

81

417-0314-97

שמוש בחומרי טבע כתוספים לשימור תוצרת חקלאית גלמית

תקציר הדו"ח:

במהלך הניסויים בדקנו יעילותם של מיצויים אשר הופקו מצמחי תבלין כנגד פטריות עובש יוצרות מיקוטוקסינים התוקפות גרעינים ומזון. לאחר בסוס הממצאים, המשכנו את העבודה ע חומר נבחר - טומול אשר שימש לבצוע הניסויים בגרעינים. כמודל לעבודה בגרעינים שמשו: 1) מיכלים אשר הכילו כ- 15 ק"ג גרעיני חיטה לחים, החדרת החומר נעשתה תוך שמוש במשאבות סחרור. הוכח כי טומול ברמה של 115 גר' היה יעיל בקטילת עובשים בגרעיני חיטה לחים 15-17% אף לתקופה של חודש ימים. גרעיני החיטה אשר נלקחו משלוש שכבות במיכל (עליונה, אמצעית ותחתונה) היו נקיים מעובשים לעומת הבקורת שם היו הגרעינים בדרגת עיפוש גבוהה. ממצאי העבודה מלמדים על יעילותו של טימול IN VIVO ובדעתנו להמשיך ולבסס הממצאים גם במיכלי גרעינים גדולים יותר.

שימוש בחומרי טבע כתוספים לשימור תוצרת חקלאית גלמית ומזונות
מעובדים כנגד פטריות עובש ולשם מניעת יצירת רעלנים (מיקוטוקסינים)

פסטר נחמן¹, מנשרוב מזל¹, רביד עוזי², וקציר אירנה²

¹המחלקה לאיסוס תבואה ומזון, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, בית דגן 50250
²נוה-יער, מרכז מחקר צפון, מינהל המחקר החקלאי

תקציר

פטריות עובש התוקפות גרעינים מאוסמים ומוצרי מזון מעובדים עלולות לגרום נזק כבד
שביטוי ירידת ערכים תזונתיים ופגיעה בתכונות טכנולוגיות. בנוסף, עלולים מינים רבים
ליצור מיקוטוקסינים - רעלנים אשר פגיעתם קשה בבעלי-חיים ובבני-אדם. התכשירים
המקובלים כיום להדברת פטריות עובש מבוססים על חומצות אורגניות בעלות משקל
מולקולרי נמוך. ברם הנטיה בעולם לדחוק תכשירים כימיים הולכת וגוברת, ומואץ לכן
החיפוש אחר אמצעים אלטרנטיביים. שימוש בחומרי טבע הוא אחת החלופות המוצעות.
בשנת העבודה החולפת התמקד המחקר בבדיקת יעילותן של מצוי אשר הופק מאזובית
פשוטה (אורגנו) ומרכיבו העיקרי של מצוי זה - תימול בקטילת אוכלוסית העובשים
הנמצאת באופן טבעי בגרעיני חיטה לחים (17-18%). החומרים ניתנו כחומרי איד (4
גר/ק"ג גרעינים) בעמדות גרעינים (35 ס"מ) תוך שימוש במשאבות סיחרור להגברת
יעילות פיזור החומרים בין שכבות הגרעינים. כבקורת שימשו עמדות גרעינים בהם ניתנו
החומרים ללא סחרור ועמדות אשר לא טופלו כלל. הטיפול בחומרים (תוך סחרור במשך
30 ימים) היה יעיל בקטילת עובשים ורמת הגרעינים הנגועים בעמדה המטופלת היתה 24
ו- 34% בשכבה העליונה והתחתונה בהתאמה. שיעור הנגיעות בעמדה אשר טופלה בדרך
זוה במיצוי מאורגנו היתה 40 ו- 23% בשכבה העליונה והתחתונה בהתאמה. בעמדות
גרעינים בהם ניתנו החומרים (בנפרד) ללא סחרור היתה רמת נגיעות, בתום 30 ימי חשיפה,
נמוכה רק בשכבת הגרעינים העליונה בעמדה שטופלה באורגנו (6%). בעמדה שטופלה
בתימול היתה הנגיעות בשכבה עליונה 65% בעוד שבשכבה התחתונה היתה הנגיעות 100%
בשני הטיפולים. בעמדות הבקורת (ללא טיפול) היתה רמת הנגיעות 100% בשכבות
הגרעינים השונות. בעמדה אשר טופלה בתימול (תוך סחרור), נרשמה רמת נגיעות נמוכה
בשכבה העליונה כמו גם בשכבה התחתונה (0 ו- 5% בהתאמה) גם שבועיים מתום הטיפול.
ספיחת התימול לגרעינים נבדקה, תוך שימוש בגז-כרומטוגרף, לאחר מיצוי החומר
מהגרעינים. נמצא כי בעמדות בהן סוחררו החומרים היתה רמת ספיחת זהה של תימול

בשכבה התחתונה והעליונה בעוד שבעמודות בהן ניתנו החומרים ללא סחרור נספח תימול רק לגרעינים בשכבה העליונה. תוצאות הניסויים מלמדות כי שני החומרים שנבדקו היו יעילים בהדברת עובשים מזהמי גרעינים. החומרים אינם חודרים לעומק הצובר יש על כן לדאוג לסחרור האיר בעמדה על מנת להשיג קטילה מיטבית של עובשים בשכבת הגרעינים התחתונה. שני החומרים נמצאו מבטיחים כחלופה לכימיקלים המשמשים כיום להדברת עובשים בגרעינים ובמזון.

בהמשך, התמקדנו בבדיקת יעילותו של תימול בקטילת עובשים בגרעיני חיטה לחים אשר אוסמו במיכלים אשר הכילו 15-20 ק"ג גרעיני חיטה לחים (16-18%). תוצאות הניסויים לימדו כי התימול היה יעיל בקטילת עובשים גם כאשר ניתן במיכלי הניסוי הגדולים. מסקנות המחקר אשר בוצע במהלך שנות המחקר מעידות כי יש בידנו חומר ממקור צמחי הבטוח ויעיל לשימוש כקוטל פטריות בגרעינים לחים ואנו נמשיך לפתח תכשיר אשר יחליף השמוש בחומצות המקובלות כיום.

