

ריסוסי כילאט סידן להתמודדות עם העובש האפור בפלפל לאחר הקטיף – הגברת בריאות הפרי וכושר אחסונו

ד"ר כרמית זיו, גינת רפאל, ד"ר צ'ארלס קרסנאו - המחלקה לחקר תוצרת חקלאית, מינהל המחקר החקלאי.
זיוה גלעד, אפרים ציפילביץ - מו"פ בקעת הירדן.
ד"ר אורי ירמיהו - המחלקה לכימיה של הקרקע, מינהל המחקר החקלאי, גילת.
תמר אלון - שירות ההדרכה והמקצוע, משרד החקלאות.

תקציר

מחלת העובש האפור בפלפל, הנגרמת ע"י הפטריה *Botrytis cinerea*, העמידה לקור, גורמת לנזק רב בגידול פלפל חורפי בבקעת הירדן ובערבה. למרות שהאילוח בנבגי הפטריה מתרחש במהלך הגידול, לעיתים לא ניתן לראות סימנים או סמפטומים בשטח והם מתפתחים רק במהלך האחסון והמשלוח לחו"ל וגורמים לנזק משמעותי. עבודות בעבר הדגימו את חשיבות הסידן להתמודדות עם מחלת העובש האפור בעלוה ואת תפקידו החשוב בפרי. למרות הידע שהצטבר על חשיבות הסידן לבריאות הצמח, קיים פער בהבנה לגבי השפעת ריסוסי סידן במהלך הגידול על איכות פרי הפלפל ועמידותו בפני פתוגניים לאחר הקטיף ובמהלך האחסון. מטרת המחקר היתה לבחון האם כילאט סידן הניתן בריסוס עלויתי במהלך גידול פלפל ו/או טיפולי טבילה בתכשיר כילאט הסידן ישפרו את איכות הפרי, יקטינו את נגיעות ורגישותו לבוטריטיס במהלך הגידול, האחסון והובלה ימית, ויאפשרו אחסון ארוך בטמפרטורה תת-אופטימלית, שתאפשר ייצוא לשווקים רחוקים. לשם כך ביצענו ניסוי בחלקת פלפל במו"פ בקעת הירדן במסגרתו פלפל אדום (זן לאי לאי) נשתל בשלוש מינהרות עבירות כגידול חורפי. בניסוי נבחנו 4 טיפולים במהלך הגידול (כל טיפול ב-6 חזרות), שכללו ביקורת (ריסוס מים), טיפול מישקי (ריסוסים כימיים), ריסוס עלויתי שבועי בכילאט סידן (תכשיר מסחרי שלאל סידן BMS Micro-Nutrients, שיווק בארץ ע"י שמואל קריינר, כילאט סידן 0.7% CaO+ DTPA), וריסוס עלויתי להשראת עמידות 3 ימים לפני קטיף בסידן כלורי 0.5%. הטיפולים בוצעו במהלך עונת הקטיף של פרי לייצוא (1- דצמבר 2022 עד 30-מרץ 2023). פרי באיכות ייצוא מארבעה קטיפים (אחת לחודש) הועבר למכון וולקני לביצוע טיפולים לאחר קטיף, ולבדיקת רבובנות ואיכות פרי לאחר אחסון בקור. כל טיפול בשדה פוצל לשני טיפולים לאחר הקטיף: ביקורת (ללא טיפול), וטיפול טבילה בשלאל סידן (30 שניות בשלאל סידן 63mM ואז יבוש באוויר). פרי מ-8 הטיפולים פוצל לאחסון בשתי טמפרטורות (2, 7 מ"צ). בתום תקופת האחסון הפרי נבדק לאיכות חיצונית (צבע, מוצקות, ופגמים) ופנימית (איבוד משקל וכלל מוצקים מומסים - כמ"מ), וכן נגיעות בפטריות הגורמות לריקבון. כמו כן נבדקה רגישות הפרי לאילוח מכוון של בוטריטיס. במקביל נבחנה השפעת כילאט הסידן על תגובת הפרי לצינה, נלמד מנגנון הפעולה של כילאט הסידן בעיכוב צימוח והתפתחות הפטריה בוטריטיס, וכן בוצעה בחינה ראשונית של טיפולים לאחר קטיף (שילוב של טיפולי חום ופונגיצידי) להתמודדות עם פתוגנים שכיחים של פלפל אשר אינם רגישים לכילאט הסידן.

תוצאות השנה השנייה חזרו על ממצאי השנה הראשונה וכן על ממצאי הניסוי המקדים שבוצע לפני שנתיים, והדגימו יעילות של ריסוס שלאל סידן בצמצום הפחת הנגרם עקב מחלת העובש האפור (בוטריטיס) הן באילוח טבעי מהשדה והן כאשר ביצענו אילוח מכוון של הפטריה במעבדה. כמו כן נמצא כי טיפולי טבילה בכילאט הסידן יעילים ביותר במניעת ריקבון עוקץ בפרי באחסון בקור. בחינת מנגנון פעולת החומר בעיכוב הבוטריטיס העלתה אפקט פליאוטרופי, דבר המהווה יתרון לשימוש בחומר עקב הסיכון הנמוך בהתפתחות עמידויות כנגדו. יתר על כן, העובדה כי ניתן ליישם את החומר כטיפול לאחר קטיף מקטינה את הצורך בריסוסים הדחופים ומצמצמת מאוד את עלויות היישום, ובכך תורמת לכלכליות הטיפול ומגבירה את היתכנות אימוצו ע"י החקלאים.

לאורך כל שנות המחקר עולה כי בעוד כילאט הסידן יעיל מאוד בהתמודדות עם מחלת העובש האפור בפלפל, פתוגנים פטרייתיים אחרים, שגם כן מהווים בעיה, אינם מודברים על ידי תכשיר זה. על מנת להתמודד עם גורמי ריקבון פרי אלו, בחנו יישום של חומר הדברה מורשה לשימוש לאחר קטיף (פלודיאוקסוניל) בשילוב טיפולי חום, אשר כבר דווחו בעבר כיעילים בשיפור כושר האחסון של פרי פלפל בקור. שילוב השיטות נמצא יעיל כנגד מירב הפתוגנים התוקפים את הפלפל באחסון, ואיפשר קיצור משך הטבילה בחום והורדת הטמפר' תוך שימוש במינון יחסית נמוך של תכשיר ההדברה (פי 10-5 מהמומלץ בתווית).

אנו ממליצים לבחון את נושא יישום הטיפול של כילאט הסידן כריסוס עלוותי שנה נוספת, ובמקביל לבחון את שיפור היישום של תכשיר זה כטיפול לאחר קטיף בשילוב עם טיפולים נוספים כדוגמת טבילות חמות, וכן להמשיך ללמוד את מנגנון הפעולה של הסידן בכילאט על מנת לשפר ולדייק את יישומו. התוצאות שיתקבלו יאפשרו פיתוח המלצות ופרוטוקול טיפול במחלת הבוטריטיס בפלפל באחסון ויתרמו להפחתת אובדן התוצרת לאחר הקטיף, הנגרם ממגוון פתוגנים, בגידול החורפי של הפלפל המיועד הן לייצוא והן לשיווק מקומי.

מבוא

פלפל (*Capsicum annuum* L.) הוא גידול מרכזי וחשוב באזורי ספר שונים כמו הערבה, צפון הנגב ובקעת הירדן, ומהווה מוצר ייצוא מרכזי בענף הירקות. ייצור הפלפל השנתי עמד בעונת 2022-23 על כ-120,000 טון, הגדלים ב 20-אלף דונם, כאשר 40% מהייצור הופנה לייצוא. עקב בעייתיות הנובעות ממלחמת רוסיה-אוקרינה ותחרות בשוק הייצוא גוברת בין ישראל למגדלי הפלפל בספרד, מרוקו, תורכיה וירדן קיימת פגיעה מתמשכת בייצוא הפלפל שבאה לידי ביטוי בירידה הדרגתית בכמויות המיוצאות, בעוד שהשוק המקומי נשאר יציב. על מנת לשמר ולחזק את מגדלי הפלפל, יש צורך במציאת שווקים חדשים בצפון אמריקה והמזרח הרחוק. כדי לאפשר הובלה ימית לשווקים חדשים / רחוקים יש צורך דחוף בשיפור איכות הפרי והארכת כושר אחסנתו.

מחלת העובש האפור גורמת לפגיעה משמעותית בצמחי הפלפל בעיקר בעונת החורף (עונת הייצוא) כאשר הטמפרטורות יורדות, והלחות היחסית גבוהה. תנאים אלה הם אופטימאליים להתפתחות המחלה שיכולה להגיע לרמת נגיעות גבוהה של כ-30-10% מכלל הפירות. מחלת העובש האפור בפלפל נגרמת ע"י הפטריה *Botrytis cinerea* [1] העמידה לקור [2, 3]. עקב בעיית הוירוסים המתגברת בשנים האחרונות, גוברת המגמה של מעבר לבתי רשת המכוסים ברשת 50 מש או פלסטיק. צפוי כי בעיית הבוטריטיס תחריף כאשר חממות הפלפל יכוסו ברשת 50 מש עקב הפגיעה באוורור, שמעלה את הלחות במבנה.

מחלת העובש האפור גורמת לאבדן עצום של פלפל באחסון ועדיין אין פתרון יעיל למנוע את המחלה. ישנם מספר אתגרים העומדים היום בפני מגדלי הפלפל ובראשם הלחץ הציבורי מצד הצרכנים ורשויות הרגולציה להפחתת בחומרי הדברה, ומאידך מחלות פטרייתיות ובראשן מחלת העובש האפור, שהן קשות ביותר להדברה וגורמות לנזקים של אובדן יכול במהלך הגידול ולאחר הקטיף בהיקפים של עד 30-50% מהתוצרת בפלפל [4]. חשוב לציין שטיפולי אחסון לאחר קטיף להארכת חיי המדף אינם מסוגלים לתת מענה מוחלט לבעיה כאשר העובש האפור לא מטופל בשדה והפרי מגיע עם רמת מידבק גבוהה לאחסון, אפילו בהעדר סימפטומים נראים לעין.

