

25/04/2018

Agricultural Research Organization

Volcani Center

Israel / Ministry of Agriculture and Rural Development

430067317

מינהל המחקר החקלאי

מרכז וולקני

מדינת ישראל / משרד החקלאות ופיתוח כפר

דו"ח דיווח מדעי

קוד זיהוי: 430067317

מס' תיק מקור מימון:

נושא המחקר: מחקר באבוקדו לאחר הקטיף

סוג דו"ח: מותנה בד"ח מסכם

מינהל המחקר החקלאי

חוקר ראשי: אלקן נועם

חוקרים משניים:

מקורות מימון עבורם מיועד הדו"ח:

30000

מועצת הצמחים ענף פירות

תקציר הדו"ח:

אבוקדו הינו הגידול הסוב-טרופי הגדול בישראל. עם העלייה בכמויות הפרי המיוצרות, התרחבות היצוא לשווקים רחוקים והדרישה למכירת פרי בשל ומוכן לאכילה מתעורר הצורך לשמור על פרי איכותי לאורך תקופות ארוכות יחסית, תוך הארכת חיי המדף. עם הארכת חיי המדף ושיווק פירות מוכנים לאכילה חלה עליה משמעותית בכמות ריקבונות בכלל וריקבונות עוקץ בפרט. במהלך השנתיים האחרונות ובמסגרת ניסויים שונים שנעשו, נערכו תצפיות על התפתחות סוגי הריקבונות בפירות אבוקדו. אחד הממצאים הבולטים ביותר היה התפתחות ריקבונות עוקץ בשיעור ניכר לאחר אחסון שבוע בחיי מדף (20°C), כלומר ימים ספורים לאחר ההבשלה. בנוסף, נמצא כי כל העוקצים של פירות האבוקדו הבריאים לפני ההבשלה נמצאו כמאוכלסים בפטריות שונות עוד במטע, זאת לאחר חיטוי שטח הפנים של רקמות העוקץ. פתוגנים אלה נמצאים בעוקץ הפרי במצב רדום וממתינים לשעת כושר. עם ההבשלה של הפרי והזדקנות העוקץ פתוגנים אלה מתעוררים וגורמים לריקבונות בפרט (דיסקין ושותפים, 2015: Diskin et al, 2017). פתוגנים התוקפים עוקצים של פירות אבוקדו גורמים לירידה משמעותית באיכות המוצר ולפחתים בתוצרת החקלאית בעיקר בסופרים. ריקבונות עוקץ בפירות אבוקדו נגרמים ע"י מספר פטריות אשר חודרות דרך פתחים טבעיים ומאכלסות את הפרי במהלך שלבי התפתחותו על העץ, פטריות אלה כוללות: Colletotrichum, Alternaria, Monilinia, Lasiodiplodia, Diplodia, Fusarium, Cladosporium, Dothiorella מהפטריות Colletotrichum ו Alternaria Lasiodiplodia. כאשר פטריית ה Lasiodiplodia (השייכת למשפחת הבוטריוספרה) הינה גורה המחלה העיקרי הגורם לריקבונות עוקץ, תמותת ענפים במטע ותמותת שתילים מורכבים. בעבודה הנוכחית אנו נאפיין את התוקפנות של תבדידים של פטריות לסיודיפולדיה שונות אשר בודדו מאזורים שונים בארץ ונבחן דרכי התמודדות עם הפטרייה דרך: ריסוסי פריחה, הדברה ביולוגית וקטיף עם עוקץ קצר.

חתימות ואישורים:

היחידה לתכניות
עבודה ותקציר

אמרכלות

סג'ר

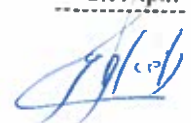
מנהל המכון



מנהל המחלקה



חוקר ראשי



תאריך

24.4.2018

דו"ח מסכם לשולחן האבוקדו לשנת 2017

רקבונות עוקץ באבוקדו לאחר הקטיף

ד"ר נעם אלקן, המחלקה לחקר תוצרת טרייה לאחר הקטיף, מנהל המחקר החקלאי, ראשון לציון, ישראל.
0506220566 ,03-9683605 ,noamal@agri.gov.il

מבוא:

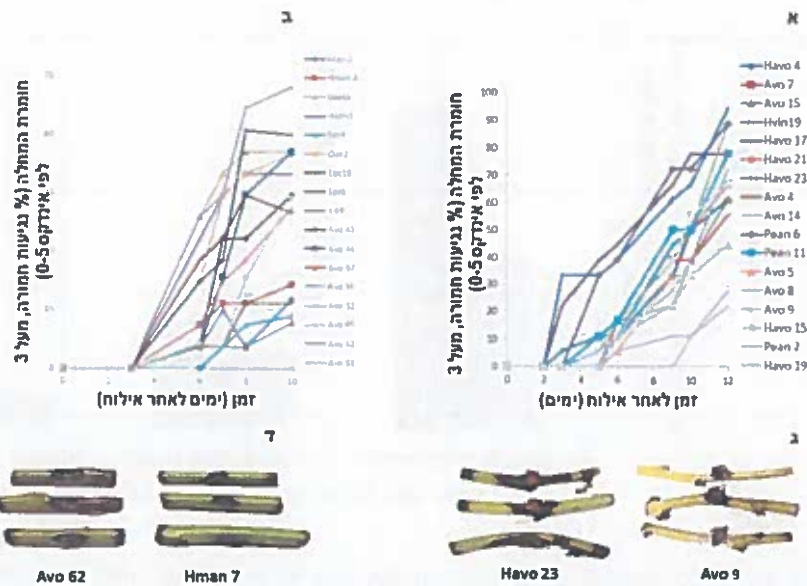
אבוקדו הינו הגידול הסוב-טרופי הגדול בישראל. עם העלייה בכמויות הפרי המיוצרות, התרחבות היצוא לשווקים רחוקים והדרישה למכירת פרי בשל ומוכן לאכילה מתעורר הצורך לשמור על פרי איכותי לאורך תקופות ארוכות יחסית, תוך הארכת חיי המדף. עם הארכת חיי המדף ושיווק פירות מוכנים לאכילה חלה עליה משמעותית בכמות רקבונות בכלל ורקבונות עוקץ בפרט. במהלך השנתיים האחרונות ובמסגרת ניסויים שונים שנעשו, נערכו תצפיות על התפתחות סוגי הרקבונות בפירות אבוקדו. אחד הממצאים הבולטים ביותר היה התפתחות ריקבונות עוקץ בשיעור ניכר לאחר אחסון שבוע בחיי מדף (20°C), כלומר ימים ספורים לאחר ההבשלה. בנוסף, נמצא כי כל העוקצים של פירות האבוקדו הבריאים לפני ההבשלה נמצאו כמאוכלסים בפטריות שונות עוד במטע, וזאת לאחר חיטוי שטח הפנים של רקמות העוקץ. פתוגנים אלה נמצאים בעוקץ הפרי במצב רדום וממתינים לשעת כושר. עם ההבשלה של הפרי והזדקנות העוקץ פתוגנים אלה מתעוררים וגורמים לרקבונות בפרי (דיסקין ושותפים, 2015: Diskin et al, 2017). פתוגנים התוקפים עוקצים של פירות אבוקדו גורמים לירידה משמעותית באיכות המוצר ולפחתים בתוצרת החקלאית בעיקר בסופרים. ריקבונות עוקץ בפירות אבוקדו נגרמים ע"י מספר פטריות אשר חודרות דרך פתחים טבעיים ומאכלסות את הפרי במהלך שלבי התפתחותו על העץ, פטריות אלה כוללות: *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Monilinia*, *Lasiodiplodia*, *Diplodia*, *Fusarium*, ו *Cladosporium*, *Dothiorella*. עיקר הנזק באבוקדו בארץ נגרם מהפטריות *Lasiodiplodia*, *Alternaria* ו *Colletotrichum*. כאשר פטריית ה *Lasiodiplodia* (השייכת למשפחת הבוטרוספרה) הינה גורה המחלה העיקרי הגורם לרקבונות עוקץ, תמותת ענפים במטע ותמותת שתילים מורכבים. בעבודה הנוכחית אנו נאפיין את התוקפנות של תבדידים של פטריות לסיוזיפלודיה שונות אשר בודדו מאזורים שונים בארץ ונבחן דרכי התמודדות עם הפטרייה דרך: ריסוסי פריחה, הדברה ביולוגית וקטיף עם עוקץ קצר.