מבוא

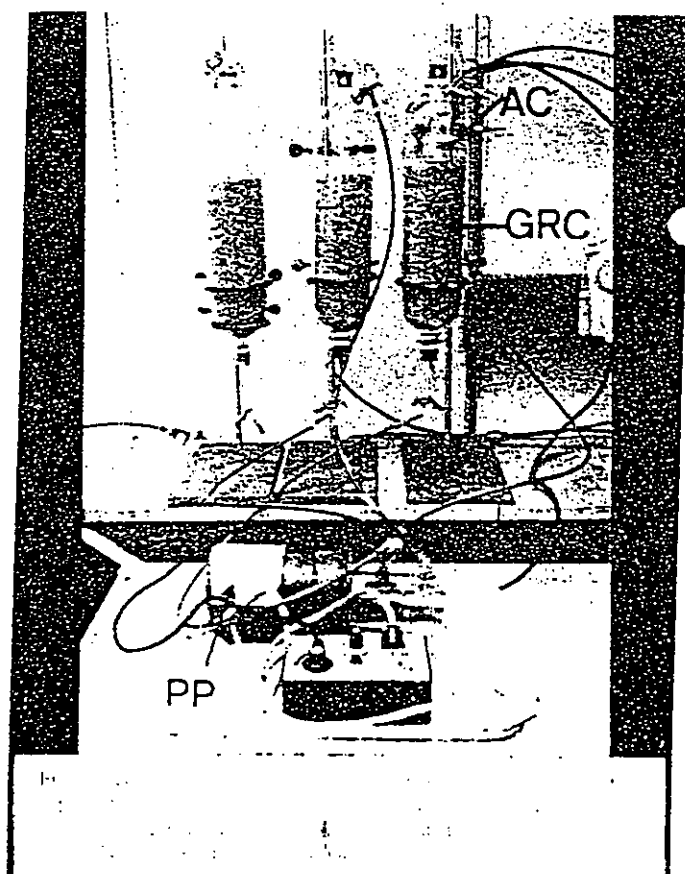
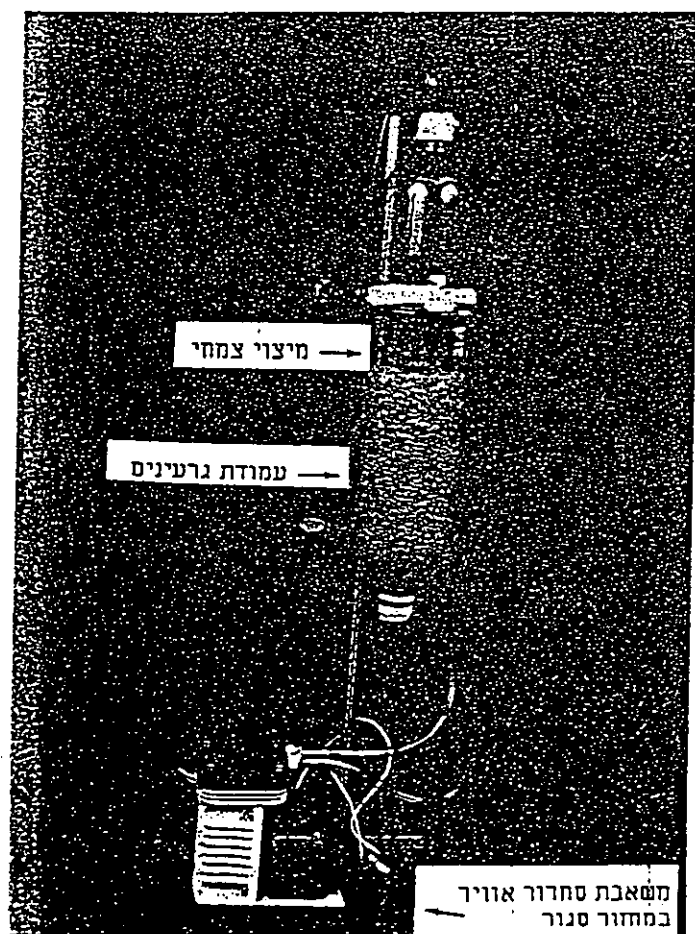
פטריות עובש המתפתחות בתוצרת הקלאית גלמית ומוצרים המעובדים ממנה מהווים קבוצה של גורמי קלקול ביוטיים. מבין סוגי הנזק אשר גורמות הפטריות (התחממות, רקבון, ירידת ערכים תזונתיים ועוד) - הנזק הנגרם כתוצאה מיצירת הרעלנים הוא החמור ביותר. זאת מחמת רעילותם הגבוהה של הטוקסינים לאדם כמו גם לסוגים רבים של בעלי חיים ובעיקר חיות משק. עד היום זוהו כ- 20 רעלנים שונים המופיעים בטבע במגוון מוצרים ובכמויות העלולות לפגוע בבריאות האדם ובעלי חיים. רעלנים אלה נוצרים בעיקר ע"י פטריות הנמנות על הסוגים *Fusarium*, *Aspergillus* ו- *Penicillium* ועליהם נמנים: אפלטוקסינים (aflatoxins); אוכרטוקסינים (ochratoxins); זארלנון (zearalenon); T-2; דאוקסיניולנול (deoxynivalenol); ופיומונזינים (fumonisins). רעלנים אלה פוגעים במגוון אברים ורקמות כגון כליות, כבד, מערכות דם ועצבים. המסוכנים ביותר מבין המיקוטוקסינים הנוצרים בטבע הם אלה השייכים לקבוצת האפלטוקסינים וזאת הן מחמת תפוצתם הרבה בטבע והן בגלל היותם מסרטנים. אין כיום בנמצא אפשרות לנטל או לפרק מיקוטוקסינים אשר נמצאים בגרעינים ובמוצרי מזון (להוציא טפול באמוניה המביא לפרוק אפלטוקסינים אך פוגע באיכות הגרעינים). יתרה מזו מרביתם יציבים בתהליכי עבוד (אפיה, זיקוק, טיגון, כיפתות) ומכאן עולה כי קיימת סכנה מוחשית להמצאותם במוצרים מוגמרים המוכנים מחומרי גלם "נגועים". ברור איפא כי האפשרות היחידה למנוע הופעת רעלנים היא להדביר את הפטריות ולמנוע הופעתם בתוצרת. האמצעים למניעת התפתחותן של פטריות עובש נחלקים לפיזיקליים וכימיים. יישום האמצעים הפיזיקליים [כדוגמת אוירות מבוקרות (modified atmospheres = MA) וקרינת גמא] כרוך בהשקעות כבדות (מבנים וציוד) או במתן מינונים (כמו במקרה הקרינה) גבוהים אשר אינם מותרים במזון (גלמי ומעובד). השמוש בכימיקלים לעומת זאת הולך ופוחת הן בגלל מגבלותיהם של החומרים