אחסון הפלפל לזמן ממושך בקירור מגביר את הסיכוי להתפרצות מחלת העובש האפור ולאובדן התוצרת. פרי הפלפל רגיש לצינה ועל כן מאוחסן בטמפרטורות של 7 מ"צ [5]. בטמפרטורה זו פטריית הבוטריטיס, שגורמת לעובש אפור בפלפל, גדלה אמנם יותר לאט אולם אינה מעוכבת ויכולה לגדול על הפרי, לגרום לריקבון ובהינתן מספיק זמן, אפילו להנביג ולגרום להדבקות משניות של הפרי.

תוספת יסודות הזנה מאקרו/מיקרו שונים מגבירים את יכולת הצמח להתמודד עם מחלות נוף ומשפיעים על רגישות צמחים לגורמי מחלה כדוגמת בוטריטיס [6]. במהלך השנים נערכו מספר רב של עבודות שהראו קשר בין העלאת רמת הסידן בצמח לבין היכולת של הצמח להתמודד עם מחלות נוף שונות ובעיקר עובש אפור [7-13]. ברוב

המחקרים הללו הטיפולים ניתנו ע"י הגברת הדישון הסידני ביישום עם המים (הדשייה), אולם עבודות קודמות הראו כי ניתן להעלות את ריכוז הסידן בצמח גם בריסוס עלוותי. יישום עלוותי של סידן בהשוואה ליישום קרקעי או עם המים הוא בעל יתרון ברור היות וניתן להעלות את ריכוז הסידן בכל אברי הצמח במנה אחידה וגבוהה ללא תלות בהובלת היסודות בצמח. כמו כן, ניתן ליישמו יחד עם טיפולי הגנת צומח אחרים. ריסוסי סידן במהלך הגידול הם פרקטיקה מקובלת במספר גידולים כגון תפוח, אפרסק, מנגו וקיווי לשיפור תכונות הפרי ולהגברת עמידות בפני מחלות תוך צמצום השימוש בחומרי הדברה לקראת הקטיף [14-16]. בעוד שסידן כלורי הוא הריסוס המקובל, כילאט סידן החל להיות משווק כאלטרנטיבה עדיפה בטענה של קליטה טובה יותר של הסידן [14, 17]. חשוב לציין שאופן חדירת הסידן המרוסס לפרי לא ברורה ויש המשערים שהסידן חודר דרך עדשתיות או סדקים בקליפת הפרי שמופיעים בשלבי הגידול המאוחרים.

למרות הידע שהצטבר על חשיבות הסידן לבריאות הצמח והפרי, קיים פער בהבנה לגבי השפעת ריסוסי סידן במהלך הגידול על איכות פרי הפלפל ועמידותו בפני פתוגניים לאחר הקטיף ובמהלך האחסון.

מטרת המחקר וחשיבתו

מטרת המחקר היא בחינת האפשרות להפחתת נגיעות במחלת העובש האפור בפלפל באחסון ע"י ריסוסי סידן בכילאט, ובהמשך פיתוח פרוטוקול ליישום תכשיר מתאים של סידן במהלך גידול הפלפל, שיקטין את נגיעות הפרי במחלת העובש האפור לאחר הקטיף, יאריך את כושר האחסון שלו בקור ויצמצם משמעותית את הנגיעות והפחת מפטריות ריקבון במהלך האחסון תוך צמצום השימוש בחומרי הדברה.

לתוכנית הוגדרו מספר יעדים: **יעד יישומי** - בחינת יעילות פורמולציות סידן בכילאט ליישום בריסוס במהלך הגידול להקטנת הנגיעות של פירות הפלפל המגיעים לאחסון: א) בחינת מינוני פורמולציות סידן. ב) בחינת מועדי היישום של פורמולציות סידן. **יעד תשתיתי** - א) בחינת מנגנון הפעולה של כילאטי סידן על הגברת עמידות הפרי לפתוגנים. ב) בחינת השפעה פונגיסטטית או פונגיצידיית ישירה של כילאטי סידן על הפתוגן.

בשנת המחקר הראשונה מצאנו כי ריסוס בכילאט סידן הפחית נגיעות של עובש אפור לאחר קטיף, במנגנון של עיכוב ישיר של הפטריה וללא עליה בתכולת הסידן בפרי. מאידך גורמי רקבון פרי אחרים כדוגמת כלדוספוריום ואלטרנריה נמצאו משמעותיים באובדן התוצרת לאחר הקטיף ולא הושפעו מטיפולי סידן. כמו כן נמצא כי טבילות בכילאט סידן לאחר הקטיף עשויות להיות יעילות בהפחתת העובש האפור ובעלי היתכנות כלכלית. נושא נוסף שעלה הוא השפעת הטיפולים על עמידות הפרי לצניח. על בסיס ממצאים אלו, **מטרות המחקר של שנה שנייה** התרכזו בהבנת מנגנון הפעולה של כילאט סידן על עיכוב הבוטריטיס, השפעתו על עמידות הפרי לאחסון בתנאי טמפ' תת-אופטימליים, בחינת יישומו כטיפול לאחר קטיף וכן מציאת חלופות לטיפולים לאחר קטיף להתמודדות עם גורמי הרקבון הנוספים שזוהו.

פירוט עיקרי הניסויים ותוצאות המחקר

ביצוע ניסוי שדה לבחינת השפעת ריסוסי סידן בפורמולציות שונות על הקטנת הנגיעות בעובש האפור בפרי הפלפל בשדה ובאחסון. פלפל אדום זן לאי לאי (חברת אפעל, זן מסחרי רגיש לעובש האפור) נשתל במו"פ בקעת הירדן ב-16/08/2022 בשלוש מינהרות עבירות (מפתח 10 מ', 0.5 דונם כל מינהרה) מכוסות רשת 17 מש + רשת צל שחורה 40%, כאשר הצדדים הם קירות פלסטיק. רשת שחורה הוסרה ב-29/9/22. ב-28/11/22 הוחלפה רשת 17 מש בפלסטיק והופעל טפטוף בצד המיבנים להגברת הלחות. ב-27/2/23 נפרסה רשת 40% צל שחורה על הפלסטיק. בכל מינהרה 5 שורות באורך 40 מ'. שתילה בדו-שורה. כל טיפול בוצע ב-6 חזרות באורך 10 מ' לחזרה שפוזרו באקראי במיבנים (2 חזרות בכל מינהרה). הטיפול בוצע על שני צידי השורה. בין שורות הטיפול היו שורות חוצצות, שלא טופלו, למניעת רחף. הטיפולים כללו:

1. **ביקורת** - טיפול היקש (ריסוס שבועי של מים), בוצע במקביל לריסוסי שלאל סידן (טיפול 4).

2. **משקי** - הדברה כימית שבוצעה לפי הנחיות מדריכי שה"מ שכללה שני ריסוסים בסוואנה, 60 סמ"ק לדונם (תרסיס-אגריכס. Cyprodinil 375 gr/L, Fludioxonil 250 gr/L) בתאריכים 22/12/22 ו- 9/2/2023.

3. **CaCl₂** - ריסוס של סידן כלורי 0.5% שבוצע 3 ימים לפני כל קטיפה משרה עמידות [18].

4. **שלאל סידן** - ריסוס שבועי של תכשיר כילאט סידן 0.7% (CaO-DTPA Micro-Nutrient) BMS שיווק בארץ ע"י שמואל קריינר) החל מ- 1/12/2022 ועד 30/3/2023 (סיום הקטיפה לפלל לייצוא), שה"כ בוצעו 18 ריסוסים בשלאל סידן.

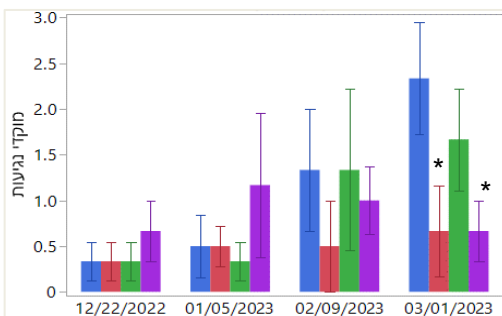
קטיפה פרי בוצע כל 21-14 יום (כתלות בקצב הבשלה) החל מנובמבר 2022 ועד מאי 2023, שה"כ 15 קטיפים. הפרי נקטף ברמת הבשלה כפי שמקובל בקטיפה מסחרי (כ-85% צבע). בכל קטיפה הפרי מוין לפי האיכויות המקובלות בשיווק ולאחר מכן פרי באיכות ייצוא הועבר לבדיקות במחלקה לאחסון במנהל המחקר החקלאי (להלן). לצורך הערכת היבול מהטיפולים השונים: בכל חזרה הוגדרה חלקת שקילה בגודל 8 מ"ר (6 חלקות לטיפול) ונערך מיון ושקילה של הפירות מכל קטיפה לביצוע מעקב יבול ואיכות הפרי לפני אחסנה. בין הטיפולים השונים לא נמצא הבדל מובהק בכל מדדי היבול שנבדקו (טבלה 1).

טבלה 1: פירוט מדדי היבול בניסוי לפי טיפולים

נתוני יבול לפי טיפול [‡]				
שלאל סידן	CaCl ₂	מישקי	ביקורת	
7.4	7.7	8.0	8.6	יבול מצטבר ליצוא (ק"ג/מ"ר)
41.9	44.6	45.3	47.6	מס' פירות ליצוא (מס'/מ"ר)
8.3	8.8	9.1	9.8	יבול מצטבר כללי (ק"ג/מ"ר)
171.8	174.7	175.3	181.5	משקל פרי ממוצע (גרי')

[‡]No significant difference in means between treatments were found based on Tukey's HSD Test at $p \leq 0.05$.