מטרת המחקר: מציאת טיפולים להפחתת רקבונות העוקץ בפירות אבוקדו.

תוצאות:

אפיון האלימות על גבי ענפי אבוקדו של תבדידי *L. theobromae* ו *L. pseudotheobromae*

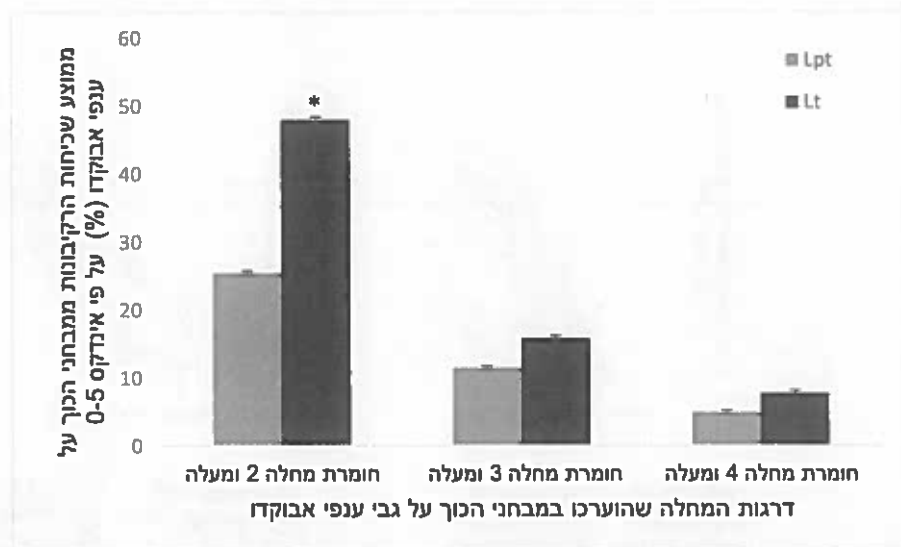
לצורך תחילת אפיונם של התבדידים נלקחו כ 40 תבדידים משני מיני הפטריות. מבחני כוך, נערכו על ענפונים מנותקים מעצי אבוקדו מהזן 'האסי' שעברו חיטוי. מבחני הכוך בוצעו שלוש פעמים עבור כל אחת מאוכלוסיות התבדידים. איור 1 מציג תוצאות חלקיות של הערכת רמת האלימות במועדי בדיקה שונים. ניתן לראות שבמין *L. theobromae* התבדיד Av062 היה האלים ביותר עם 72.2% מענפים היו נגועים באופן חמור - מעל רמה 3 (מתוך חמש רמות) לעומת התבדידים Hman7, Av016 שהיו התבדידים הכי פחות אלימים עם 11.7% ענפים עם מחלה מתקדמת. פרמטר נוסף שנלקח בחשבון היה חישוב השטח מתחת לעקום התפתחות המחלה (AUDPC) אשר נמדד במילימטרים לאורך שבעה ימים. מספר תבדידים היו אלימים ביותר וקיבלו ערכי AUDPC גבוהים בכל אחד מהניסויים, כשבמין *L. theobromae* התבדיד Av062 נמצא כתבדיד האלים ביותר בעל הערך הגבוה ביותר עם הערך 313.9. לעומת זאת נמצאו מספר תבדידים עם אלימות נמוכה, בעלי ערכים נמוכים במיוחד דוגמת Av097 עם הערך 48.9. לאחר סיכום תוצאות הניסויים וחישוב ערכי ה AUDPC מכל הניסויים נבחרו שלושה תבדידים אלימים (Av062, Av045, Av046) ושלושה תבדידים לא אלימים (Av097, Man2, Man). 7 מאוכלוסיית תבדידי ה *L. theobromae* (איור 1). במקביל, נערכו מבחני כוך דומים לאוכלוסיית תבדידי ה *L. pseudotheobromae*. מתוך אוכלוסיית התבדידים במין *L. pseudotheobromae* נראה כי התבדיד Havo23 היה האלים ביותר עם 94% מהענפים היו נגועים באופן חמור - מעל רמה 3 (מתוך חמש רמות) ואילו התבדיד Av09 נראה הכי פחות אליים עם 22% מהענפים הראו מחלה מתקדמת (איור 1). כשחושבו ערכי ה AUDPC נמצא כי התבדידים האלימים ביותר היו Havo23, Hvin19 שקיבלו את הערכים 508 ו 494, בהתאמה. בעוד שהתבדיד Av09 נראה כלא אליים והראה ערך AUDPC של 38 הנמוך באופן משמעותי ביחס לשאר האוכלוסייה (איור 1). לאחר השלמת שישה מבחני האלימות דומים במבחני הכוך על ענפים, נבחרו שלושה תבדידים אלימים (Havo 23, Havo 4, Pean 11) ושלושה תבדידים לא אלימים (Av014, Av05, Av09) להמשך תהליך הסלקציה על גבי פירות מנגו ואבוקדו.



איור 1. בחינת רמת האלימות של תבדידי *L. theobromae* ו *L. pseudotheobromae* על ענפי אבוקדו צעירים. א. מדידת רמת התוקפנות של תבדידי *L. pseudotheobromae* לפי רמת התפשטות המחלה מעל דרגה 3 לפי אינדקס (0-5) למשך עשרה ימים ממועד ההדבקה. ב. מדידת רמת התוקפנות של תבדידי *L. theobromae* לפי רמת התפשטות המחלה מעל דרגה 3 לפי אינדקס (0-5) עשרה ימים ממועד ההדבקה. ג. תמונות מייצגות מניסוי אילוח ב *L. theobromae* המציגות תבדיד אלים (Avo 62) ותבדיד לא אלים (Hman 7). ד. תמונות מייצגות מניסוי אילוח ב *L. pseudotheobromae* המציגות תבדיד אלים (Havo 23) ותבדיד לא אלים (Avo 9).