(קורוזיבים, פונגיסטטים בלבד, מסוכנים למשתמש בהם) והן מחמת הדרישות הגוברות כיום בכל רחבי העולם לדחוק משימוש כימיקלים - בעיקר אלה המיועדים להגנת התוצרת. קיים צורך דחוף לספק פתרונות אלטרנטיביים ולפתח חומרי הדברה חדשים אשר יחליפו את הכימיקלים הקיימים. בחומרים המופקים מצמחי תר"ב גלום פוטנציאל לשמש כחומרי הדברה ממקור טבעי ולפיכך הם אטרקטיביים ביותר. חלק גדול מחומרי הטבע מורשים ע"י שלטונות הבריאות בעולם לשמוש כתוספים למוצרי קוסמטיקה, מרפא ולמזון. כך למשל שני החומרים עמם עבדנו עד כה ואשר לגביהם נעמיק את המחקר בעבודה זו (שמנים מאורגנו ומתימוס) מורשים בין היתר גם ע"י FDA והקהילה האירופית [מספרי רישום 182.20 ו-454 (בהתאמה)].

לתוצרת ולמוצרים אשר יטופלו בחומרים טבעיים יהיה ערך כלכלי רב בשל סווגם כמוצרי איכות שאינם מטופלים בכימיקלים ונקיים על כן משאריות רעל כדרישות רשויות המזון העולמיות. מטרתו העיקרית של המחקר היא לאתר חומרי טבע אשר יהיו יעילים בקטילת פטריות עובש ומניעת רעלנים בתוצרת גלמית ומוצרים מעובדים.

חומרים ושיטות

גרעיני חיטה שתכולת הלחות בהם היתה 17-18% שמשו לבצוע הנסויים. הגרעינים הונחו בעמודות פלסטיק (גובה 45 ס"מ קוטר 10 ס"מ) אשר חוברו למשאבות סחרור (לכל עמודה משאבה נפרדת) המסחררות את האוויר במחזור סגור (תמונה מס' 1).



החומרים הנבדקים הונחו בכוסיות זכוכית אשר הוכנו במיוחד לצורך הנסוי ואלו הונחו מעל שכבת הגרעינים העליונה. כבקורת שמשו עמדות בהן הונחו החומרים הנבדקים ללא סחרור, עמדות בהן סוחרר האויר ללא חומר ועמדות גרעינים ללא חומר וללא סחרור האויר.

החומרים הנבדקים היו שמן אשר הופק מאזובית פשוטה (אורגנו) בתהליך אשר תואר בעבר (1) ותימול תוצרת חברת (Sigma). הנסויים נערכו בחדר בו טמפרטורה קבועה של $28 \pm 1^\circ\text{C}$. בתום הנסוי נדגמו גרעינים משכבת הגרעינים העליונה ומהשכבה התחתונה. אוכלוסית הפטריות בגרעינים הוערכה תוך שמוש בשיטת הזריעה הישירה (Direct plating) אחר חיטוי חיצוני (2), ובשיטת המיהולים (Dilution plating), תוך שמוש במצע Potato dextrose agar (PDA) (Difco).

מס' הגרעינים הנגועים כמו גם מס' המושבות נספר לאחר 3 ו- 5 ימי הדגרה. לחות הגרעינים ושעורי הנביטה נקבעו תוך שמוש בשיטה המתוארת ע"י International Seed Testing Association (3). דגימת הגרעינים נערכה מיד בתום הסחרור כמו גם 14 ימים מתום הסחרור לאחר הדגרת העמדות ב- $28 \pm 1^\circ\text{C}$.

ספיחת תימול נקי או תימול משמן אורגנו ע"י גרעיני חיטה:

10 גר' גרעינים שנחשפו לתימול או לשמן אורגנו הושרו ב- 10 מיליליטר הקסן במשך 24 שעות. המיצוי נבדק בעזרת גז כרומטוגרף של חברת Varian, דגם 3700, המצויד בדיטקטור FID 0.2 מיקרוליטר מצוי הוזרקו לקולונה קאפילרית 10 Supelcowax באורך 30 מטר ו- 0.25 מ"מ ID.

הדגימה הוזרקה לאינג'קטור המחומם ל- 220°C . טמפרטורת הקולונה היתה 80°C במשך שתי דקות, ולאחר מכן הועלתה ל- 200°C בקצב של 5°C לדקה, והושהתה בטמפרטורה של 200°C למשך 7 דקות. הדיטקטור חומם ל- 250°C , הגז הנושא היה חנקן שזרם בקצב של 1.5 מיליליטר לדקה.

כמות התימול שבדגימה חושבה על-ידי השוואת שטח הפיק בכרומטוגרמה, המזוהה כתימול, לעקומת כיול שהוכנה על-ידי הזרקת 0.2 מיקרוליטר תמיסת תימול בהקסן בריכוזים שונים. שטח הפיק חושב על-ידי אינטגרטור של חברת Hewlett Packard דגם 3390A.

