

## שימוש במתיל ג'סמונאט לעידוד יצירת הצבע האדום בפירות תפוח

### Use of Methyl Jasmonate for color induction in apple fruits

#### שמות החוקרים:

יובל כהן	המחלקה למדעי עצי פרי, מכון וולקני
רפי שטרן	מו"פ צפון
רות בן אריה	המעבדה לקירור
רעיה קורצ'ינסקי	המחלקה למדעי עצי פרי, מכון וולקני
משה עגיב	מו"פ צפון

Yuval Cohen, Department of Fruit-Tree Sciences, ARO, Bet-Dagan 50250.

E-mail: [vhyuvalc@volcani.agri.gov.il](mailto:vhyuvalc@volcani.agri.gov.il)

Raffi Stern, MOP Zafon, P.O. Box 831 Kiryat Shmona, 11016.

Email: [raffi@migal.org.il](mailto:raffi@migal.org.il)

Ruth Ben-Arie, Fruit Storage Research Laboratory, Kiryat Shmona, 10200 Israel

Emial: [fruitlab@netvision.net.il](mailto:fruitlab@netvision.net.il)

Raia Korchinsky, Department of Fruit-Tree Sciences, ARO, Bet-Dagan 50250.

Moshe Agiv, MOP Zafon. P.O. Box 831 Kiryat Shmona, 11016.

## תקציר:

בתפוחים מזנים שונים, לצבע הקליפה האדום חשיבות מכרעת למחיר הפרי בשווקים. במטעי הארץ, מרבית היבול אינו מממש את פוטנציאל הצבע שלו. הצבע האדום נוצר מהצטברות אנטוציאנינים בתאי הקליפה. אנטוציאנינים מופיעים בתפוחים ובפירות אחרים כחלק מתהליך ההבשלה וגם כתוצאה מעקות או פגיעת פתוגנים. החומצה הג'סמונית ונגזרותיה, קשורה למנגנוני ההגנה של הצמח. בעבודה זו בחנו את השפעת החומר מתיל ג'סמונאט (MJ) על תהליכי יצירת הצבע בזנים אדומים של תפוח. עצים משני זנים שונים, 'טופרד' ו'פינק ליידי', טופלו במועדים שונים ב-MJ כחודש עד חודשיים לפני הקטיף. לאחר מכן עקבנו אחרי תהליכי יצירת הצבע בקליפות הפרי. בחלק מהטיפולים התקבלה עליה מתונה ברמת הצבע ובכמות האנטוציאנינים בקליפה. בניגוד לשנים אחרות, הבדלים אלו היו מתונים. שנת 2007 הייתה "שנת צבע" בתפוח - שנה חריגה מאוד ויוצאת דופן לטובה ברמות הצבע האדום בפירות התפוח מכל הזנים בארץ. בשנה שכזו מסלול יצירת הצבע בקליפה הוא פעיל מאוד, ונראה שבתנאי ניסוי השדה שבוצע לא ניתן היה לעורר יצירת צבע משמעותית נוספת. MJ ידוע גם כמזרז את פירוק הכלורופיל. השפעת MJ נבחנה גם על צבע הקליפה של תפוחי 'זהוב'. בהשפעת הטיפול צבע הפרי נטה להיות יותר צהבהב ופחות ירוק.

## מבוא

התפוח הינו עץ המותאם לגידול בתנאים ממוזגים. למרבית זני התפוח המסחריים, ישראל מהווה את גבול התפוצה הדרומי, וגידולם בארץ מוגבל לאזורים קרירים יותר, בעיקר בגליל ובגולן. גם באזורים אלה התפוחים אינם גדלים בתנאים האופטימאליים. בתפוחים מזנים שונים, כמו 'דלישס אדום', 'יונתן', זני ה'גאלה' והזן 'פינק לידי', לצבע הקליפה האדום חשיבות מכרעת למחיר הפרי בשווקים. מאמצים ומחקרים רבים הושקעו בעולם וגם בארץ בניסיונות לשפר את רמות הצבע בתפוח. אלו הופנו לפתוח זנים וואריאנטים צבעוניים יותר, לטיפולים הורטיקולטוריים, לטיפולים בחומרי צמיחה שיעודדו את יצירת הצבע האדום, ולאפיון מולקולארי של תהליכי יצירת הצבע. למרות עבודות אלו, רמות הצבע האדום בקליפה עדיין מהוות בעיה שיווקית באזורי גידול רבים בעולם. במטעי הארץ, מרבית הפירות אינם מממשים את פוטנציאל הצבע שלהם.

הצבע האדום נוצר מהצטברות אנטוציאנינים בתאי הקליפה. אנטוציאנינים מופיעים בתפוחים ובפירות אחרים כחלק מתהליך ההבשלה. שנים רבות ידוע שתנאי עקה שונים או פגיעת פתוגנים מעודדים את יצירת האנטוציאנינים ברקמות צמחיות רבות ליצירת הצבע האדום. החומצה הג'סמונית מהווה חלק ממנגנוני ההגנה וההתמודדות של הצמח עם פתוגנים, מזיקים ועקות. באחרונה פורסמו מספר עבודות המציעות שימוש בחומצה ג'סמונית ובנגזרת שלה מתיל ג'סמונאט ( Methyl Jasmonate, MJ) לעידוד יצירת הצבע בפירות.