השוואת רמת האלימות בין תבדידי *L. Pseudotheobromae* ו *L. theobromae* ממבחי כוח שנערכו על גבי ענפי אבוקדו

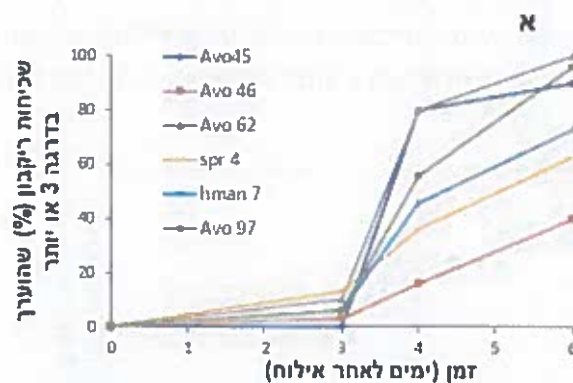
בכדי לבדוק האם קיים הבדל ברמות האלימות שהציגו שני מיני הפטריות נבחן הסיכום של שלושה ניסויים שהתקיימו במקביל עבור *L. theobromae* ו *L. pseudotheobromae*. ניתוחים אלו התייחסו לשכיחות חומרת המחלה שנצפתה לאחר שבעה ימים. דרגות ההערכה נקבעו על פי אינדקס להערכת חומרת ריקבונות שנע בין 0-5. על פי דרגות אלו חושבו שכיחויות חומרת המחלה על גבי הענפונים בדרגה 2 ומעלה, דרגה 3 ומעלה ודרגה 4 ומעלה (איור 2). מניתוחים אלו עולה כי בדרגת ריקבון של 2 ומעלה 48% מהענפונים שאולחו על ידי תבדידי *L. theobromae* הראו סימפטום מחלה משמעותי, נתון זה היה מובהק לעומת 25% של הענפונים המאולחים בדרגה זו על ידי תבדידי *L. pseudotheobromae*. חשוב לציין, שבדרגות ריקבון חמורות יותר ההבדלים בין שתי האוכלוסיות הצטמצמו משמעותית. עם זאת, נראה כי אוכלוסיית התבדידים של *L. theobromae* מייצרות ריקבון חמור יותר מאשר זו של תבדידי ה- *L. pseudotheobromae*. באופן דומה נמצא כי המין *L. theobromae* מייצר יותר נבגים בהשוואה למין *L. pseudotheobromae* (תוצאות לא מוצגות).



איור 2. שכיחות הריקבונות שהתפתחו על ענפי אבוקדו צעירים לאחר שבוע מיום האילוח. במהלך המדידות חושב ממוצע שכיחות הריקבונות שחומרתן הוערכה כ 2 או יותר, 3 או יותר ו 4 או יותר (לפי אינדקס 0-5). הממוצע חושב עבור מיני הפטריות *L. theobromae* ו *L. pseudotheobromae*.

אפיון אלימות של תבדידי *L. theobromae* על פירות אבוקדו

פטריות הבוטריוספריה גורמות לנוקים רבים בשלבי השונים של גידול האבוקדו. כתוצאה מנגיעות קשה במטעים רבים בארץ מתפתחים ריקבונות עוקץ בשלב שלאחר קטיף. בניסויים אלה המשכנו לבצע מבחני כוך על מנת לראות האם תבדידים שהראו אלימות על גבי ענפי אבוקדו מנותקים יראו תוצאות דומות גם על פירות אבוקדו. פירות אבוקדו מהזן 'אטינגר' נקטפו ללא העוקץ, עברו הבשלה בטמפרטורת החדר עד לשלב של התחלת התרככות. הפירות עברו סטריליזציה חיצונית ואולחו בנבגי תבדידים שונים של *L. theobromae*, הפירות אוחסנו באווירה לחה ב 23°C למשך שישה ימים בהם הוערכה עוצמת הריקבון על פי אינדקס שבין 0-5 (איור 3א). ניסיון זה הראה כי התבדיד האלים ביותר היה Av0 62, בדומה להדבקות על גבי ענפונים. כך בתום תקופת הניסוי שכיחות הפירות שהודבקו בתבדיד והראו רקבון חמור הוערכה ב 100%. כמו כן, פירות שהודבקו בתבדידים Av045 ו Av097 הגיעו לרמת ריקבון דומה. באופן מפתיע, התבדיד Av0 46 שבניסויים קודמים הוערך כאלים נמצא כתבדיד הכי פחות אלים על גבי פירות אבוקדו, כך שישה ימים לאחר האילוח רק 46% מהפירות המאולחים הראו רקבון משמעותי (איור 3ב).



Hman 7

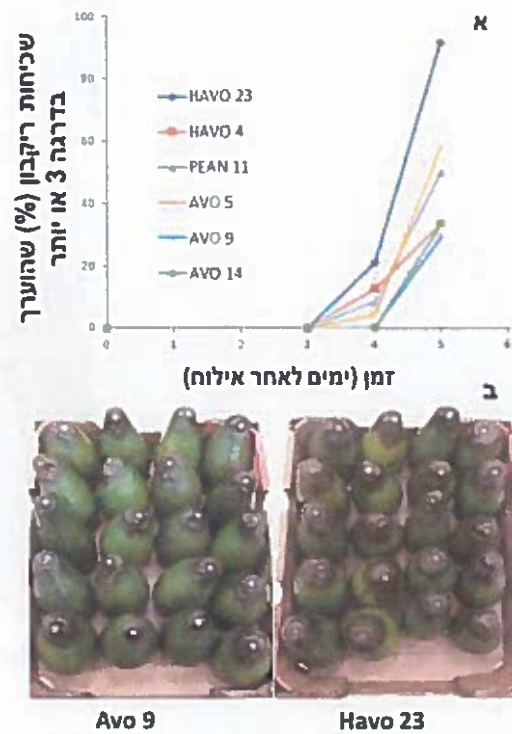
Avo 62

איור 3. בחינת מידת האלימות של תבדידי *L. theobromae* על פירות אבוקדו מהזן 'אטינגר'. א. הערכת שכיחות הריקבונות המתקדמים, מעל דרגה 3 לפי אינדקס 0-5, על פירות אבוקדו 'אטינגר' שהודבקו בתבדידי *L. theobromae* אלימים או לא אלימים לאורך שישה ימים ממועד ההדבקה. ב. תמונות מייצגות של פירות אבוקדו שהודבקו בתבדידי אליים (Avo 62) ותבדידי פחות אליים (Hman 7) לאחר חמישה ימים ממועד האילוח.