דיון ותוצאות

רמת הנגיעות בגרעיני חיטה אשר נקבעה תוך שמוש בשתי שיטות הבדיקה (זריעה ישירה וזריעת מהול) מוצגת בטבלה מס' 1.

טבלה מס' 1 - השפעת מיצוי מאורגנו ומרכיבו העיקרי - תימול על הנגיעות בגרעיני חיטה.

14 ימים מתום הסחרור		לאחר 30 ימי סחרור				
CFU/gr X10 ²	גרעינים נגועים (%)	CFU/gr X10 ²	גרעינים נגועים (%)	שכבה	סחרור אוויר	הטיפול גר' 6
19900	100	2820	100	עליונה	+	בקורת
				תחתונה		
24600	100	8480	100	עליונה	-	
				תחתונה		
1	10	13	40	עליונה	+	אורגנו
91	68	20	23	תחתונה		
190	69	0	6	עליונה	-	
510	96	95	100	תחתונה		
1	0	0.1	24	עליונה	+	תימול
2	5	0.1	34	תחתונה		
1530	25	-	65	עליונה	-	
570	72	326	100	תחתונה		

מהתוצאות ניתן לראות כי בעמדות הגרעינים אשר טופלה בתימול תוך כדי סחרור החומר במשך 30 ימים, היה שיעור הנגיעות 24 ו- 34% בשכבה העליונה והתחתונה בהתאמה. בעמדות גרעינים אשר טופלו באורגנו (גם כן תוך סחרור החומר) היה שיעור הנגיעות בתום אותו פרק זמן 40 ו- 23% בשכבה העליונה והתחתונה בהתאמה. בעמדות ללא סחרור, נמצא כי רק האורגנו היה יעיל בקטילת העובשים וגם זאת רק בשכבת הגרעינים העליונה. כך, שיעור הנגיעות בעמודה אשר טופלה באורגנו היה 6% בעוד שבשכבת הגרעינים העליונה אשר נדגמה מעמודה אשר טופלה בתימול נמצאו 65% גרעינים נגועים. בכל מקרה, היה שיעור הנגיעות 100% בגרעינים אשר נדגמו משכבה תחתונה של עמדות גרעינים אשר טופלו בחומרים ללא סחרור. בעמדות הבקורת - היה תמיד שיעור הנגיעות 100% בשכבה העליונה כמו גם בשכבה התחתונה. תוצאות ספירת המושבות בגרעינים מדווחות כמספר יחידות יוצרות מושבות/גר' גרעינים (CFU/gr). הנתונים מלמדים כי כמעט בכל מקרה היתה זהות בין רמת הנגיעות (מס' המושבות בדוגמת גרעינים) לבין שיעור הנגיעות כמדווח לעיל (תוך שמוש בשיטת הזריעה הישירה). כך למשל לא נמצאו פרופגולים חיוניים בגרעינים (משכבה עליונה) אשר טופלו באורגנו (ללא סחרור) ואכן שיעור הנגיעות כפי

שנקבע בשיטת הזריעה הישירה היה בטיפול זה רק 6%. בגרעינים אשר נדגמו מעמדה בה סוחרר תימול היתה רמת הנגיעות נמוכה ביותר - 0.1 מושבות/גר' בשתי השכבות שנדגמו וגם כאן אחוז הגרעינים הנגועים היה נמוך (24 ו-34%).

במטרה לאמוד את יעילות החומרים לאורך זמן האיסוס, נלקחו דוגמאות גרעינים גם 14 ימים מתוך הסחרור לאחר שעמדות הגרעינים הודגרו ב- $28 \pm 1^\circ\text{C}$. הנתונים מלמדים (טבלה 1) כי יעילותו של התימול נשמרה גם בתוך פרק זמן זה ושעורי הנגיעות היו אז (בעמדה בה סוחרר החומר) 0 ו-5% בשכבה העליונה והתחתונה בהתאמה. אולם בעמדות הגרעינים בה לא סוחרר החומר היה שעור הנגיעות 25 ו-72% וזאת כאמור לאחר הדגרה של 14 ימים מתום הסחרור. הטיפול באורגנו לעומת זאת לא היה יעיל בעמדה בה לא סוחרר החומר כאשר עמדה זו הודגרה 14 ימים מתום הסחרור. שעורי הנגיעות היו אז 69 ו-96% בשכבה עליונה והתחתונה בהתאמה. שעור נגיעות נמוך (10%) נמצא גם בשכבה העליונה של עמדות גרעינים אשר טופלה באורגנו כאשר האויר בעמדה זו סוחרר. ניתן איפא להסיק כי יעילותו של התימול גבוהה מזו של האורגנו לאורך זמן האיסוס. שעורי הנגיעות בגרעינים אשר טופלו בחומר פחתו באופן משמעותי גם כאשר החומר לא סוחרר כנראה בגלל אפקט שיורי גבוהה יותר של החומר בהשוואה לזה של האורגנו. תכולת הלחות בגרעינים מובאת בטבלה מס' 2. ניתן לראות כי הסחרור גרם לירידה של 1-2% בלחות וזאת בשכבת הגרעינים העליונה. גרידה בולטת יותר היתה בבקורת (3%). יחד עם זאת ניתן לציין כי לחות הגרעינים היתה עדיין גבוהה (16-18%) ובתחום בו התפתחות העובשים - מואצת.

טבלה מס' 2 - לחות הגרעינים אשר נמדדה בשכבה העליונה ובשכבה התחתונה של עמודות הגרעינים.

תכולת הלחות (%)				
14 ימים מתום הסחרור	מזד בתום הסחרור	שכבה	סחרור אחר	הטיפול 6 גר'
19.0	15.0	עליונה	+	בקורת
-	17.0	תחתונה		
16.0	17.5	עליונה	-	
19.0	17.5	תחתונה		
18.0	17.0	עליונה	+	אורגנו
18.5	17.5	תחתונה		
17.0	18.0	עליונה	-	
18.0	18.0	תחתונה		
15.5	16.0	עליונה	+	תימול
18.0	18.0	תחתונה		
17.0	17.5	עליונה	-	
17.5	17.5	תחתונה		

שני החומרים פגעו בכושר הנביטה של הגרעינים (טבלה מס' 3).