במהלך העונה בוצע מעקב חודשי אחר מוקדי נגיעות בבוטריטיס בחלקות השונות ונספרו פירות וענפים נגועים בכל חלקה. ככול שהעונה התקדמה עלתה הנגיעות בבוטריטיס בחלקות השונות, בעיקר בטיפול הביקורת ובטיפול CaCl₂, ופחות בטיפול המישקי ובטיפול שלאל סידן, הבדל אשר הפך למובהק בסוף העונה (טבלה 2 ואיור 1).



איור 1: הצגה גרפית של נתוני מוקדי הנגיעות בבוטריטיס המוצגים בטבלה 3. כוכבית (*) מציינת הבדל מובהק בין הטיפול לביקורת.

טבלה 2: מוקדי נגיעות בבוטריטיס לחלקה לפי טיפולים

מס' מוקדי נגיעות לחלקה לפי טיפול [‡]				מועד הבדיקה
שלאל סידן	CaCl ₂	מישקי	ביקורת	
A 0.7	A 0.3	A 0.3	A 0.3	22/12/2022
A 1.2	A 0.3	A 0.5	A 0.5	05/01/2023
A 1.0	A 1.3	A 0.5	A 1.3	09/02/2023
B 0.7	A 1.7	B 0.7	A 2.3	01/03/2023

[‡]Means within row followed by the same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$, based on the least

significant differences Tukey's HSD Test.

בחינת איכות הפרי הקטוף שטופל בתכשירי סידן

מבין הקטיפים שבוצעו, 4 קטיפים אשר נקטפו עם פרי באיכות ייצוא (אחת לחודש) הועברו למחלקה לחקר תוצרת חקלאית במכון וולקני, לביצוע טיפולים לאחר קטיף, ולבדיקת רקבונות ואיכות פרי לאחר אחסון בקור (טבלה 3). כל טיפול בשדה פוצל לשני טיפולים לאחר הקטיף: ביקורת (ללא טיפול), וטיפול טבילה בשלאל סידן (30 שניות בשלאל סידן 63mM ואז יבוש באוויר). פרי מ-8 הטיפולים פוצל לאחסון בשתי טמפרטורות (2, 7 מ"צ). בתום תקופת האחסון הפרי נבדק לאיכות חיצונית (צבע, מוצקות, ופגמים) ופנימית (איבוד משקל וכלל מוצקים מומסים - כמ"מ), וכן נגיעות בפטריות הגורמות לריקבון. מדדים שנבדקו כללו: צורת פרי (מדד שלוקח בחשבון מספר אונות וסמטריה), מוצקות ואלסטיות פרי (נמדד הן ע"י מד מוצקות וכן הערכה ידנית), דבלנות (הצטמקות), נזקי צינה, סידוקים, הבשלה לא אחידה המתבטאת בלחי בהירה / ירוקה ואיכות פרי כללית שמגדירה האם פרי ראוי למכירה.

טבלה 3: פירוט הקטיפים שהועברו לבדיקה במכון וולקני, והבדיקות שבוצעו על הפרי הקטוף

קטיף מס'	תאריך קטיף	מס' ארגזים שהגיעו לוולקני לטיפול				אחסון ב 7°C / 2°C	טיפול טבילה לאחר קטיף	בדיקות ביוכימיה לנזקי צינה	הדבקת בוטריטיס במעבדה
		ביקורת	מישקי	CaCl ₂	שלאל סידן				
1	18/12/2022	14	14	14	14	+	+	+	
2	15/01/2023	14	14	14	12	+	+	+	
3	26/02/2023	14	14	14	14	+	+	+	
4	02/04/2023	8	6	6	6	+	+	+	

פרי מארבעה קטיפים (בכל קטיף - 8 טיפולים) נבדק לאחר אחסון המדמה משלוח ימי לאירופה (14-10 יום ב-7 מ"צ, 90-95% לחות, ואז העברה ל-3 ימים בחיי מדף 22 מ"צ). בכל מדדי האיכות שנבדקו (טבלה 4 ונתונים לא מוצגים) היה הבדל מובהק בין הקטיפים. אולם פרט למדד איבוד משקל, שהציג עדיפות לטיפול שלאל סידן בשדה ו/או בטבילה לאחר הקטיף, בכל שאר המדדים לא היה הבדל מובהק בין הטיפולים בשדה או בין הפרי שנטבל לאחר הקטיף לעומת הפרי שלא טופל.

טבלה 4: מדדי איכות פרי פלפל בתום אחסון בקור (7 מ"צ ל-10 ימים) + חיי מדף (3 ימים ב-22 מ"צ)

Harvest	Pre-harvest Treatment	Postharvest Treatment	Color ¹ (Hue angle)	Weight loss ² (%)	Firmness ³ (mm deformation)	Elasticity ³ (mm deformation)	Shape ⁴ (1-4)	Chilling injury index ⁵ (0-4)	TSS ⁶ (°Brix)
Means value at each harvest									
Harvest 1			24.7 B ⁷	4.0% B	8.8 A	4.6 A	2.6 A	0.9 A	6.8% B
Harvest 2			30.7 A	3.5% C	6.8 C	3.3 B	2.3 B	0.7 B	6.2% B
Harvest 3			22.0 C	4.0% B	6.7 C	3.4 B	1.8 C	0.2 C	7.6% A
Harvest 4			20.9 C	6.7% A	7.8 B	4.2 A	1.5 C	0.2 C	7.9% A
Means value at each Pre-harvests treatment									
	ביקורת		25.5 A	4.5% A	7.9 A	4.1 A	2.1 A	0.6 A	6.9% A
	מישקי		24.7 AB	3.7% B	7.2 A	3.6 A	2.3 A	0.5 A	6.9% A
	CaCl ₂		24.3 AB	4.3% A	7.0 A	3.5 A	2.1 A	0.6 A	7.2% A
	שלאל סידן		23.7 B	3.5% B	7.6 A	4.0 A	2.1 A	0.4 A	7.2% A
Means value at each Postharvest treatment									
		ביקורת – ללא טיפול	24.8 A	4.4% A	7.3 A	3.7 A	2.0 A	0.6 A	7.1% A
		טבילה בשלאל סידן	25.2 A	4.0% B	7.5 A	3.9 A	2.2 A	0.5 A	6.9% A
Table of variance (F-value)									
Harvest			***	***	***	***	***	***	***
Pre-harvest Treatment			NS	***	NS	NS	NS	NS	NS
Post-harvest Treatment			NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Harvest × Pre-harvest Treatment			NS	***	NS	NS	NS	NS	NS
Harvest × Post-harvest Treatment			NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Pre-harvest Treatment × Post-harvest Treatment			NS	***	NS	NS	NS	NS	NS
Harvest × Pre-harvest Treatment × Post-harvest Treatment			NS	***	NS	NS	NS	NS	NS

¹Determined by chromameter CR-400/410 (Konica Minolta, Osaka, Japan) that was calibrated using a white standard tile, ²Percent of original fruit weight at harvest, ³Determined by placing a 2 kg weight on the fruit and measuring mm deformation, ⁴Range between 1- non symmetrical fruit to 4 – symmetrical 4 lobes fruit, ⁵Chilling index is between 0- Fruits with no chilling injury to 4- fruits with more than 50% of damage of the fruit peel [19], ⁶Messured with a digital refractometer PR-1 (Model DBX 55, Atago, Tokyo, Japan), ⁷For each combination of pre-harvest and postharvest treatment, in each harvest, 3-4 boxes (20-25 fruits in a box) were evaluated (Table 1). Means within columns followed by the same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$, based on the least significant differences Tukey's HSD Test. Marks in table of variance *** or NS indicate statistical significance at $p \leq 0.001$ and not significant, respectively. TSS, Total soluble solids (כמ"מ).

בנוסף, פרי מארבעת הקטיפים (בכל קטיפ 8 טיפולים : ארבעה טיפולים בשדה, אשר פוצלו לשני טיפולים לאחר קטיפ- ביקורת וטבילה בשלאל סידן) אוחסן בטמפרטורה תת-אופטימלית למשך שלושה שבועות באחסון המדמה שיווק ימי לצפון אמריקה (21 יום ב- 2 מ"צ, 90-95% לחות, ואז העברה ל- 3 ימים בחיי מדף 22 מ"צ). בתום האחסון, הפרי נבדק למדדי איכות כמקובל (טבלה 5) וכן בוצע איפיון ביוכימי להשפעת הצינה על הפרי (יפורט בהמשך). בדומה לאחסון ב- 7 מ"צ, למועד הקטיפ היתה השפעה מובהקת על כל המדדים. טיפולי הטבילה פגעו במוצקות ואלסטיות הפרי, ייתכן עקב הייבוש באוויר. השפעת הטיפולים על היקף נזקי הצינה בפרי היתה מינורית, אולם הטיפול המישקי הראה עדיפות באיכות הכוללת של הפרי (Appearance) בחלק מהקטיפים.

טבלה 5: מדדי איכות פרי פלפל בתום אחסון ארוך בקור (2 מ"צ ל-3 שבועות) + חיי מדף (3 ימים ב-22 מ"צ).

