

תקציר הדו"ח:

לאחרונה נעשים מאמצים גדולים בעולם ובישראל להפחתת השימוש בפונגיצידים סינטטיים נגד מחלות פירות וירקות לאחר הקטיף. בהקשר זה התחלנו במחקר שמטרתו מציאת תחליפים לחומרי ההדברה הכימיים. אחד הכיוונים שנחקר על ידינו בעבודה זו הוא השימוש בחומר חוץ-תאיים - הקשורים לדופן התא של שמרים המופקים משמרים להפחתת התפתחות רקבונות הקטיף. ככל הנראה חומרים אלה מיוצרים ע"י מגוון רחב של שמרים בחלק מהפרשה חוץ-תא המכסה את דופן התא, אך לא מופשרת למצע המזון.

המטרה הכללית של עבודה זו היא בדיקת השימוש בחומרים החוץ-תאיים כחתיף לחומרים הכימיים להדברת רקבונות פירות לאחר הקטיף. המטרות הספציפיות הן:

1. בדיקת הפעילות האנטיפונגלית של החומרים כנגד מגוון רחב של פטריות פתוגניות.
2. פיתוח שיטה יעילה להפקת החומרים החוץ-תאיים.
3. לימוד הגורמים המשפיעים על יצור החומרים החוץ-תאיים בתנאי תרבות.
4. בדיקת פעילות החומרים החוץ-תאיים כנגד התפתחות רקבונות על הפרי בתנאי מעבדה בתנאים חצי מסחריים.

התוצאות שהתקבלו מראות בבירור שלחומרים החוץ-תאיים יש השפעה על נביטת הנבגים והתארכות נחשוני הנביטה של פטריות שונות הגורמות למחלות לאחר הקטיף. השפעת זו הי שונה בהתאם לסוג ומין הפטריה הנבדקת. בנוסף נמצא שלמקור הפחמן במצע הגידול יש חשיבות ומשפיע על הפעילות הביולוגית של החומר.

החומרים החוץ-תאיים נמצאו יעילים בעיכוב התפתחות רקבונות בתנאי מעבדה ובניסויים מסחריים שנעשו על פרי הדר. אפיון ראשוני על הרכב החומרים הנ"ל הראה נוכחות מנוז וגלוקוז באחוזים גדולים, וגם מגוון של חלבונים. התוצאות בכללותן מצביעות על פוטנציאל גבוה, ואפשרות ממשית לשימוש בחומרים אלה להדברת מחלות פרי וירק לאחר הקטיף.

מינהל המחקר החקלאי
מרכז וולקני
המכון לטכנולוגיה ואחסון של תוצרת חקלאית
המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר הקטיף

השימוש בחומרים חוץ תאיים המופקים משמרים להפחתת רקבונות פרי וירק לאחר הקטיף

ד"ר סופי
(פרויקט מס' 97-0307-401)

מאת

ס. דרובי, ל. כהן, ב. ויס, א. דעוס, ב. תורב

פברואר 1998

מרכז וולקני

השימוש בחומרים חוץ תאיים המופקים משמרים להפחתת רקבונות פרי וירק לאחר הקטיף

ס. דרובי, ל. כהן, ב. וויס, א. דעוס, ב. חורב

מבוא

ישראל מייצאת פירות וירקות למדינות אירופה המערבית בהיקפים לא מבוטלים. התחרות הקשה בשווקים, בין התוצרת הישראלית לבין זו של ארצות אחרות מציבה אתגרים חדשים בפני החקלאות הישראלית. בכדי לעמוד בתחרות זו, איכות התוצרת המגיעה לשווקים בחו"ל חייבת להיות מן הגבוהות ביותר. אחד המדדים החשובים לאיכותה של התוצרת, בנוסף למראה, טעם ומצב פיזיולוגי, הוא נקיונה מגורמי מחלות ושאריות חומרי הדברה.

בשנים האחרונות אנו עדים להתחזקות המגמה להפחתת השימוש בחומרי הדברה כימיים בחקלאות. מגמה זו תמשיך ותתחזק כתוצאה ממודעות ההולכת וגוברת של הציבור ושילטונות הבריאות לסכנות הכרוכות בהמשך השימוש המסיבי בחומרים כימיים להדברת מחלות צמחים.

לבעיית שאריות הפונגיצידיים הסינטטיים בפירות וירקות יש חשיבות מיוחדת בגלל החשיפה הישירה של הצרכנים לחומרים אלה כתוצאה מצריכת התוצרת. במספר מדינות אירופיות כמו גרמניה, איטליה ומדינות סקנדינביה הוצאו תקנות מחמירות האוסרות שימוש בפונגיצידיים הניתנים כטיפול לאחר הקטיף למחלות פרי וירק. בידיעה שהתפרסמה לאחרונה בעיתון המקצועי "Postharvest News and Information" נמסר שהפרלמנט האירופי קיבל החלטה עקרונית התומכת באיסור השימוש בפונגיצידיים בטיפולים הניתנים לאחר הקטיף לפירות וירקות כאשר התנאים יאפשרו מימוש אופציה זו.

