

דו"ח תלת-שנתי לתוכנית מחקר מספר 255-0516-05
הבקרה הגנטית בקביעת הארומה והאיכות בפירות של מילונים
Genetic control of aroma and fruit quality in Melons
מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות
ע"י

פרופ' עוזי רביד	תבלינים, מינהל המחקר החקלאי, נוה יער
ד"ר יוסי בורגר	דלועיים, מינהל המחקר החקלאי, נוה יער
אולגה לרקוב	תבלינים, מינהל המחקר החקלאי, נוה יער
ד"ר נורית קציר	גנטיקה, מינהל המחקר החקלאי, נוה יער
גליל צורי	גנטיקה, מינהל המחקר החקלאי, נוה יער
ד"ר אפרים לוינסון	תבלינים, מינהל המחקר החקלאי, נוה יער
ד"ר אלעזר פאליק	איחסון, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן
אסתר ברנדייס	תבלינים, מינהל המחקר החקלאי, נוה יער
עוזי סער	דלועיים, מינהל המחקר החקלאי, נוה יער

Uzi Ravid, Aromatic Plants, ARO, Newe Ya'ar, POB 1021 Ramat Yishay. E-mail:
uziravid@agri.gov.il

Yossi Burger, Cucurbit Corps, ARO, Newe Ya'ar, POB 1021 Ramat Yishay. E-mail:
burgery@agri.gov.il

Olga Larkov, Aromatic Plants, ARO, Newe Ya'ar, POB 1021 Ramat Yishay. E-mail:
olgalark@agri.gov.il

Nurit Katzir, Genetic Plants, ARO, Newe Ya'ar, POB 1021 Ramat Yishay. E-mail:
kazirn@agri.gov.il

Galil Zuri, Genetic Plants, ARO, Newe Ya'ar, POB 1021 Ramat Yishay.

Efraim Lewinsohn, Aromatic Plants, ARO, Newe Ya'ar, POB 1021 Ramat Yishay. E-mail:
twefraim@agri.gov.il

Elazar Fallik, Postharvest, ARO, Volcani center, Beit Dagan POB 6. E-mail:
elifalik@volcani.agri.gov.il

Ester Brandeis, Aromatic Plants, ARO, Newe Ya'ar, POB 1021 Ramat Yishay. E-mail:
liliamor@agri.gov.il

Uzi Sa'ar, Cucurbit Corps, ARO, Newe Ya'ar, POB 1021 Ramat Yishay.

דצמבר 2005

כסלו תשס"ו

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.
הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא

חתימת החוקר

תקציר

הארכת חיי המדף של המלונים תוך שמירת הארומה של המלון הם גורמים החשובים למגדלי המלונים ולצרכן.

נעשתה אנליזה של חומרים נדיפים בקליפה ובציפה של מלונים בשיטת HS-SPME. כרומטוגרמות של זני המלונים הלא-בשלים – היו דומים ביניהם, החומרים הדומיננטיים היו אלדהידים. hexanal היה החומר העיקרי, אלדהידים נוספים שהופיעו בכל הזנים הוא 2,6-heptadienal, octanal וכמות מעטה של benzaldehyde והכוהל, 3-methyl butanol.

במלונים הבשלים היו קבוצות חומרים אלו: אלדהידים, כהלים ובעיקר אצטטים ואסטרים-אחרים. נמצאו הבדלים בחומרי ארומה בציפה וקליפה של מלונים בשלים מזן נוי-יזרעאל. בקליפה נמצאו גם ססקוויטרפנים וכן benzaldehyde. תוצאות האנליזה מעידות על ביטוי הגנים בקליפת מלוני נוי-יזרעאל בשלים. בציפה של אותם מלונים נמצא כי יחס סך אסטרים-אחרים לסך אצטטים, קטן מ-1. במלונים מזן נוי-יזרעאל צעירים ובשלים, לא נצפה ביטוי, של גן MEL7 שהוחדר לצמח ע"י הוירוס המוחלש AGII, על חומרי הארומה.

ב-19 זני מלון בשלים נבדק קצב שיחרור אתילן מיד לאחר הקטיפה, לאחר יום ולאחר 7 ימים. לאותם זנים נעשתה אנליזה של החומרים הנדיפים בציפה. נמצאה קורלציה המצביעה על קשר בין קצב שיחרור האתילן סך חומרי ארומה וקלימקטריות של זני המלון. נמצא כי בפירות אלו יחס סך האסטרים-אחרים לאצטטים הוא קטן מ-1.

ישנו שוני בהרכב חומרי הארומה של מלונים בשלים שנבדקו מיד אחרי הקטיפה לבין מלונים שהיו באחסנה.

במלונים שאוחסנו בתנאים שונים נמצא כי יחס סך אסטרים-אחרים לסך אצטטים גדול מ-1, וצויינו טעמי לוואי. ניתן להשתמש ביחס כמדד לטעם של מלון.

מבוא

המלון שייך למשפחת הדלועיים, *Cucumis melo L.* מין זה כולל זני בר וזנים מתורבתים. המלון בעל שונות מורפולוגית רחבה מאוד: צורה, גודל, צבע מרקם, טעם וחיי מדף. השונות הפנוטיפית הרחבה איפשרה טיפוח זני מלון ייחודיים עבור שווקים שונים בהתאם לדרישות השוק. טעם איכותי בפירות המלון הוא שילוב של סוכרים וחומרים ארומטיים. חיי המדף של פירות הם תהליכים ביולוגיים מורכבים המתרחשים בזמן הבשלת הפרי ולאחר הקטיף ומשפיעים על חיי המדף של הפרי (1).

ניתן לחלק את המלונים לשתי קבוצות: קלימקטרים ולא-קלימקטרים בהתאם לתכונות בעת ההבשלה. הקלימקטרים מאופיינים בעליה משמעותית בשחרור אתילן ובשינויים בארומה של הפרי. חלק גדול מהקלימקטרים נחשבים ארומטיים ובעלי חיי מדף קצרים ואילו הלא-קלימקטרים בדרך כלל נחשבים פחות ארומטיים ובעלי חיי מדף ארוכים. נבדק הקשר בין קלימקטריות, שחרור אתילן ויצירת חומרי ארומה בזנים שונים של מלונים.

