

28/08/17

ו' אלול, תשע"ז

דו"ח מסכם, לתוכנית מחקר מס' 430052216.

פיתוח מדד מיקרוביומי לחיזוי ריקבונות בגזר במהלך אחסון והובלה ימית ולניטור בטיחות המוצר

Development of microbiome diagnosis tool to predict postharvest carrot rot during storage and oversea shipping and to increase food safety

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ע"י:

דני אשל*, תקן; המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר קטיף; ריכוז המחקר ביצוע טיפולי ההדברה והאחסון ואפיון ההיבטים הפיסיולוגיים של גזר באחסון; dani@agri.gov.il.

שלמה סלע, תקן; המחלקה לחקר איכות מזון ובטיחותו; מיקרוביולוגיה.

סמיר דרובי, תקן; המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר קטיף; מיקרוביום וזיהוי של מיקרואורגניזמים פתוגנים לצמחים.

נועה סלע, תקן; ניתוח ביואינפורמטי של ריצוף גנומי של המיקרופלורה.

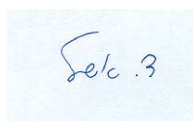
רפי רגב, תקן; פיתוח הטיפול בקיטור מדויק. *מינהל המחקר החקלאי, בית דגן.

Dani Eshel, Department of Postharvest Science, ARO, P.O.B. 6 Bet Dagan 50250.

Email: dani@volcani.agri.gov.il

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא



חתימת החוקר

*

1. תקציר

הצגת האתגר המחקרי: התפרצות ריקבונות מימיים במהלך אחסון ומשלוח ימי של גזר.

מטרות המחקר: אפיון השתנות הפרופיל המיקרוביאלי, במעטפת הגזר המוברש, המובילה לריקבונות מימיים ופגיעה בבטיחות המוצר במהלך אחסון ומשלוח ימי.

שיטות העבודה: א. זיהוי השתנות האוירה הגזית במערכת מודל לאחסון ומשלוח של גזר. ב. בידוד וזיהוי מרכיבי מיקרופלורה מקליפת הגזר המאוחסן; ג. אילוח מכון של רקמת הגזר בתבדידי חיידקים חשודים; ד. ריצוף כלל ה-DNA באוירה גזית משתנה.

תוצאות עיקריות: זוהתה השתנות האוירה במהלך אחסון ומשלוח של גזר, בדגש על עלייה דרמטית בריכוז הפד"ח במערכת. זוהו ובודדו המיקרואורגניזמים העיקריים בגזר המופיעים בשלב הזעת הרקמה וקשורים ביצירת הביופילם האופייני- *Leuconostoc mesenteroides*, *Rhanela aquatilis* ו- *Pantoea agglomerans*. בוצעה אנליזה מיקרוביומית של אוכלוסיית החיידקים המשתנה כתלות באוירה הגזית סביב אשרוש הגזר. נמצא שבאוירת פד"ח קיימת השתלטות של שלושת סוגי החיידקים על שטח פני הגזר. מתוך שלושת סוגים אלו, מבחן קוך העלה כי *L. mesenteroides* בלבד גורם לפנוטיפ הזעה על פני שטח הגזר.

מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות: נראה שיש משמעות רבה למידת האוורור של מכולות משלוח הגזר בהתפרצות ריקבונות מימיים. רמת הפד"ח של כמעל 5% במכולת המשלוח יכולה לשמש כאינדיקציה להתפתחות ריקבונות צפויה. אוורור מבוקר וקבוע של המכולה יסייע בעיכוב ומניעת ההשתלטות של החיידק *L. mesenteroides* על פני שטח הגזר וכך למניעת פנוטיפ ההזעה הפוגע באיכות ובשיווק המוצר.

2. מבוא

גזר (*Daucus carota* L.) הוא שורש מעובה (אשרוש) המהווה מרכיב בסיסי בתצרוכת הירקות הישראלית וביצוא החקלאי הנעשה בעיקרו בהובלה ימית. לאחר האסיף נהוג לשטוף את הגזר משאריות האדמה, להסיר את העלווה (קינב) ולהברישו במכונה ייעודית המבצעת "שיוף" של שכבת האפידרמיס החיצונית של האשרוש, במטרה לשפר את האטרקטיביות הויזואלית של המוצר. לאחר מיונו וצינונו במים מקוררים לכ- 4 מ"צ נהוג לחטא אותו בתכשירי כלור (בתוצרת שאינה אורגנית), לאורזו בשקי פוליאיתילן מאווררים ולאחסנו בטמפ' של- 0-2 מ"צ, במשך עד 4 חודשים עד למשלוח הימי או למעבר לאריזה קמעונית טרום-שיווק מקומי. בשל פציעת הרקמה הנוצרת בפעולת ההברשה, והאילוח המשני במיקרואורגניזמים הנובע מפעולה זאת, נוצר מוצר חדש (גזר מוברש) הדומה בתכונותיו למוצר חצי מעובד (partially-processed). בגזר המוברש עלתה חשיבותם

של גורמי ריקבון, שנחשבו מינורים בגזר גולמי, כגון תופעת ההתמוטטות של תכולת מכולות שלמות, בעיקר במשלוחים ארוכים, כתוצאה מריקבון מימי שמקורו אינו ברור. ניסיונות לבידוד של גורם המחלה על ידי מעבדות אבחון בארצות היעד ובארץ העלו מגוון של פטריות, שמרים וחיידקים, ללא יכולת לקבוע באופן וודאי את הגורם האחראי לתופעות אלה, למרות הישגות התופעה בתוצרת שמקורה בבתי אריזה שונים. התופעה הינה ספורדית ואופיינית למשלוחים ארוכים יחסית, של שבועיים עד חודש, ומכאן יש להניח שבמכולות מסוימות חלה השתנות הדרגתית בהרכב המיקרופלורה המאכלסת את הרקמה הפצועה המביאה להשתלטותם של גורמי ריקבון.

מנתונים שנאספו, על ידי המחברים וחברות השילוח, הסתבר שהמכולות הנשלחות במשלוח ימי ארוך אינן מצליחות להתקרר יותר במהלך השילוח ושומרות בד"כ על טמפר' שבין 4 ל- 8 מ"צ. נוסף על כך, המכולות אינן מאווררות, מחשש לאיבוד הקור, ואף אשנבי האוורור הקיימים נסגרים לחלוטין. הקושי העיקרי בהערכה של יעילות טיפולי חיטוי, טרום הובלה ימית, נובע מחוסר של מערכת הדמיה של תנאי האחסון הייחודיים למשלוח הימי של גזר, דבר שהיה מקל על זיהוי של גורמי הריקבון הפוטנציאליים.

במחקר זה אפינו את מרכיבי האוכלוסייה הטבעית המתפתחת על רקמת הגזר המוברש, ואת הפרופיל המיקרוביאלי (זהות ויחס כמותי) המוביל לריקבונות. עבודות קודמות בהם נעשה ניסיון לאפיין השתנות של אוכלוסיות של מיקרואורגניזמים על פירות וירקות התרכזו בפתוגנים הניתנים לגידול על גבי מצעי מזון [1]. בעבודות אלו הסתבר ש: א) מוצרים חקלאיים שונים ואף זנים שונים עשויים להכיל שכיחות שונה של קבוצות ספציפיות של מיקרואורגניזמים; ב) תנאי אסיף ואחסון יש בכוחם להשפיע על הרכב האוכלוסייה המיקרוביאלית הנמצאת על המוצר החקלאי [3, 5, 6]; ו- ג) מיקרואורגניזמים שאינם פתוגניים יוצרים אינטראקציה מעכבת עם מיקרואורגניזמים פתוגניים על גבי המוצר החקלאי [1, 2, 4, 8, 9]. עדיין, בירקות ופירות בכלל, ובגזר מאוחסן בפרט, יש מידע מועט ביותר באשר למגוון הרחב (ככל הנראה) של האוכלוסייה המיקרוביאלית, גורמים המשפיעים על הרכבה והספציפיות למוצר הנבחן.