Harvest	Pre-harvest Treatment	Postharvest Treatment	Color ¹ (Hue angle)	Weight loss ² (%)	Firmness ³ (mm deformation)	Elasticity ³ (mm deformation)	Appearance ⁴ (1-5)	Chilling injury index ⁵ (0-4)	TSS ⁶ (°Brix)
Means value at each harvest									
Harvest 1			26.7 B ⁷	3.9% C	8.5 A	4.0 A	2.3 AB	2.1 A	6.7% B
Harvest 2			31.2 A	4.8% A	6.6 C	3.0 B	2.4 A	1.4 B	6.1% A
Harvest 3			21.6 C	4.5% B	7.2 B	3.8 A	2.3 B	0.7 C	7.8% A
Harvest 4			21.2 C	4.6% AB	6.3 C	3.6 A	2.3 AB	0.8 C	7.9% A
Means value at each Pre-harvests treatment									
	ביקורת		25.9 A	4.4% A	7.6 A	3.8 A	2.3 A	1.4 AB	7.1% A
	מישקי		26.0 A	3.4% C	6.8 B	3.4 B	2.4 A	1.3 AB	7.3% A
	CaCl ₂		26.1 A	3.7% BC	7.2 A	3.4 B	2.3 A	1.2 B	6.8% A
	שלאל סידן		24.8 A	4.1% AB	7.6 A	3.9 A	2.3 A	1.4 A	7.0% A
Means value at each Postharvest treatment									
	ביקורת – ללא טיפול		25.4 A	4.4% A	6.9 B	3.4 B	2.3 A	1.3 A	7.2% A
	טבילה בשלאל סידן		26.0 A	4.4% A	7.8 A	3.8 A	2.3 A	1.4 A	7.0% A
Table of variance (F-value)									
Harvest			***	***	***	***	*	***	***
Pre-harvest Treatment			NS	**	*	NS	NS	NS	NS
Post-harvest Treatment			NS	NS	**	***	NS	NS	NS
Harvest × Pre-harvest Treatment			NS	**	NS	NS	*	NS	NS
Harvest × Post-harvest Treatment			*	NS	NS	*	*	NS	NS
Pre-harvest Treatment × Post-harvest Treatment			NS	**	NS	NS	NS	NS	NS
Harvest × Pre-harvest Treatment × Post-harvest Treatment			NS	**	NS	NS	NS	NS	NS

¹Determined by chromameter CR-400/410 (Konica Minolta, Osaka, Japan) that was calibrated using a white standard tile, ²Percent of original fruit weight at harvest, ³Determined by placing a 2 kg weight on the fruit and measuring mm deformation, ⁴Represents overall general appearance of the fruit in terms of shape, color and defects. Range between 1- not marketable fruit to 5 – premium quality fruit, ⁵Chilling index is between 0- Fruits with no chilling injury to 4- fruits with more than 50% of damage of the fruit peel [19], ⁶Messured with a digital refractometer PR-1 (Model DBX 55, Atago, Tokyo, Japan), ⁷For each combination of pre-harvest and postharvest treatment, in each harvest, 3-4 boxes (20-25 fruits in a box) were evaluated (Table 1). Means within columns followed by the same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$, based on the least significant differences Tukey's HSD Test. Marks in table of variance ***, **, *, NS indicate statistical significance at $p \leq 0.001$, 0.01, 0.05 and not significant, respectively. TSS, Total soluble solids (כמ"מ).

בחינת רקבונות בפרי הקטוף שטופל בתכשירי סידן

בתום ניסויי האחסון, נבדק היקף ריקבון עוקץ וריקבון פרי (טבלה 6 – לאחר אחסון ב- 7 מ"צ+ חיי מדף, וטבלה 7 לאחר אחסון ב- 2 מ"צ+ חיי מדף). שיעור ריקבון העוקץ היה משמעותי בתחילת וסוף העונה ולא היתה השפעה מובהקת של הטיפולים בשדה על שיעור ריקבון העוקץ. מאידך – טיפול הטבילה בשלאל סידן צמצם באופן משמעותי ומובהק את שיעור ריקבון העוקץ בפרי בשתי טמפרטורות האחסון. שיעור ריקבון הפרי היה גבוה גם כן בתחילת ובסוף העונה (בקטיף ראשון ואחרון) והגיע לשיעור של 30% - 40% (כתלות בטמפרטורת האחסון). באופן יחסי שיעור ריקבון הפרי שנגרם ע"י בוטריטיס היה יחסית נמוך בתחילת העונה והחמיר עם התקדמות העונה והיה בעיקר משמעותי באחסון ב-2 מ"צ. ריקבון פרי עקב אלטרנריה היה שכיח בתחילת וסוף העונה - כאשר הטמפרטורה בשטח גבוהה יותר. נגיעות בכלדוספוריום היתה גבוהה בתחילת העונה וירדה בהמשך. בפרי שאוחסן ב- 7 מ"צ, הטיפול המישקי בשדה, וטיפול הטבילה בשלאל סידן לאחר הקטיף, נמצאו יעילים בצמצום הריקבון בפרי (כל אחד בנפרד ובמיוחד במשולב), בעיקר עקב השפעתם על התפתחות הבוטריטיס הגורם למחלת העובש האפור (טבלה 6). מאידך השפעתם על הפתוגנים האחרים, כדוגמת כלדוספוריום ואלטרנריה, לא היתה מובהקת. טיפולי ה- CaCl₂ בשדה כלל לא השפיעו על התפתחות ריקבון הפרי באחסון.

טבלה 6: מדדי ריקבון פרי פלפל בתום אחסון בקור (7 מ"צ ל-10 ימים) וחיי מדף (3 ימים ב-22 מ"צ).

Harvest	Pre-harvest Treatment	Postharvest Treatment	Pedicel rot (%)	Fruit rot (%) ¹	<i>B. cinerea</i> rot (%)	<i>Alternaria</i> spp. rot (%)	<i>Cladosporium</i> spp. rot (%)
Means value at each harvest							
Harvest 1			36.5 A ²	29.3 A	5.5	11.1	11.0
Harvest 2			0.0 C	19.8 B	8.0	6.7	4.8
Harvest 3			9.5 B	11.8 C	8.8	2.2	2.8
Harvest 4			37.6 A	32.3 A	23.5	10.8	3.7
Means value at each Pre-harvest treatment							
	ביקורת		19.7 A	26.0 A	12.3 A	9.3 A	6.6 A
	מישקי		15.5 A	14.8 B	4.5 B	5.9 A	4.0 A
	CaCl ₂		18.1 A	24.8 A	12.5 A	6.2 A	7.0 A
	שלאל סידן		21.9 A	22.4 A	9.7 AB	7.6 A	5.7 A
Means value at each Postharvest treatment							
	ללא טיפול – ביקורת		25.0 A	25.5 A	13.6 A	7.8 A	6.1 A
	טבילה בשלאל סידן		10.1 B	17.3 B	4.6 B	6.6 A	5.5 A
Table of variance (F-value)							
Harvest			***	***			
Pre-harvest Treatment			NS	**	NS	NS	NS
Post-harvest Treatment			***	*	**	NS	NS
Harvest × Pre-harvest Treatment			NS	NS			
Harvest × Post-harvest Treatment			***	NS			
Pre-harvest Treatment × Post-harvest Treatment			NS	NS	NS	NS	NS
Harvest × Pre-harvest Treatment × Post-harvest Treatment			NS	NS			

¹מספר פירות שהציגו ריקבון עוקץ ופרי נקבע בתום האחסון ללא תלות במספר הנגעים על כל פרי והגורם להם. גורמי הריקבון השונים (בוטריטיס, אלטרנריה וכלדוספוריום) נקבעו בתום הדגרה של הפירות הפגועים בתאים לחים ו/או לאחר בידוד על צלחות פטרי. בבדיקה חלק מהפירות הציגו מספר נגעים וכן היו פירות שגורם הריקבון שלהן היה אחר (למשל פניציליום או ריקבון חמוץ), ועל כן אין התאמה בין טור ריקבון הפרי (Fruit rot) לסך הרקבונות מהגורמים שהוצגו (בוטריטיס, אלטרנריה וכלדוספוריום).

²Means within columns followed by the same letter are not significantly different at $P \leq 0.05$, based on the least significant differences Tukey's HSD Test. Marks in table of variance ***, **, *, NS indicate statistical significance at $p \leq 0.001$, 0.01, 0.05 and not significant, respectively.

בפרי שאוחסן ב- 2 מ"צ, הטיפול המישקי בשדה, וטיפול הטבילה בשלאל סידן לאחר הקטיף, צמצמו במעט את הריקבון בפרי, בעיקר עקב הקטנת הנגיעות בבוטריטיס (טבלה 7). גם בטמפרטורת אחסון זו, לא היתה לטיפולים אלו השפעה על התפתחות ריקבון פרי הנגרם עקב פתוגנים אחרים, וכן טיפולי ה- CaCl_2 בשדה כלל לא השפיעו על התפתחות ריקבון הפרי באחסון.

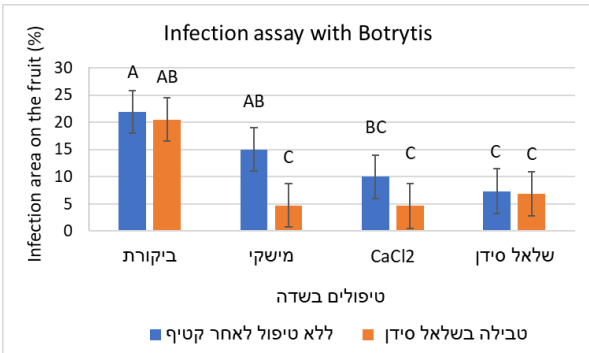
טבלה 7: מדדי ריקבון פרי פלפל בתום אחסון ארוך בקור (2 מ"צ ל-3 שבועות) וחיי מדף (3 ימים ב-22 מ"צ).