אפיון אלימות של תבדידי *L. pseudotheobromae* נבחרים על פירות אבוקדו

פירות אבוקדו מהזן 'אטינגר' נקטפו ללא העוקץ, עברו הבשלה בטמפרטורת החדר עד לשלב של התחלת התרככות. הפירות עברו סטריליזציה חיצונית ואולחו בנבגי תבדידים שונים של *L. pseudotheobromae*, הפירות אוחסנו באווירה לחה ב 23°C למשך חמישה ימים בהם הוערכה עוצמת הריקבון על פי אינדקס שבין 0-5. ניסיון זה הראה כי התבדידי האליים ביותר היה התבדידי Havo 23 עם 91% מהפירות שהראו ריקבון משמעותי (מעל דרגה 3 מתוך 5), לעומת זאת בתבדידי Avo 9 הוערכה השכיחות בתום חמשת ימי הניסוי ב 29% מהפירות עם ריקבון משמעותי. תבדידים נוספים שנראו כפחות אלימים היו Avo 14 ו Havo 4 ששכיחות הפירות עם ריקבון משמעותי לאחר חמשת ימי הניסוי

הוערכה ב 33% בלבד (איור 4א). לסיכום ניתן לומר, שבדומה למבחני האילוח שנערכו על ענפוני האבוקדו נראה שהתבדיל Havo 23 היה התבדיל האלים ביותר לעומת התבדיל Avo 9 אשר היה התבדיל הכי פחות אלים על גבי פירות אבוקדו כפי שניתן לראות מהתמונות המייצגות לאחר חמישה ימים ממועד האילוח (איור 4ב).



איור 4. בחינת רמת האלימות של תבדילי *L. pseudotheobromae* על פירות אבוקדו מהזן 'אטינגרי'. **א.** הערכת שכיחות הריקבונות המתקדמים (מעל דרגה 3 לפי אינדקס 0-5) על פירות אבוקדו 'אטינגרי' שהודבקו בתבדילי *L. pseudotheobromae* אלימים או לא אלימים לאורך חמישה ימים ממועד ההדבקה. **ב.** תמונות מייצגות של פירות שהודבקו בתבדילי אלים (Havo 23) ותבדילי לא אלים (Avo 9) לאחר חמישה ימים ממועד האילוח.

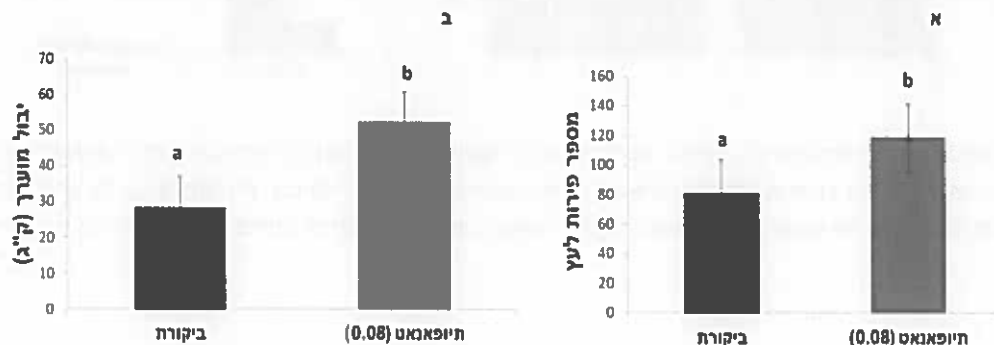
חלק שני

ריסוסי תפרחות

הערכת השפעת ריסוס תפרחות על הגברת היבול לעץ אבוקדו מהזן 'רידי'

הפטרייה לסידופלודיה כמו פטריות בוטריוספרה אחרות חודרת דרך פתחים טבעיים אשר שכיחים ביותר בזמן הפריחה (Jonson et al, 1991). בנוסף, התקבלו תוצאות מבטיחות במטעי מגו אשר הראו כי ריסוסים של תפרחות במטעי מגו הפחיתה את שכיחות ועוצמת רקבונות העוקץ באחסון והביאה לגידול בכמות הפירות לעץ (אלקן ושותפים 2018). בעקבות ניסויים אלו נעשו כמה ניסויים לבחינת ההיפותזה כי ריסוס בפונגיצידיים בפריחה תוביל להפחתת רקבונות עוקץ ותוספת פרי.

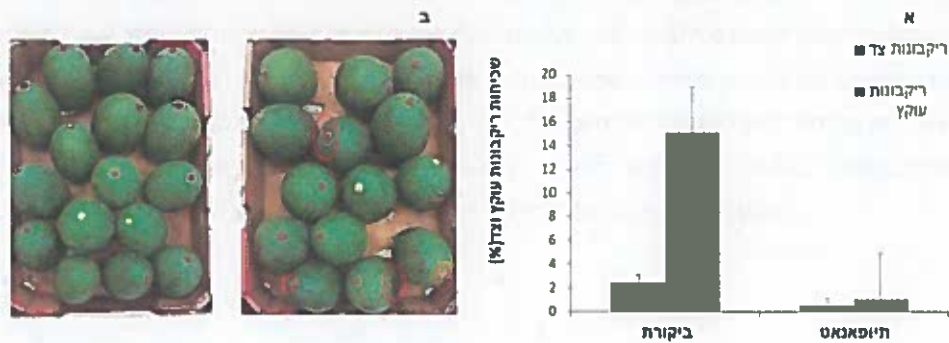
ניסוי ריסוס העצים המלא (לעומת ניסויים של ריסוסי תפרחות אשר התבצע ע"י פרופ' דני שטיינברג) התבצע על הזן 'רידי'. העצים רוססו כל שבוע במשך הפריחה (ארבע פעמים), בתום הניסוי הפירות נקטפו ונשקלו ונעשתה הערכה של מספר הפירות. בספירת הפירות לעץ ניתן לראות שמספר הפירות עלה באופן מובהק (איור 5) מ 81 ל 120 פירות לעץ לאחר ריסוס בתיופאנאט, כלומר עלייה של כ 50% במספר הפירות לעץ. ההשפעה על משקל היבול הייתה אפילו יותר דרמטית (איור 6), לאחר ריסוס בתיופאנאט נרשמה עלייה של 95% במשקל היבול לעץ, בקטיף. ניתן להסיק מכך, שלריסוס בתיופאנאט הייתה השפעה דרמטית לגבי העלייה במשקל וביבול הפירות שנמדדו בתום תקופת הגידול.



איור 5. הערכת היבול לאחר קטיף ניסוי ריסוסי פריחה בזן 'רידי'. א. מספר הפירות שהוערכו בקטיף מעצים שטופלו בחומר תיופאנאט לעומת טיפול הביקורת. ב. משקל היבול (ק"ג) של פירות מזן 'רידי' בקטיף מעצים שטופלו בחומר תיופאנאט לעומת הביקורת.

השפעת ריסוס העצים על הפחתת שיעור הריקבונות המתפתחים באחסון

כמאה פירות נקטפו מכל טיפול לבחינת כושר האחסון של הפירות הקטופים מטיפולי ריסוסי הפריחה בתיופאנאט וטיפול הביקורת. הפירות אוחסנו תחילה בתנאי אחסון בקור ב 5 מעלות צלזיוס למשך שלושה שבועות, לאחר מכן הפירות הועברו לשבוע אחסון בחיי מדף ב 20 מעלות צלזיוס. פירות אלו הוערכו לאחר אחסון בקור ולאחר חיי המדף לשיעור ריקבונות העוקץ והצד. בנוסף כומתו מדדים פיזיולוגיים כמו קשיות הפרי ושכיחות הופעת החמות, במדדים אלו לא נמצא הבדל בין הטיפול לביקורת (תוצאות לא מוצגות). לאחר אחסון בחיי מדף, נמצא כי שכיחות ריקבונות העוקץ בפירות שטופלו בתיופאנאט הופחתה ב 15% בהשוואה לפירות שנבדקו מטיפול ההיקש. מהערכה שנעשתה לבחינת שכיחות ריקבונות הצד נראה כי חלה הפחתה לא מובהקת של כ 2% בשיעור ריקבונות הצד (איור 6א). תמונות להמחשה מראות את ההבדלים שנצפו לאחר הוצאה מאחסון בתנאי חיי מדף (איור 6ב). מסיכום ההערכה שנערכה לאחר אחסון בקור ותוספת אחסון בחיי מדף, ניתן להסיק כי קיימת הפחתה בשכיחות ריקבונות העוקץ בין פירות שרוססו בתיופאנאט בפריחה לבין פירות שלא רוססו בפריחה.