הנחנו שאילוח ראשוני בשדה או בבית האריזה המשולב באווירה הגזית הנוצרת במכולה, בהובלה ימית ארוכה, יוצרים תנאי-מיקרו אקלים המובילים לשינוי דרמטי בהרכב האוכלוסייה המיקרוביאלית, ומאפשרים את התבססותם של גורמים פתוגניים והתמוטטות הרקמה הצמחית. הנחת העבודה היתה שאם נוכל ליצור, במערכת מבוקרת המדמה משלוח ימי במכולה, מיתאם בין השתנות כמותית של אוכלוסיות של מיקרואורגניזמים שיזוהו על פני אשרוש הגזר, לבין התפרצות ריקבון, נוכל לזהות את "השחקנים" העיקריים המובילים לריקבון ולפתח מחד שיטות לחיזוי מוקדם של הופעת הריקבון ומאידך שיטות מכוונות להתמודדות עם גורמי הריקבון. ההתמודדות תיבחן בשיפור חיטוי פני הגזר בד בבד עם עידוד או הוספה של גורמים אנטיגוניסטים לפתוגנים על גבי רקמת הגזר.

3. **מטרות המחקר:** אפיון הפרופיל המיקרוביאלי, במעטפת הגזר המוברש, המוביל לריקבונות ופגיעה בבטיחות המוצר במהלך אחסון ומשלוח ימי. מטרות ספציפיות: (1) ניטור האוירה הגזית המשתנה במכולה מקוררת במהלך הדמיה של משלוח ימי; (2) בניית מערכת הדמיה מעבדתית למכולה מקוררת, בעלת אוירה מבוקרת, לצורך השראה של התפתחות ריקבונות בתנאי מעבדה; (3) בידוד וזיהוי מרכיבי מיקרופלורה מקליפת הגזר המאוחסן; (4) בחינת השפעת תנאי האוורור באריזה המשמשת למשלוח ימי, על התפתחות גורמי ריקבון ובטיחות המוצר.

4. פירוט עיקרי הניסויים

4.1. **ניטור תנאי האוירה הגזית המשתנה במכולה מקוררת במהלך הדמיה של משלוח ימי- מכולה מסחרית המשמשת במשלוח ימי מסחרי של גזר צוידה במכשור למדידה רציפה של טמפרטורה והלחות היחסית באוויר.** כמו כן מוקמה במכולה צנרת לדגימה מבחוץ של האוויר בגבהים שונים בתוך המכולה. 20 משטחים של גזר, הועמסו במכולה על פי הפירוט המופיעה בטבלה 1. המכולה נסגרה וכוונה ל- 0.5 מ"צ. כ-30 ימים מרגע הסגירה, הועלתה הטמפ' ל- 6 מ"צ למשך כשבוע, אז נפתחה המכולה והגזר נדגם. הנתונים שנאספו אפשרו אפיון של האוירה הנוצרת במכולת הקירור במהלך המדמה משלוח ימי ארוך של גזר.

טבלה 1: פירוט תכולת המכולה המסחרית ששימשה לניסוי המדמה משלוח ימי ארוך. המכולה מולאה במשך יום אחד.

סדר המכלה	מקור התוצרת	משטחי שקים	צוברים
1	אבשלום	3 (אריזה מקו מיון)	3 (יומיים בקירור לפני המכולה)
3	עצמונה	-	4 (אורגני; בקירור חודש לפני המכולה)
2	סעד	3 (שבועיים בקירור לפני המכולה)	3 (שבוע בקירור לפני המכולה)
4	דורות	2 (חודשיים בקירור לפני המכולה)	2 (חודשיים בקירור לפני המכולה)

4.2. **בניית מערכת הדמיה מעבדתית למכולה מקוררת, בעלת אוירה מבוקרת, לצורך השראה של התפתחות ריקבונות בתנאי מעבדה** – לצורך הניסוי שימש גזר אורגני מהזן ניירובי, שגודל בקרקע חולית באזור מבטחים. הגזר הוכנס לחביות (איור 3) עד כדי 75% מנפחן וטופל בארבעה טיפולים עיקריים: (1) אוורור

משקי = שקי פוליאטילן של 12 ק"ג, מחוררים בהם רמת החמצן הייתה כ- 19%; (2 חבית אטומה ללא אוורור; 3) דחיקה של האוויר מהחבית, ביום הסגירה ע"י הזרמת חנקן (נמדדה רמה של 0.3%; (4) החדרה של פד"ח לרמה של 5% ביום סגירת החבית. הטיפול השונים אוחסנו במשך 5 שבועות בטמפ. של 6 מ"צ. מידי שבוע נמדדה רמת הגזים השונים בכל חבית. בתום הניסוי נפתחו החביות והגזרים הועברו למבחן חיי מדף ב- 20 מ"צ.

כאמור רוב ההובלה הימית מתרחשת בתחום טמפרטורה שבין 4 ל- 8 מ"צ. כמו כן, בשל הנשימה המוגברת של הגזר בעיקר בחודש הראשון לאחר אריזתו, יש ככל הנראה הצטברות של תוצרי נשימה, התחממות והתעבות מים חופשיים המגבירים את התנאים האנארוביים סביב רקמת האשורש. על ידי שימוש במכלים אטומים (צנצנות של 2 ליטר) בנינו מערכת הדמיה ממוזערת, של תנאי המכולה המסחרית ואפיינו את התנאים הגזיים המובילים לעידוד היווצרות ריקבון. באמצעות מכשיר גז כרומטוגרף (GC) נמדד את היחס חמצן/פד"ח, אתנול, אצטאלדהיד ואתילן, תוך שימוש בסטנדרטים מתאימים. כמו כן, נבחנה השפעת השינוי באווירה הגזית על זהות והיחס הכמותי של אוכלוסיית המיקרואורגניזמים המובילה לריקבון אשורשי הגזר.

4.3. בידוד וזיהוי מרכיבי מיקרופלורה מקליפת הגזר המאוחסן - מקובל להניח, בקרב המגדלים וחברות המאחסנות גזר, שמקור האינקולום העיקרי הוא השדה בו גודל הגזר וכי תרומתו של בית האריזה היא בעיקר בפזור של האינקולום בשלב ההברשה והצינון בבריכת המים. מיקרואורגניזמים בודדו בשיטות מיקרוביאליות קלאסיות. בכל ניסויי הבידוד והריצוף של הגזר לא הצלחנו לזהות נוכחות של מיקרואורגניזמים בעומק הרקמה שגזר, אלא רק על גבי הקליפה. מכן שבחרנו להמשיך בניגוב או קילוף קליפת הגזר לצורך אפיון האוכלוסיה. דיגום הגזרים בוצע ע"י קילוף הקליפה של הגזר בעזרת קולפן או באמצעות מטוש סטרילי. במקביל, נדגמו רקמת פרנכימה וליבת האשורש. הבדיקות המיקרוביאליות כללו זריעה על מצעי מזון ברירניים לזיהוי וספירה של פטריות, שמרים וחיידקים. חלק מהדגימות ששימשו להפקת דנ"א הוקפאו בסמוך לדיגום ובהמשך הופק דנ"א מכל דגימה אשר שימש לאפיון כללי של אוכלוסיות המיקרואורגניזמים ע"י ריצוף. זיהוי אוכלוסיות המיקרואורגניזמים (המיקרוביום) בדגימות השונות בוצע בשיטה של Deep Sequencing המבוססת על ריצוף של מקטע הדנ"א המקודד לגן 16S rDNA והשוואה לרצפים הקיימים במאגרי מידע ייחודיים, כמו ה- SILVA [7].

4.2. אילוח מכון של רקמת הגזר בתבדידי חיידקים חשודים - דיסקיות עגולות נחתכו בעובי של כ- 5 מ"מ, לאחר חיטוי שטח הפנים של אשורש הגזר. הדסקיות הונחו בצלחות פטרי סטריליות ע"ג נייר סינון רטוב וסטרילי. 50 מיקרוליטר של תרחיף חיידקים (10^8 CFU mL⁻¹) או נוזל הזעה מרקמת גזר עם סימפטומים אופייניים, שימשו לאילוח של דיסקיות במרכזן. צלחות הפטרי הוכנסו לצנצנות סגורות באווירה של 98% פד"ח לעומת צנצנת מאווררת והודגרו בחושך ב- 20 מ"צ.