מטרות המחקר

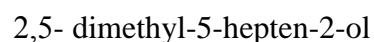
1. זיהוי ואפיון מרכיבים כימיים בעלי חשיבות לטעם המלון באמצעות GC-MS ובדיקות אורגנולפטיות.
2. הבנת הקשר הגנטי, הפיסולוגי והכימי בין תכונות מרכיבי הארומה לבין כושר האחסנה (חיי מדף).
3. זיהוי גנים ו/או סמנים גנטיים לתכונות של ארומה והתרככות הפרי.

מהלך ושיטות עבודה

כל המלונים שנבדקו, גודלו בנוה יער, מלבד מלונים שעברו טיפול באחסנה.

הכנת דוגמאות לבדיקת הרכב חומרי ארומה בציפה

מיד לאחר הקטיף, הובאו למעבדה פירות מלונים מכל זן. נלקחו 200 גר' מכל פרי ללא הקליפה, הוכנסו לבלנדר להומוגניזציה, עם 200 מ"ל תמיסת מלח NaCl 20% במהירות גבוהה למשך 1 דקה. 50 מ"ל מהתמיסה הועברו למבחנה וסורכזו במשך 30 דקות (ב- 4°C, 5000 סל"ד). בבקבוק מדידה הושומו 25 מ"ל מהפאזה העליונה של התמיסה והוסף סטנדרט פנימי,



נלקחו 10 מ"ל לבקבוק Headspace שהכיל 3 גר' מלח NaCl למניעת פעילות אנזימתית. התמיסה נאטמה ונשמרה בקירור עד הבדיקה.

הכנת דוגמאות לבדיקת הרכב ארומה בקליפה

3 גר' חתיכות קליפה של המלונים קולפו בעזרת מקלף ביתי ונחתכו לחתיכות קטנות והושומו בבקבוק Headspace עם 10 מ"ל תמיסת מלח NaCl 20% שהכיל 3 גר' NaCl. גם כאן הוסף הסטנדרט הפנימי, והבקבוק נאטם ונשאר בקירור עד הבדיקה.

בדיקת החומרים הנדיפים

החומרים הנדיפים מוצו באופן אוטומטי בשיטת AUTO- HS- SPME. קצה מחט המזרק המצויד בפולימר הוכנס לחלל העליון של הבקבוק, והושאר שם 30 דקות, כדי לאפשר ספיחת חומרים נדיפים של הפרי לפולימר, והוזרק למכשיר GC- MSD, למשך 10 דקות, ונוקה ע"י שהיה באויר במשך 3 דקות.

זיהוי החומרים הנדיפים

זיהוי של החומרים הנדיפים שמוצו בשיטת SPME נעשה על מערכת הכוללת גז כרומטוגרף של חברת HP משולב עם ספקטוגרף מסות. המכשיר מצויד בקולונה פולרית, מטיפוס Rt_x 5 SIL MS, עם הליום כגז נושא, בקצב של 1 מ"ל לדקה. טמפרטורת המערכת היתה: טמפ' התחלתית 45 ואז הועלתה בקצב של 1.5 °C לדקה עד טמפ' סופית של 180°C, הוחזק בטמפ' זו כ- 60 דקות. מקור ההזרקה היה בטמפ' של 250°C, וטמפ' הדיטקטור היתה 280°C. זיהוי הנדיפים נעשה בעזרת השוואת כרומטוגרמת המסות לספריות ממוחשבות ולחומרים אוטנטיים. בבדיקת השפעת שלבי ההתפתחות על הרכב הנדיפים נבדקו פירות צעירים 12-15 ימים לאחר ההפריה, ובשלים 30-35 ימים לאחר ההפריה. נלקחו 3 פירות מלון לכל בדיקה.

בדיקת פליטת אתילן ממלונים

מיד לאחר הקטיפה, הובא מלון למעבדה, נשקל והוכנס לשקית COOKY. באחת משתי הפינות הסגורות של השקית נגזר עיגול קטן, אליו הותאם ספטום שהודק לשקית עם אזיקון קטן. פתח השקית נאטם ונשאב האויר מהשקית, ע"י מחט שהוחדרה לשקית דרך הספטום וחוברת למשאבת דיאפרגמה. השקית נצמדה למלון. לאחר השאיבה הוצאה המחט מהספטום והמלון הושאר ל-1/2 שעה בטמפ' החדר. דרך הספטום נשאב 1 מ"ל מאוירת השקית, בעזרת מזרק המצויד במחט דקה, והוזרק למכשיר GC. לאחר שנשאבה הדוגמא הוצא המלון מהשקית. באופן זה נמדד קצב פליטת אתילן תהליך זה נעשה גם אחרי יום אחד וגם אחרי 7 ימים על אותם מלונים שהושארו בטמפ' החדר.

נבדקו 19 זני מלונים, PI, FAQU, KRYNKA, ESHKOLIT, NUN9901, DOU-1-5, DUDAIM-3, ROCHET, GRI-B-4-5, EIN-DOR, NA, DULCE, PSR-2-B-4-3, FET5-B-4-7, TAM-DEW, TIVITIN-8-B, VEP-2-B-B, NOY-YISRA'EL. מכל זן היו 5 פירות, נעשתה אנליזה של פירות חנטה, אחרי 12 יום ו-24 ימים אחרי הפריה, מיד לאחר הקטיפה של פירות בשלים. אותם מלונים בשלים הושארו בטמפ' החדר ונבדק קצב שיחרור האתילן גם אחרי יום אחד וגם אחרי 7 ימים.

בדיקת כמות האתילן נעשה במכשיר HP 5890 על קולונה " 1/8 מסוג HayeSep Q תוצרת RESTEK, אורך 5 ft. טמפ' מקור הזרקה 100°C וטמפ' הגלאי 150°C, טמפ' הקולונה 45°C. מהירות זרימת גז הליום 30 ml/min, מהירות זרימת גז מימן 30 ml/min ומהירות זרימת אויר 300 ml/min.

לשם חישוב קצב פליטת אתילן נעשה ממוצע שטחי הפיקים של אותו זן 5 פריטים באותו היום. וכן הזרקה של אתילן לוודא מיקום הפיק והשטח מתחת לעקומה. (4).