Harvest	Pre-harvest Treatment	Postharvest Treatment	Pedicel rot (%)	Fruit rot (%) ¹	<i>B. cinerea</i> rot (%)	<i>Alternaria</i> spp. rot (%)	<i>Cladosporium</i> spp. rot (%)
Means value at each harvest							
Harvest 1			45.0 A	38.5 A	6.0	24.1	16.0
Harvest 2			35.8 AB	38.3 A	21.0	18.0	8.2
Harvest 3			27.4 B	31.8 B	23.6	9.7	6.1
Harvest 4			24.0 B	35.1 AB	26.9	13.6	2.4
Means value at each Pre-harvest treatment							
	ביקורת מישקי CaCl_2 שלאל סידן		39.2 A	36.1 AB	20.3 A	15.0 A	9.8 A
	מישקי CaCl_2		27.1 A	31.6 B	12.9 A	16.8 A	8.7 A
	שלאל סידן		36.8 A	34.5 AB	20.5 A	14.1 A	6.1 A
	שלאל סידן		33.4 A	42.0 A	19.5 A	21.1 A	11.3 A
Means value at each Postharvest treatment							
	ללא טיפול – ביקורת		46.1 A	37.9 A	22.0 A	17.5 A	9.5 A
	טבילה בשלאל סידן		17.6 B	33.3 A	13.3 B	15.8 A	8.3 A
Table of variance (F-value)							
Harvest			***	NS			
Pre-harvest Treatment			NS	NS	NS	NS	NS
Post-harvest Treatment			***	NS	*	NS	NS
Harvest × Pre-harvest Treatment			*	**			
Harvest × Post-harvest Treatment			***	NS			
Pre-harvest Treatment × Post-harvest Treatment			NS	NS	NS	NS	NS
Harvest × Pre-harvest Treatment × Post-harvest Treatment			NS	NS			

¹מספר פירות שהציגו ריקבון עוקץ ופרי נקבע בתום האחסון ללא תלות במספר הנגעים על כל פרי והגורם להם. גורמי הריקבון השונים (בוטריטיס, אלטרנריה וכלדוספוריום) נקבעו בתום הדגרה של הפירות הפגועים בתאים לחים ו/או לאחר בידוד על צלחות פטרי. בבדיקה חלק מהפירות הציגו מספר נגעים וכן היו פירות שגורם הריקבון שלהן היה אחר (למשל פניציליום או ריקבון חמוץ), ועל כן אין התאמה בין טור ריקבון הפרי (Fruit rot) לסך הרקבנות מהגורמים שהוצגו (בוטריטיס, אלטרנריה וכלדוספוריום).

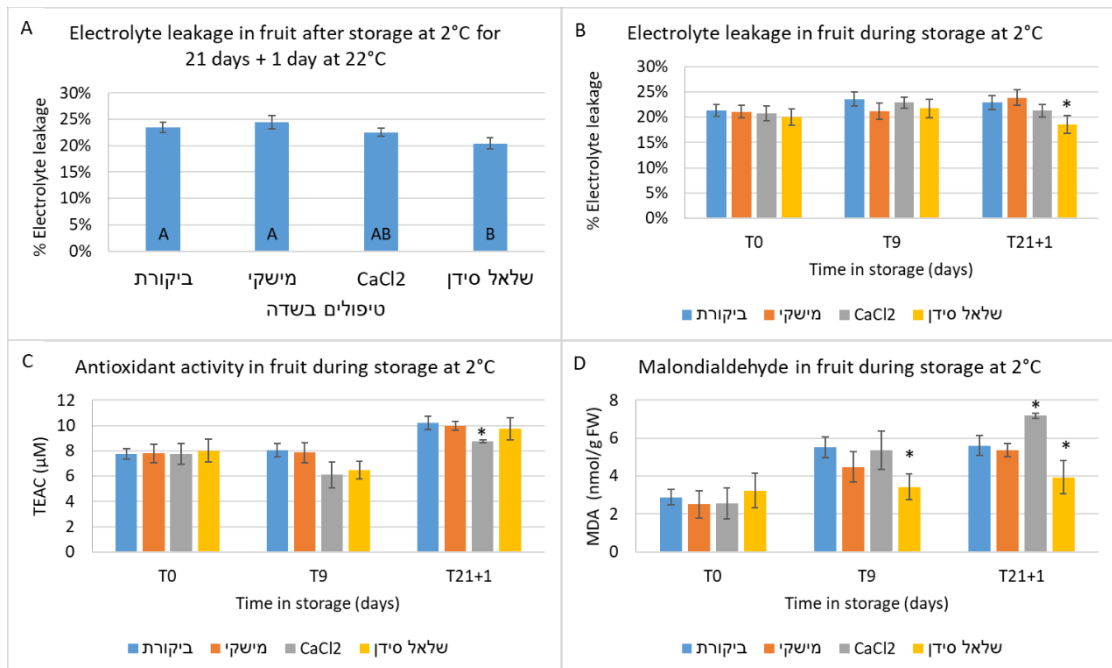
²Means within columns followed by the same letter are not significantly different at $P \leq 0.05$, based on the least significant differences Tukey HSD test. Marks in table of variance ***, **, *, NS indicate statistical significance at $p \leq 0.001$, 0.01, 0.05 and not significant, respectively.

לאור פוטנציאל המידבק הנמוך של בוטריטיס בשטח בתחילת העונה (טבלה 2 ואיור 1), נבדקה רגישות הפרי מקטיפים 1-2 להדבקה מכוונת של בוטריטיס מיד לאחר הקטיף. פרי משמנות הטיפולים רוסס בתרחיף נבגי הפטריה בריכוז חצי מיליון נבגים למ"ל (במים, כולל גלוקוז וזרחת האשלגן) והודגר בתא לח (Rh 97%) בטמפ' של 22 מ"צ למשך 4-6 ימים. לכל טיפול אולחו 9-12 פלפלים. מידת הנגיעות של הפלפלים נקבעה לאחר 4-6 ימי הדגרה. נבדקו שני מדדים: (1) מספר הנגעים על הפרי, (2) שטח הכיסוי של הפרי בנגעים כמדד לעוצמת המחלה (%). פירות מהטיפולים השונים לא נבדלו בניהם במדד מספר הנגעים על הפרי (נתונים לא מוצגים). אולם מבחינת עוצמת ההדבקה היה הבדל מובהק בין הטיפולים (איור 2). בניסוי זה הודגם כי טיפול בשלאל סידן בשדה, אך בעיקר בטבילה לאחר קטיף, מעכב את התפתחות פטריית הבוטריטיס הגורמת לעובש אפור על פרי הפלפל.



איור 2: שטח הכיסוי של ריקבון עובש אפור בפרי כתלות בטיפולים השונים לפני ואחרי הקטיף. הערכים המוצגים הם ממוצע של שני ניסויים שונים (בכל ניסוי 9-12 פירות לטיפול) ושגיאות תקן. עמודות בעלות אותיות שונות נבדלות אחת מהשניה בהסתברות של $p \leq 0.05$ במבחן Tukey's HSD Test.

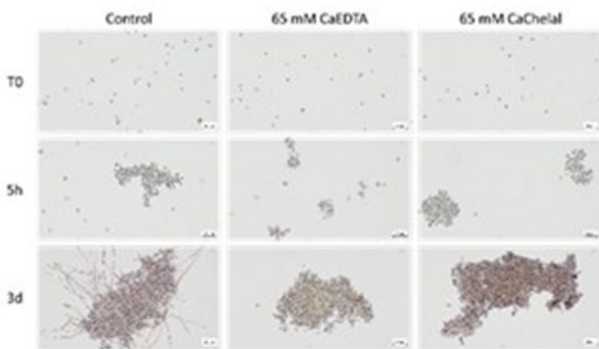
התגובה התאית של הפרי הקטוף לצינה כתלות בטיפולים לפני הקטיף נבחנה באמצעות מבחן זליגת יונים [20], בדסקיות פרי עבור פירות משלושה קטיפים שאוחסנו ב-2 מ"צ, בתום אחסון בקור + יום נוסף בחיי מדף (איור 3A), ונמצא כי ריסוסי הסידן בשדה, ובעיקר כילאט הסידן הפחיתו באופן קטן אך מובהק את הנזק הנגרם למברנות. בדיקת זליגת יונים לפני האחסון וכעבור 9 ימים בקור (איור 3B) הדגימה כי הבדל זה בא לידי ביטוי רק לאחר שלושה שבועות של אחסון בטמפרטורה תת-אופטימלית. לא נמצאה קורלציה בין הפגיעה בממברנות עקב הקור ובין הפעילות האנטיאוקסידנטית ברקמה (שנבדקה במבחן כולורימטרי עם ABTS [19] איור 3C) אך כן נמצא מתאם עם ירידה מובהקת ב-MDA (Malondialdehyde) תוצר פירוק שומני ממברנה, המאפיין נזקי צינה [21], איור 3D) בפרי מטיפול השלאל סידן, אל מול עליה של MDA במקביל לירידה בפעילות האנטיאוקסידנטית בטיפול CaCl₂.



איור 3: אפיון ביוכימי של תגובת הפרי לאחסון בטמפרטורה תת-אופטימלית, כתלות בטיפולים בשדה.

(A) זליגת יונים בפרי בתום אחסון ב-2 מ"צ למשך 21 יום+ יום נוסף ב-22 מ"צ. הערכים המוצגים הם ממוצע של פירות משלושה קטיפים (בכל קטיפי 5-6 פירות לטיפול) ושגיאות תקן. עמודות בעלות אותיות שונות נבדלות אחת מהשניה בהסתברות של $p \leq 0.05$ במבחן Tukey's HSD Test.

(B) בדיקת זליגת יונים, (C) בדיקת תכולת אנטיאוקסידנטים ו- (D) בדיקת תכולת MDA, לפני האחסון (T0), 9 ימים לאחר אחסון ב-2 מ"צ (T9) ובתום האחסון (T21+1). התוצאות המוצגות הן ממוצע ושגיאות תקן של פירות מקטיפי אחד מייצג. כוכבית (*) מציינת הבדל מובהק בין הטיפול לביקורת. TEAC, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; MDA, Malondialdehyde; FW, Fresh weigh.



איור 4: כילאט סידן מעכב את נביטת נבגי הפטריה בוטריטיס בקור. תרחיף נבגי הפטריה הודגר במצע סזלי PDB עם תכשירי הסידן בריכוז 65mM (או ללא תוספת שלהם כביקורת), למשך מס' ימים ב- 5 מ"צ. דגימות מהתרחיף צולמו בזמנים שונים ע"י מיקרוסקופ אור. בר מייצג 50µm.