4.3 הכנת דוגמאות לריצוף DNA - 10 צנצנות זכוכית בנפח 2 ליטר מולאו בגזרים אורגניים מהזן ניירובי: 5 צנצנות נאטמו ונשטפו מידי יום ב 100% פד"ח, ו-5 צנצנות נשארו פתוחות חלקית ומאווררות. כל הצנצנות הודגרו בטמפרטורה 20 מ"צ בחושך (זאת בכדי לזרז את תהליכי הריקבון). אוכלוסיית המיקרואורגניזמים שעל פני קליפת הגזרים נדגמה בתחילת הניסוי (זמן 0) עם הכנסת הגזרים לצנצנות בעזרת מטוש סטרילי. דגימה שניה נלקחה 18 ימים לאחר תחילת הניסוי (יומיים לפני תחילת "ההזעה" של הגזרים), ודגימה שלישית 20 ימים מתחילת הניסוי (הזעה של 75% מהגזרים בצנצנת שנחשפה לפד"ח). ביום ה-20 לאינקובציה נפתחו כל הצנצנות ואווררו. דגימה רביעית בוצעה למחרת, ביום ה-21 מתחילת הניסוי. בכל דיגום, נלקחה דגימה ע"י מטוש מגזר אחד מכל חזרה (צנצנת) מ-5 חזרות מאווררות לעומת 5 חזרות פד"ח. כל הדגימות הוקפאו מיד ב-80⁰ עד להמשך האנליזה.

בעזרת Exgene Soil DNA Isolation kit שמשווק ע"י חברת תמר, הופק DNA של האוכלוסייה המיקרואורגניזמית שעל פני קליפת הגזרים. ריכוזי DNA נמדדו בעזרת מכשיר ננודרופ. בוצעה ב-PCR הגברה של ה-16 S rRNA (של אוכלוסיית החיידקים) ושל ה-18S (של אוכלוסיית הפטריות). תוצרי ה-PCR הורצו על ג'ל אגרוז לצורך בדיקת איכותם. כל תוצרי ה-PCR נשלחו לריצוף Next Generation Sequencing בעזרת המכשיר Illumina MiSeq Sequencer ביחידת שירותי ריצוף DNA באוניברסיטת אילינוי, שיקגו, ארה"ב.

5. תוצאות

5.1. ניטור תנאי האחסון המשתנים במכולה מקוררת במהלך הדמייה של משלוח ימי- ימים בודדים לאחר סגירת המכולה, התייצבה הטמפרטורה באוויר המכולה ל-0.5 מ"צ בחלקי המכולה השונים. בעוד שהלחות היחסית הגיעה בתחתית המכולה ל-90-95% ובחלקה העליון לממוצע של כ-85% (איור 1). בעת העלאת הטמפ' בבקרת המכולה ל-6 מ"צ, חלה בהתאם השתנות מהירה של טמפ' האוויר, בעוד שלא נרשם שינוי כלשהו בלחות היחסית (איור 1).

רמת החמצן ירדה לאחר ימים בודדים ונשארה יציבה עד להעלאת הטמפרטורה ל-6 מ"צ, אז חלה ירידה דרמטית של ריכוז החמצן לערך של 13.5% תוך 10 ימים (איור 2). הפד"ח במכולה ירד בימים הראשונים לסגירתה עד לערך של 0.5% ולאחר מיכן עלה במתינות ב-30 הימים הראשונים ובחדות, עד ליותר מ-6%, עם העלאת הטמפרטורה ל-6 מ"צ (איור 2). העלאת הטמפרטורה גרמה גם לעליה ברמות האצטאלדהיד והאתנול (איור 2), למרות שבאופן כללי רמתם נשארה נמוכה. בדגימה של התוצרת במכולה נמצא גזר עם כיסוי נוזלי דביק בחלק מהדגימות, אך לא נמצא ריקבון מימי בתוצרת.

5.2. בניית מערכת הדמייה מעבדתית למכולה מקוררת, בעלת אוירה מבוקרת, לצורך השראה של התפתחות ריקבונות בתנאי מעבדה – בשל הקושי הלוגיסטי והעלות הגבוהה של ניסוי במכולות היה צורך

בבניית מערכת הדמיה הניתנת לתפעול, במספר רב של טיפולים, בחדר קירור קטן. באורח מפתיע, גזר שנאטם בחבית, ללא שינוי הרכב האוויר, גרם לירידת ריכוז החמצן בסביבתו כבר לאחר 7 ימים מ- 19.3% ל- 0.5%, ונשמר ברמה זאת לפחות עד היום ה-12 (טבלה 2). לעומת זאת ריכוז הפד"ח עלה מ- 0.3% ביום סגירת החבית, לכ- 30% ביום השביעי ומעל 51% ביום ה-12 (טבלה 2). עלייה דרמטית נוספת התרחשה בריכוז האתנול עד לרמה של 129 ppm ב- 12 הימים הראשונים, דבר שגרם ככל הנראה לטעם לוואי בגזר. ביום פתיחת החביות מהטיפולים השונים, נראה היה שכ- 100% מהגזר בריא וראוי לשיווק. אלא שלאחר השארת החביות הפתוחות לארבעה ימים נוספים, בתנאים של חיי מדף (20 מ"צ ו- 60% לחות יחסית) התפתחה בעיקר ריקבון אשרוש שחור ("חלרה") בקבוצת הביקורת (שנשמרה בשקי פוליאטילן מאווררים) עד לרמה של 10% פחת (איור 4). לעומת זאת, בתנאים של חוסר אוורור התפתחה החמה של הרקמה החיצונית של הגזר, בעיקר באזור העדשתיות, כמעט ללא ריקבון מימי, עד לרמה של כ- 60% פחת (איור 4). באווירה של חנקן גבוה התפרצו ריקבונות מימיים, בעלי מעטה חלבי דביק, על פני 100% מהגזרים, וכך גם (בעוצמה פחותה יותר) בטיפול בו נשמרה רמה של 5% פד"ח בחבית (איור 4).

טבלה 2: האווירה הגזית אחרי סגירה של גזר בחביות בנפח 30 ליטר אטומות בטמפ' של 6 מ"צ למשך 12 ימים. החביות מולאו בגזר ב- 75% מנפחן.

ימים מסגירה	חמצן (%)	פד"ח (%)	אתילן (ppm)	אצטאלדהיד (ppm)	אתנול (ppm)
0	19.3 _{+/- 0.2}	0.3 _{+/- 0.1}	ND	ND	ND
7	0.5 _{+/- 0.05}	30.5 _{+/- 6.0}	0.4 _{+/- 0.5}	4.42 _{+/- 2.2}	37.5 _{+/- 5}
12	0.5 _{+/- 0.1}	51.7 _{+/- 5.5}	0.65 _{+/- 1.0}	7.0 _{+/- 1.0}	129.5 _{+/- 15}

5.3. תנאי אחסון שאינם מאווררים משרים סימפטומים של הפרשת נוזל דביק (הזעה) של פני הגזר-

במטרה לאפיין את השפעת האוורור על התפתחות הסימפטומים, גזרים שלמים אוחסנו בצנצנות אטומות או מאווררות. אחרי 9-12 ימי אחסון, הופיעה הפרשה של נוזל דביק ("הזעה") רק על פני גזרים שהודגרו בצנצנות האטומות (איור 5A,B). אחוז הגזרים המזיעים עלה לכ- 80% לאחר 17 ימים מתחילת האינקובציה בתנאים שאינם מאווררים.

בצנצנות המאווררות לא נצפו כל סימפטומים של הזעה אך כל הגזרים לבלבו. עם פתיחת הצנצנות האטומות לאוויר, חלה החמה של פני שטח הגזרים, תוך כ- 24 שעות, החמה שלוותה בהתפתחות מהירה של רקבונות מימיים והופעת תפטיר פטריות (איור 5B).