התפתחות נוספת המערימה קשיים לא מבוטלים על המשך זמינות פונגיצידיים להדברת מחלות בתוצרת חקלאית לאחר הקטיף היא הצורך ברישוי מחדש של פונגיצידיים מקובלים לשימוש לאחר הקטיף. בגלל העלות הגבוהה של הרישוי, הכולל בדיקות טוקסיקולוגיות, ונפח השוק המצומצם של תוצרת חקלאית טרייה, חברות הכימיקלים מאבדות עניין בשוק קטן זה ולא מגישות את החומרים לרישוי. בארה"ב לדוגמה, הוצאו מספר פונגיצידיים (בנלט, קפטן) משימוש לאחר הקטיף בגלל אובדן הרישוי. בעתיד הלא רחוק אנחנו עלולים לאבד חלק מחומרים נוספים ולעמוד בפני מצב שלמעשה לא יהיו בידנו מספיק אמצעים למניעת מחלות פרי וירק לאחר הקטיף. אי לכך, יש לפתח שיטות חלופיות שיענו על הצרכים הנוכחיים והעתידיים של טיפול בתוצרת חקלאית קטופה.

לאחרונה נעשים מאמצים גדולים בעולם ובישראל להפחתת השימוש בפונגיצידים סינטטיים נגד מחלות פירות וירקות לאחר הקטיף. בהקשר זה עבדנו בשנים האחרונות על פיתוח שיטות שונות כתחליפים לחומרי ההדברה הכימיים, כמו למשל, פרויקט הדברה ביולוגית שבמסגרתו התרכזנו בשימוש במיקרואורגניזמים טבעיים המצויים על שטח פני הפרי, וגם השימוש באמצעים פיזיקליים (קרינת UV) להשראת עמידות בפרי הדר נגד מחלות.

כיוון נוסף מבטיח הנחקר על ידנו לאחרונה הינו השימוש בחומרים חוץ-תאיים המופקים משמרים כנגד פטריות הגורמות לרקבונות בפרי הדר. על סמך התוצאות הראשוניות שיש בידנו, חומרים אלה מיוצרים ע"י מגוון רחב של שמרים כחלק מהפרשה חוץ-תאית המכסה את דופן תאי השמר, אך לא מופרשת למצע המזון. בתמונות מיקרוסקופ אלקטרוני חודר וסורק, החומרים החוץ-תאיים נראו כמעטה של מיקרופיברילות מסביב לתא. חומרים אלה ידועים בסיפרות כפוליסכרידים ומבנם הכימי משתנה לפי סוג השמר המייצר אותם. תפקידם נחקר בהקשר עמידות שמרים מסוימים לתנאי סביבה קיצוניים וגם כבעלי תכונות אנטיגניות לצורכי הגדרה וזיהוי.

מטרת העבודה

המטרה הכללית של מחקר זה היא בדיקת השימוש בחומרים חוץ-תאיים המופקים משמרים להדברת מחלות פרי לאחר הקטיף. המטרות הספציפיות הן:

1. בדיקת הפעילות האנטיפונגלית של החומר החוץ תאי המופק מהשמר *Pichia guilliermondii* כנגד מגוון רחב של פטריות הגורמות למחלות לאחר הקטיף בתנאי בתנאי תרבות (in vitro).
2. בדיקת השפעת תנאי הגידול והרכב מצע המזון על פעילות החומר החוץ תאי.
3. בדיקת פעילות החומר החוץ-תאי כנגד התפתחות רקבונות על הפרי בתנאי מעבדה ובתנאים חצי מסחריים.
4. אפיון ראשוני של מרכיבי החומר החוץ תאי.

שיטות העבודה

לצורך מיצוי תבדידי השמרים השונים גודלו בתוך מצע מזון NYDB בבקבוקים של 0.5 ליטר למשך 48 שעות בטלטול. תרחיף תאי השמרים הושקעו באמצעות צינטרפוגה במהירות של 10000 סל"ד למשך 10 דקות. משקע התאים נשטף במים מזוקקים סטריליים והושקעו שוב. המשקע הורחף ב- 50 מ"ל של תמיסת ההפקה וטולטלו בחוזקה למשך שעה. לאחר מכן, התאים/תפטיר הושקעו בצינטרפוגה והנוזל העליון עבר סינון דרך פילטר מיליפור להרחקת שאירות התאים או התפטיר. התסנין עבר דיאליזה, להרחקת המלח, למשך 48 שעות וייבוש באמצעות ליופיליזר.