חישוב קצב שחרור האתילן: הפרמטרים שנלקחו בחישוב קצב שחרור האתילן מהפרי היו: (1) משקל הפרי (מתוך הנחה שככל שמשקל הפרי גדול יותר שטח פני הפרי גדול יותר) ב – Kg, (2) זמן שחרור האתילן- שווה לזמן שהות הפרי בשקית האטומה – 0.5 שעה, ו- ppm של אתילן ששחרר מהפרי חושב לפי השטח מתחת לפיק והיה פרופורציונלי לשטח הפיק של 1 ppm אתילן.

טיפול במלונים בשלים מזון גליה לאחסנה

מיד לאחר הקטיפה הובאו המלונים למעבדה נשטפו במים קרים ובמים חמים (58°C) ולאחר ייבוש כל מלון טופל מלון השוקל כ- 1 ק"ג בכמות של 4 סמ"ק דונג. הפרי נארז בקרטון ואוחסן ב- 5°C בלחות יחסית של 93-95% למשך שבועיים, ואחר הוצא ל- 17°C למשך 4 ימים.

טיפול במלונים בשלים מזון גליה לאחסנה

נבדקו 3 קבוצות של מלונים בשלים מזון TROOPER שגודלו בערבה, (1) היו באחסנה 15 ימים ב-1°C ואח"כ 3 ימים בטמפ' 20 °C עם ובלי טיפול ב- MCP-1, (2) היו ב-7°C במשך 15 ימים ואח"כ 3 ימים ב- 20 °C, עם ובלי טיפול ב- MCP-1, (3) עם ובלי טיפול של MCP-1 בזמן 0 – כלומר מיד לאחר הקטיפה.

הכנה ואנליזת חומרי ארומה של מלונים שאוחסנו בתנאים שונים, נעשו באותו אופן כמו הכנת ציפה של מלונים בשלים, אלא שכאן נלקחו 200 גר' מחמישה פירות שונים של מלון, מזון גליה ומזון TROOPER, בכל ניסוי, המשך ההכנה היה כנ"ל. אנליזה של חומרי הארומה נעשתה באותו אופן לשתי קבוצות המלונים. נעשו בדיקות טעימה של המלונים אחר האחסנה ע"י קבוצת אנשים שעברו הכשרה לשמש כקבוצת טועמים.

דיון ותוצאות

הרכב חומרי ארומה של זני מלונים לא-בשלים

בדיקות הרכב כימי של חומרים נדיפים בשיטת SPME נעשה במלונים לא-בשלים מזנים אלו: ARAVA ו- DUDAIM, VENDRANTAIS, DULCE, FAQUS, NOY YIZRAE'EL, PI414723, TAM DEW, ROCHET כדי לנסות למצוא מרכיבים שהם חומרי ביניים (PRECURSERS) לפני התוצר הסופי האסטרים. כרומטוגרמות של זני המלונים הלא-בשלים – היו דומים ביניהם, החומרים הדומיננטיים היו אלדהידים. hexanal היה החומר העיקרי, אלדהידים נוספים שהופיעו בכל הזנים הוא 2,6- heptadienal, octanal וכמות מעטה של benzaldehyde והכוהל 3-methyl butanol. זן הפקוס היה בעל התכולה הגבוהה ביותר של מרכיבי הארומה בהשוואה לשאר הזנים.

הרכב כימי של מלונים בשלים

בדיקת הרכב הכימי של המלונים הבשלים נעשתה באותו אופן כמו בדיקת המלונים הלא-בשלים, בדיקת סך כל הנדיפים שהיו במלונים מזנים שונים הראו כמות של גדולה של חומרים שרובם היו אסטרים.(2).

במלונים הבשלים, אסטרים, הידועים כחומרי ארומה הם החומרים הדומיננטיים. היה שוני בהרכב חומרי הארומה של הזנים השונים אם כי קבוצת החומרים הדומיננטית היתה אסטרים. ביצירת האסטרים מעורב אנזים אצטיל טרנספראז, הן בזן קלימקטרי ולא-קלימקטרי. (3)

רובם של האסטרים הם אנלוגים ממשפחת האצטטים החל מאתיל אצטט ועד הקסיל אצטט, ומיעוטם, אסטרים-אחרים רובם ממשפחת הבוטנאטים.

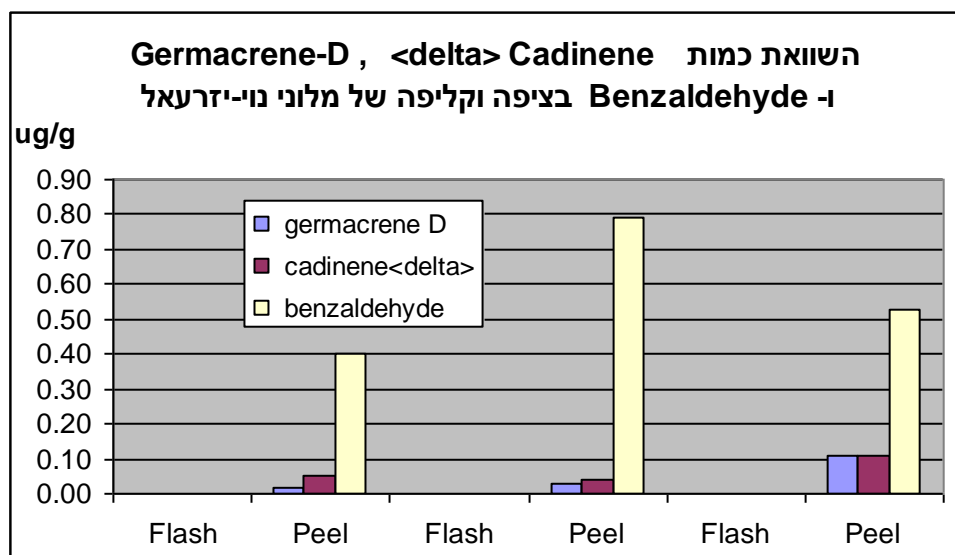
ישנה הסכמה בין החוקרים כי במלונים הבשלים ישנם חומרים נדיפים המכילים גפרית, ידוע כי מקור תרכובות הגפרית הוא החומצה האמינית מתיונין. לחומרים אלה חשיבות עקב תרומתם לריח האופייני של מלונים. (4).