5.4. פחמן דו חמצני ואתנול מצטברים באווירת האחסון של גזר בתנאי חוסר אוורור- בכדי לקבוע את

השפעת חוסר האוורור במהלך האחסון על הרכב הגזים המצטברים באווירת הגזר, מדדנו את רמתם של הגזים פחמן דו חמצני (פד"ח), חמצן, אצטאלדהיד, אתנול ואתילן, באוויר שנדגם מאווירת הצנצנות האטומות במהלך אינקובציה של עד 15 ימים. הצטברות פד"ח נצפתה כבר בימים הראשונים לאינקובציה והגיעה לרמה של 80% בתום 15 ימי אינקובציה (איור 5C). עליה חדה בריכוז הפד"ח נצפתה בין היום החמישי ליום התשיעי לאינקובציה. גם ריכוז האתנול באווירה הגזית החל לעלות לאחר חמישה ימי אינקובציה והגיע ל- ppm1000 לאחר 15 ימים (איור 5C). במגמה הפוכה, ריכוז החמצן ירד במהלך תשעת הימים הראשונים ונשאר קבוע סביב 2% עד היום ה- 15. אצטאלדהיד נשאר ברמתו הנמוכה לאורך כל ימי האינקובציה (איור 5C).

5.5. פחמן דו חמצני משרה הזעה של הגזרים

הקורלציה שנמצאה בין חוסר אוורור, עליית בריכוז הפד"ח, ירידה בריכוז החמצן והזעת הגזרים הצביעה על כך שכל הנראה תנאים אנארוביים משרים את הזעת הגזרים וריקבונם בהמשך, עם האוורור המחודש. בכדי לקבוע אם הזעת הגזרים נגרמת באופן ספציפי ע"י פד"ח, צנצנות אטומות שהכילו גזרים, מולאו פעם ביום, במשך שבעה ימים בפד"ח או חנקן או אויר. רק המילוי בפד"ח גרם להזעת הגזרים שהחלה אחרי 3-4 ימי אינקובציה והגיע עד ממוצע של 87% גזרים מזיעים אחרי 7 ימים. מילוי הצנצנות האחרות בחנקן או אויר לא גרם לסימפטומים אופייניים, כפי שנמדד עד 7 ימי אינקובציה (איור 6A). הצנצנות נפתחו לאחר 7 ימי אינקובציה ונערך מעקב יומי אחר התפתחות סימפטומים. לאחר 24 שעות מפתחת הצנצנות, גזרים שנחשפו

לשטיפות ב- 98% פד"ח עברו החמה של פני השטח לעומת אי שינוי צבע בגזרים שנחשפו לאוויר או חנקן (איור 6B).

כיוון שלא ניצפה תפסיר בתהליך הזעת הגזר, הנחנו שעיקר הפעילות המיקרוביאלית, הקשורה בהזעה, מקורה בחיידקים. גזרים נחשפו ל- 98% פד"ח במשך 5 ימים בהשוואה לגזרים שנחשפו לצנצנות מאווררות. ספירה כללית של כמות החיידקים בגזרים המזיעים בהשוואה למאווררים הצביעה על עליה בסדר גודל בכמותם (איור 7). כמו כן נצפתה עליה של כ- 50% בכמות החיידקים בתהליך ההחמה, עם פתיחת הצנצנת לאוויר לאחר החשיפה לפד"ח (איור 7).

5.6. אוירה עשירה בפד"ח גורמת להשתנות המיקרוביום של פני הגזר- הרכב אוכלוסיות החיידקים במהלך האחסון מוצג בצורה של 'מפת חום' (איור 8). החיידקים מהסדרה (*Rickettsiales* (order) נמצאו דומיננטים באוירה מאווררת עם רמות נמוכות יותר של *Pseudomonadales*, *Actinomycetales*, *Rhizobiales* and *Burkholderiales* במצב בו הגזרים נראים בריאים, ובשלב שקדם להזעה (pre-oozing) (איור 8). בשלבי אינקובציה מאוחרים יותר בהם הופיעו סימנים קלים של הזעה והחמה של הגזרים עלתה רמתם של חיידקים מהסוג: *Enterobacteriales*, *Pseudomonadales*, *Actinomycetales*, *Flavobacteriales*, *Sphingobacteriales* and *Xanthomonadales* (איור 8). לעומת זאת, גזרים שהודגרו באוירה עשירה בפד"ח נמצאו בעלי רמות גבוהות של *Lactobacillales* and *Enterobacteriales* בעיקר בשלבי ההזעה וההחמה (oozing and brownish) (איור 8).

ערך מקדם המגוון (alpha diversity value) המייצג את מגוון סוגי החיידקים בכל טיפול, הצביע על שונות נמוכה במהלך החשיפה לאוויר לעומת השתנות דרמטית עם החשיפה לפד"ח (טבלה 5). במהלך תהליך ההזעה מספר היחידות הטקסונומיות (operational taxonomic units; OTUs) ירד (טבלה 5). דוגמאות שהודגרו באוויר וכן בשלב טרום הזעה בפד"ח הראו עושר מיני חיידקים גדול יותר לעומת זה שהתגלה בגזרים שעברו הזעה או החמה (טבלה 5). תופעה זאת קיבלה חיזוק בדמות Shannon diversity index נמוך יותר במהלך ההזעה בפד"ח (טבלה 5). שינוי דרמטי במבנה אוכלוסיית החיידקים, במהלך ההזעה, מודגם גם על ידי PCA biplot ועץ פילוגנטי משוקלל מסוג UniFrac UPGMA (איורים 9 ו-10, בהתאמה).

5.7. זיהוי המיקרואורגניזמים העיקריים הקשורים בהזעת הגזר- אוכלוסיית החיידקים שבודדה מקליפה מזיעה של גזר נדגמה וזוהו בסך הכול שלושה תבדידים אשר זוהו בשיטה של ריצוף 16S rRNA כשלושה מינים שונים (טבלה 3). תבדיד אחד, המאופיין במושבה עגולה בינונית וצהובה בגידול ע"ג מצע PCA (Plate count agar), נמצא עם דמיון של 99% ל- *Pantoea agglomerans*. התבדיד השני, המאופיין במושבה עגולה בינונית בגוון קרמי בגידול ע"ג מצע PCA נמצא עם דמיון של 99% ל- *Rahnella aquatilis*. התבדיד השלישי, המאופיין במושבה עגולה קטנה מאוד ולבנה, בגידול ע"ג מצע PCA, נמצא עם דמיון של 100% ל- *Leuconostoc mesenteroides*. ממצא זה תאם לממצאי המיקרוביום כיוון שהחיידק *L. mesenteroides* הוא

חיידק חומצה לקטית גרם שלילי, ממשפחת ה-*Leuconostocaceae*, בעוד ששני החיידקים האחרים שזוהו, *P. agglomerans* ו-*R. aquatilis* שייכים לסדרת ה-*Enterobacteriales*.

נוכחות שלוש החיידקים בקליפת הגזר המזיע, הצביעה על מעורבותם האפשרית בגרימת הסימפטומים. בכדי לבחון זאת בוצע מבחן קוך לכל תבדיל בנפרד. דסקיות גזר, מחוטאות חיצונית, אולחו עם כל אחד מהתבדילים, בהשוואה לנוזל שנאסף מגזר מזיע והודגרו באוירה של 98% פד"ח לעומת מצב מאוורר. נמצא שרק *L. mesenteroides* או נוזל הזעה גרמו לסימפטומים באוירה של פד"ח בלבד ואילו במצב מאוורר לא נגרמו סימפטומים של הזעה כלל (איור 11). *P. agglomerans* או *R. aquatilis* לא גרמו לסימפטומים באף אחת מהאוירות שנבדקו (איור 11). ממצא זה חיזק את ההנחה שהגורם העיקרי לסימפטום ההזעה בתנאים של חוסר אוורור הוא החיידק *L. mesenteroides*.