אפיון מנגנון הפעולה של שני תכשירי הסידן שנבחרו על עיכוב גדילתה של פטריה. בשנת המחקר הראשונה נמצא כי הריכוז המינימלי של שלאל סידן שנתן עיכוב מלא של פטריית הבוטריטיס ב-22 מ"צ (MIC) היה 65mM. התכשיר שלאל מכיל $CaO\ 100gr/L + DTPA\ 80\ gr/L$, כאשר רק 80% מה- CaO נמצא בקומפלקס CaDTPA והשאר חופשי. על כן בשנה הקודמת בחנו את השפעת CaO אשר נמצא כמעכב חלקי של צימוח הפטריה. במקביל בחנו את פעילות העיכוב של CaEDTA (בריכוז 65mM בהתייחס ליוני הסידן), והוא נמצא דומה בכושר עיכובו לחומר המסחרי הן מבחינת השפעה על קצב גידול ונביטת הפטריה ב-22 מ"צ (תוצאות שנה א') והן בעיכוב נביטת הנבגים ב-5 מ"צ (איור 4). לאור זאת, על מנת לאפיין את מנגנון פעילות כילאט הסידן בחרנו לבחון את

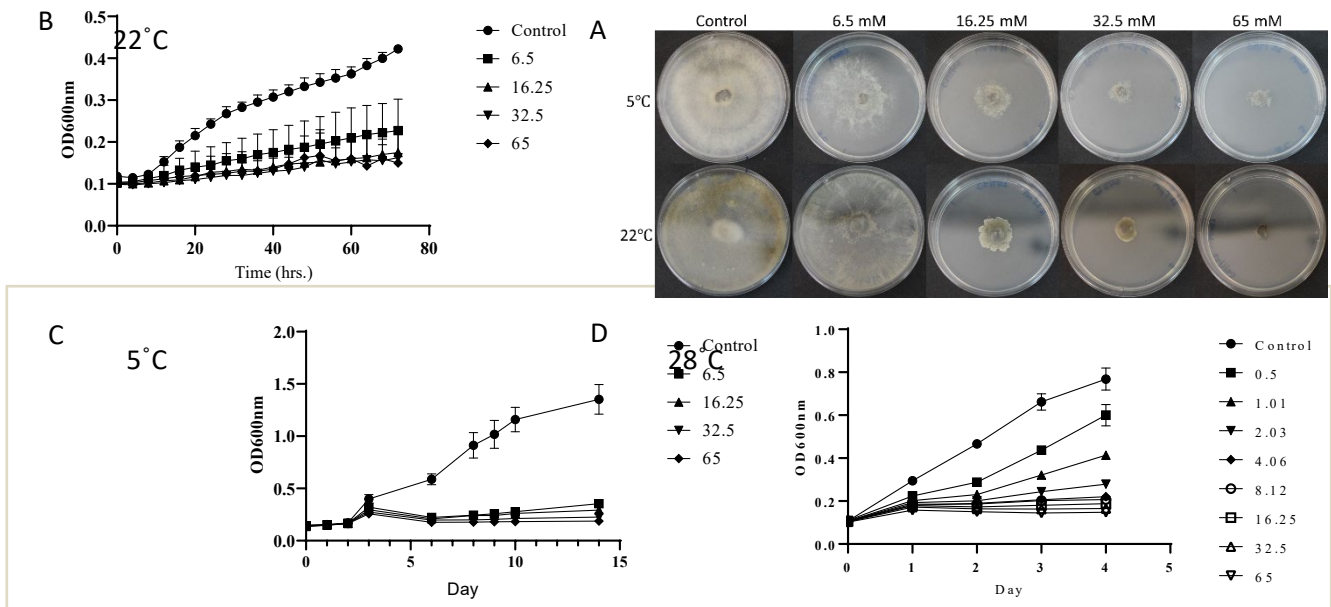
החומר הנקי (Sigma) ולא את החומר המסחרי, שהוא תערובת של מספר חומרים פעילים עם רכיבי פורמולציה לא ידועים.

קצב גידול תפטיר הפטריה בנוכחות CaEDTA בריכוזים שונים נבחן במצע מוצק (איור 5A) וכן במצע נוזלי בטמפרטורות שונות (איור 5B-D). בכל הטמפרטורות שנבדקו כילאט הסידן עיכב לחלוטין את צימוח הפטריה בריכוז 65mM. בטמפרטורות תת ועל אופטימליות, עיכוב מוחלט הושג גם ריכוז הנמוך פי 10 ($MIC = 6.5mM$) ב-5 מ"צ, ו- ($MIC = 4.06mM$) ב-28 מ"צ).

¹בטבלה מוצגים ערכי CO_2 (mg/g FW*h), כלומר מ"ג פד"ח לגרם פרי לשעה.

²עמודות בעלות אותיות שונות נבדלות אחת מהשניה בהסתברות של $p \leq 0.05$ במבחן Tukey.

³Variance **, NS indicate statistical significance at $p \leq 0.01$ and not significant, respectively.



איור 5: כילאט סידן CaEDTA מעכב צימוח בוטריטיס *in vitro* (A) מושבות הפטריה על מצע מוצק PDA בתוספת CaEDTA בריכוזים שונים לאחר הדגרה ב-22 או 5 מ"צ. קצב גידול הפטריה במצע PDB נוזלי בתוספת CaEDTA בריכוזים שונים והדגרה ב-22 מ"צ. (C) קצב גידול הפטריה במצע PDB נוזלי בתוספת CaEDTA בריכוזים שונים והדגרה ב-22 מ"צ. (D) קצב גידול הפטריה במצע PDB נוזלי בתוספת CaEDTA בריכוזים שונים והדגרה ב-22 מ"צ. גרפים D-B כל הניסויים בוצעו 3 פעמים. כמות הביומסה נקבעה עפ"י הבליעה של התרבית באורך גל 600nm. לכל טיפול היו 6 חזרות טכניות בכל ניסוי. מוצגים ערכים ממוצעים של 3 ניסויים ושגיאות תקן. על מנת לאפיין את מנגנון הפעולה של כילאט הסידן בעיכוב הבוטריטיס, בחנו האם שילובו עם מעכבים בעלי פעילות ידועה יוביל לפעילות עיכוב סינרגיסטית המעידה על תהליכים תאיים / מסלולים אשר פגיעה בהם מחמירה את הנזק התאי הנגרם ע"י כילאט הסידן (טבלה 8). מידע זה עשוי לשפוך אור על מנגנון הפעולה של החומר. החומרים נבדקו בשיטת checkerboard assay [22], לבחינת שילובים שלהם עם CaEDTA ולקביעת אופן האינטרקציה בין החומרים (אדטיבי, סינרגיסטי, אדיש או אנטגוניסטי). בשלב ראשון נקבע לכל חומר MIC עבור בוטריטיס. ערך זה הוגדר כריכוז הגבוה ביותר בין השילובים שנבדקו. בשלב השני נבחנו ריכוזים יורדים של החומרים הנבדקים בשילוב ריכוזים יורדים של CaEDTA ונקבע הריכוז המינימלי של שני החומרים בכל שילוב המעכב את גידול הפטרייה. סכום היחס של ערכים אלו אל מול MIC של כל אחד מהחומרים לבד הוגדר כ - Fractional Inhibitory Concentration (FIC) index. על פי הערך המחושב FICI נקבעה האינטרציה בין החומרים:

$FICI \leq 0.5$, synergistic; $0.5 < FICI \leq 1$, additive; $1 < FICI \leq 4$, indifferent; $FICI > 4$, antagonistic

המעכבים שנבדקו היו Caspofungin - מעכב סנתזת דופן, Fluconazole - מעכב סנתזת ארגוסטרול, Myriocin - מעכב סנתזת ספינוגליפידים וכן Latrunculin הפוגע באקטין שבשלב התוך תאי. בנוסף נבחנה עמידות הפטריה לעקות טמפרטורה (חום וקור, איור 5) עקה חמצונית (מי חמצן) ועקה אוסמוטית (ריכוזי מלח וסורביטול גבוהים) בנוכחות תכשירי הסידן. למעשה כל החומרים שנבדקו, פרט למי חמצן, נמצאו סינרגיסטים ל CaEDTA. פעילות מי החמצן היתה אנטגוניסטית לכילאט הסידן, ייתכן עקב פגיעה של הכילאט בפעילות מי החמצן או עקב חמצון הכילאט ופגיעה בפעילותו [23]. נקודה זו תצטרך להיבדק בהמשך, כיוון שיש לה השלכות על יישום משולב של כילאט הסידן עם חומרים מחמצנים המשמשים לחיטוי מי שטיפה ומשטחים.

טבלה 8: רגישות בוטריטיס לעיכוב של כילאט סידן (CaEDTA) בשילוב עם מעכבים אנטיפונגלים נוספים

Compound	MICs of compounds (µg/ml)		FICIs	Interpretation	Mode of action	
	Alone	In combination				
		CaEDTA ¹				Compound
Fluconazole	50	380	1.56	0.04	Synergistic	Membrane integrity
Myriocin	24	6077	0.375	0.26	Synergistic	Membrane integrity
Lantrunculin	20	1519	0.31	0.08	Synergistic	Cytoskeleton
Caspofungin	10	760	0.15	0.05	Synergistic	Cell wall
Hydrogen Peroxide	680 (50mM)	-	-	-	Antagonistic	Ooxidative stress
Sodium Chloride	14600 (0.625M)	760	2330	0.05	Synergistic	Osmotic / ion stress
Sorbitol	98280 (2.7M)	190	36400	0.38	Synergistic	Osmotic stress

MIC: Minimum inhibitory concentration, FICI: Fractional Inhibitory Concentration Index, "--" indicates no inhibition.

¹CaEDTA MIC = 24310 µg/ml = 65mM. Each test was performed at least twice to verify the MIC values.