בבדיקות שנערכו במעבדה בשיטת HS-SPME זוהו מספר חומרים המכילים גפרית בזני המלונים השונים. כפי שנמצא בהרכב החומרים הנדיפים של זני המלונים, גם כאן מופיעות תרכובות מסוימות בזנים אלה ולא באחרים וגם לעיתים יופיע חומר בפרי אחד מתוך השלושה של אותו זן ולא באחר.

מלוני נוי-יזרעאל

נחקרו שתי קבוצות של מלוני נוי-יזרעאל. בקבוצה אחת גודלו המלונים לשם קביעת חומרי ארומה בציפה ובקליפה וביטוי של ססקוויטרפנים בקליפה. בקבוצה השניה היו מלוני נוי-יזרעאל שהוחדר אליהם גן MEL7 בעזרת וירוס AGII, לבדיקת ביטוי מוגבר של הגן על חומרי הארומה. כל המלונים גודלו בנוה-יער בחורף ונקטפו ביום ה-45 להבשלה. קליפת המלון היתה מרושתת בחלקה וצבע הקליפה ירוק בהיר.

2 ססקוויטרפנים: δ -Cadinene, Germacrene-D ו-benzaldehyde הופיעו רק בקליפת המלונים.



ציור 1 השוואת כמות Germacrene-D, δ -Cadinene ו-Benzaldehyde בציפה וקליפה של מלוני נוי-יזרעאל בשלים.

במלונים שנבדקו היו שלשת החומרים רק בקליפה, כאשר החומר המצוי בכמות גדולה הוא Benzaldehyde. יש לציין כי בספרות ידוע ש- Benzaldehyde נמצא גם בציפה (5).

ישנם שני חומרים נוספים שנמצאו רק בציפת המלון : חומר המכיל טבעת בנזנית: Trimethyl benzene (איזומר לא ידוע), וחומר המכיל גופרית – S-methyl-2-methylthioacetate. כאשר משווים את סך הנדיפים של קליפה וציפה של 3 מלוני נוי-יזרעאל, נמצא כי כמותם גדולה יותר בציפה. (טבלה 1).

טבלה 1. סך חומרי ארומה בציפה וקליפה של 3 מלוני נוי-יזרעאל

סך חומרי ארומה בקליפה ב- $\mu\text{g/g}$	סך חומרי ארומה בציפה ב- $\mu\text{g/g}$	מלונים
3.30	4.20	1
2.80	14.50	2
4.90	24.90	3

מהנתונים נראה כי סך כמות הנדיפים בקליפת המלונים דומה, ואילו סך חומרי ארומה בציפה שונה ממלון אחד לשני, ולעיתים השוני הוא בסדר גודל. בזמן ההבשלה נוצרים חומרי ארומה רבים במלון בזמן קצר מאוד, ומכאן השוני בערכים בין המלונים השונים, כמות הנדיפים בקליפה גדול מאשר בציפה. ישנו הבדל בין החומרים הנדיפים שנמצאו בציפת המלון הבשל לבין חומרים שנמצאו בקליפת המלון. בקליפת המלון החומר העיקרי הוא אלדהיד עם טבעת בנזנית Benzaldehyde שמצוי גם בשקדים ויש לו ארומה לא נעימה וכן חומרים מקבוצת ססקוויטרפנים: δ -cadinene ו-germacrene-D, גם כמות הכוהלים היתה גדולה יותר בקליפת הפרי מאשר בציפה.

בחומרים הססקוויטרפנים יש ענין מיוחד כי בספריית הפחתה שהוכנה מקליפת מלון מזן נוי-יזרעאל נמצא קטע הדומה לגנים המקודדים לאנזימים ססקוויטרפן סינטזות. על מנת לבדוק אם יש תוצרים של פעילות הגן ובאיזו רקמה של הפרי הוא פעיל, נעשתה אנליזה של חומרים נדיפים בקליפה של המלון. תוצאות האנליזה מראות כי הגן פעיל בקליפה של הפרי.

בקבוצה השניה היו מלוני נוי-יזרעאל שהוחדר אליהם גן MEL7 בעזרת וירוס AGII. נחקרה השפעת גן MELV 7 על תכולת ארומה במלוני נוי-יזרעאל בשלים. צמחי מלון הודבקו בגן MEL7 שהוכנס לוירוס מוחלש AGII.

כדי לעקוב אחר ביטוי הגן בצמח, גודלו שלוש קבוצות של מלונים: 1. מלונים שלא עברו טיפול (קונטרול), 2. מלונים שהודבקו בוירוס המוחלש AGII, 3. מלונים שהודבקו בוירוס המכיל את הגן. נבדקו חומרי ארומה ציפה וקליפה של מלוני נוי-יזרעאל בשלים בשלשת הקבוצות.

בקליפה ובציפה של המלונים נמצאו מספר חומרים נדיפים שניתן לחלק אותם לקבוצות: אלכוהולים, אלדהידים, אסטרים ואצטטים.

טבלה 2. קבוצות חומרים שנמצאו בציפת מלונים בשלים עם ובלי טיפול בגן.

כוחלים	אלדהידים	אסטרים לא אצטטים	אסטרים אצטטים
Ethanol	Pentanal	Ethyl propanoate	Ethyl acetate
Methyl butanol	Hexanal	Methyl butanoate	Propyl acetate
Hexanol	Octanal	Ethyl isobutyrate	Isobuthyl acetate
	Nonanal	Methyl 2-methyl butyrate	Butyl acetate
		Ethyl butanoate	Pentyl acetate
		Ethyl 2-methyl butyrate	Z-3-hexenyl acetate
		Methyl propyl propanoate	Hexyl acetate
		Ethyl hexanoate	Meso-2,3-butanediol diacetate
			Benzyl acetate
			Phenylethyl acetate

למרות השוני בסך חומרי הארומה בין מלון למלון נמצאו אותם חומרים בקבוצת המלונים שנבדקה. בציפה מספר החומרים האסטרים האצטטים גדול יותר וכן כמותם גדולה יותר מאשר קבוצת האסטרים הלא-אצטטים, ומשאר הקבוצות.

יש לציין כי קבוצת האסטרים האצטטים מכילה חומרים בעלי טבעת בנזנית כמו : Benzyl acetate ו- Phenyl- 2-ethyl Acetate התורמים לארומה של המלון.