בדיקת פעילות ביולוגית:

בעבודה זו נבדקה פעילות החומרים החוץ תאיים במבחנים ביולוגיים *In vitro*. הפטריות ששימשה אותנו לבדיקת הפעילות ביולוגית של החומרים השונים היו:

1. *Penicillium digitatum*2. *Penicillium italicum*3. *Penicillium expansum*4. *Botrytis cinerea*5. *Colletotricum gleosporioides*6. *Monilinia fructicola*

לביצוע הבדיקה נלקחו נבגים מתרבות הפטריה שגדלה במשך שבוע עד שבועיים על קרקע מזון PDA, והורחפו בריכוז 10^5 נבגים/מ"ל במצע מזון מנימלי (Lilly and Barnett, 1951) בתוספת 0.8% Tween 20. אל 450 מיקרוליטר של תרחיף נבגים הוספו 50 מיקרוליטר של מיצוי החומר החוץ-תאי בריכוזים שונים שהגיעו לריכוזים סופיים של 50 - 2000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. התערובת הועברה לאחר מכן לתוך בארות של Tissue Culture Plates סטריליות (בקוטר 16 מ"מ - Costar). דגימות של 20 מיקרוליטר נלקחו מכל ריכוז והונחו על זכוכיות נושאות של מיקרוסקופ שעברו חיטוי באתנול. הזכוכיות הודגרו בתוך צלחות פטרי שרופדו בנייר סינון רטוב לשמירת תנאי לחות גבוהים. לאחר כ- 20 שעות הדגרה נבדק אחוז הנבגים שנבטו ונמדד אורך נחשוני הנביטה באמצעות מיקרוסקופ אור. בכל טיפול נקבע אחוז הנביטה ב- 4 שדות מיקרוסקופיים שונים (100-150 נבגי).

השפעת החומר החוץ תאי על התפתחות העובש הירוק בפירות אשכולית פצועות

פעילות החומר החוץ תאי כנגד הדבקה והתפתחות הפטריה *P. digitatum* נעשה תחילה על פירות אשכולית בתנאי מעבדה מבוקרים. פצעי הקליפה טופלו בריכוזים שונים של תמיסה מימית של החומר ($30 \mu\text{l}$ / פצע) והודבקו לאחר כשעתיים בתרחיף נבגי הפטריה *P. digitatum* (10^5 נבגים/מ"ל). לאחר 4 - 5 ימי הדגרה ב- 20 מ"צ נקבע שיעור התפתחות הרקבון בפצעים שטופלו בהשוואה לפירות הביקורת המטופלים במים. בשלב שני נעשו ניסויים לבדיקת פעילות החומר כנגד התפתחות הדבקות טבעיות של העובשים בפירות אשכולית פצועות. הפירות הפצועות (3 פצעים/פרי) נטבלו למשך 1 דקה בתמיסה מימית של החומר החוץ תאי, יובשו ונארזו בקרטונים ואוחסנו ב- 20 מ"צ. שיעור הרקבון שהתפתח נקבע לאחר 5 ו- 9 ימי אחסון. כל טיפול כלל 3 קרטונים כאשר כל קרטון הכיל 45 פירות. בשלב האחרון נערך ניסוי לבדיקת פעילות החומר החוץ תאי כנגד התפתחות רקבון בפרי הדר בתנאים חצי מסחריים. לצורך זה השתמשנו במתקן ה- pilot המצוי במחלקה לאחסון. מתקן זה משמש לסימולציה של טיפולים מסחריים הניתנים לפרי הדר בבתי אריזה. בניסוי זה התמשכו בפרי שנקטף מפרדס סמוך. כל טיפול כלל 20 קרטונים של פרי כאשר כל קרטון מכיל 40 - 45 פירות.

1. פעילות ביולוגית של החומר החוץ תאי כנגד פטריות הגורמות רקבון בפירות וירקות לאחר הקטיף:

השפעת החומר החוץ תאי המופק, מהשמר *Pichia guilliermondii*, על נביטת נבגים והתארכות נחשוני נביטה נבדקה על פטריות שונות (ראה פרק שיטות). במסגרת בדיקה זו נבחנה גם כן השפעת מצע המזון שבו גדלו הפטריות על הפעילות הביולוגית של החומר.

התוצאות המובאות בטבלה 1 מראות בבירור שיש השפעה של הרכב מצע המזון על הפעילות הביולוגית של החומר כנגד נביטה והתארכות נחשוני הנביטה של הפטריה *P. digitatum*. הפעילות הגבוהה ביותר התקבלה כאשר הפטריה גודלה במצע מזון מינימלי (Lilly) המורכב ממלחים שונים וויטמינים, בתמיסת גלוקוז (2%) ומי דליפה של פצע קליפה (wound leachate). במצעים אלה התקבל עיכוב מלא של נביטת נבגי הפטריה בריכוז של $100 \mu\text{g/ml}$. לעומת זאת פעילות החומר היתה נמוכה יותר במצע מזון עשיר כמו PDB (50 ו-100%) שבו הריכוז הדרוש לעיכוב מלא היה גבוה יותר.

פעילות החומר כנגד הפטריה *P. italicum* היתה מושפעת בצורה דומה לזו של *P. digitatum*, אבל במצע המזון PDB 50% החומר הראה פעילות משופרת בהשוואה למצעי המזון האחרים. במצע זה התקבל עיכוב מלא בריכוזים קרובים ל- $80 \mu\text{g/ml}$.