בכדי לבחון מה הוביל לשגשוג החיידק ברמת פד"ח גבוהה, האם מדובר בהשפעה של הפד"ח על רקמת הצמח, המשמשת כמזון לחיידק, או בהשפעה ישירה שלו על שגשוג *L. mesenteroides* באוירה זו, דיסקיות גזר נחשפו ל- 98% פד"ח במשך 5 ימים לפני האילוח בחיידק במיכל מאוורר. הסתבר שהחשיפה המוקדמת של הרקמה הצמחית לריכוז גבוה של פד"ח, לא גרמה לעידוד התרבות החיידק ונראה שהפד"ח משפיע ישירות על יכולת ההתרבות של החיידק (טבלה 4).

6. דיון

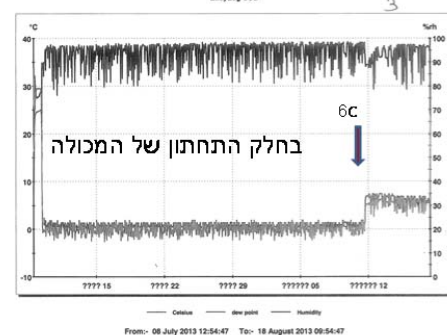
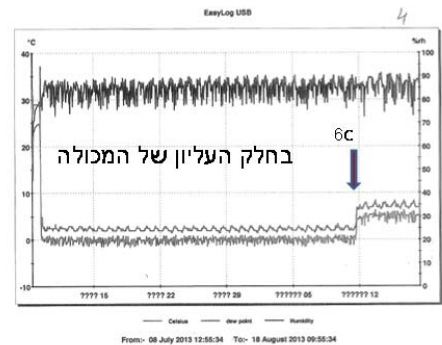
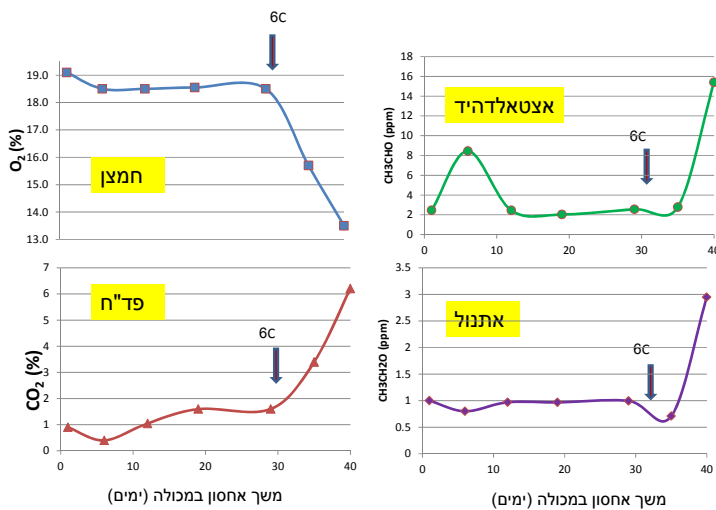
במחקר הנוכחי פיתחנו מערכת מודל מוקטנת שנועדה לדמות את האוירה הנוצרת במשלוחים ימיים ארוכים של גזר מוברש, בתנאים של חוסר אוורור. הסתבר שעלייה בריכוז הפד"ח, המושרית ע"י חוסר האוורור גורמת לתופעה בה בשלב הראשון הגזרים המאוחסנים עוברים החמה ולאחר כ-24 שעות הזעה ברורה ונראית לעין. תנאי פד"ח גבוה תוארו בעבר כגורמים להזעה בסוג תוצרת אחר, גזרים חתוכים ומוכנים לאכילה (Carlin et al, 1990). בנוסף, העלייה בריכוז הפד"ח משפיעה באופן דרמטי על הרכב המיקרוביום שעל פני השטח של הגזר, עם עלייה בחיידקים השייכים ל-*Lactobacilliales* ו-*Enterobacteriales*, וירידה בחיידקים השייכים ל-*Rickettsiales* בגזרים מוחמים ומזיעים. מחקרים שונים הראו בעבר כי רמות פד"ח גבוהות מביאות לשינוי בהרכב החיידקים על גבי תוצרת חקלאית, וכן לתופעות כמו אקטיבציה של גנים וירולנטיים שונים (Gill 1996, Lo et al 2016). בעוד שחיידקים אירוביים כגון *Pseudomonas* מעוכבים ע"י רמות פד"ח בינוניות-גבוהות, מיקרואורוגניזמים אחרים, למשל חיידקים אנאירוביים פקולטיביים כמו חיידקי חומצה לקטית, דווקא מעודדים תחת תנאים אלו (Oliviera et al 2010, Amanatidou et al 1999). בידוד מיקרוביולוגי של חיידקים מגזרים מזיעים הביא לזיהוי מולקולרי של 3 מיני חיידקים, כאשר רק החיידק *L. mesenteroides* גרם להזעה של הגזרים בתנאי פד"ח גבוה, ומכאן עדות למעורבותו בתופעת ההזעה. מאחר וחיידק זה משתייך לקבוצה

Lactobacillales, אנו מניחים שהשינוי בהרכב המיקרוביום הוא זה המוביל לבסוף להתפתחות ריקבנות פטרייתיים ע"ג הגזר המאוחסן.

נראה שהפתרון הפשוט והיעיל ביותר למניעת תופעת ההזעה נעוץ בהזרמת אויר צח, באופן מבוקר וקבוע, אל מכולות המשלוח, דבר העשוי למנוע הצטברות של פד"ח באווירת הגזר המשולח במכולות. פרקטיקה זאת החלה מיושמת במשלוחים מסחריים ארוכים בעיקר, והמשוב שאנו מקבלים מהמשלחים הוא חיובי עד עתה.

7. איורים

איור 1: מדידה רציפה של הטמפרטורה והלחות באווירת מכולה מסחרית (Maersk), בחלקה התחתון והעליון, כולל שינוי יזום של הטמפרטורה ל-6 מ"צ (חץ סגול).



איור 2: מדידה רציפה של ארבעה גזים: חמצן, פד"ח, אצטאלדהיד ואתנול באווירת מכולה מסחרית (Maersk), כולל בחינת השפעתו של שינוי יזום של הטמפרטורה ל-6 מ"צ (חץ סגול).



10% פחת

60% פחת

100% פחת

100% פחת

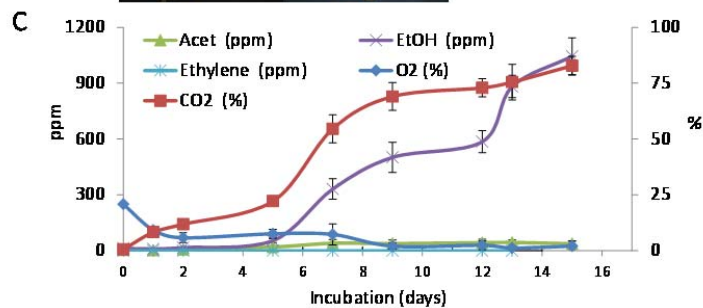
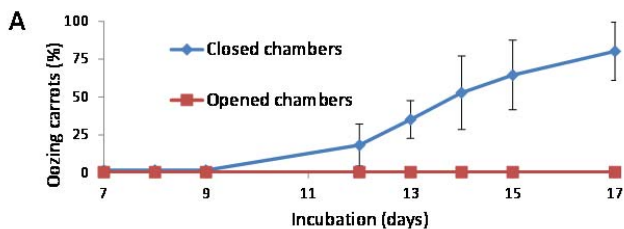


איור 3: מערכת הדמיה המאפשרת יצירת

תנאי אוורור מבוקרים.

איור 4: התפתחות ריקבנות בגזר אורגני,

מהזן ניירובי, לאחר אחסון בחביות, בתנאי אוורור שונים, במשך 5 שבועות ב- 6 מ"צ.



איור 5. תנאי חוסר אוורור משרים הצטברות של פד"ח

ואתנול באוירה ולאחר מיכן סימפטומים של הפרשה

נוזלית דביקה (הזעה) על הגזר. (A) אחוז גזרים

מזיעים בתא (2 ליטר) מאורר לעומת שאינו מאורר.