קבוצת החומרים האלדהידים מופיעה בעיקר במלונים לא בשלים, והשרשרת הפחמנית הארוכה שזוהתה בסידרת חומרים אלו הוא: Nonanal, יש להניח שנגזרות שלו יוצרות את השורות ההומולוגיות של האלדהידים הקצרים יותר כלומר את החומרים: Hexanal ו- Pentanal.

סך חומרי הארומה של ציפה וקליפה של מלוני נוי-זרעאל ב-3 הקבוצות של המלונים מסוכמים בטבלה 3.

טבלה 3. סך חומרי ארומה בציפה וקליפה של מלוני נוי-יזרעאל: קונטרול, שעברו טיפול בוירוס ושעברו טיפול בוירוס עם הגן.

קבוצת המלונים	סך נדיפים בציפה	סך נדיפים בקליפה
קונטרול	9.74	7.24
AGII	17.99	4.66
AGII+ MEL 7	2.22	0.75

התוצאות מראות כי בציפת מלונים שהודבקו בוירוס AGII הכילו יותר נדיפים מאשר מלונים שלא טופלו כלל או מלונים שהודבקו בוירוס שהכיל את הגן. אבל קליפת מלוני הקונטרול הכילה יותר נדיפים. לא רואים ביטוי מוגבר של הגן ביצירת חומרי הארומה בקליפה או בציפה של המלון.

שיחרור הורמון אתילן וקלימקטריות

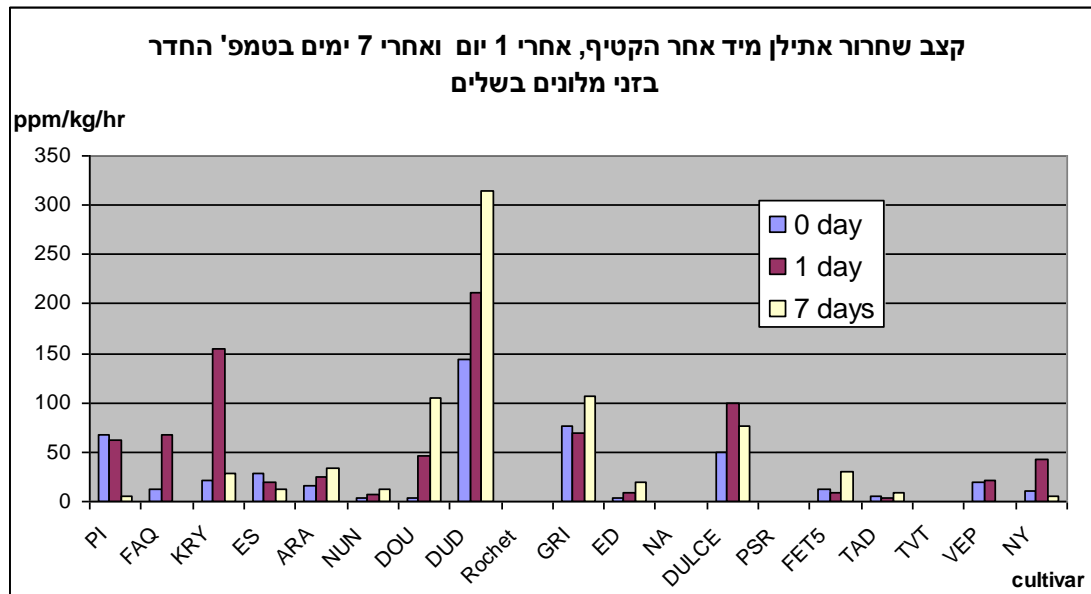
קביעת קלימקטריות של מלונים נעשית על פי קצב שיחרור אתילן מהמלון. נבדקו מלונים צעירים בני 12 ו-14 ימים, וכן ממלונים בשלים. מלונים מ-19 זנים הובאו למעבדה מיד לאחר הקטיף, נבדק שיחרור אתילן מיד לאחר הקטיף, אחרי יום 1 ואחרי 7 ימים. המלונים הושארו בטמפ' החדר.

טבלה מס' 4: קצב פליטת אתילן ppm/Kg/hr מזני מלונים בשלים מיד לאחר הקטיף (0 days), לאחר יום (1day) ולאחר 7 ימים (7days) בטמפ' החדר.

cultivar	0 days	1 day	7days
PI	67	61	6
FAQ	12	67	0
KRY	21	155	29
ES	28	20	13
ARA	15	25	33
NUN	4	7	12
DOU	4	47	104
DUD	145	212	314
Rochet	0	1	0
GRI	76	70	107
ED	4	9	19
NA	0	0	0
DULCE	49	99	77
PSR	0	1	0
FET5	12	8	31
TAD	4	3	8
TVT	0	0	0
VEP	19	21	0
NY	11	43	6

בטבלה מס' 4 מסוכם קצב פליטת אתילן ppm/Kg/hr מזני מלונים בשלים מיד לאחר הקטיף (0 days) לאחר שאוחסנו יום 1 (1 day) ולאחר 7 ימים (7days) בטמפ' החדר.

מהנתונים רואים כי ישנם פרופילי קצב שיחרור אתילן שונים. ישנם זנים שמיד לאחר הקטיפה היתה מהם פליטה רבה של אתילן שהלכה והתמעטה, כמו זן PI ו-ES. זנים אחרים היגיעו לקצב פליטה גבוה של אתילן דווקא יום לאחר הקטיפה, כמו FAQ, KRY, ו-NA, והיו גם זנים שקצב פליטת אתילן היה גבוה לאחר 7 ימים של אחסנה כמו זן VEP, ED, DUD, ו-DOU. אבל לא נמצא קשר בין קלימקטריות של הזן לבין הזמן בו היגיע המלון לשיא של קצב פליטת אתילן. באופן ויזואלי ניתן לראות את תוצאות קצב שיחרור הורמון האתילן בציור 2.



ציור 2: קצב פליטת אתילן מזני מלונים בשלים מיד לאחר הקטיפה (0 days), לאחר שהושארו יום 1 (1 day) ולאחר 7 ימים (7 days) בטמפ' החדר.

נקבע כי גובה קצב שיחרור הורמון האתילן מעל 2 ppm/Kg/hr הוא מלון קלימקטרי.