הפטריה *P. expansum* הראתה רגישות נמוכה לחומר החוץ-תאי בהשוואה לשני מיני הפניציליום האחרים. כאשר נבדקה פעילות החומר במצע מזון Lilly נדרש ריכוז של $3000 \mu\text{g/ml}$ לקבלת עיכוב מלא של נביטת נבגי הפטריה. במצע PDB 50% נדרש ריכוז של $200 \mu\text{g/ml}$ לקבלת 100% עיכוב.

החומר החוץ-תאי היה פעיל נגד הפטריה *B. cinerea*, הגורם למחלת העובש האפור, בריכוזים שנעו בין 500 - $1000 \mu\text{g/ml}$. כאשר הבדיקה נעשתה בתמיסת גלוקוז 1% עיכוב מלא של הפטריה התקבל בריכוז של $1000 \mu\text{g/ml}$. לעומת זאת בתמיסה מימית עיכוב של 100% התקבל בריכוז של $500 \mu\text{g/ml}$. אומנם אחוזי הנביטה בביקורת היו נמוכים והגיעו ל- 40% בלבד.

הפטריה *C. gloeosporioides* היתה הפחות רגישה לחומר מבין כל הפטריות שנבדקו. הריכוזים שנתנו עיכוב של 100% נעו בין 2000 ל- $3000 \mu\text{g/ml}$.

2. השפעת מקור הפחמן על ייצור ופעילות החומר החוץ תאי:

לצורך ביצוע בדיקה זו השמר *P. guilliermondii* גודל למשך 48 שעות בתוך מצע מזון מינימלי (Lilly) שהכיל מקורות פחמן שונים. נכללו בבדיקה: גלוקוז, פרוקטוז, מנז, גלאקטוז, וסוכרוז. לאחר תקופת הגידול, החומר החוץ תאי הופק ונבדק כמתואר בניסויים אחרים.

התוצאות שהתקבלו מצביעות בבירור שפעילות החומר החוץ תאי המופק מהשמר *P. guilliermondii* מושפע מסוג הסוכר המשמש אותו כמקור פחמן. כפי שמוצג בציור 1 הפעילות הסובה ביותר כנגד נביטה וגדילה של הפטריה *P. digitatum* היתה בחומר שהופק משמר שגדל במצע שהכיל אחד מהחומרים הבאים: גלוקוז, סוכרוז או גלאקטוז. פעילות עיכוב מוחלטת התקבלה בריכוז של $100 \mu\text{g/ml}$ (ציור 1).

כמו כן נמצאה השפעה של ריכוז הסוכר במצע על הפעילות הביולוגית של החומר. ריכוז של 1 ו- 2% נתנו את הפעילות הגבוהה ביותר (ציור 2 א, 2 ב).

תוצאות אלה מצביעות על האפשרות שהפעילות של החומרים החוץ תאיים מושפעת ככל הנראה במוסג הסוכר שממנו בונה השמר את החומר החוץ תאי שככל הנראה מורכב מאוליגומרים של סוכרים.

3. השפעת החומר החוץ תאי על התפתחות רקבונות בפרי הדר בניסוי מעבדה מבוקרים ובתנאים חצי מסחריים:

פצעי קליפה של אשכולית שטופלו בחומר החוץ תאי בריכוזים של $100 \mu\text{l/ml}$ ומעלה היו מוגנים בפני ההדבקה של פטרית העובש הירוק *P. digitatum*. בריכוז של $100 \mu\text{l/ml}$ רק 20% מהפצעים פיתחו רקבון לאחר 7 ימי הדגרה ב- 20 מ"צ. בריכוזים של $200 \mu\text{l/ml}$ ו- $300 \mu\text{l/ml}$ שיעור הפצעים שנרקבו לאחר תקופה דומה של הדגרה היה 5 ו- 2%, בהתאמה (ציור 3).

בניסויים שבהם נבדקה השפעת החומר החוץ תאי על התפתחות הדבקות טבעיות התקבלה הפחתה כ- 50% בשיעור ההדבקה כאשר הפרי הפצוע נטבל בריכוזים של $50 \mu\text{l/ml}$. בריכוזים גבוהים יותר, $100 \mu\text{l/ml}$ ו- $200 \mu\text{l/ml}$, שיעור העיכוב היה 90 ו- 98%, בהתאמה (טבלה 2).

החומר החוץ תאי הוכח כיעיל גם בתנאים חצי מסחריים כאשר נבדק במתקן ה- pilot. התוצאות המוצגות בציור 4 מראות שהחומר החוץ-תאי בריכוז של $800 \mu\text{g/ml}$ הפחית כ 75% את שיעור הרקבון בהשוואה לבקורת. תוצאות אלו התקבלו לאחר שבועיים ושלושה שבועות באחסון ב 20 מ"צ.