טבלה מס' 3 - שיעור נביטת גרעינים אשר נלקחו מהשכבה העליונה ומהשכבה התחתונה של העמודה בתום הנסויים.

הטיפול 6 גר'	סחרור אויר	שכבה	% נביטה לאחר 30 ימי סחרור
בקורת	+	עליונה	47
		תחתונה	17
	-	עליונה	37
		תחתונה	20
אורגנו	+	עליונה	28
		תחתונה	3
	-	עליונה	0
		תחתונה	1
תימול	+	עליונה	0
		תחתונה	11
	-	עליונה	0
		תחתונה	0

ראוי אמנם לציין כי גם שיעור הנביטה בבקורת היה נמוך 17-47% ברם לאחר הטיפול בתימול, לדוגמא, לא אובחנה נביטה כלל בגרעינים הן בשכבה עליונה והן בשכבה תחתונה (להוציא עמודה אשר טופלה בתימול תוך סחרור החומר בה נרשם שיעור נביטה של 11% בשכבה התחתונה).

ספיחת תימול בגרעינים נמדדה תוך שמוש בגז כרומטוגרף. (טבלה מס' 4). ניתן לראות כי הסחרור הביא לפזור אחיד של החומרים בין שכבות הגרעינים וכמויות התימול אשר נמצאו היו כמעט זהות הן לאחר טיפול באורגנו (0.4 ו- 0.5 μ l בשכבה עליונה ותחתונה בהתאמה) והן לאחר טיפול בתימול (1.1 ו- 1.5 μ l בשכבה עליונה ותחתונה בהתאמה). לעומת זאת כאשר החומרים ניתנו ללא סחרור נמצא החומר אך ורק בשכבה העליונה של הגרעינים. נתונים אלה מסבירים יפה את הממצאים אשר הוצגו לגבי הנגיעות. כך בעמודות בהם סוחררו החומרים אכן נמצאו שיעורי נגיעות נמוכים בשכבות השונות בעוד שבעמודות בהן לא סוחררו החומרים היה שיעור הנגיעות נמוך רק בשכבה עליונה. בעיקר בולט ייחודו של ממצא זה בעמודה אשר טופלה באורגנו - שם היה אחוז הנגיעות בשכבה עליונה רק 6%.

בתימול לעומת זאת היה שעור הנגיעות בשכבה זו גבוה יחסית (65%). מעיון בנתוני הספיחה אכן עולה כי כמות התימול שנספחה במקרה הראשון היתה μm 2.8 ובמקרה התימול - μm 1.2 בלבד. יש איפא בנתוני הספיחה להסביר את השוני בין הנגיעות אשר נמצאה בעמדות השונות. ראוי לציין כי החומר נשאר בגרעינים גם 14 ימים מתום הסחרור אם כי בכמות קטנה מזו אשר נמצאה בגרעינים כאשר אלו מוצו מיד בתום הסחרור ויש בכך כדי להסביר מדוע כמו במקרה התימול נשמרה רמת נגיעות נמוכה בגרעינים גם 14 ימים בתום הסחרור.

טבלה מס' 4 - כמויות תימול אשר נספחו בגרעינים.

כמות תימול (μl) ב- 10 מ"ל הקסן				
14 ימים מתום הסחרור	מיד בתום הסחרור	שכבה	סחרור אויר	הטיפול
	0	עליונה	+	בקורת
	0	תחתונה		
	0	עליונה	-	
	0	תחתונה		
0.25	0.4	עליונה	+	אורגנו
0.5	0.5	תחתונה		
1.2	2.8	עליונה	-	
0	0	תחתונה		
0.4	1.1	עליונה	+	תימול
0.9	1.5	תחתונה		
0.3	1.1	עליונה	-	
0	0	תחתונה		

בעבודה זו נערכו לראשונה נסויים בהם ניתנו חומרי טבע כחומרי איוד להדברת עובשים מזהמי גרעינים. טכניקת האיוד מקובלת ורצויה בטיפול בגרעינים וזו הדרך המועדפת להדברת חרקים (לדוגמא שמוש בקוטלי חרקים כגון מתיל ברומיד ופוספין). לפיכך ממקדים הנסויים המתבצעים על ידינו ביישום חומרי הטבע כפומיגנטים. זאת תוך ניצול נדיפותם הגבוהה של החומרים. הניסויים נערכו תוך שימוש בעמדות גרעיני חיטה לחים. בגרעינים לחים - חמורה בעית העיפוש לכן מבוצעים הנסויים תוך שימוש בגרעינים

אלה. נתוני העבודה מלמדים בברור כי שני החומרים היו יעילים בקטילת עובשים מזהמי גרעינים. יעילותו של התימול היתה גבוהה יותר לאורך זמן האיסוס והחומר הביא לקטילה כמעט מוחלטת של עובשים בשכבות הגרעינים השונות. יתרה מזו, יעילותו של החומר נשמרה גם לאחר שחדל סחרור האורור בעמדה וזו הדרגה למשך 14 ימים נוספים.

הניסויים מראים כי על מנת להשיג קטילה מירבית של עובשים יש לדאוג להחדרת החומרים אל תוך עומק הצובר.