אנליזה של חומרי ארומה בזני מלונים בשלים

תוצאות האנליזה של חומרי ארומה בציפה של אותם 19 זני מלונים בשלים, מיד לאחר הקטיפה, סוכמו בטבלה מס' 5. סך כל מרכיבי הארומה, סך אצטטים, סך אסטרים-אחרים, וכן היחס בין אצטטים לאסטרים-אחרים.

טבלה מס' 5. סך כל מרכיבי הארומה, סך אצטטים וסך אסטרים-אחרים בציפת זני המלונים הבשלים, וכן היחס בין אצטטים-לאסטרים-אחרים.

cultivar	Total Aroma ppm	Total Acetates ppm	Other-esters ppm	Acetates/Non-Acetate
DOU	36.64	10.75	2.06	0.29
ARA	6.20	1.2	0.91	0.19
FAQ	2.78	0.71	0.36	0.26
KRY	7.71	2.73	0.03	0.35
VEP	26.74	11.29	0.81	0.42
NUN	1.79	0.49	0.05	0.27

GRI	25.31	10.48	0.76	0.41
ES	9.96	3.33	0.72	0.33
FET5	2.96	0.6	0.06	0.20
ED	14.10	6.41	0.18	0.45
DUD	8.70	3.43	0.37	0.39
NY	10.84	4.81	0.14	0.44
NA	0.35	0.04	0.01	0.12
ROCHET	1.38	0.56	0.01	0.40
TAD	2.40	0.54	0.03	0.23
DUL	3.89	0.84	0.35	0.22
PSR	0.94	0.2	0.06	0.21
PI	1.88	0.59	0.13	0.31
TVT	0.14	0	0	0.00

מהטבלה רואים כי כמות האצטטים גבוהה יותר מכמות האסטרים-אחרים, והיחס ביניהם היה פחות מ-1. לא נכלל כאן אתיל אצטט, שכמותו היתה קטנה אם כי שידוע שכמותו עולה באופן דרסטי בזמן הבשלת יתר.(6).

השוואה בין סך חומרי ארומה לקצב שחרור אתילן מפירות בשלים.

נבדק הקשר בין סך חומרי ארומה בציפת מלונים בשלים לקצב שיחרור אתילן מאותם 19 זני מלונים מי ד לאחר הקטיפה ולתכונת הקלימקטריות של הפירות.

טבלה 6 : השוואת שחרור אתילן וסך חומרי ארומה בזנים שונים עם קלימקטריות מיד לאחר הקטיפה

קלימקטריות	Ir cultivar	סך חומרי ארומה ppm	קצב שחרור אתילן 0 days ppm/kg/hr
+	PI	1.88	67
+	FAQ	2.78	12
+	KRY	7.71	21
+	ES	9.96	28
+	ARA	6.20	15
	לא NUN	1.79	4
+	DOU	36.64	4
+	DUD	8.70	145
	לא ROCHET	1.38	0
+	GRI	25.31	76
+	ED	14.10	4
	לא NA	0.35	0
+	DUL	3.89	49
	לא PSR	0.94	0
	לא FET5	2.96	12
	לא TAD	2.40	4
	לא TVT	0.14	0
+	VEP	26.74	19
+	NY	10.84	11

כפי שנראה בטבלה, זנים שבהם שחרור האתילן מתרחש במשך זמן קצר בעוצמה רבה שייכים לקבוצת הפירות הקלימקטרים, ואילו זני הפירות שבהם קצב שחרור איטי של אתילן תוך כדי הבשלת הפרי, שייכים לפירות לא-קלימקטרים. היו מספר זנים שהיתה בהם קצב של אתילן מעל 12 ppm/Kg/hr אך

כמות נמוכה של סך החומרים הארומטיים כלומר מתחת ל- 2 ppm, וכן מספר זנים שבהם סך החומרים הארומטיים היה גבוה אבל קצב שיחרור האתילן היתה נמוך. ישנה התאמה רבה בין קצב שיחרור אתילן, סך חומרי ארומה וקלימקטריות.

בדיקת חומרי ארומה במלוני גליה מדונגים בשלים באיחסון

מלוני שנקטפים לפני הבשלה אינם מסיימים את תהליכי ההבשלה על המדף אצל הירקן או הצרכן, ולכן ישנה חשיבות להארכת חיי מדף של מלוני בשלים ע"י טיפולים שונים כמו ציפוי בסוגי דונג או טיפול עם מעכבי הבשלה.

נחקרו תנאי אחסנה של מלוני בשלים מזן גליה ומזן TROOPER. מלוני גליה שגודלו בשדות המסחריים באיזור הנגב של ישראל, הובאו למעבדה ועברו טיפול בחומרי דינוג מסוג TAG, ZIVDAR, המכילים שלק, וחומר מעכב הבשלה 1-MCP. TAG – הוא חומר המבוסס על פוליאיתילן ומכיל 18% חומר מוצק ושלק. ZIVDAR מבוסס גם הוא על פוליאיתילן, ומכיל פי 2 כמות שלק יחסית ל-TAG. ZIVDAR משמש כחומר דינוג מסחרי. מלוני שהיו באותם תנאי אחסנה ולא עברו טיפול היוו את קבוצת הבקרה.

החומרים הנדיפים בציפה חולקו לארבע קבוצות של חומרים: אלדהידים, כהלים, אצטטים ואסטרים לא-אצטטים. במלוני גליה היו אותם אסטרים לא-אצטטים כמו במלוני נוי-יזרעאל. בקבוצת החומרים הכהלים מלוני גליה הכילו חומרים נוספים:

(Z)-3-hxanol, Octen-3-ol, 2-ethyl hexanol. במלוני נמצאו כמויות קטנות של כהלים בעלי שרשרת של 9 ו-8 פחמנים, אך לא נמצאו האנלוגים האצטטים של פחמנים אלו. האצטט בעל השייר הכהלי הגבוה ביותר שנמצא הוא בעל 6 פחמנים.

בכל קבוצות המלוני שעברו טיפול בחומרי הוקס השונים, ובקבוצת הבקרה, נמצא החומר Ethyl acetate. הוא אצטט המתנהג באופן שונה משאר האצטטים, הוא תוצר פירוק של האסטרים האחרים, וכמותו בפרי עולה עם בשלות הפרי, ומסמנת בשלות יתר, ופגיעה באיכות הפרי ובארומה. כמות האסטרים הלא-אצטטים עם שייר אליפטי קצר (אתיל או מתיל) עולה בתהליך בשלות היתר של המלוני.