4. אפיון ראשוני של מרכיבי החומר החוץ- תאי

הנחת העבודה שלנו היתה שהחומר החוץ תאי מורכב מחומר פוליסכרידי המהווים חלק ממרכיבי דופן התא של השמר. לכן, נעשתה אנליזה למרכיב הסוכרים של החומר באמצעות גז-כרומטוגרף המחובר למספקטרומטר. התוצאות המוצגות בטבלה 3 מראות שהחומר מכיל בעיקר מנוז וגלוקוז בנוסף לסוכרים אחרים הנמצאים באחוזים קטנים. בנוסף נמצא שהחומר מכיל חלבונים שונים (ציור 5).

מסקנות

1. נמצא חומר טבעי, שמקורו בדפנות שמרים, בעל פעילות אנטיפונגלית כנגד מגוון רחב של פטריות הגורמות למחלות בפרי וירק לאחר הקטיף.
2. פעילות החומר הביולוגי כנגד התפתחות רקבונות הוכחה על הפרי בתנאי מעבדה ובתנאים חצי מסחריים.
3. הרכב מצע המזון ומקור הפחמן שעליו גדל השמר משפיע על הפעילות הביולוגית של החומרים החוץ תאים.
4. אפיון ראשוני של החומרים המרכיבים את החומר מצביע על נוכחות סוכרים שונים וחלבונים.

הצעות ליישום המחקר: יש להתחיל בניסויים רחבי היקף לבדיקת אפשרויות היישום המסחרי של החומר ובדיקת פעילותו על מגוון רחב יותר של פירות וירקות.

הבעיות שהתגלו בהמשך המחקר: יש צורך בפיתוח שיטת הפקה יעילה וזולה.

טבלה 1: השפעת החומר החיוני האני על נביטה וגדילה של פטריות שונות במצעי מזון שונים.

	Wound leachate		Lily		PDB 50%		PDB 100%		Glucose 1%		Glucose 2%		Water	
	Germination	Germ tube elongation	Germination	Germ tube elongation	Germination	Germ tube elongation	Germination	Germ tube elongation	Germination	Germ tube elongation	Germination	Germ tube elongation	Germination	Germ tube elongation
<i>P. digitatum</i>	MIC	20	10	17	50	20	65.2	36.4	--	--	15.2	10	--	--
	EC ₅₀	38.3	25.2	30	74.4	31	77.4	71	--	--	21.8	24.2	--	--
	EC ₉₀	87	80	67	135.2	135.2	100	100	--	--	63.5	70.5	--	--
<i>P. italicum</i>	MIC	20	11	40	35.2	14.1	100	70	--	--	33.8	26.1	--	--
	EC ₅₀	53.4	22.1	74.5	24.1	19.8	119.2	89.6	--	--	50.4	22.6	--	--
	EC ₉₀	90	60	170	77.6	50	190	160	--	--	95.3	72.3	--	--
<i>P. expansum</i>	MIC	--*	--	900	500	30	150	150	33.8	26.1	--	--	--	--
	EC ₅₀	--	--	1448	977	74.9	377.8	266.5	50.4	22.6	--	--	--	--
	EC ₉₀	--	--	2000	2285	162.9	900	500	95.3	72.3	--	--	--	--
<i>C. glaucos.</i>	MIC	--	--	2400	1600	500	750	750	142	140	--	--	285	285
	EC ₅₀	--	--	>3000	2315	916	1317	1345	330	229	--	--	693	518.3
	EC ₉₀	--	--	>3000	3000	3000	3000	3000	1100	1100	--	--	1400	1171
<i>B. cinerea</i>	MIC	--	--	NE**	NE	NE	NE	NE	267.6	100	--	--	150	150
	EC ₅₀	--	--	NE	NE	NE	NE	NE	299	275.6	--	--	147	189
	EC ₉₀	--	--	NE	NE	NE	NE	NE	535.3	630.7	--	--	250	300

* Bioassay was not conducted.

** No effect.

MIC, EC₅₀ and EC₉₀ values were calculated by regression equations of the log-probit of percentage of inhibition

טבלה 2: השפעת החומר החוץ-תאי המופק מהשמר *Pichia guilliermondii*

Treatment	Infection (%)	
	5 days	9 days
Control	60.4±7.9*	92.2±1.8
CWBM 50 µg/ml	33.3±5.5	44.5±4.9
CWBM 100 µg/ml	4.8±1.6	8.8±1.9
CWBM 200 µg/ml	0.3±0.2	1.5±0.6

* SE

טבלה 3: אפיון ראשוני של הרכב הסוכרים בחומר החוץ-תאי המופק מ- *Pichia guilliermondii*.