גם כאן רצוי להדגיש כי טכנולוגיות לסחרור האויר בצוברים מקובלות בעולם כולו וזאת מתוך כוונה לדאוג לפיזור קוטלי החרקים המקובלים כמו גם לאוורור צוברים בעת התחממות. לפיכך רתימת אמצעי אוורור להחדרת חומרי טבע הינה רלוונטית ונעשה בה שימוש בניסויים אשר בצענו. קטילה מירבית אכן נתקבלה כאמור בעמדות בהן סוחרר האויר. לעומת זאת בעמדות בהן לא סוחרר האויר היתה קטילה מירבית בשכבה העליונה. שני ממצאים אלו: קטילת עובשים בשכבה עליונה בלבד בעת יישום ללא סחרור וקטילה מירבית בעומק העמדה כמו גם בשכבה העליונה בעת סחרור החומרים מעידים, כי חדירותם של החומרים לעומק הצובר נמוכה ביותר. ההוכחה כי החומרים אכן חדרו לעומק הצובר בעת הסחרור יכולה להנתן על-ידי קביעת שעור החומר אשר נספג בגרעינים בשכבות השונות לאורך העמדה. לפיכך, ייחדנו בעבודתנו חלק לקביעת שעורי ספיחת תימול - מרכיבו העקרי של שמן האורגנו לגרעינים. חשוב לציין כי תימול הוא אכן מרכיבו העקרי של השמן ברם תתכן השפעתם המעכבת של מרכיבים נוספים. בעיקר עשוי להתקיים סינרגיזם בין מרכיבי השמן אשר ביטוי - הגברת יעילות פעילותו של השמן לפיכך - נשקלת כעת האפשרות לבדוק ספיחת מרכיבי שמן נוספים לגרעינים. מכל מקום הוכח בברור כי בעת סחרור - החומר אכן נמצא ספוח בשכבה העליונה כמו גם בשכבה התחתונה של הגרעינים.

לעומת זאת - לא נמצא תימול כלל בגרעינים אשר נלקחו משכבה התחתונה של עמדות בהן לא סוחרר החומר. נתונים אלה מסבירים יפה את התוצאות המוצגות לגבי עיפוש הגרעינים בשכבות השונות. בגרעינים בהם נספג החומר - אכן הוצגה קטילה בעוד אשר בגרעינים - עדיהם החומר לא הגיע לא נקטלו העובשים כלל. יש לציין בהקשר זה כי הדווח לגבי קטילת העובשים הוא לגבי אותם פרופגוליס הנמצאים בעומק הגרעין. פרופגוליס אלה הם המיצגים פטריות שדה ומחסן המנגעים גרעינים לחים בעוד שע"פ הגרעין ישנם מיני ריזופוס ואלטרנריה - ספרופיטים אותם הרחקנו מהגרעינים בטכניקות מקובלות של חיטוי חיצוני. ניתן איפא לסכם ולאמר: תוצאות הניסויים אשר בוצעו בשנתו הראשונה של המחקר מלמדות בברור כי אורגנו ותימול היו יעילים ביותר בקטילת עובשים המאלחים טבעית גרעיני חיטה לחים. יעילותם של החומרים היתה גבוהה בקטילת עובשים בגרעינים לאורך העמדה כאשר האויר בעמדה סוחרר למשך 30 ימים. גם 14 ימים מתום הסחרור - עדיין נשמר נקיון הגרעינים בעיקר אלו אשר טופלו בתימול.

הניסויים בשנתו השניה של המחקר קרקת מקדו בקביעת זמני הסחרור המיטביים מתוך כוונה לצמצם את משך הסחרור; בקביעת המינון המינימלי הנדרש לקטילת העובשים - מתוך מטרה להשתמש בכמויות נמוכות ככל האפשר מהחומרים; בהגדלת נפח הגרעינים המטופלים ובסקירת חומרי טבע נוספים כמו גם מרכיביהם על מנת לאתר חומרים נבחרים נוספים אשר יוכלו לשמש כחלופה לכימיקלים המקובלים כיום.

מהתוצאות (טבלה מס' 5) ניתן לראות כי בעמודת הגרעינים אשר טופלה בתימול תוך כדי סחרור החומר (30 גר') בכוון אחד (במשך 30 ימים), היה שיעור הנגיעות 2, 0 ו- 1% בשכבה העליונה, האמצעית והתחתונה, בהתאמה. אחוזי הנגיעות הנמוכים נשמרו גם במועד הדגימה השני - שבועיים מתום הניסוי. בעמודות גרעינים בהן הונח החומר בשני מנות שוות (15 גר' כ"א) והן טופלו תוך היפוך כוון זרימת האויר היה שיעור הנגיעות בתום הניסוי 11, 5 ו- 4% בשכבה העליונה, האמצעית והתחתונה, בהתאמה. גם כאן נתקבלו אחוזי נגיעות נמוכים לאחר הדגימה השניה של הגרעינים. בעמודות הבקורת, היה שיעור הנגיעות 100% בכל שכבות הגרעינים שנדגמו. תוצאות ספירת המושבות בגרעינים מדווחות כמספר יחידות יוצרות מושבות/גר' גרעינים (CFU/gr). הנתונים מלמדים כי כמעט בכל מקרה היתה זהות בין רמת הנגיעות (מס' המושבות בדוגמת גרעינים) לבין שיעור הנגיעות כמדווח לעיל (תוך שמוש בשיטת הזריעה הישירה). הפחתת כמות התימול ל- 15 גר'/עמודת גרעינים (סחרור בכוון אחד) לא פגעה ביעילות ההדברה (שעורי נגיעות שנמדדו 3, 1 ו- 2.5% בשכבות: עליונה, אמצעית ותחתונה, בהתאמה). תוצאות אלה היו במובהק טובות יותר מאלו אשר נתקבלו כאשר האויר בעמודות לא סוחרר. אחוזי הנגיעות אשר נרשמו אז היו 46% בשכבה עליונה ו- 100% בשכבה אמצעית ותחתונה. ירידה נוספת בכמות החומר (עד 10 גר' לעמודת גרעינים) פגמה ביעילות החומר ושעורי הנגיעות שנמדדו היו 19, 14 ו- 41% (שכבות: עליונה, אמצעית ותחתונה, בהתאמה). גם בתום שבועיים מהניסוי היו אחוזי הנגיעות גבוהים יחסית בשכבה אמצעית ותחתונה (39 ו- 100% בהתאמה). חומר נוסף אשר נבדק בשנה זו: אואגנול - לא היה יעיל בקטילת עובשים. מתוך נתוח תוצאות הלחות ניתן ללמוד כי במספר מקרים ירדה לחות הגרעינים (לחות התחלתית (17-18%) בשעורים של עד 4%. לדוגמא: טיפול בתימול - 30 גר' סחרור אוויר בכוון אחד. במקרה זה היתה לחות הגרעינים (בתום הניסוי) בשכבה העליונה 13.4%. תוצאה דומה נרשמה גם בטיפול בו ניתן תימול במינון של 15 גר' והאויר סוחרר בכוון אחד. יבוש הגרעינים נובע כנראה מסחרור האויר והעברתו דרך המשאבות. ספיקה שונה של המשאבות היא הגורם לכך שירידת הלחות לא היתה אחידה בכל הטיפולים והנחה זו תבדק בשנת הניסוי הנוכחית בה נעריך במדויק את הספיקה בכ"א ממשאבות הניסוי.

