלאית, מכון וולקני

## תקציר

אמוניום רביעוני ידוע כתכשיר חיטוי יעיל כנגד עובשים ויש לו מגוון רחב של יישומים בתעשיית המזון. השימוש בתכשירי אמוניום רביעוני כנגד פטריות הגורמות לריקבון בתוצרת חקלאית קטופה התרחב בשנים האחרונות בעקבות הצורך להפחית את השימוש בפונגיצידים. היישום של תכשירי חיטוי על תוצרת חקלאית מקובל בטבילה או בריסוס על מערכי הטיפול ויש עניין בבחינת תכשירים לא קורוסיביים בערפול. המטרה במחקר זה הייתה להשוות את יעילות הקטילה של נבגים של העובש האפור *Botrytis cinerea* בחשיפה ישירה לתכשיר Sporkill® או בערפול אולטראסוני. התוצאות מראות כי בחשיפה ישירה לפורמולציה מסחרית של ספורקיל הכוללת אמוניום רביעוני מתקבלת קטילה של  $10^4$  נבגים של הפטרייה כתוצאה מחשיפה למשך 2 דקות בריכוזים נמוכים מ-5 חלקים למיליון. לעומת זאת, בערפול אולטראסוני נדרשה חשיפה למשך 30 דקות לפחות ברמה של 500 ח"מ כדי לקבל קטילה יעילה של הנבגים. תוצאות אלו מראות כי הפטרייה רגישה מאד לטיפול בטבילה רגעית וכי שיטת היישום מכתובה את המינון האפקטיבי של התכשיר.

## מבוא

אמוניום רביעוני הוא תכשיר פעיל-שטח קטיוני בעל יציבות גבוהה בנוכחות חומרים אורגניים, לא קורוסיבי ובעל יעילות טובה כנגד מגוון גדול של עובשים וחיידקים (Walker, 2003). המבנה הבסיסי הוא של 'ראש' עם קבוצת אמין טעונה חיובית ו'זנב' עם מטען נגדי אך יש מגוון גדול של נגזרות של אמוניום רביעוני עם יעילות משתנה כנגד מיקרואורגניזמים וחלקם משמש לסניטציה

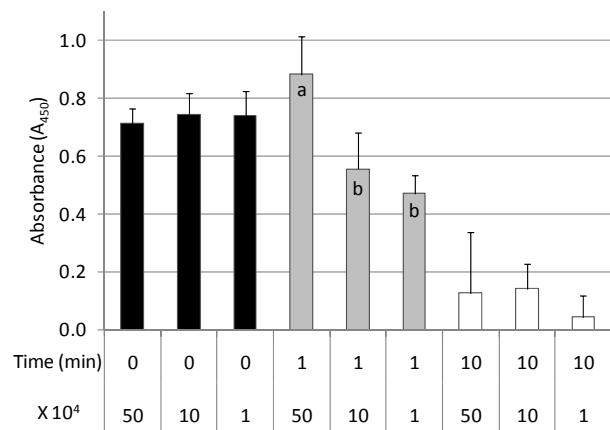
בבחינה של השפעת מספר הנבגים על פוטנציאל הקטילה של ספורקיל הוכנסו לבאריות נבגים בתחום של  $5 \times 10^5 - 1 \times 10^4$  עם ריכוז ספורקיל של 0.9 ח"מ למשך דקה או 10 דקות בהשוואה לביקורת (איור 2). התוצאות מראות כי בדקה של חשיפה יש הבדל מובהק בהתפתחות הפטרייה כאשר הוכנסו לבאריות  $5 \times 10^5$  נבגים לעומת  $1 \times 10^5$  או  $1 \times 10^4$  נבגים. תוצאה זו יכולה לנבוע מספיחה של החומר הפעיל על ידי הנבגים והפחתה בריכוז התכשיר החופשי מתחת לסף הרגישות של הפטרייה. מצד שני, אין להוציא מכלל אפשרות שישנה עמידות באוכלוסיה של הנבגים וגודל האוכלוסייה קובע האם תהיה קטילה מלאה או לא.