Sugar	Concentration (ug/mg)
Rhamnose	0.69
Arabinose	0.20
Xylose	0.14
Mannose	4.83
Glucose	1.19
Galactose	0.01
Glucosamine	0.18
Galactosamine	0.14

ציורים

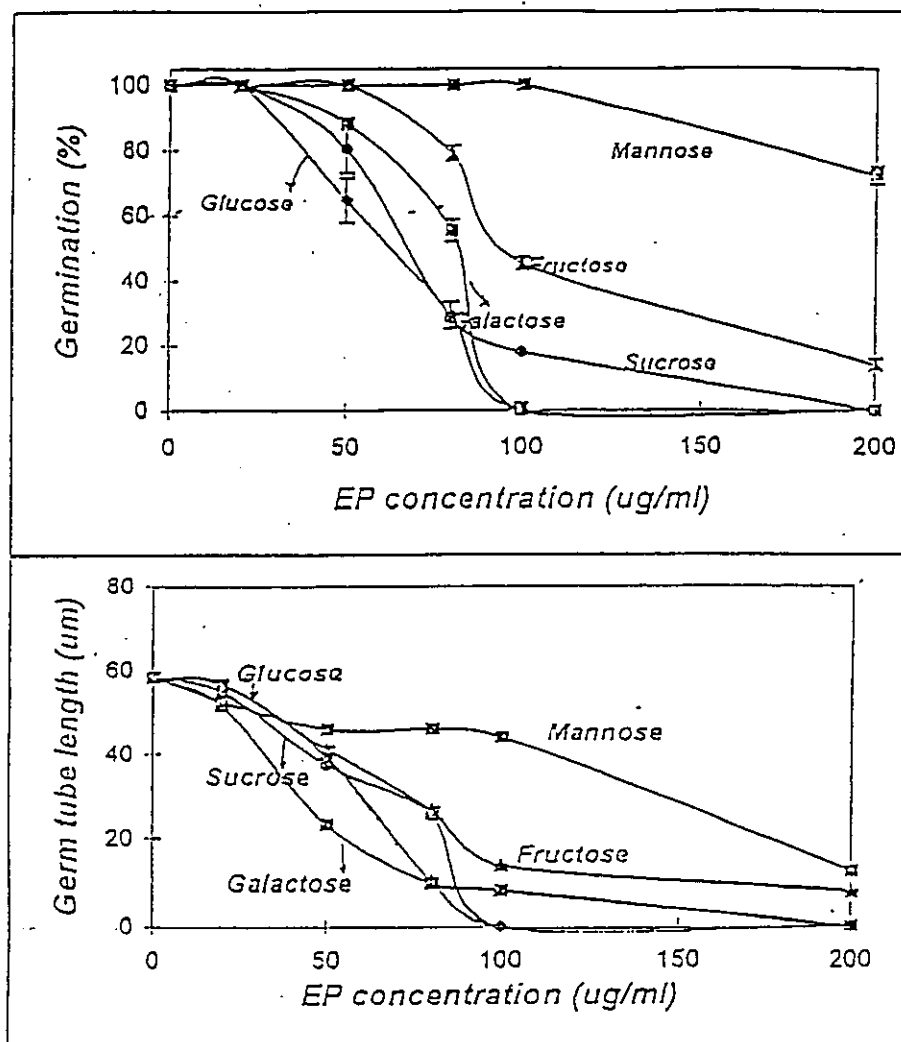
ציור 1: השפעת מקורות פחמן שונים על פעילות החומר החוץ תאי המופק מהשמר *P. guilliermondii* כנגד נביטה והתארכות נחשוני נביטה של הפטריה *P. digitatum*

ציור 2: השפעת ריכוזי גלוקוז שונים במצע המזון על פעילות החומר החוץ-תאי כנגד נביטה (א) והתארכות נחשוני (ב) הפטריה *P. digitatum*