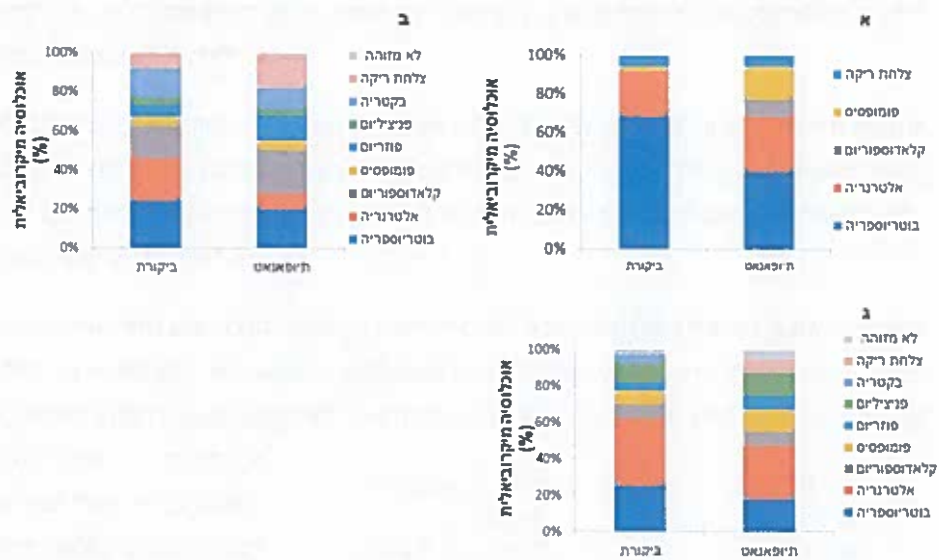


איור 6. השפעת ריסוסי הפריחה בתיופאנאט על הופעת ריקבונות לאחר אחסון. א. שכיחות ריקבונות העוקץ והצד שנמדדו על גבי פירות ירדי בטיפולי ההיקש ובתיופאנאט לאחר אחסון בקור למשך 21 יום (5°C) ותוספת 7 ימים בחיי מדף (20°C). ב. תמונות מייצגות שנלקחו מטיפולי הביקורת (שמאל) ותיופאנאט (ימין) בסמוך למועד ההערכה.

שינוי בהרכב האוכלוסייה המיקרוביאלית לאורך תקופת ההבשלה

במהלך העבודה בודדו במספר מועדים עוקצים של פירות על מנת לבחון את השינוי שמתחולל בהרכב המיקרואורגניזמים המאכלס את העוקצים. הדגימה הראשונה התבצעה לאחר חודש ממועד סיום הריסוס (איור 7א), בשלב זה נמצא כי ריסוס התיופאנאט הפחית את התבססות הבוטריוספריה בכ 28% בהשוואה לטיפול הביקורת. ביום שלאחר קטיף (איור 7ב) כ 25% ו 18% מהבידודים כללו בוטריוספריה בטיפול ההיקש והתיופאנאט בהתאמה, בנוסף נראה כי חלה הפחתה משמעותית בשיעור העוקצים שאוכלסו בפטריות פתוגניות. כך, שיעור הפתוגנים ירד מ 48% ל 27% בלבד בזמן הקטיף בטיפול בתיופאנאט. כעבור שלושה שבועות הוצאו הפירות מאחסון לבדיקה נוספת (איור 7ג) בבדיוד זה נראה כי המגמה נשמרה. כלומר שיעור הבוטריוספריה עמד על 25% בטיפול ההיקש למול 17.5% בתיופאנאט, בנוסף נראה כי הפער בין כלל העוקצים מהם בודדו פטריות פתוגניות בביקורת עמד על 62% לעומת

47.5% בעוקצים שקיבלו טיפול עם תיופאנאט. ניתן לראות שכאשר בודדו עוקצים קרוב למועד יישום התיופאנאט הייתה הפחתה משמעותית במספר העוקצים שמהם התפתחו פטריות ממשפחת הבוטרוספריה. בבידודים מאוחרים יותר ההבדלים בין הטיפולים הצטמצמו, יחד עם זאת, נראה כי השונות המיקרוביאלית הייתה גבוהה יותר בטיפול התיופאנאט ובנוסף נרשמה הפחתה ניכרת במספר העוקצים שאוכלסו בפטרייה אלטרנריה שמהווה פתוגן הגורם לריקבונות עוקץ ומחלת הכתם השחור באבוקדו ובמנגו.



איור 7. הרכב האוכלוסייה המיקרוביאלית שבודדה מעוקצי פירות אבוקדו 'רידי' לאורך זמן לאחר ניסוי ריסוס העצים בפריחה. א. הרכב האוכלוסייה המיקרוביאלית (%) לאחר כחודש מתום הריסוסים. ב. הרכב האוכלוסייה המיקרוביאלית (%) יום לאחר קטיף הפרי. ג. הרכב האוכלוסייה המיקרוביאלית (%) לאחר הוצאה מאחסון בקור (5°C) לשלושה שבועות ותוספת של שבוע בחיי מדף (20°C).

חלק שלישי

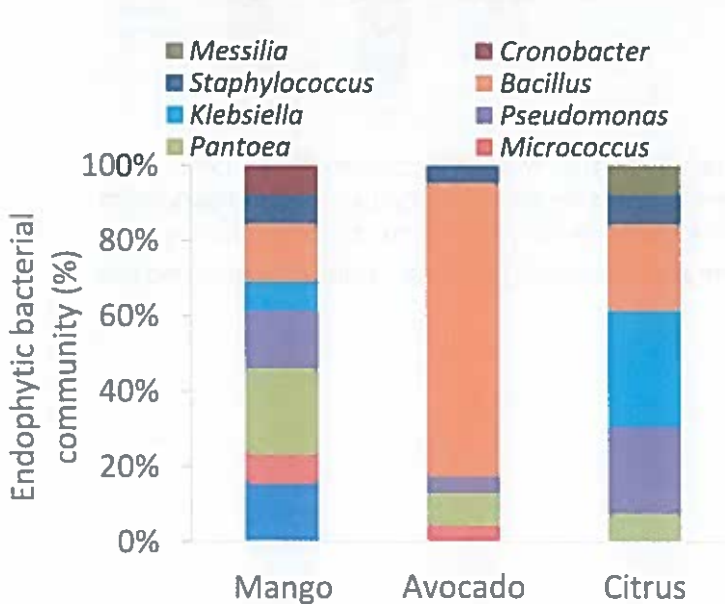
הדברה ביולוגית

בידוד ואפיון חיידקים מעוקצי פירות

מחקרים קודמים שנערכו במטרה למצוא מיקרואורגניזמים בעלי פעילות הדברה ביולוגית לפטריות פתוגניות באחסון התמקדו במיקרואורגניזמים אפיפיטיים. משמע, מיקרואורגניזמים המאכלסים את פני שטח הצמח והפרי. מחקרים אחרים התמקדו במיקרואורגניזמים אשר מאכלסים את אזור בית השורשים. במחקר הנוכחי ההתמקדות חלה במיקרואורגניזמים אנדופיטיים אשר מאכלסים את רקמת עוקצי פירות המנגו, האבוקדו וההדרים.