### ספורקיל בערפול אולטראסוני

חיטוי בערפול אולטראסוני נועד לטפל בחללים מורכבים מבחינה מבנית דוגמת מערכות אוורור בבתי קירור שאין אפשרות לבצע ניקוי שגרתי שלהם.

בניסויים שנערכו נבדק בעיקר ריכוז הספורקיל הדרוש לקטילה של נבגי בוטריטיס תוך שימת דגש על זמן החשיפה הדרוש בריכוזים הרלבנטיים (איור 3). על פי הסיכום הכללי של התוצאות לזמן חשיפה של 30 דקות אפשר לראות שהקטילה תלויה בריכוז, כאשר בריכוזי חומר פעיל של 750 ו-1000 ח"מ הייתה קטילה מלאה של הנבגים בכל הניסויים (איור 3A). כצפוי, בטיפול ביקורת של ערפול מים לא הייתה כל השפעה על התפתחות הפטרייה. בריכוז של 250 ח"מ כשליש מצלחות המגע היו נקיות לחלוטין בעוד שבריכוז של 500 ח"מ כשני שליש מהצלחות היו נקיות לחלוטין. ראוי לציין כי בריכוז של 500 ח"מ היו ניסויים בהם הייתה קטילה מלאה של בוטריטיס בכל הצלחות. בהשוואה של זמן היישום בריכוז של 500 ח"מ, נמצא כי לא היה הבדל בין יישום למשך 15 או 30 דקות אך ב-60 דקות הייתה קטילה מלאה של הנבגים (איור 3B). בבחינה של השפעת כמות הנבגים על יעילות הטיפול ביישום של 250 ח"מ של ספורקיל, נמצא כי בכמות של  $2.5 \times 10^4$  נבגים הייתה קטילה מלאה ב-50% מהצלחות בעוד שבכמות של  $2.5 \times 10^6$  נבגים לא

ריכוז של 0.9 ח"מ בחשיפה למשך 2 דקות גרם לעיכוב מובהק בהתפתחות הפטרייה וחשיפה למשך 15 דקות גרמה לקטילה מליאה של כל הנבגים. מבחינה מעשית, כאשר מטפלים בתוצרת חקלאית בהברשה או בטבילה מדובר בחשיפה ישירה לפרק זמן של כחצי דקה. משך הזמן להתחלת הייבוש יכול להשתנות בטווח של שניות בודדות במערכים רציפים או דקות אחדות כשמדובר בטבילה במכלים. בכל מקרה בקביעת הריכוז האפקטיבי יש להתחשב בזמן הייבוש. על פי התוצאות המוצגות למעלה למטרה של קטילת נבגים של *B. cinerea* בחשיפה ישירה, ניתן באופן תיאורטי לרדת לריכוז הרבה יותר נמוך מהערך של 120 ח"מ של חומר פעיל (0.1% של תכשיר מסחרי). יחד עם זאת יש לזכור שלא הובאו כאן תוצאות לגבי קטילת תפטיר של הפטרייה או של מיקרואורגניזמים אחרים ולכן לא ניתן לרדת מהריכוז המומלץ על ידי החברה ללא בחינה ספציפית של תנאי היישום והפתוגנים המעורבים.



איור 2: השוואה של התפתחות בוטריטיס לאחר חשיפה לריכוז של 1 ח"מ (חומר פעיל) במשך דקה או 10 דקות בהשוואה לביקורת. הניסוי נערך עם 3 ריכוזי נבגים ( $5 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^4$ ). סטיות התקן (SE) מוצגות כקווים אנכיים וניתוח סטטיסטי (Student Newman-keuls,  $P \leq 0.001$ ) נערך לזמן חשיפה של דקה אחת.