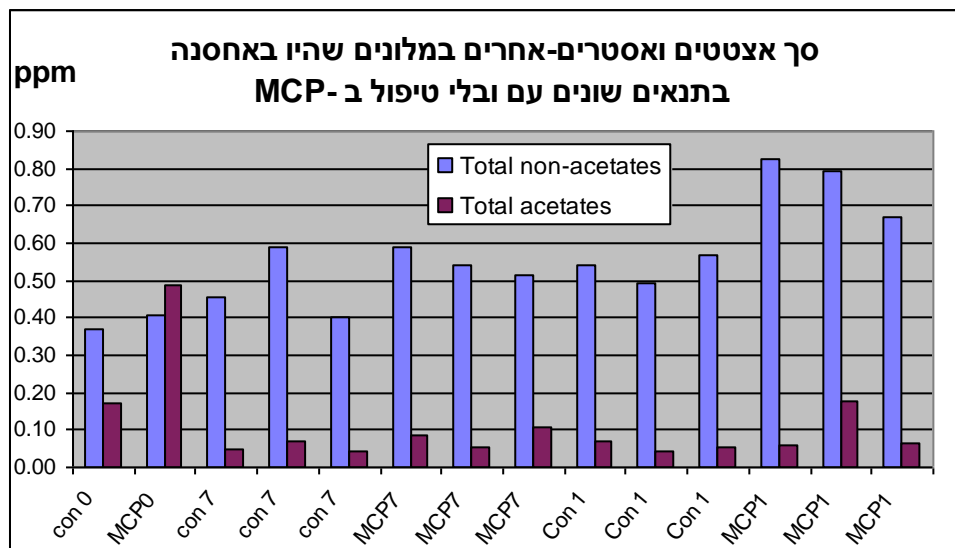
חומר נוסף שנמצא בציפת מלוני מזן גליה בשלים שעברו טיפול ובקבוצת הבקרה, הוא Benzaldehyde שנמצא בקליפת מלוני מזן נוי-יזרעאל.

בדיקת חומרי ארומה במלוני בשלים מזן TROOPER גליה באחסנה

בניסוי אחסנה להארכת חיי המדף נבדקו 2 קבוצות מלוני: קבוצה אחת שעברה טיפול ב- 1-MCP וקבוצה שניה של מלוני שלא עברו טיפול והם קבוצת הבקרה (קונטרול CON). היו 3 תנאי אחסנה: בזמן 0, אחסנה למשך 15 ימים ב-7°C ואח"כ 3 ימים ב-20°C, ואחסנה ב-15 ימים ב-1°C ואח"כ 3

ימים ב-20°C. במלונים שהיו באחסנה עם ובלי טיפול ב-MCP 1- מהווים אסטרים-אחרים רוב חומרי הארומה. ציור 3.

ציור 3. השוואה בין סך אסטרים אצטטים ואסטרים אחרים במלונים בשלים מזן TROOPER שהיו בתנאי אחסנה שונים.



בציור 3 ישנה השוואה בין סך אצטטים ואסטרים-אחרים במלונים שהיו באחסנה למשך 15 ימים בטמפ' 7°C ו-3 ימים ב-20°C קבוצת קונטרול (CON 7) ועם טיפול ב-MCP (MCP 7), ובאחסנה למשך 15 ימים בטמפ' 1°C ו-3 ימים בטמפ' 20°C, קבוצת קונטרול (COM 1), קבוצה שטופלה ב-MCP (MCP1), מלונים שהיו ללא טיפול בזמן 0 (CON0), ומלונים שעברו טיפול ב-MCP בזמן 0 (MCP0).

סך חומרי ארומה של כל קבוצות המלונים, אלה שהיו בטיפול ואלה שהיו קבוצת הקונטרול, היה דומה. אולם, בדוגמא MCP0 כמות אצטטים היתה גבוהה יותר מכמות אסטרים-אחרים. כפי שנראה בגרף, במלונים שעברו טיפול ב-MCP 1- בזמן 0 היה יחס אצטטים לאסטרים-אחרים נמוך מ-1, ובבדיקה אורגוליפטיות קיבל ציון 2.5 מתוך 3 ולא צוינו טעמי לוואי. בשאר המלונים בדיקת הטעם היה ציון נמוך מ-2, וצוינו טעמי לוואי. ניתן להשתמש ביחס בין אצטטים לאסטרים-אחרים כמדד לטעם של מלון. כלומר יחס אצטטים לאסטרים-אחרים היה גדול מ-1 בכל המקרים, יוצא דופן הוא מלון שעבר טיפול ב-MCP 1- בזמן 0.

טבלה 7. השוואה בין חומרי ארומה מקבוצת האסטרים של מלונים מיד לאחר הקטיפה ומלונים לאחר אחסנה, ו-RI (Retention Index).

RI	מיד לאחר הקטיפה	לאחר אחסנה	RI	מיד לאחר הקטיפה	לאחר אחסנה
706	ethyl propanoate	ethyl propanoate	707	propyl acetate	propyl acetate

	methyl butanoate		2-methylpropyl acetate	2-methylpropyl acetate	745
	2-methyl butanol		butyl acetate	butyl acetate	786
ethyl 2-methyl propanoate		733	2-methylbutyl acetate	2-methylbutyl acetate	854
methyl 2-methylbutanoate	methyl 2-methylbutanoate	747		pentyl acetate	
ethyl butanoate	ethyl butanoate	770		3-hexen1-ol acetate(Z)	
ethyl 2-methylbutanoate	ethyl 2-methylbutanoate	824		hexyl acetate	
ethyl 3-methylbutanoate			2,3 butadioldiacetate		1058
ethyl hexanoate	ethyl hexanoate	995	meso 2,3 butandioldiacetate		
ethyl 3(methylthio)propanoate		1086	benzaldehyde	(3-methylthio)-propyl acetate	
				benzyl acetate	
				2-phenylethyl acetate	

השוואת חומרי הארומה במלונים בשלים ובמלונים שהיו באחסנה מראה כי ישנם הבדלים בתכולת החומרים בין שתי הקבוצות. כמו-כן ישנו הבדל בסך האצטטים וסך האסטרים לא-אצטטים, אך יותר משמעותית היא אך כפי שנראה בציור 3.