תחילה בודדו כ-127 חיידקים אנדופיטיים מעוקצי פירות מנגו, אבוקדו והדרים. עוקצי הפירות חוטאו חיצונית ונטחנו במים מעוקרים, הרקמה הטחונה פוזרה על גבי מצע LB. חיידקים אנדופיטיים אשר הצליחו לגדול על גבי צלחות עם מצע מזון עשיר (LB) אופיינו באופן פנוטיפי ובאופן מולקולרי תוך שימוש ב-PCR עם תחלי 16S (איור 8).

ניתן לראות כי סוגי החיידקים אשר בודדו מעוקצי הפירות סווגו לתשעה סוגים עיקריים, כאשר הסוגים העיקריים שבודדו היו: *Bacillus*, *Klebsiella*, *Pantoea* ו-*Pseudomonas*. ניתן לראות כי קיים שוני משמעותי באוכלוסייה שבודדה מהעוקצים של הפירות השונים (איור 8). כמו כן, ניתן לראות כי בעוקצי



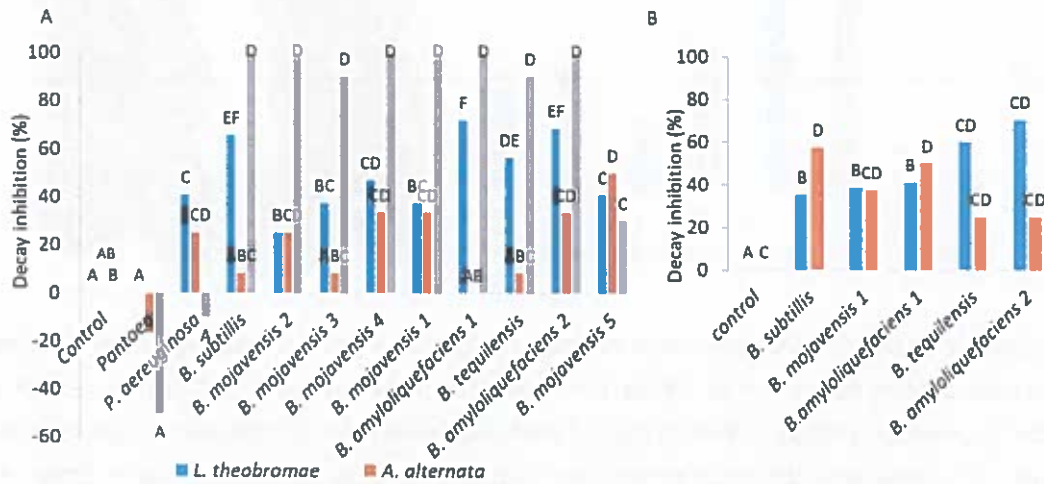
אבוקדו, החיידקים השולטים המבודדים השתייכו לסוג ה-*Bacillus*. גם בעוקצי המנגו וההדרים אחוז נכבד מהחיידקים המבודדים השתייכו לסוג ה-*Bacillus*.

איור 8. התפלגות סוגי חיידקים בעוקצי פירות. אפיון מולקולרי של חיידקים אשר בודדו ממיצוי עוקצי פירות של מנגו, אבוקדו והדרים לאחר גידול החיידקים על צלחות פטרי עם מצע עשיר (LB) המעודד גידול חיידקים.

בחינת פעילות אנטגוניסטית של חיידקים כנגד פטריות פתוגניות על גבי צלחות *in vitro*

לאחר בידוד החיידקים האנדופיטיים מעוקצי הפירות, נבחנה פעילותם כנגד פטריות פתוגניות אשר בדרך כלל גורמות לרקבונות בעוקצי פירות כגון *Lasiodiplodia theobromae* ו-*Alternaria alternata* וכנגד פטריות אשר לרוב, באות לידי ביטוי על פני שטח הפרי כגון *Colletotrichum gloeosporioides* ו-*Phomopsis mangiferae*, *Alternaria alternata*. מעניין לציין, כי רוב החיידקים אשר בודדו לא הראו

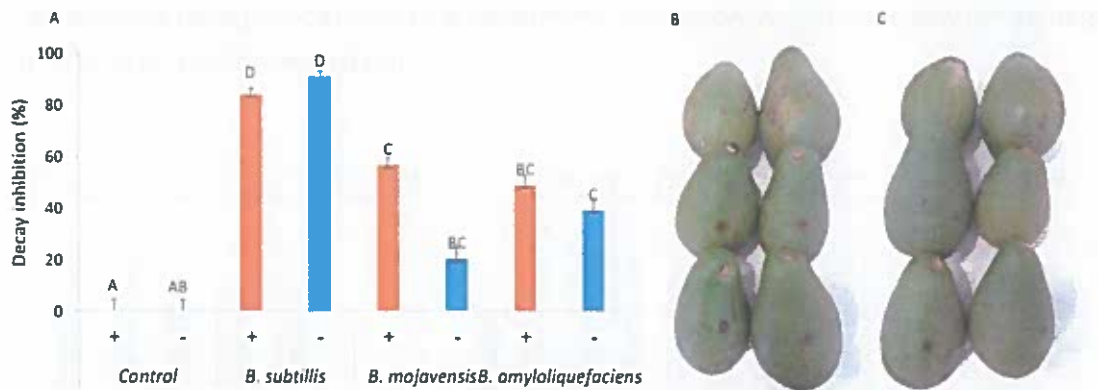
פעילות עיכוב משמעותית כנגד הפתוגניים הפטרייתיים. עם זאת, כעשרה חיידקים מהסוג בצילוס הראו פעילות טובה בעיכוב הפתוגנים (איור 9).



איור 9. עיכוב פעילות פטריות פתוגניות על ידי חיידקים אנדופיטיים גבי צלחות מצע עשיר. A. 13 החיידקים בעלי פעילות אנטגוניסטית משמעותית כנגד הפטריות הפתוגניות, *Lasiodiplodia* תפטר הפטריות הפתוגניות *L. theobromae*, *A. alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* אחוז עיכוב גידול. B. על ידי חמשת החיידקים המצטיינים. אותיות שונות מייצגות מובהקות ($p < 0.05$).