## סיכום

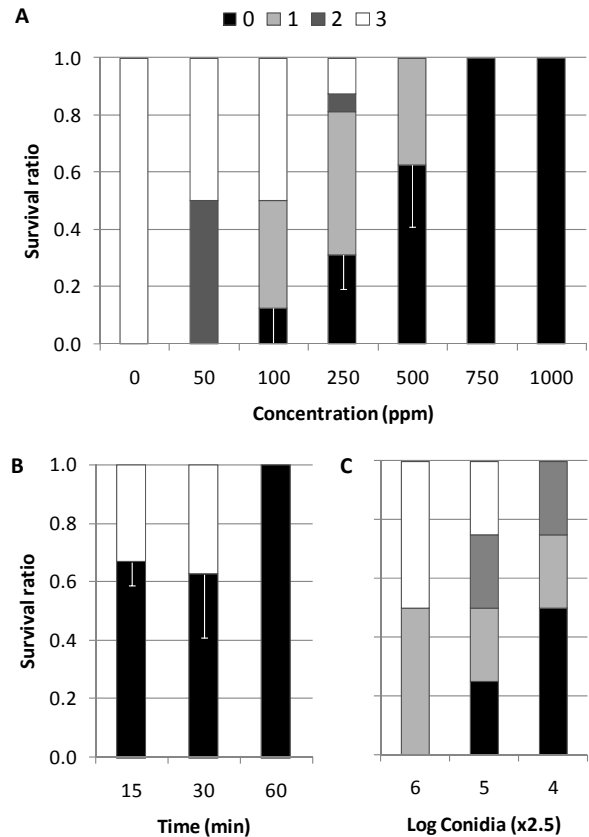
התוצאות מראות בבירור כי כאשר הפתוגן התוקף את הפירות והירקות הוא בוטריטיס ומקור האילוח הוא נבגים חופשיים הנמצאים על פני הפרי, ניתן לקבל קטילה מליאה של הנבגים ביישום ישיר של התכשיר בזמן קצר וריכוזים נמוכים מהמקובל כיום. יחד עם זאת, לא רצוי לרדת בריכוזי התכשיר ללא בדיקות מקיפות בתנאי היישום הספציפיים. לעומת זאת, במכפלת הזמן והריכוז, הפער בין חשיפה ישירה ליישום אולטראסוני הוא ב-2 סדרי גודל לפחות. מובן כי אפשר ליעל את הטיפול על ידי הארכת זמן היישום לטווח של שעות מעבר למה שנבדק על ידנו.

## תודות

אנו מודים למירב ומייקל ברודי (מ.מ. ברודי סחר בע"מ) על אספקת התכשיר לניסויים, אספקת ערכת המדידה לספורקיל ומימון חלקי של החומרים לביצוע המחקר. אנו מודים גם לרפי רגב על עזרתו בהעמדת מערכת התאים ולצביקה מחברת אס מיקרודרופ על עזרתו בהתאמת המערכת ליישום ספורקיל ובשדרוג יחידת הערפול.

פרסום זה הוא למטרות מחקריות בלבד ואינו מהווה המלצה ליישומית.

הייתה קטילה מלאה של הנבגים באף אחד מהצלחות (איור 3C).



איור 3: שכיחות דרגת קטילה של בוטריטיס בחשיפה למינונים וזמנים שונים של ספורקיל. נבגים של בוטריטיס ( $2.5 \times 10^6$ ) פוזרו על לוחיות מתכת שנחשפו לעירפול בספורקיל ו-4 צלחות מגע שימשו לבדיקת הישרדות הנבגים לאחר הטיפול. התפתחות הפטרייה על צלחות המגע דורגה לפי אינדקס בן 4 רמות: 0 – הצלחת נקייה ללא תפטיר; 1 – התפתחות תפטיר בכיסוי נמוך ממחצית הצלחת; 2 – התפתחות מעוכבת יחסית לביקורת אך על פני יותר ממחצית הצלחת; 3 – הצלחת מליאה בתפטיר כמו בביקורת.

A – השפעת ריכוזי ספורקיל בתחום של 0 עד 1000 ח"מ.

B – השוואת זמני חשיפה בריכוז ספורקיל של 500 ח"מ.

C – השפעה של כמות הנבגים בריכוז ספורקיל של 250 ח"מ וזמן חשיפה של 30 דקות בניסוי מייצג.