בחירת טיפולים לאחר קטיף להתמודדות עם פתוגנים פטרייתים שזוהו בפלפל, שאינם רגישים לכילאט הסידן.
 במהלך המחקר נמצא כי כילאט סידן יעיל בעיכוב ריקבון פרי פלפל הנגרם מפטריית הבוטריטיס, אך אינו מעכב פתוגנים פיטרייתיים אחרים אשר גורמים לפחת בתוצרת לאחר הקטיף. על מנת להתמודד עם בעיה זו בחנו האם טיפולי חום ו/או שימוש בחומר הדברה מבוסס פלודיאוקסוניל, המורשה לטיפול לטיפולים לאחר קטיף, יעילים בהתמודדות עם מיגוון פטריות שבודדנו מפלפל ושדועות כגורמות לריקבון פרי [24]. בשלב ראשון נבחנו טיפולי חום בטמפרטורות משתנות (45 – 55 מ"צ) למשכי זמן שונים (18-5 דקות ב 45, 48 או 50 מ"צ, ו 1-5 דקות ב- 55 מ"צ). פניציליום וריזופוס היו יחסית עמידות לחום בעוד ששאר הפטריות היו רגישות. על אף האמור, טבילת הפרי במים חמים (55 מ"צ) למשך 5 דקות פגעה בנביטת הנבגים של כל הפטריות (Krasnow et al. 2023, submitted). בנוסף נבדקה יעילות יישום חומר הדברה באמצעות טבילת הפרי בסקולאר (מכתשים) בריכוז 50 ppm לבד או בשילוב עם טבילה במים חמים (50 מ"צ למשך 3 דקות). בכל הפתוגנים שנבדקו, נמצא כי שילוב טבילה חמה עם חומר ההדברה יעיל במניעת התפתחות ריקבון הפרי לאחר הקטיף (טבלה 9). יש לציין כי המינון המומלץ לטיפול טבילה בסקולאר הוא 250-500ppm (תלוי בגידול / פתוגן), מכאן ששילוב הפונגיציד עם טיפולי החום איפשר לקבל יעילות הדברה מיטבית במינון הנמוך פי 5-10 מהמומלץ בתווית.

טבלה 9: יעילות טיפולים לאחר קטיף לעיכוב התפתחות ריקבון פרי פלפל הנגרם ע"י מגוון פתוגנים פטרייתים.

Treatment	<i>Botrytis</i> Gray mold	<i>Cladosporium</i>	<i>Geotrichum</i> Sour rot	<i>Penicillium</i> Blue mold	<i>Rhizopus</i>
Lesion Diam. (cm)					
No treatment					
No Fungicide	31.6 A ^c	6.8 A	8.0 A	27.2 A	40.6 A
Fungicide ^a	4.5 B	0.5 B	1.6 B	12.8 B	0.83 B
Hot water^b					
No Fungicide	37.0 A	7.2 A	3.7 A	33.5 A	49.6 A
Fungicide	0.5 B	0.0 B	0.0 B	8.9 B	0.0 B
Sporulation (0-2)					
No treatment					
No Fungicide	1.8 A	1.0 A	1.0 A	2.0 A	1.6 A
Fungicide	0.3 B	0.1 B	0.3 B	0.6 B	0.0 B
Hot water					
No Fungicide	2.0 A	1.0 A	0.6 A	1.9 A	2.0 A
Fungicide	0.1 B	0.0 B	0.0 B	0.5 B	0.0 B

^aScholar fungicide 50 ppm (fludioxonil) mixed with spore suspensions to achieve desired conc. 10 min prior to inoculation of heat treated and wounded peppers. ^bFruit were either hot water treated (50°C for 3 min.) or treated with ambient temperature water ^cLetters indicate significant treatment differences ($P \leq 0.05$), according to Tukey's HSD Test.

בשנת המחקר הנוכחית נבחנה השפעת טיפולי סידן בריסוס עלוותי עם שתי פורמולציות סידן שונות (סידן כלורי, וכילאט סידן – תכשיר מסחרי שלא), על איכות פרי פלפל וריקבון פרי באחסון, אל מול טיפול משקי ובהשוואה לביקורת לא מטופלת. כמו כן נבדק טיפול לאחר קטיף, שכלל טבילת הפרי בשלאל סידן או ללא טיפול, כביקורת. בסך הכל נבחנו 8 טיפולים (שילוב של 4 טיפולים בשדה $2 \times X$ טיפולים לאחר קטיף) בשני תנאי אחסון שונים: פרוטוקול ייצוא לאירופה (7 מ"צ ל 10 ימים + חיי מדף) או ייצוא לצפון אמריקה ואסיה (21 יום ב- 2 מ"צ + חיי מדף).

תוצאות השנה השנייה חזרו על ממצאי השנה הראשונה וכן על ממצאי הניסוי המקדים שבוצע לפני שנתיים, והדגימו יעילות של ריסוס שלאל הסידן בצמצום הפחת הנגרם עקב מחלת העובש האפור (בוטריטיס) הן באילוח טבעי מהשדה והן כאשר ביצענו אילוח מכוון של הפטריה במעבדה. כמו כן נמצא כי טיפולי טבילה בחומר הם יעילים ביותר במניעת ריקבון עוקץ בפרי באחסון בקור. העובדה כי ניתן ליישם את החומר כטיפול לאחר קטיף מקטינה את הצורך בריסוסים הדחופים ומצמצמת מאוד את עלויות היישום, ובכך תורמת לכלכליות הטיפול ומגבירה את היתכנות אימוצו ע"י החקלאים.

בשנת המחקר הראשונה נמצא כי הריכוז המינימלי של שלאל סידן שנתן עיכוב מלא של פטריית הבוטריטיס ב-22 מ"צ (MIC) על מצע מזון מלאכותי היה 65mM (פי 10 מהריכוז שיושם בריסוס בשדה). על בסיס מידע זה נבחר ריכוז החומר לטיפול הטבילה. במקביל נבחנה אפשרות להעלות את ריכוז החומר בריסוסים שבוצעו בשדה, ולאחר התייעצות עם האגרונום של החברה המייצרת את החומר, ביצענו מבחני פיטוטקסיות על צמחי שוליים בתחילת העונה ומצאנו שניתן להכפיל את המינון של שלאל סידן והמינון שנבחר ליישום היה 0.7% (13 mM). במקביל, ניסיון להכפיל את מינון $CaCl_2$ ל 1% גרם לצריבות בצמחים, על כן לא שינינו את מינון הטיפול הזה ביחס לשנה שעברה. על בסיס מחקר עדכני בעגבניות שהדגים מנגנון של השראת עמידות למחלות עלווה ע"י ריסוס בסידן כלורי [18], שינינו את אופן יישום החומר כך שירוסס 3 ימים לפני קטיף. ראוי לציין כי בכל השנים שבדקנו ריסוס בסידן כלורי (ללא תלות במינונים או באופן היישום) – לא נמצאה השפעה שלו על עמידות הפרי לפתוגנים גורמי ריקבון לאחר קטיף, וכן לא מצאנו השפעה מובהקת על איכות הפרי ועמידותו לצינה, וזאת בניגוד לדיווחים בספרות [25], [26]. מאידך נראה כי דווקא טבילה בשלאל סידן היתה יעילה לצמצום הנזק הנגרם ממחלת העובש האפור בפרי אך בעיקר בעוקץ. ראוי לציין שריקבון עוקץ בפלפל נגרם כמעט באופן מוחלט ע"י בוטריטיס, בעוד מגוון רחב של פתוגנים, אשר חלקם אינו מעוכב ע"י כילאט הסידן, גורמים לריקבון פרי, עובדה שעשויה להסביר את יעילות טיפול הטבילה בשלאל סידן בצמצום ריקבון העוקץ.

ראוי לציין כי בדומה לעונה הקודמת, וכן לתוצאות הניסוי שבוצע בחלקה המסחרית לפני שנתיים, גם בעונה הנוכחית, ריסוס בשלאל סידן הקטין את נגיעות הפרי בבוטריטיס באחסון. נתון זה הוא בהתאמה לממצאי הניסוח בשטח שהדגימו הפחתה במוקדי הבוטריטיס בחלקות המטופלות בשלאל סידן בדומה לטיפול המישקי. אולם הפחתה בשכיחות הבוטריטיס לא הביאה לפחיתה ניכרת בריקבון הפרי, כיוון שבדומה לממצאי העונות הקודמות, גם השנה נמצאה שכיחות גבוהה של גורמי ריקבון פרי נוספים הידועים כשכיחים בפלפל באחסון בקור (Tzortzakis et al., 2019). פתוגנים אלו כוללים ריקבון שחור (*Alternaria* spp.), ריקבון חמוץ (*Geotrichum candidum*) ופטריית הכלדוספוריום שזוהתה כ- *Cladosporium cladosporioides* ודווחה על ידינו לראשונה במסגרת מחקר זה [27]. בעוד גורמי ריקבון הפרי שמאוחסן בקור מגוון, הטיפול בכילאט סידן הפחית בעיקר את שיעור ריקבון הפרי בתום האחסון הנגרם מבוטריטיס והיה פחות יעיל כנגד שאר סוגי הרקבונות. על מנת להתמודד עם גורמי ריקבון הפרי הנוספים, שנמצאו שכיחים בפלפל חורפי מאוחסן, בחנו יישום של חומר הדברה מורשה לשימוש לאחר קטיף (פלודיאוקסוניל) וכן טיפולי חום אשר כבר דווחו בעבר כיעילים בשיפור כושר האחסון של פרי פלפל בקור [28, 29]. ראוי לציין כי שילוב השיטות נמצא יעיל כנגד מירב הפתוגנים, ואיפשר קיצור משך הטבילה בחום והורדת הטמפר' תוך שימוש במינון יחסית נמוך של תכשיר ההדברה (פי 10-5 מהמומלץ בתווית).

חשיבות השילוב של הטיפולים היא כפולה – שימוש בריכוז מופחת של חומרי הדברה יצמצם את השאריות של החומר לטובת בריאות הצרכנים, וכן יקטין את הלחץ על התפתחות עמידות של הפתוגנים לחומר. ראוי לציין שעקב השימוש הגובר בפלודיאוקסוניל הן בשדה והן לאחר קטיף, קיים חשש גדול לשבירתו עקב התפתחות עמידות בפטריות כנגדו. למעשה במעבדתו של ד"ר נדב ניצן (מו"פ עמק המעינות) כבר זוהו תבדידי בוטריטיס עמידים לפלודיאוקסוניל אשר אותרו בגזר מאוחסן, דבר המצביע על בעייתיות השימוש המוגבר בחומר. בימים אלו אנו משתפים פעולה לבחינה מולקולרית ואיפיון העמידות בתבדידים אלו.