בחינת פעילותם האנטגוניסטית של חיידקי בצילוס מצטיינים כנגד הפטרייה *Colletotrichum gloeosporioides* בפירות אבוקדו

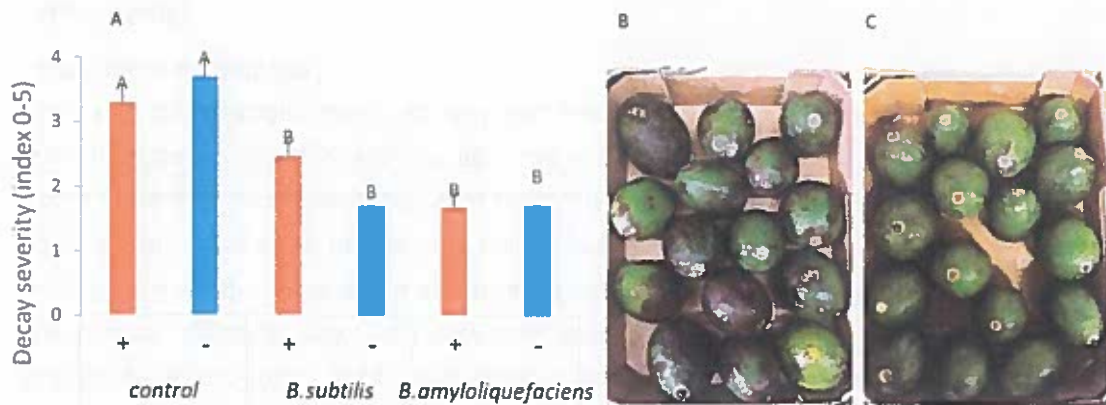
פעילותם האנטגוניסטית של חיידקי בצילוס נבחרים נבחנה בפירות אבוקדו 'פוארטה' כנגד הפטרייה הפתוגנית *Colletotrichum gloeosporioides*, עם (+) וללא (-) החומרים המופרשים מהם. מהתוצאות ניתן לראות כי החיידקים *B. subtilis* ו-*B. amyloliquefaciens* הראו פעילות אנטגוניסטית משמעותית כנגד הפתוגן הפטרייתי, עם וללא חומרים מופרשים (איור 10). *B. mojavensis* הראה פעילות אנטגוניסטית מובהקת בנוכחות חומרים מופרשים בלבד. חשוב לציין, כי מלבד החיידק *B. subtilis* אשר היה בעל ההשפעה הרבה ביותר עם וללא החומרים המופרשים (ללא שונות בין שני הטיפולים) בשני החיידקים הנותרים, ההשפעה המשמעותית יותר הייתה בנוכחות חומרים מופרשים (איור 10).



איור 10. עיכוב התפשטות הריקבון הנגרם על ידי הפטרייה *C. gloeosporioides* באבוקדו 'פוארטה' באמצעות שלושה חיידקי בצילוס. פירות האבוקדו חוררו בשלוש נקודות בהיקף הפרי, טופלו בנבגי חיידקים ולאחר כ-24 שעות הודבקו הפצעים בנבגי פטרייה. הפירות אוחסנו למשך חמישה ימים ב 20°C . A. עיכוב ריקבון כאחוז מהביקורת. B. תמונה מייצגת מפירות הביקורת (ללא חיידק). C. תמונה מייצגת מפירות אשר טופלו בחיידק *B. subtilis* ללא חומרים המופרשים. אותיות שונות מייצגות מובחנות ($p < 0.05$).

בחינת פעילותם האנטגוניסטית של חיידקי הצילוס המצטיינים כנגד רקבונות טבעיים באחסון פירות אבוקדו

פעילותם האנטגוניסטית של החיידקים *B. subtilis* ו-*B. amyloliquefaciens* נבחנה כנגד רקבונות טבעיים המתפתחים בפירות אבוקדו 'רידי'. השפעתם של החיידקים נבחנה עם (+) וללא (-) החומרים המופרשים מהם. פירות האבוקדו נטבלו במיצויי חיידקים עם וללא חומרים המופרשים מהם ואוחסנו ב 20°C למשך עשרה ימים. ניתן לראות כי כל הטיפולים בחיידקים הפחיתו באופן משמעותי את התפתחותם של הרקבונות הטבעיים בפירות אבוקדו 'רידי' במידה דומה, עם וללא מצע הגידול (איור 11). כך, שני החיידקים *B. subtilis* ו-*B. amyloliquefaciens* נמצאו כמשפיעים על התפתחות הריקבון הטבעי בפירות האבוקדו במידה דומה ובאופן משמעותי.

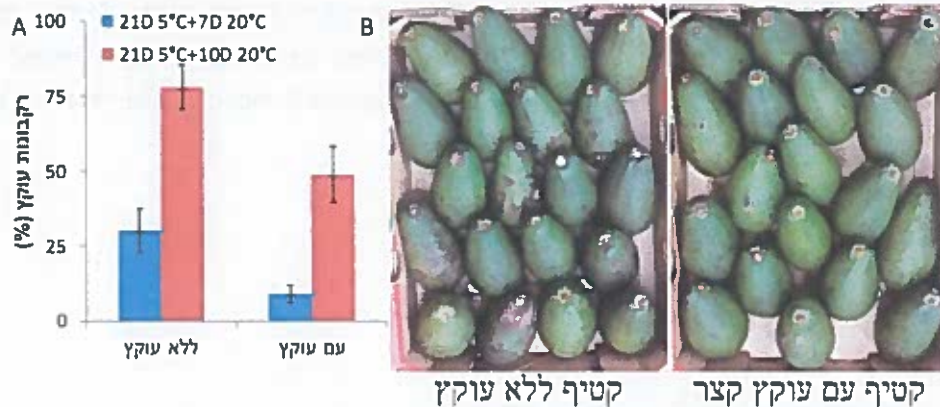


איור 11. השפעת חיידקי בצילוס על התפשטות רקבונות טבעיים באבוקדו 'ריד'. פירות אבוקדו 'ריד' נטבלו למשך 30 שניות בחיידקים יחד עם המצע בו הם גדלו (+) וללא המצע (-). A. חומרת הריקבון (אינדקס 0-5). B. תמונה מייצגת של פירות אבוקדו שנטבלו במצע מינימלי, ביקורת. C. תמונה מייצגת של פירות אבוקדו אשר נטבלו בחיידק *B. amyloliquefaciens* יחד עם המצע בו הוא גדל. אותיות שונות מייצגות מובהקות ($p < 0.05$).

חלק רביעי

קטיף פירות עם עוקץ קצר

כיום חלק מזני האבוקדו נקטפים עם עוקץ בעוד זנים אחרים נקטפים ללא עוקץ, וזאת לצורך חסכון בכוח אדם בקטיף. קטיף ללא עוקץ יוצר פצע. ידוע כי באיזור הפצע מצטברים רדיקלים חופשיים אשר יכולים להשפיע על תגובות ההגנה של הפרי ועל ההבשלה המקומית. לצורך בחינת השפעת הקטיף על רקבונות עוקץ, נקטפו פירות אבוקדו מהזן פוארטה ואטינגר ללא עוקץ (בתלישה) או עם עוקץ קצר (0.5 ס"מ). הפירות אוחסנו בחמש מעלות צלסיוס למשך שלושה שבועות ותוספת של שבעה או עשרה ימים בחיי מדף בעשרים מעלות. בעוד שלא נמצא הבדל מובהק במדדי ההבשלה בין קטיף עם או ללא עוקץ (תוצאות לא מוצגות), נמצא הבדל בכמות רקבונות הצד (תוצאות לא מוצגות) ובכמות רקבונות העוקץ לאחר אחסון בקור בתוספת של חיי מדף (איור 12). תוצאות דומות התקבלו בקטיף של פירות 'אטינגר' עם עוקץ קצר אשר פיתחו באופן משמעותי פחות רקבונות עוקץ לאחר אחסון ממושך. מעניין לציין כי נמצא שהחומרים האורגניים מעוקצי אבוקדו הינם בעלי יכולת לעיכוב גידול של פטריות הלסידיפלודיה.