מהשוואת כמויות התימול אשר התנדפו במהלך הניסוי כמו גם הערכת כמויות החומר אשר נספחו לגרעינים עולה כי גם נרשמו הבדלים בין הטיפולים השונים. כך למשל בעמודת גרעינים אשר טופלה ב- 30 גר' (שתי מנות של 15 גר' כ"א) תוך סחרור לשני כוונים היתה

טבלת מספר אחת גרעינים נגועים, מספר מושבות (CFU/g), לחות, ורמת תימול ספוח בגרעינים אשר סופלו בחומר.
הסברים: אחת (בסור "זמן סחרור") מסמן סחרור אוויר בתוך עמודת הגרעינים בכוון אחד בעד שני חיצים מסמנים עמודת גרעינים בה בוצע היפוך בכוון סחרור האוויר.
המספרים המופיעים בסוגריים (בסור "כמות") מבטאים את כמות החומר אשר התנדף במהלך הניסוי.

הטימול	(gr) כמות	זמן סחרור ד (ימים)	שכבה	גרעינים נגועים (%)		CFU/g		לחות הגרעינים ב-%		Hexan 10ml ספוח ml/ml ב-10ml	
				תום הסחרור	שבועיים אחרי	תום הסחרור	שבועיים אחרי	תום הסחרור	שבועיים אחר	תום הסחרור	שבועיים אחרי
בקורת		30	עליונה	100	100	129375	12000	14.90	12.40		
			אמצעית	100		150000		17.10			
			תחתונה	100		111000		14.60			
בקורת			עליונה	100	100	1603000		15.63			
			אמצעית	100	100	800000	1655000	16.30	12.20		
			תחתונה	100	100	126000	1680000	15.50	14.28		
סימול	30	30	עליונה	2	0	300	310	13.40	13.10	11.7	3.6
	(9gr)		אמצעית	0	1	2927	150	13.80	14.60	13.9	3
			תחתונה	1	1	21850	15000	18.30	17.60	14.4	3.7
סימול	15	30	עליונה	11	0	2	45	15.73	13.00	3.6	4
			אמצעית	5	0	0	148	15.59	13.99	3.8	2.5
	(7.4)		תחתונה	4	7	5	70	16.08	14.17	3.9	2.3
	15										
סימול	10	30 +	עליונה	19	0	5	25	14.39	13.85	5.5	3.8
	(5.2)		אמצעית	14	39	68	8000	15.50	14.31	3.5	2.1
			תחתונה	41	100	146500	461000	17.06	14.61	2.8	1
	10										
סימול	15	30 +	עליונה	3	2	216	1500	13.57	13.53	6.35	3.05
	(8gr)		אמצעית	1	0	1572	450	14.39	14.36	6.8	2.75
	(11.2 gr)		תחתונה	2.5	11	47260	13438	15.96	15.36	6.55	2.55
סימול	15		עליונה	46	100	800	200000	15.70	15.31	0	0
	(0.3gr)		אמצעית	100	100	286250		15.60		0	0
			תחתונה	100	100	654250	820000	16.10	15.53	0	0
הואווגנוב	10	30 +	עליונה	43	7	30	700	15.50	13.94	3.2	2
5			אמצעית	96	100	42			14.80	3.6	1.9
	(8 gr)		תחתונה	100	100	39000	1655000	16.75	15.79	2.3	0.1

רמת הספיחה: 3.6, 3.8 ו- 3.9 מ"ל/מ"ל; 10 מ"ל הקסן בשכבות עליונה, אמצעית ותחתונה בהתאמה, בעוד שכמות התימול אשר נספחה בגרעינים אשר טופלו ב- 15 גר' בלבד (סחרור כוון אחד) היתה 6.35, 6.8 ו- 6.55 מ"ל/מ"ל; 10 מ"ל הקסן בשכבות עליונה, אמצעית ותחתונה בהתאמה. ניתן, יחד עם זאת, לציין שבד"כ נרשמה אחידות ברמת הספיחה לגרעינים לאורך העקומה. ניתן גם כאן ליחס את השנויי בכמות התימול שנספחה, בין הטפולים השונים, להבדלים בספיקת המשאבות וממצא זה יואר בנסויים אשר יערכו השנה. ניתן איפא לסכם ולומר: תוצאות הנסויים מלמדות בברור כי תימול במינונים של 30 ו- 15 גר' היה יעיל בקטילת עובשים בגרעינים אשר הונחו בעמודה. קטילת העובשים היתה כמעט מוחלטת בגרעינים אשר נדגמו בשלש שכבות לאורך העקומה כאשר שעור הקטילה הגבוה נשמר גם שבועיים מתום הנסוי. הורדת כמות התימול ל- 10 גר' פגמה ביעילות החומר. מהשוואת שתי שיטות החדרת החומר (סחרור אוויר בכוון אחד או בשני כוונים) עולה כי לא היו הבדלים בתוצאות אשר הושגו מבחינת יעילות הקטילה ורמת הנגיעות היתה נמוכה הן כאשר החומר סוחרר בכוון אחד והן כאשר פעולת הסחרור היתה בשני הכוונים. תוצאות העבודה מעודדות ביותר ולפיכך

הומשכו הניסויים תוך שימוש במיכלים אשר הכילו כ 15-20 ק"ג גרעיני חיטה לחים (15-17%) כ"א.