(B) סימפטומים אופייניים: לבלוב והשרשה של גזרים

במהלך אחסון בתנאי אוורור; הזעה (oozing) בתנאים

לא מאוררים אחרי 9-12 ימים ב- 20 מ"צ. החמה

(brownish) הופיע 24 שעות לאחר אוורור גזרים

מזיעים. רקבון רך (soft rot) הופיע באורור ב- 20 מ"צ

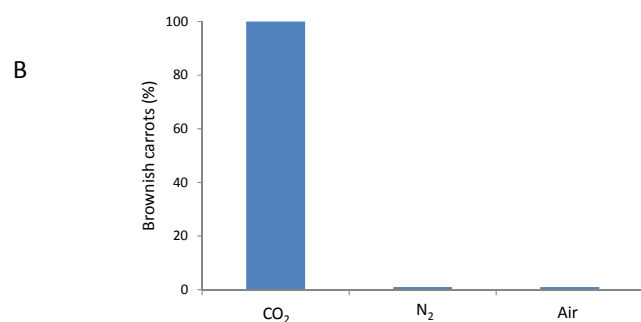
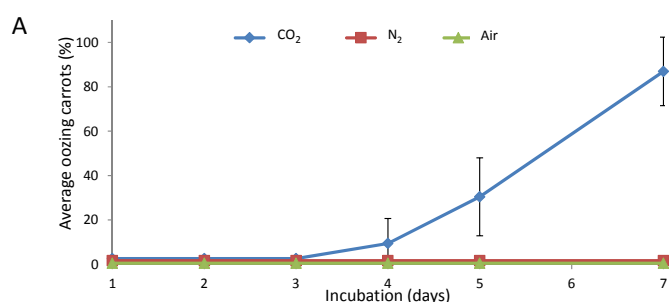
משך 3 ימים אחרי השראת הזעה. (C) השתנות נדיפים

בתאים (2 ליטר) שאינם מאוררים במשך 16 ימי

אינקובציה.

Error bars, \pm SD, n = 5. Acet, acetaldehyde;

EtOH, ethanol.



איור 6: ריכוז הפד"ח והאתנול עולים במהלך

הדגרה של גזרים בתנאים שאינם מאווררים.

(A) אחוז גזרים עם כיסוי מימי דביק (הזעה);

(B) אחוז גזרים שעברו החמה (brownish)

בעקבות אוורור של גזרים מזיעים. פד"ח, חנקן או

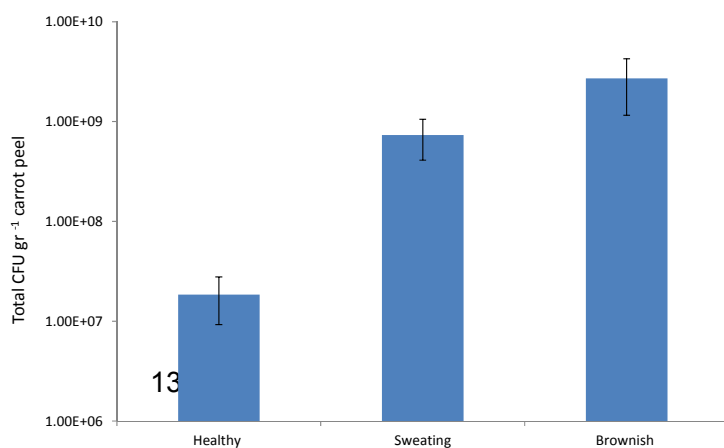
אזיר הוזרמו מידי יום להחלפת האוויר בתוך

הצנצנות, במשך 7 ימים, ולאחר מיכן הצנצנות

אווררו במשך 24 שעות. נפח צנצנות היה 2 ליטר

וטמפ ההדגרה 20 מ"צ.

Error bars, \pm SD, n = 5.



איור 7: ספירת חיידקים על גבי קליפת גזר שנחשף

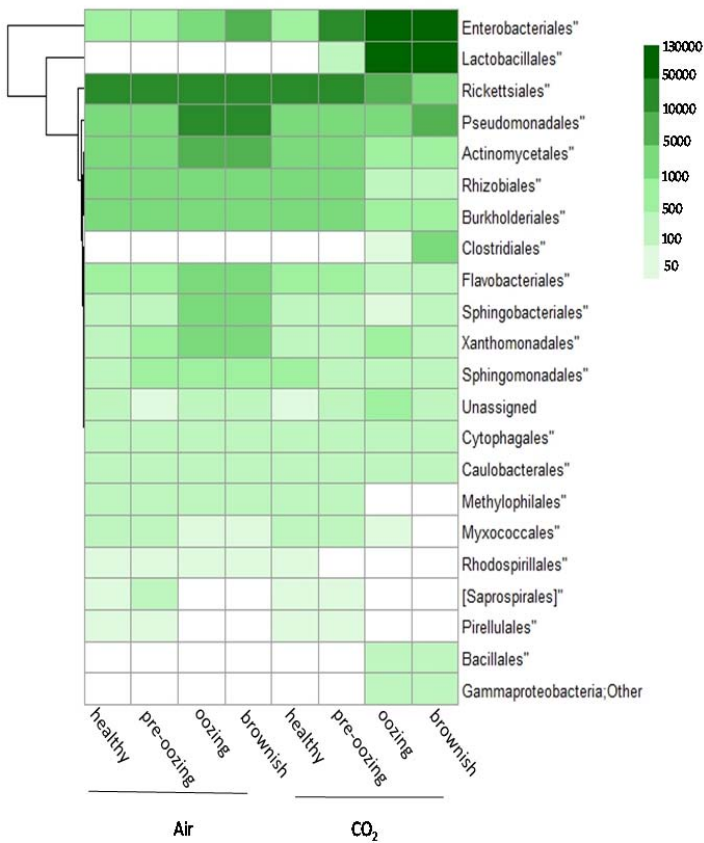
לתנאי חוסר אוורור, עם סימפטומים של נוזל דביק

(הזעה) לעומת גזר בריא. חיידקים נזרעו על מצע

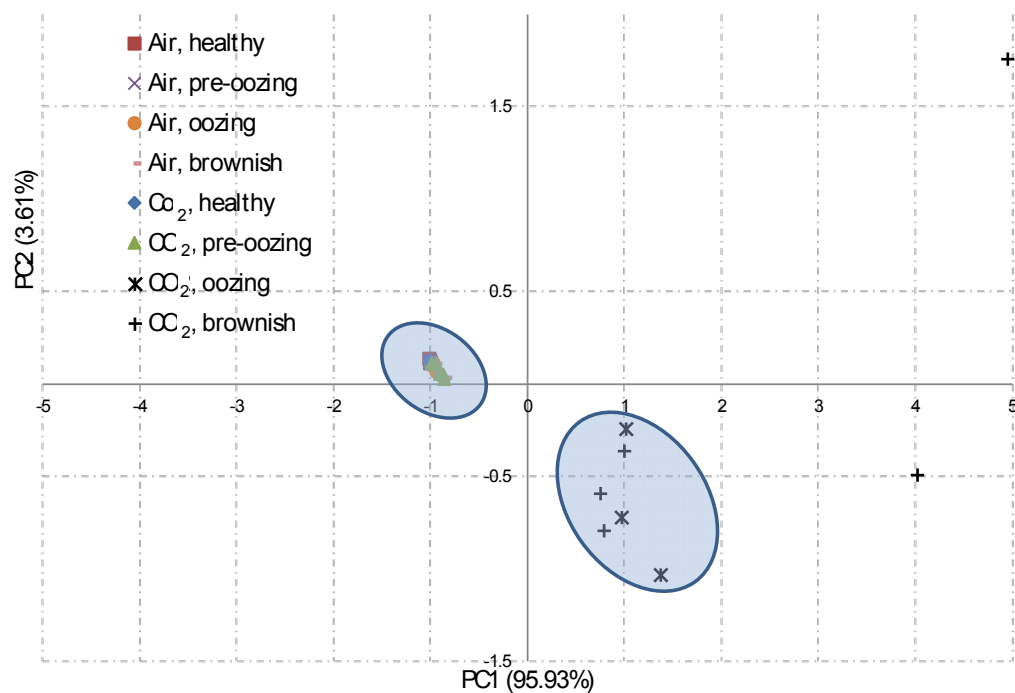
PCA והודגרו ב- 28 מ"צ משך 48 שעות Error

bars, \pm SD, n = 5. הניסוי בוצע בצנצנת בנפח 2

ליטר ובטמפ של 20 מ"צ.