איור 12. השפעת קטיף עם עוקץ על רקבונות עוקץ באחסון אבוקדו 'אטינגר'. A. אחוז רקבונות עוקץ בפירות אבוקדו אטינגר אשר נקטפו בתלישה לעומת עם עוקץ בעזרת מזמרה (0.5 ס"מ) לאחר אחסון של שלושה שבועות בקור ושבעה (כחול) או עשרה ימים (אדום) בחיי מדף. B. תמונה מייצגת של ארגז אבוקדו עם או ללא עוקץ קצר.

סיכום ומסקנות

מחקרים קודמים במעבדתנו אפיינו אוכלוסיות מגוונות ביותר של המיקרואורגניזמים (חיידקים, שמרים ופטריות) שחיים בעוקץ הפרי באופן אנדופיטי במשך זמן רב. עם זאת רק לאחר הבשלת הפרי חלק מהפטריות המאכלסות את העוקץ יעברו מהשלב האנדופיטי לשלב הנקרוטרופי בו הן יגרמו לרקבונות עוקץ. פטריות שונות גורמות לרקבונות עוקץ, כאשר פטריות הבוטריוספריה הן מחוללות המחלה העיקריות. מתוך קבוצת הבוטריוספריה, הפטרייה לסידיפלודיה הינה חלק ממשפחת הבוטריוספריה והיא מחוללת המחלה העיקרית של רקבונות עוקץ בפירות אבוקדו בארץ (נעם אלקן, דו"ח לשולחן האבוקדו, 2016). מעניין לציין כי פטריית הלסידיפלודיה הינה פטריה אשר אופיינה בארץ לפני עשרות שנים, אך תמיד הייתה פתוגן משני אשר לא גרם לנוק רב. בשנים האחרונות נמצא כי פטריית הבוטריוספריה גרמה לנוק כבד במטעי אבוקדו ומנגו הן בשתלנות,

במטע וגם לאחר קטיף. כך נולד שיתוף הפעולה עם הקבוצה במיזם הבוטריוספריה בהובלת פרופ' דני שטיינברג. לאורך מיזם הבוטריוספריה באבוקדו בודדו תבדידים רבים של פטריות לסיודיפלודיה. לאחר אפיונם ב-PCR, נמצא כי ניתן לחלק את פטריות הלסיודיפלודיה לשני מינים: *L. theobromae* ו-*L. pseudotheobromae*. בחלק הראשון של המחקר הנוכחי נמצא כי קיימת שונות רבה בין תבדידי הפטריות הקיימות בארץ. כאשר חלקן אלים במיוחד ועוד חלקם בעל אלימות פחותה בהרבה. בנוסף נמצא כי פטריות *L. pseudotheobromae* הינן פחות אלימות ופחות מנביגות מהפטריות *L. theobromae*. בהמשך המחקר אנו נהיה מעוניינים לאפיין באופן מוקד יותר את תכונת האלימות של פטריות הלסיודיפלודיה.

בהתבסס על דיווחים היסטוריים בספרות כי פטריות הבוטריוספריה יכולות לחדור לעוקצי פירות במהלך הפריחה, נעשו ריסוסי פריחה במטרה להפחית את אחוזי רקבונות העוקץ ולצמצם את תמותת הענפונים הנגרמת ע"י הפטרייה. אכן, ריסוסים בפונגיצידיים בפריחה גרמו לשינוי באוכלוסייה המיקרוביאלית בעוקצי הפירות תוך הפחתת השכיחות של הפטריות הפתוגניות (לסיודיפלודיה ואלטרנריה). כך, הופחת אחוזי הפרי הסובל מרקבונות עוקץ באחסון. להפתעתנו, עצים אשר רוססו בפריחה נשאו יותר פירות באופן מובהק והראו גידול מובהק ביבול. כיום על בסיס תוצאות אלו ואחרות נעשה פרויקט גדול (בהובלתו של פרופ' דני שטיינברג) של ריסוסי עצי אבוקדו בפריחה לצורך הגברת היבול.

באפיון המיקרואורגניזמים בעוקצי הפירות נמצא אחוז גבוה של חיידקים אשר גורמים לרקבונות באבוקדו. לכן, בשיתוף עם פרופ' סמיר דרובי נבחנה יכולת הדברה ביולוגית של חיידקים אנדופיטים אשר בודדו מעוקצי פירות כנגד פתוגנים הגורמים לרקבונות. לאחר בידוד של למעלה ממאה חיידקים נמצאה קבוצה של חיידקים ממשפחת הבצילוס אשר הראתה יכולת הדברה ביולוגית כנגד פטריות לסיודיפלודיה וקולטוטריכום בצלחות *in vitro*. נראה כי אותם חיידקים יכלו לעכב גם הדבקות מלכותיות של *Colletotrichum gloeosporioides* בפירות אבוקדו ואף לעכב הדבקות טבעיות בפירות אבוקדו לאחר טבילה בחיידקיים. כך, ניתן לסכם כי נמצאו חיידקים אנדופיטיים בעלי יכולת הדברה ביולוגית בפירות אבוקדו. בבחינת מנגנון הפעולה של אותם חיידקים, נמצא כי הם מדבירים פטריות תוך שפעול מנגנון ההגנה של הפרי והפרשת חומרים אנטי-מיקרוביאליים.

מכיוון שקטיף בתלישה, ללא עוקץ, יוצר פצע, ובאזור הפצע מצטברים רדיקלים חופשיים אשר יכולים להשפיע על תגובות ההגנה של הפרי ועל ההבשלה המקומית. נמשכה הבחינה של ההשפעה של קטיף עם עוקץ על רקבונות העוקץ. כמצופה, נמצא כי קטיף עם עוקץ מפחית את כמות ועוצמת רקבונות העוקץ באופן משמעותי. מעניין לציין, כי נמצא שהחומרים האורגניים שהופקו מעוקצי אבוקדו הראו יכולת עיכוב של גידול תפטיר של פטריות הלסיודיפלודיה.

רשימת ספרות

- דיסקין, ס', פיינגברג, א., מאור, ד., פרוסקי, ד., דרובי, ס., אלקן, נ. (2015). רקבונות עוקץ בפירות לאחר קטיף. עלון הנוטע.
- Diskin, S., Feygenberg, O., Maurer, D., Droby, S., Prusky, D., & Alkan, N. (2017). Microbiome alterations are correlated with occurrence of postharvest stem-end rot in mango fruit. *Phytobiomes*, 1(3), 117-127.