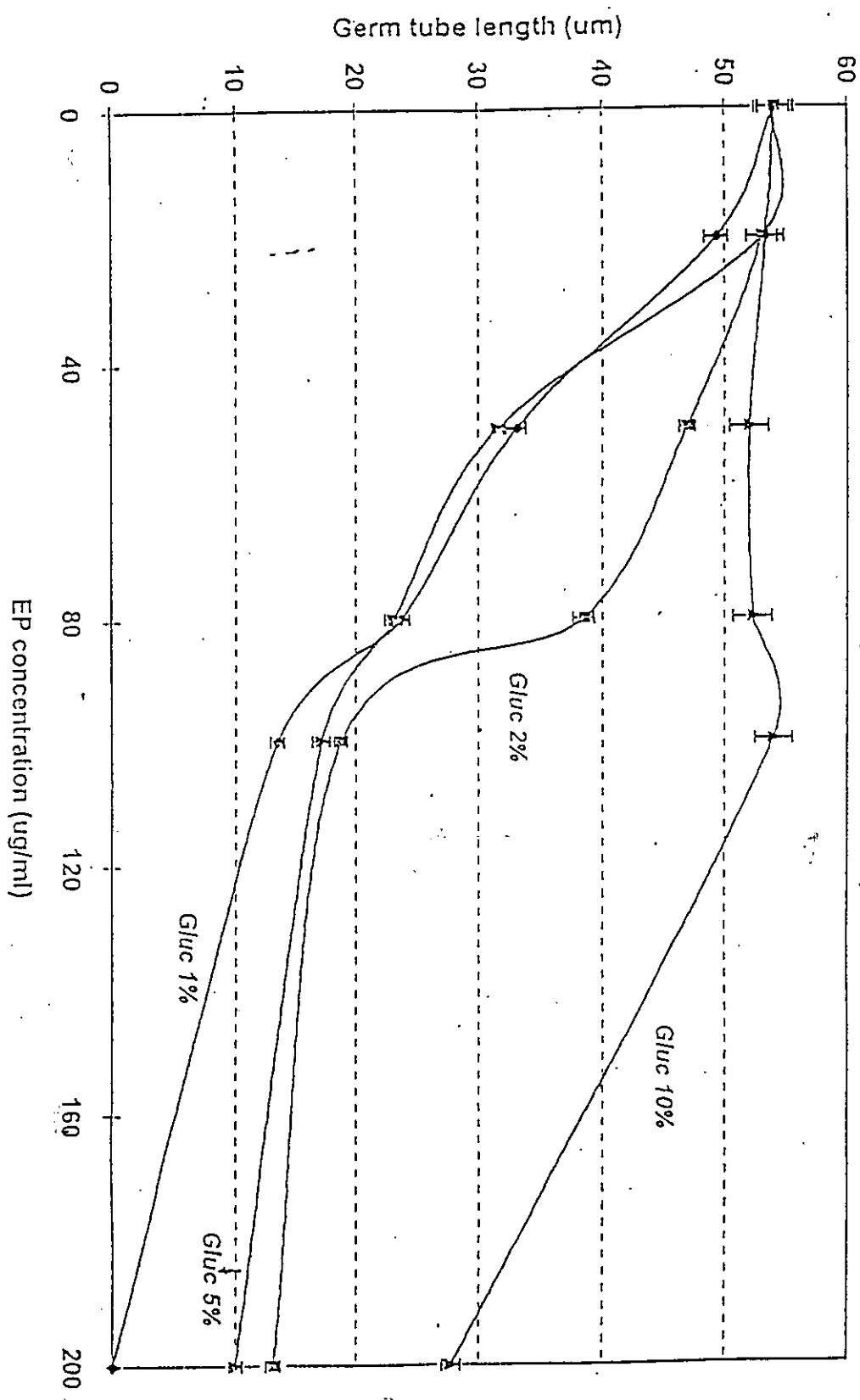
ציור 3: השפעת החומר החוץ-תאי המופק מ- *Pichia guilliermondii* על התפתחות העובש הירוק הנגרם ע"י *Penicillium digitatum* בפרי אשכולית פצוע מודבק מלאכותית.

ציור 4: השפעת החומר החוץ תאי המופק המשמר *Pichia guilliermondii* על התפתחות רקבון בפרי שטופל במתקן ה-Pilot.

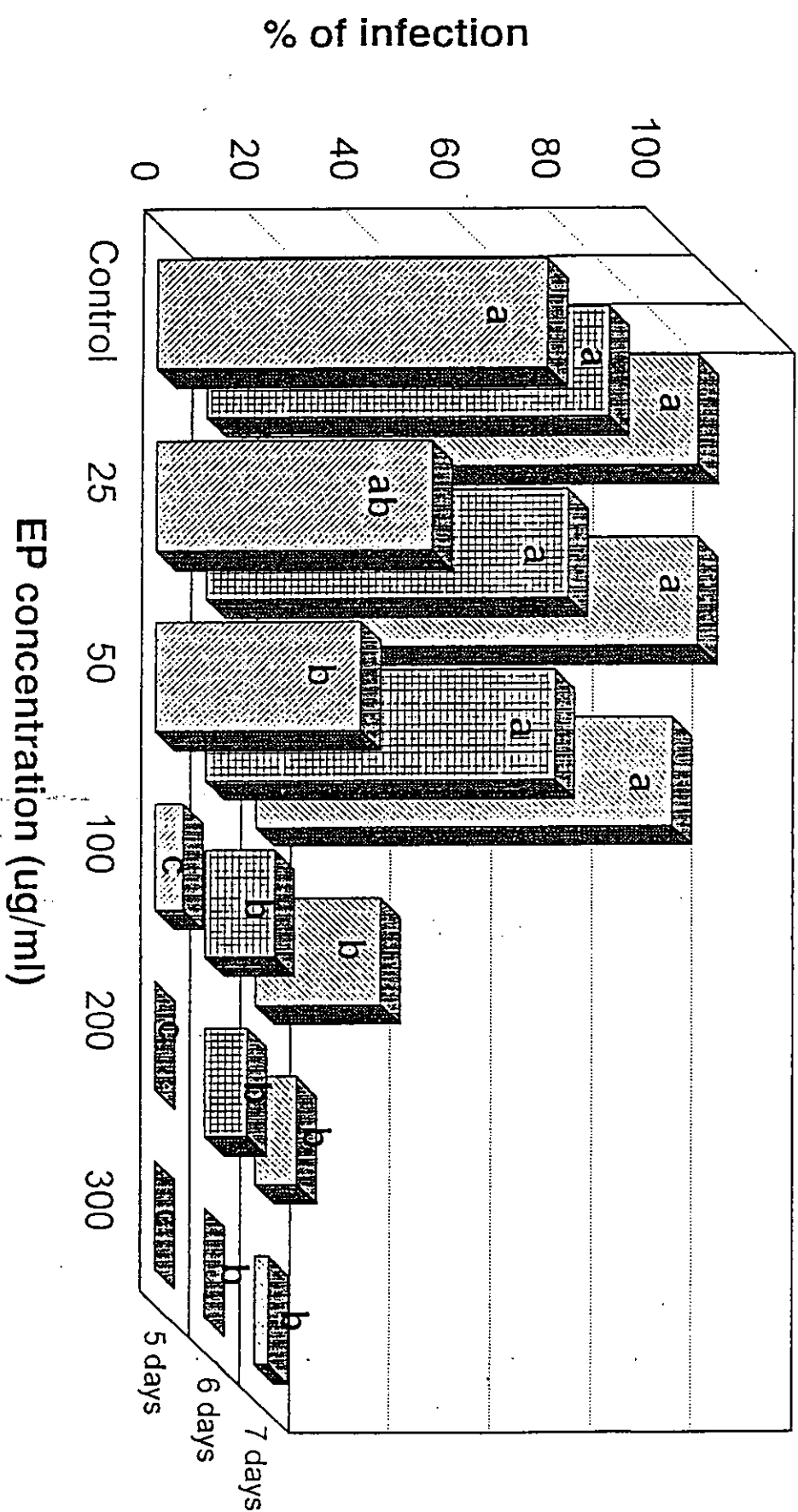
ציור 5: פרופיל חלבונים הנמצאים בחומר החוץ-תאי המופק מ- *Pichia guilliermondii*