סיכום

נעשתה אנליזה של חומרים נדיפים בקליפה ובציפה של מלונים בשיטת HS-SPME. כרומטוגרמות של זני המלונים הלא-בשלים – היו דומים ביניהם, החומרים הדומיננטיים היו אלדהידים. hexanal היה החומר העיקרי, אלדהידים נוספים שהופיעו בכל הזנים הוא 2,6-heptadienal, octanal וכמות מעטה של benzaldehyde והכוהל, 3-methyl butanol.

במלונים הבשלים היו קבוצות חומרים אלו: אלדהידים, כהלים ובעיקר אצטטים ואסטרים-אחרים. נמצאו הבדלים בחומרי ארומה בציפה וקליפה של מלונים בשלים מזן נוי-יזרעאל. בקליפה נמצאו ססקוויטרפנים וכן benzaldehyde. תוצאות האנליזה מעידות על ביטוי הגנים בקליפת מלוני נוי-יזרעאל בשלים. בציפה של אותם מלונים נמצא כי יחס סך אסטרים-אחרים לסך אצטטים, קטן מ-1. במלונים מזן נוי-יזרעאל צעירים ובשלים, לא נצפה ביטוי, של גן MEL7 שהוחדר לצמח ע"י הוירוס המוחלש AGII, על חומרי הארומה.

ב-19 זני מלון בשלים נבדק קצב שיחרור אתילן מיד לאחר הקטיף, לאחר יום ולאחר 7 ימים. לאותם זנים

נעשתה אנליזה של החומרים הנדיפים בציפה. נמצאה קורלציה המצביעה על קשר בין קצב שיחרור האתילן סך חומרי ארומה וקלימקטריות של זני המלון. נמצא כי בפירות אלו יחס סך האסטרים-אחרים לאצטטים הוא קטן מ-1.

ישנו שוני בהרכב חומרי הארומה של מלונים בשלים שנבדקו מיד אחרי הקטיפ לבין מלונים שהיו באחסנה.

במלונים שאוחסנו בתנאים שונים נמצא כי יחס סך אסטרים-אחרים לסך אצטטים גדול מ-1, וצויינו טעמי לוואי. ניתן להשתמש ביחס בין אצטטים לאסטרים-אחרים כמדד לטעם של מלון.

ספרות מצוטטת

- 1). Fallik. E., Alcali-Tuvia. S., Horev. B., Copel. A., Rodov. V., Aharoni. Y., Ulrich. D., and Schultz. H., (2001) Characterization of 'Galia' melon aroma by GC and mass spectroscopic sensor measurements after prolong storage. *Postharvest Biology and Technology*. 22, 85-91.
- (2). Beaulieu, J.C. Grim, C.C., Identification of Volatile compounds in Cantalope at Various Developmental Stages using Solid Phase Microextraction. 2001. *J. Agric. Food. Chem.* 49, 1345-1352.
- 3). Yahyaoui. E. L. Y., Wongs-Aree. C., Latch. A., Hackett. R., Grierson. D. and Pech. J. C., (2002). Molecular and Biochemistry characteristics of gene encoding an alcohol acy-transferase involved in the generation of aroma volatile esters during melon ripening. *Euro. J. Biochem.*, 269, 2359-2366.
- (4). Wyllie. G.S., Leach. N.D., Mussinan. C.J., Kleen. M.E., Sulfur volatiles in cucumis melo cv. Makdimon (Muskmelon) Aroma 1994. *Sulfur compounds in food. ACS Symposium Series* 564, 4:36-48.
- 5) Jordan. J. M., Shaw. E. P., Goodner. L. K., (2001) Volatile Components in Aqueous Essence and Fresh Fruit of cucumis melo cv. Athena (Muskmelon) by GC-MS and GC-O. *J. Agric. Food Chem.* 49, 5929-5933.
- 6) Wang. Y., Wyllie. G. S., Leach. D. N., (1996). Chemical Changes during the Development and Ripening of the Fruit of Cucumis melo (Cv. Makdimon). *J. Agric. Food Chem.* 44, 210-216.

1. מטרות המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.

1. זיהוי ואיפיון מרכיבים כימיים חשובים בטעם המלונים.
 2. בחינת הקשר בין תכונות של הארומה לגנים ספציפיים.
 3. הבנת הקשר בין תכונות מרכיבי הארומה לבין כושר האחסנה.
- 2. עיקרי הנסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.**

1. בדיקת מרכיבי ארומה במלונים מזן נוי-יזרעאל בשלים.
2. בדיקת פליטת אתילן מ-19 זני מלונים בשלים מיד לאחר הקטיף, לאחר יום ולאחר 7 ימים

3. בדיקת מרכיבי ארומה של 19 זני מלונים בשלים.
4. בדיקת מרכיבי ארומה ואיכות במלונים מזן TROOPER שטופלו ב-MCP 1- להארכת כושר האחסנה.

4. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח.

1. המרכיבים הדומיננטיים במלונים בשלים הם אסטרים אצטטים.
2. רמת פליטת האתילן שונה מזן לזן ואינה בהכרח מקסימלית ביום הראשון לאחר הקטיף.
3. במלונים בשלים יחס אסטרים אצטטים לאסטרים אחרים קטן מ-1.
4. במלונים שאוחסנו מספר ימים עם ובלי טיפול ב-MCP 1- יחס אסטרים אצטטים לאסטרים אחרים גדול מ-1.

הבעיות שנתרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים), התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתרה לביצוע תוכנית המחקר.

1. בדיקות אולפקטומטריות של מלונים בשלים ושל מרכיביהם.
 2. בחינת הקשר בין הבקרה הגנטית לבין כושר האחסנה של מלונים.
- האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח – יש לפרט: פרסומים – כמקובל בביבליוגרפיה, פטנטים – יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון – יש לפרט מקום ותאריך.**

Fallik, E., Shalom, Y., Alkalai-Tuvia, S., Larkov, O., Brandeis, E., and Ravid, U., 2005. External, internal and sensory traits in Galia-type melon treated with different waxes. Postharvest Biol. Technol. 36, 69-75.

פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח:

ללא הגבלה