החומר בכמות של 105 גרם למיכל הונח בשלוש שכבות גרעינים (למטה, באמצע ועל פני הגרעינים) 35 גרם בכל שכבה. לכל מיכל חוברת משאבה אשר סחררה במחזור סגור את האוויר במיכל. לאחר חודש, נפתחו המיכלים ונערכה בדיקה לנוכחות פטריות בגרעינים. תוצאות הניסויים מובאות בטבלה מס' 6. ניתן לראות בברור כי החומר היה יעיל בקטילת עובשים בגרעינים אשר טופלו לעומת גרעיני הבקורת שם היתה הנגיעות 100%. תוצאות הניסויים בעבודה זו מלמדות כי הצלחנו להגיע לחומר ממקור צמחי אשר יהיה יעיל בקטילת עובשים בגרעינים לחים. אנו מתכוונים ליישם ממצאי העבודה ולהמשיך לפתח החומר והשימוש בו עד לקבלת תכשיר מסחרי יעיל ובטוח לשימוש.

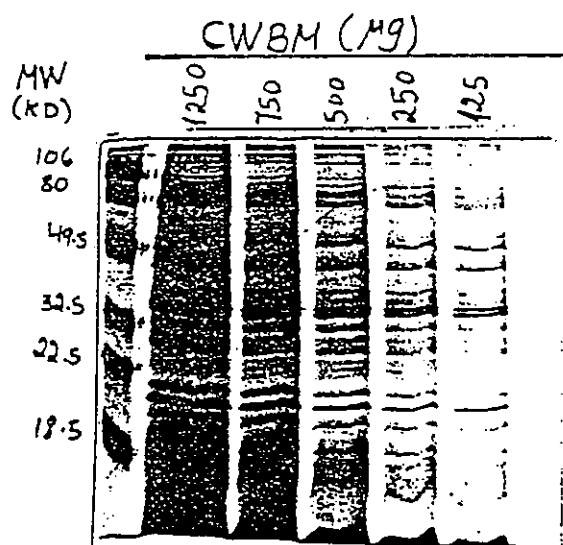
ספרות

1. Paster, N., M. Menasherov, U. Rvid and B. Juven (1994).
Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. *J. Food Prot.* 58: 81-85.
2. Lacey, J., Hill, S.T. and Edwards, M.A. (1980).
Micro-organisms in stored grain: their enumeration and significance. *Trop. Stored Prod. Infor.* 39: 19-33.
3. Anon (1966).
International Rules for Seed Testing. *Proceedings of the International Seed Testing Association, Wageningen, The Netherlands.* 31, No. 1.

טבלת מטפץ 4: אחוז גרעינים גנוניים, מספר מושבות, לחות רוח ויטול ספוח בורעינס אשר סופלו בחומר
 במחוז של 105 גרם (פוח בשליש שכבות – 35 גרם כרא). הניסוי בוצע במיכלים אשר היכלו כ 15 קילו גרעיני
 וריסה לחים (16%). החדרת החומר נעשתה חור שימוש במשאבות סחוד החומדות לכל מיכל במחוז סגור.

mg Thyrid/10ml Hexen	5	6	כמות סיכור שחומרת גר	5	6	לחות % מחוש	לחות	לחות	גרעינים גנוני ס (אחמח)	גרעינים גנוניים (%)	גרעינים גנוניים (%)	מחוש CFU/גר	CFU/גר	עליות	שכבה	גרם סחור (מים)
						14.21	14.14	14.27	100	100	100	56392	1763	115000	עליות	30
						14.24	14.08	14.39	100	100	100	46877	2753	91000	אחמחית	
						14.26	14.14	14.37	100	100	100	71130	2260	140000	חחחחח	
3.85	4.9	2.8	11.70	8.00	15.40	14.36	14.09	14.63	10	16	3	48	19	77	עליות (1)	
2.15	3.1	1.2	4.35	2.80	5.90	14.81	14.09	15.53	14	20	8	83	98	67	אחמחית	
4.20	6.6	1.8	6.50	5.60	7.40	13.97	13.6	14.33	16	25	6	108	8	207	חחחחח	
4.45	5.2	3.7	14.90	10.30	19.50	14.67	14.67		10	18	2	53	13	93	עליות (2)	
4.25	6.8	1.7	3.50	4.30	2.70	14.83	14.55	15.11	16	20	11	68	30	107	אחמחית	
4.35	7	1.7	10.85	14.30	7.40	12.92	13.81	12.03	13	18	7	00	9	150	חחחחח	
4.60	7	2.2	9.45	11.50	7.40	14.40	14.03	14.77	15	16	14	9	9		עליות (3)	
2.65	4.9	0.4	3.05	3.80	2.30	14.80	14.61	14.98	16	16		9	9		אחמחית (4)	
3.80	5.7	1.9	7.50	9.40	5.60	14.16	13.42	14.89	16	24	7	18	18		חחחחח (5)	

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



1. מטרת המחקר לתקופת הד"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה:
מציאת חומרי טבע אשר יהיו יעילים בקטילת עובשים בגרעינים לחים. חומרים אלה יהוו חלופה לכימיקלים.
2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הד"ח:
הנסויים בשלבים הראשוניים כללו סקירה ראשונית של מגוון חומרי טבע אשר מוצו מצמחי תבלין. עם מציאת חומר מבטיח (טימול) - בוצעו הנסויים בגרעיני חיטה לחים.
3. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו:
טימול יעיל בקטילת עובשים בגרעיני חיטה לחים (עד 16% לחות). יש להרחיב טווח הנסויים בגרעינים נוספים (תירס, סויה) ולפתח תכשיר המבוסס על טימול שיהיה תחליף לכימיקלים.
4. הבעיות שנותרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן:
המשך העבודה בגרעינים נוספים.
בצוע העבודה במיכלים מסחריים.
שווק התכשיר כחומר מסחרי.
5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הד"ח - יש לפרט: פרסומים - כמקובל בביליוגרפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך:
פורסם מאמר בנושא, והוצגו עבודות בכנסים בארץ ובה"ל.