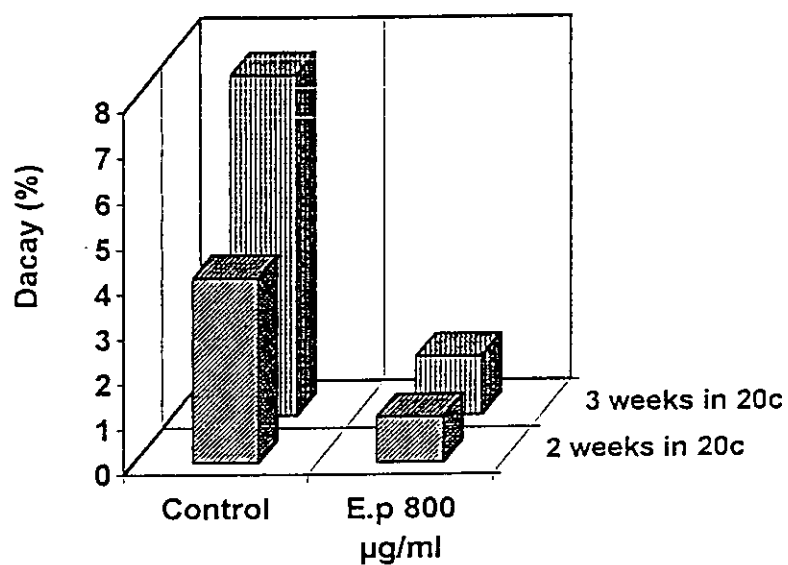
Effect of EP from US-7 that was grown in Lilly with different concentrations of glucose (1%, 2%, 5%, 10%)



צ"ד 3: השפעת החומר החוץ-תאי המופק מ- *Pichia guilliermondii* על התפתחות העובש הזירוק הנגרם ע"י *Penicillium digitatum* בפרי אשכולית פצוע מודבק מלאכותית



ציור 4: השפעת החומר החוץ תאי המופק מהשמר *Pichia guilliermondii* על התפתחות רקבון בפרי שסופל במתקן ה-Pilot



א. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
מטרת העבודה הן:

1. בדיקת פעילות החומרים החוץ תאיים in vitro.
2. השפעת גורמים שונים על יצור ופעילות החומרים.
3. פעילות החומרים על הפרי בתנאי מעבדה ובתנאים חצי מסחריים.

ב. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.
הניסויים התחלקו לשתי קטגוריות:

1. ניסויי מעבדה לבדיקת פעילות in vitro.
2. ניסויים על פרי: התוצאות הצביעו בבירור על הפעילות של החומרים כנגד מגוון רחב של פטריות פתוגניות על הפרי כנגד התפתחות רקבונות.

ג. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו.
החומרים המופקים משמרים נמצאו פעילים ביולוגית כנגד פטריות פתוגניות במעבדה ועל הפרי בתנאים חצי מסחריים. יש צורך בבדיקה מעמיקה יותר שמטרתה יישום התוצאות בתנאים מסחריים ועריכת ניסויים על מסות גדולות יותר של פרי.

ד. הבעיות שנותרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה
(טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן.
1. פיתוח שיטה זולה ומהירה להפקת החומרים.
2. אפיון החומרים הפעילים ביולוגית.

ה. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - יש לפרט: פרסומים -
מקובל בביליורפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט
מקום ותאריך.
עדיין לא הוחל בהפצת הידע.