במטרה להבין את מנגנון הפעולה של תכשיר כילאט הסידן המעכב את צמיחת והתפתחות הבוטריטיס, התמקדנו בבחינת השפעת החומר בשילוב עם מעכבים של מספר מסלולים מרכזיים בפטריה (סנטזת דופן וממברנה וכן תקינות השלד התוך תאי) ומצאנו כי בכל החומרים שנבדקו, פעולתם היתה סינרגיסטית עם כילאט הסידן. תוצאות אלו מעידות על אפקט פליאוטרופי (Pleiotropy) של כילאט הסידן על הפיזיולוגיה של הפטריה. מידע זה הוא חשוב מאוד כיוון שהוא מדגים את ייתרונו של החומר על פני מעכב של מסלול ספציפי כדוגמת פלודיאוקסוניל (המעכב את HOG1 MAPK pathway), בכך שהסיכוי להתפתחות עמידות כנגדו נמוכה משמעותית.

בעקבות עבודות שהתפרסמו בשנים האחרונות, שהציגו יעילות של טיפולי סידן לפני ואחרי קטיף בפלפל להגברת איכות הפרי ועמידותו לקור באחסון [25, 26] בדקנו את השפעת ריסוס כילאט הסידן על תגובת הפרי לאחסון ארוך (3 שבועות) ב-2 מ"צ. בעבודות בספרות דווח כי טבילות בסידן כלורי הגבירו את עמידותו של פרי ירוק לנזקי צינה באחסון בטמפרטורות תת-אופטיליות (4 מ"צ), ע"י עיכוב פעילות אנזימים המעורבים במטבוליזם של ליפידים ושמשפיעים על שלמות הממברנות [26]. עבודה קודמת שלנו הראתה תוצאות דומות של צמצום נזקי צינה לפרי שטופל בריסוסי עלווה של שלאל סידן ואוחסן ב-2 מ"צ (אחסון המדמה שיווק ימי לצפון אמריקה) [30], תוצאות אשר חזרו על עצמן גם בשנת המחקר הראשונה, אם כי לא באופן מובהק. על בסיס נתונים אלו הרחבנו את הבדיקה של השפעת הטיפולים (לפני ואחרי קטיף) על כושר אחסון הפרי בטמפרטורות תת-אופטימליות. על אף שלא נמצא הבדל מובהק בין הטיפולים השונים בשדה על התפתחות נזקי צינה, כן נמצא שריסוס שלאל סידן הפחית את זליגת היונים מהמברנות ואת הצטברות ה MDA. השפעת טיפול הטבילה בשלאל סידן על זליגת יונים מהממברנה נבדקה עבור פרי מהקטיף הראשון ונמצאה יעילה בשמירה על תקינות הממברנות בקור (נתונים לא מוצגים), אולם גם גרמה לאיבוד משקל והתרככות פרי מוגברת. מכאן שיש פוטנציאל ליישום שלאל סידן כטיפול לאחר קטיף להגברת כושר האחסון של הפרי בקור ובריאותו, אולם יש לשפר את היישום. בשנה השלישית נבחן שוב את הטיפול בשדה בשלאל סידן וכן נבחן האם ניתן לשלב את טבילות הפרי בשלאל סידן במי השטיפה עם או ללא טיפולי חום, לשיפור היישום ולפיתוח פרוטוקול יעיל וכלכלי לטובת החקלאים, אשר יאפשר את הרחבת השיווק של הפרי גם ליעדים רחוקים כדוגמת צפון אמריקה והמזרח הרחוק בהובלה ימית, וישפר את איכות ובריאות הפרי לצמצום הפחת לאחר הקטיף.

- .1 Romanazzi, G. and E. Feliziani, *Botrytis cinerea* (Gray mold), in *Postharvest decay Control Strategies*, Bautista-Banos S, Editor. 2014, Elsevier: UK. p. 383.
- .2 Anaya-Esparza, L.M., et al., Bell Peppers (*Capsicum annum* L.) Losses and Wastes: Source for Food and Pharmaceutical Applications. *Molecules*, 2021. **26**(17): p. 5341.
- .3 Tzortzakis, N., et al., Postharvest diseases of fresh horticultural produce. Solanaceae and Cucurbitaceae crops, in *Postharvest Pathology of Fresh Horticultural Produce*, L. Palou, J.L. Smilanick, and S. Pareek, Editors. under review, . CRC Press, Taylor & Francis Group: USA.
- .4 Krasnow, C. and C. Ziv, Non-Chemical Approaches to Control Postharvest Gray Mold Disease in Bell Peppers. *Agronomy*, 2022. **12**(1): p. 216.
- .5 Ziv, C., et al., Genetic and biotechnological tools to identify breeding targets for improving postharvest quality and extending shelf life of peppers. *Current Opinion in Biotechnology*, 2022. **78**: p. 102794.
- .6 Yermiyahu, U., et al., Higher Potassium Concentration in Shoots Reduces Gray Mold in Sweet Basil. *Phytopathology*, 2015. **105**(8): p. 1059-68.
- .7 Elad, Y., et al., *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. 2007: Springer.
- .8 Elad, Y. and B. Kirshner, Calcium reduces *Botrytis cinerea* damages to plants of *Ruscus hypoglossum*. *Phytoparasitica*, 1992. **20**(4): p. 285.
- .9 Elad, Y., et al., Effect of nutrition on susceptibility of cucumber, eggplant, and pepper crops to *Botrytis cinerea*. *Can J Bot*, 1993. **71**(4): p. 602-608.
- .10 Volpin, H. and Y. Elad, Influence of calcium nutrition on susceptibility of rose flowers to gray mold. *Phytopathology* 1991. **81**: p. 1390-1394.
- .11 Elad, Y. and H. Yunis, Effect of microclimate and nutrients on development of cucumber gray mold (*Botrytis cinerea*). *Phytoparasitica*, 1993. **21**(3): p. 257.
- .12 Bar-Tal, A., et al., Rose flower production and quality as affected by Ca concentration in the petal. *Agronomie*, 2001. **21**(4): p. 393-402.
- .13 Elad, Y. and H. Volpin, Reduced sensitivity to grey mould (*Botrytis cinerea*) of bean and tomato plants by means of calcium nutrition. *J Phytopathol*, 1993. **139**: p. 146-156.
- .14 Manganaris, G.A., et al., The effect of preharvest calcium sprays on quality attributes, physicochemical aspects of cell wall components and susceptibility to brown rot of peach fruits (*Prunus persica* L. cv. Andross). *Sci Hort*, 2005. **107**(1): p. 43-50.
- .15 Ortiz, A., et al., Preharvest calcium sprays improve volatile emission at commercial harvest of 'Fuji Kiku-8' apples. *J Agric Food Chem*, 2011. **59**(1): p. 335-41.
- .16 Dris, R. and R. Niskanen, Calcium chloride sprays decrease physiological disorders following long-term cold storage of apple. *Plant Foods Hum Nutr*, 1999. **54**(2): p. 159-71.
- .17 Gerasopoulos, D., et al., Effects of preharvest calcium chloride sprays on maturity and storability of Hayward kiwifruit. *Postharvest Biol Technol*, 1996. **7**(1-2): p. 65-72.
- .18 Gupta, R., et al., Nutrient elements promote disease resistance in tomato by differentially activating immune pathways. *Phytopathology*, 2022. **0**(ja): p. null.
- .19 Lama, K., et al., Nutritional qualities and aroma volatiles of harvested red pepper fruits stored at suboptimal temperatures. *Scientia Horticulturae*, 2016. **213**: p. 42-48.
- .20 Li, C.R., et al., Overexpression of an alternative oxidase gene, OsAOX1a, improves cold tolerance in *Oryza sativa* L. *Genet Mol Res*, 2013. **12**(4): p. 5424-32.
- .21 Sanchez-Bel, P., et al., Understanding the mechanisms of chilling injury in bell pepper fruits using the proteomic approach. *J Proteomics*, 2012. **75**(17): p. 5463-78.
- .22 Pa, W., Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, Approved standard. *CLSI document M27-A2*, 2002.
- .23 Rämö, J. and M. Sillanpää, Degradation of EDTA by hydrogen peroxide in alkaline conditions. *Journal of Cleaner Production*, 2001. **9**(3): p. 191-195.
- .24 Tzortzakis, N., et al., Postharvest Diseases of Fresh Horticultural Produce: Solanaceae and Cucurbitaceae Crops, in *Postharvest Pathology of Fresh Horticultural Produce*, L. Palou and J.L. Smilanick, Editors. 2019, CRC Press: USA.
- .25 Ragab, S.M., et al., Enhancing Growth, Productivity, Fruit Quality and Postharvest Storability of Hot Pepper by Calcium Nitrate and Salicylic Acid Foliar Application. *Alexandria Science Exchange Journal*, 2021. **42**(4): p. 961-975.
- .26 Zhang, X., et al., Calcium ion improves cold resistance of green peppers (*Capsicum annum* L.) by regulating the activity of protective enzymes and membrane lipid composition. *Scientia Horticulturae*, 2021. **277**: p. 109789.

- .27 Krasnow, C.S., et al., First Report of Fruit Rot of Sweet Pepper Caused by *Cladosporium cladosporioides* in Israel. *Plant Dis*, 2022. **0**(ja): p. null.
- .28 Fallik, E., et al., Hot Water Rinsing and Brushing of Fresh Produce as an Alternative to Chemical Treatment after Harvest—The Story behind the Technology. *Agronomy*, 2 : (8)11 .021 p. 1653.
- .29 Fallik, E., et al., A unique rapid hot water treatment to improve storage quality of sweet pepper. *Postharvest Biology and Technology*, 1999. **15**(1): p. 25-32.
- .30 ,, ריסוסי כילאט סידן להתמודדות עם מחלת העובש האפור בפלפל ולהגברת איכות הפרי al הרפאל, ג., ,. קוכושר אחסונו. שדה וירק, 2022. 342(ינואר-פברואר): 45-50.