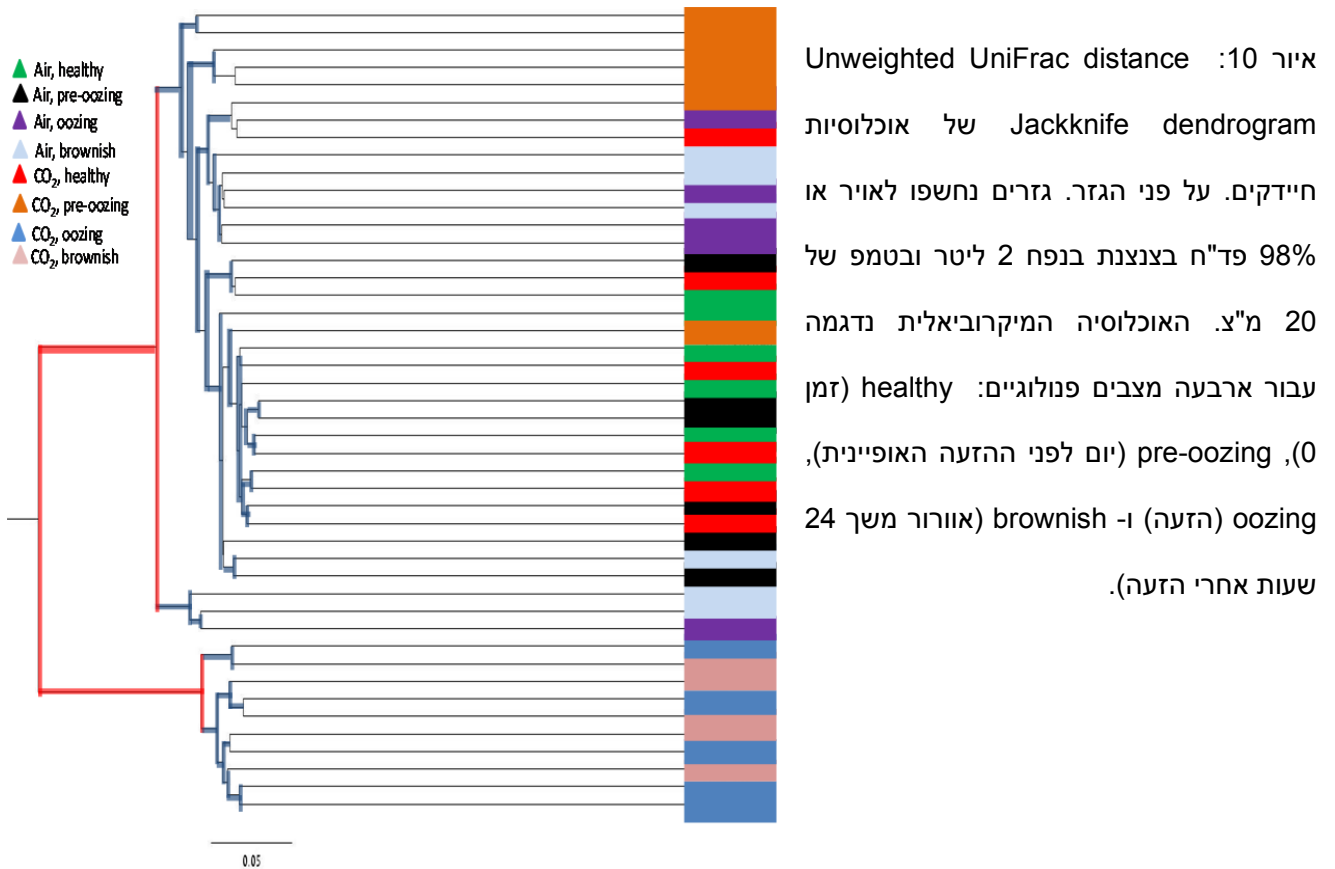


איור 8: מפת חום המלמדת שאווירת פד"ח משנה את המיקרוביום על פני שטח הגזר. גזרים נחשפו לאויר או 98% פד"ח בצנצנת בנפח 2 ליטר ובטמפ של 20 מ"צ. האוכלוסיה המיקרוביאלית נדגמה עבור ארבעה מצבים פנולוגיים: healthy (זמן 0), pre-oozing (יום לפני ההזעה האופיינית), oozing (הזעה) ו- brownish (אוורור משך 24 שעות אחרי הזעה).



איור 9: PCA biplot שחושב באמצעות factomineR.

גזרים נחשפו לאויר או 98% פד"ח בצנצנת בנפח 2 ליטר ובטמפ של 20 מ"צ. האוכלוסיה המיקרוביאלית נדגמה עבור ארבעה מצבים פנולוגיים: healthy (זמן 0), pre-oozing (יום לפני ההזעה האופיינית), oozing (הזעה) ו- brownish (אזור משך 24 שעות אחרי ההזעה).



טבלה 3: התפתחות תבדידי חיידקים שבודדו מקליפת גזרים בשלב ה-oozing או brownish .

(-) אין גדילה; (+) גדילה מואטה; (+++) גדילה רבה.

<i>Pantoea agglomerans</i> (NR041978)	99	<i>Gammaproteobacter</i> <i>ia</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>	-	+++
<i>Rahnella aquatilis</i> (NR074921)	99	<i>Gammaproteobacter</i> <i>ia</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>	+	+++
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (NR0974957)	100	<i>Bacilli</i> , <i>Leuconostocaceae</i>	+++	+++

טבלה 4: אילוח דיסקיות גזר באוירה של אויר לעומת פד"ח. הדסקיות הודגרו בצלחות פטרי , שהונחו בצנצנות בנפח 2 ליטר, ב- 20 מ"צ במשך 5 ימים. (-) ללא סימפטומים; (+) סימפטומים של הזעה (oozing).

Treatment	<i>P. agglomerans</i>	<i>R. aquatilis</i>	<i>L. mesenteroides</i>	Oozing fluid
Air	—	—	—	—
98% CO ₂	—	—	+	+
Pre-exposure of disks to CO ₂ (5 days) followed by exposure to air	—	—	—	—

טבלה 5: ממוצע alpha diversity של דגימות מקליפת גזרים שנחשפו לאויר לעומת פד"ח. גזרים נחשפו לאויר או 98% פד"ח בצנצנת בנפח 2 ליטר ובטמפ של 20 מ"צ. האוכלוסיה המיקרוביאלית נדגמה עבור ארבעה מצבים פנולוגיים: healthy (זמן 0), pre-oozing (יום לפני ההזעה האופיינית),

	OTUs		Coverage		Shannon diversity index		Chao1 richness estimator	
	Average	STDEV	Average	STDEV	Average	STDEV	Average	STDEV
healthy	4847.00	652.025	0.96	0.008	4.49	0.568	11034.15	1270.902
pre-oozing	5030.00	699.884	0.96	0.008	4.32	0.588	11306.77	1470.047
oozing	6534.50	382.764	0.97	0.003	5.26	0.520	13869.61	765.382

oozing (הזעה) ו-brownish (אוורור משך 24 שעות אחרי הזעה).

brownish	6479.33	810.612	0.97	0.002	4.88	0.443	13642.26	1488.405
healthy	5070.67	358.180	0.96	0.004	4.77	0.558	11204.29	732.591
pre-oozing	5643.00	677.814	0.96	0.004	4.72	0.663	12686.65	1617.997
oozing	4199.00	253.244	0.98	0.002	4.11	0.176	7517.28	554.897
brownish	4326.20	385.803	0.98	0.002	4.15	0.246	7765.35	855.828

8. רשימת ספרות:

1. Critzer, F.J. and M.P. Doyle, *Microbial ecology of foodborne pathogens associated with produce*. Curr Opin Biotech, 2010. **21**: 125-130.
2. Enya, J.,H. Shinohara,S. Yoshida,T. Tsukiboshi,H. Negishi,K. Suyama, and S. Tsushima, *Culturable leaf-associated bacteria on tomato plants and their potential as biological control agents*. Microbial Ecology, 2007. **53**: 524-536.
3. Granado, J.,B. Thürig,E. Kieffer,L. Petrini,A. Fließbach,L. Tamm,F.P. Weibel, and G.S. Wyss, *Culturable fungi of stored 'golden delicious' apple fruits: a one-season comparison study of organic and integrated production systems in Switzerland*. Microbial Ecology, 2008. **56**: 720-732.
4. Liao, C.-H. and W.F. Fett, *Analysis of native microflora and selection of strains antagonistic to human pathogens on fresh produce*. J Food Protect, 2001. **64**: 1110-1115.
5. Ottesen, A.R.,J.R. White,D.N. Skaltsas,M.J. Newell, and C.S. Walsh, *Impact of organic and conventional management on the phyllosphere microbial ecology of an apple crop*. J Food Protect, 20.2321-2325 :72 .09

- .6 Ponce, A.,M. Agüero,S. Roura,C. Del Valle, and M. Moreira, *Dynamics of indigenous microbial populations of butter head lettuce grown in mulch and on bare soil*. J Food Sci, 2008. **73**: M257-M263.
- .7 Quast, C.,E. Pruesse,P. Yilmaz,J. Gerken,T. Schweer,P. Yarza,J. Peplies, and F.O. Glöckner, *The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools*. Nucleic Acids Research, 2013. **41**: D590-D596.
- .8 Shi, X.,Z. Wu,A. Namvar,M. Kostrzynska,K. Dunfield, and K. Warriner, *Microbial population profiles of the microflora associated with pre-and postharvest tomatoes contaminated with Salmonella typhimurium or Salmonella montevideo*. J App Microbiol, 2009. **107**: 329-338.
- .9 Teplitski, M.,K. Warriner,J. Bartz, and K.R. Schneider, *Untangling metabolic and communication networks: interactions of enterics with phyto bacteria and their implications in produce safety*. Trends Microbiol, 2011. **19**: 121-127.

3. סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
אפיון הפרופיל המיקרוביאלי, במעטפת הגזר המוברש, המוביל לריקבונות מימיים ופגיעה בבטיחות המוצר במהלך אחסון ומשלוח ימי.
המטרות הספציפיות כוללות (1) ניטור האוירה הגזית המשתנה במכולה מקוררת במהלך הדמיה של משלוח ימי; (2) בניית מערכת הדמיה מעבדתית למכולה מקוררת, בעלת אוירה מבוקרת, לצורך השראה של התפתחות ריקבונות בתנאי מעבדה; (3) בידוד וזיהוי מרכיבי מיקרופלורה מקליפת הגזר המאוחסן; (4) בחינת השפעת תנאי האוורור באריזה המשמשת למשלוח ימי, על התפתחות גורמי ריקבון ובטיחות המוצר.
עיקרי הניסויים והתוצאות.
שיטות העבודה: א. זיהוי השתנות האוירה הגזית במערכת מודל לאחסון ומשלוח של גזר. ב. בידוד וזיהוי מרכיבי מיקרופלורה מקליפת הגזר המאוחסן; ג. אילוח מכוון של רקמת הגזר בתבדידי חיידקים חשודים; ד. ריצוף כלל ה-DNA באוירה גזית משתנה.

<p>תוצאות עיקריות: זוהתה השתנות האוירה במהלך אחסון ומשלוח של גזר, בדגש על עלייה דרמטית בריכוז הפד"ח במערכת. זוהו ובודדו המיקרואורגניזמים העיקריים בגזר המופיעים בשלב הזעת הרקמה וקשורים ביצירת הביופילם האופייני- <i>Leuconostoc mesenteroides</i>, <i>Rhanela aquatilis</i> ו- <i>Pantoea agglomerans</i>. בוצעה אנליזה מיקרוביומית של אוכלוסיית החיידקים המשתנה כתלות באווירה הגזית סביב אשורש הגזר. נמצא שבאווירת פד"ח קיימת השתלטות של שלושת סוגי החיידקים על שטח פני הגזר. מתוך שלושת סוגים אלו, מבחן קוך העלה כי <i>L. mesenteroides</i> בלבד גורם לפנוטיפ הזעה על פני שטח הגזר.</p>	
<p>מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?</p> <p>נראה שיש משמעות רבה למידת האורור של מכולות משלוח הגזר בהתפרצות ריקבונות מימיות. רמת הפד"ח של כמעל 5% במכולת המשלוח יכולה לשמש כאינדיקציה להתפתחות ריקבונות צפויה. אורור מבוקר וקבוע של המכולה יסייע בעיכוב ומניעת ההשתלטות של החיידק <i>L. mesenteroides</i> על פני שטח הגזר וכך למניעת פנוטיפ ההזעה הפוגע באיכות ובשיווק המוצר.</p>	
	מטרות המחקר הושגו לתקופת הדו"ח
	כן
<p>בעיות שנתרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתרה לביצוע תוכנית המחקר?</p> <p>במהלך העבודה הסתבר, שפעולות אורור פשוטות מצמצמות דרמטית את תופעת ההזעה בגזרים ומכאן מצמצמות התפתחות ריקבונות באחסון. לאור נסיונם הרב של המחברים בעבודה עם קיטור, על העלויות האנרגטיות והלוגיסטיות הכרוכות בשימוש בו, הוחלט שלא מוצדק להשתמש בו כפתרון חליפי או משלים ומכאן שלא נערכו ניסויים נוספים בקיטור. המדביר הביולוגי שמר, בעיקר בשל מחירו והקושי ביישומו (אבקה רחיפה), אינו משווק בארץ בשנים האחרונות, מכאן שלא מצאנו צורך לבחון גם אותו. כתחליף לשתי פעולות אלו יצרנו עומק מחקרי רב יותר לצד השלמת ההבנה (הנעשית בימים אלו) באשר לאופן בו הזעת הגזר נגרמת ואיזה פטריות פתוגניות מעודדות מכך.</p>	<p>הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב - <u>ציטוט</u> ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי; פטנטים - יש לציין שם ומס' פטנט; הרצאות יומי עיון - יש לפרט מקום, תאריך, ציטוט ביבליוגרפי של התקציר כמקובל בפרסום מאמר מדעי.</p>
	פרסום מאמר:

Lampert, Y., Dror B., Sela N., Teper-Bamnolker P., Daus A., Sela (Saldinger) S. and Eshel D. (2017). Emergence of *Leuconostoc mesenteroides* as a causative agent of oozing in carrots stored under non-ventilated conditions. Microbial Biotechnology (DOI: 10.1111/1751-7915.12753).

הצגת תוצאות המחקר בכנסים:

02/2017- ברק דרור, יעל למפרט, נועה סלע, שלמה סלע ודני אשל. השפעת האווירה הגזית על פתוגניות החיידק *Leuconostoc mesenteroides* בגזר מאוחסן. הצגת פוסטר, הכנס השנתי של העמותה הישראלית למחלות צמחים.

03/2017- ברק דרור, יעל למפרט, נועה סלע, שלמה סלע ודני אשל. השפעת האווירה הגזית על פתוגניות החיידק *Leuconostoc mesenteroides* בגזר מאוחסן. הצגת פוסטר, כנס 'ביכורי מחקר לגד"ש וירקות', האגודה הישראלית לגד"ש וירקות.

04/2017- ברק דרור, שלמה סלע ודני אשל. "dextran synthesis by new strain of *Leuconostoc mesenteroides* is stimulated by changes in the gaseous environment", הצגת פוסטר, הכנס השנתי של האגודה הישראלית למיקרוביולוגיה.

פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)

רק בספריות

ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)

חסוי – לא לפרסם