בשנת 2004 בחנו בניסוי ראשוני את השפעתו של ההורמון MJ על רמת הצבע בפירות הזן 'טופרד' ובפירות 'פינק לידי' בגליל העליון. בעקבות טיפול כחודש לפני הקטיף הייתה עליה ניכרת ברמות הצבע בשני הזנים. עליה זו באה לידי ביטוי הן בעין בלתי מזוינת מספר ימים לפני הקטיף, הן בבדיקות פרי שבוצעו לאחר הקטיף במעבדה, והן בריכוז האנטוציאנינים באיזור האדום של הקליפה. העלייה ברמת הצבע לא הייתה מלווה בהבשלת יתר של הפירות, ואולי אף הביאה לדחייה מסוימת בהבשלה, שהתבטאה בעליה בקושי הפרי ולעיתים גם לירידה בקצב פירוק העמילן. בשנים 2005-6 התקבלה עליה מתונה ברמת הצבע בזנים 'טופרד' וב'פינק לידי' בעקבות הטיפולים.

בזן 'תפוח הזהוב' ישנה בעיה אופיינית אחרת של צבע הקליפה. אחוז ניכר מהפירות, ובמיוחד בגולן, נשאר ירוק ולא מקבל את הגוון הזהוב האופייני לקראת ההבשלה. פרט לעידוד יצירת האנטוציאנינים, ל-MJ השפעות נוספות על צבע הפרי, עידוד יצירת האנזים Chlorophyllase, אנזים מפתח בפירוק הכלורופיל. טיפולים ב-MJ מביאים לירידה ברמות הכלורופיל ובמיוחד ברמתו של כלורופיל a, בנוסף, ההורמון מעודד יצירת  $\beta$ -carotene. העובדה שהשפעות אלו נצפו גם לאחר טיפולים בקליפות זן התפוח 'זהוב' מצביעים על האפשרות לשיפור הצבע הזהוב (ולהורדת הגוון הירוק) בתפוחים אלה ע"י טיפולים ב-MJ.

מטרת הניסוי: בחינה של טיפולי ריסוס ב-MJ וכן של חומצה סליצילית לשיפור הצבע האדום בזני תפוח שונים בתנאי הארץ.

## פירוט הניסויים והתוצאות

בשנת 2007 נבחנו טיפולים ב-MJ על תפוחים משני זני תפוחים אדומים מהזנים 'טופרד' (בחוות מתתיהו ובמטע אורטל) ו-'פינק ליידי' (במטע קיבוץ ברעם), ועל תפוחי הזן 'זהוב' (במטע אלרום בגולן) המבשילים בצבע ירוק-צהבהב. בשנים קודמות נבחנו השפעותיהם של ריכוזי MJ שונים על צבע הפרי. השנה בחרנו בריכוז גבוה של חומר הצמיחה (10mM) שנמצא בשנים הקודמות כיעיל. בכל הטיפולים הוסף משטח 0.025% Triton X100. בניסויי השנה התמקדנו בבחינת מועדי טיפול שונים וכן במספר טיפולים חוזרים על אותם הפירות.

### א. בחינת השפעת טיפולים ב-MJ על תפוחי 'טופרד'

בזן 'טופרד' נעשו 2 ניסיונות בעצים שלמים וניסיון נוסף בו יחידת הטיפול הייתה ענף אחד נושא פירות.

1. טיפול בעצים שלמים (במטע חוות מתתיהו), בשש חזרות בנות עץ בודד. הטיפולים: (1) 10mM MJ ב-1/8/07; (2) טיפול כפול ב-MJ ב-1/7/07 וב-1/8/07; (3) ביקורת לא מטופלת.
2. טיפול בעצים שלמים (במטע אורטל בגולן), בחמש חזרות בנות עץ בודד. הטיפולים: (1) ריסוס ב-MJ 10mM ב-12/7/07; (2) ביקורת לא מטופלת.
3. ניסוי ברמת ענפים בודדים בחוות מתתיהו. הטיפול בוצע על ידי ריסוס ענפים בודדים (בתוספת משטח 0.025% Triton x100). מבנה הניסוי: 10 חזרות בנות 10 ענפים - ענף אחד לכל טיפול לעץ. כל עץ הווה בלוק עליו נבחנו כל הטיפולים. בכל טיפול רוסס ענף עם לפחות 10 פירות. הטיפולים שנבחנו היו: (1) ביקורת לא מטופלת; (2) ריסוס חודשיים לפני קטיף (4/7/07); (3) חודש לפני הקטיף (1/8/07); (4) שבועיים לפני קטיף (16/8/07) ושילובים של שניים או שלושה מהטיפולים האלו (4) 1/8/07+4/7/07; (5) 16/8/07+1/8/07; (7) 16/8/07+1/8/07+4/7/07; (8) ביקורת לא מטופלת.

### ב. בחינת השפעת טיפולים ב-MJ על תפוחי 'פינק ליידי'

בתפוחי 'פינק ליידי' בוצע ניסוי לבחינת השפעת MJ ברמה של ענפים בודדים. נבחן ריכוז אחד של 10 mM MJ, אך במועדים שונים: (1) חודש לפני קטיף צפוי (26/9/07); (2) שבועיים לפני קטיף צפוי (10/10/07); (3) שילוב שני המועדים (26/9/07+10/10/07); (4) ביקורת לא מטופלת. הניסוי נעשה ב-10 חזרות, עץ אחד לחזרה. כל עץ הווה בלוק עליו נבחנו כל הטיפולים. בכל טיפול רוסס ענף עם לפחות 10 פירות.

### ג. בחינת השפעת טיפולים ב-MJ על תפוחי הזן 'זהוב'

בניסוי זה שנעשה ברמה של תצפית נבחן טיפול בודד ב-MJ 10mM שרוסס כחודש לפני קטיף (ב-1/8/07). הניסוי נעשה ב-5 חזרות בנות עץ בודד.

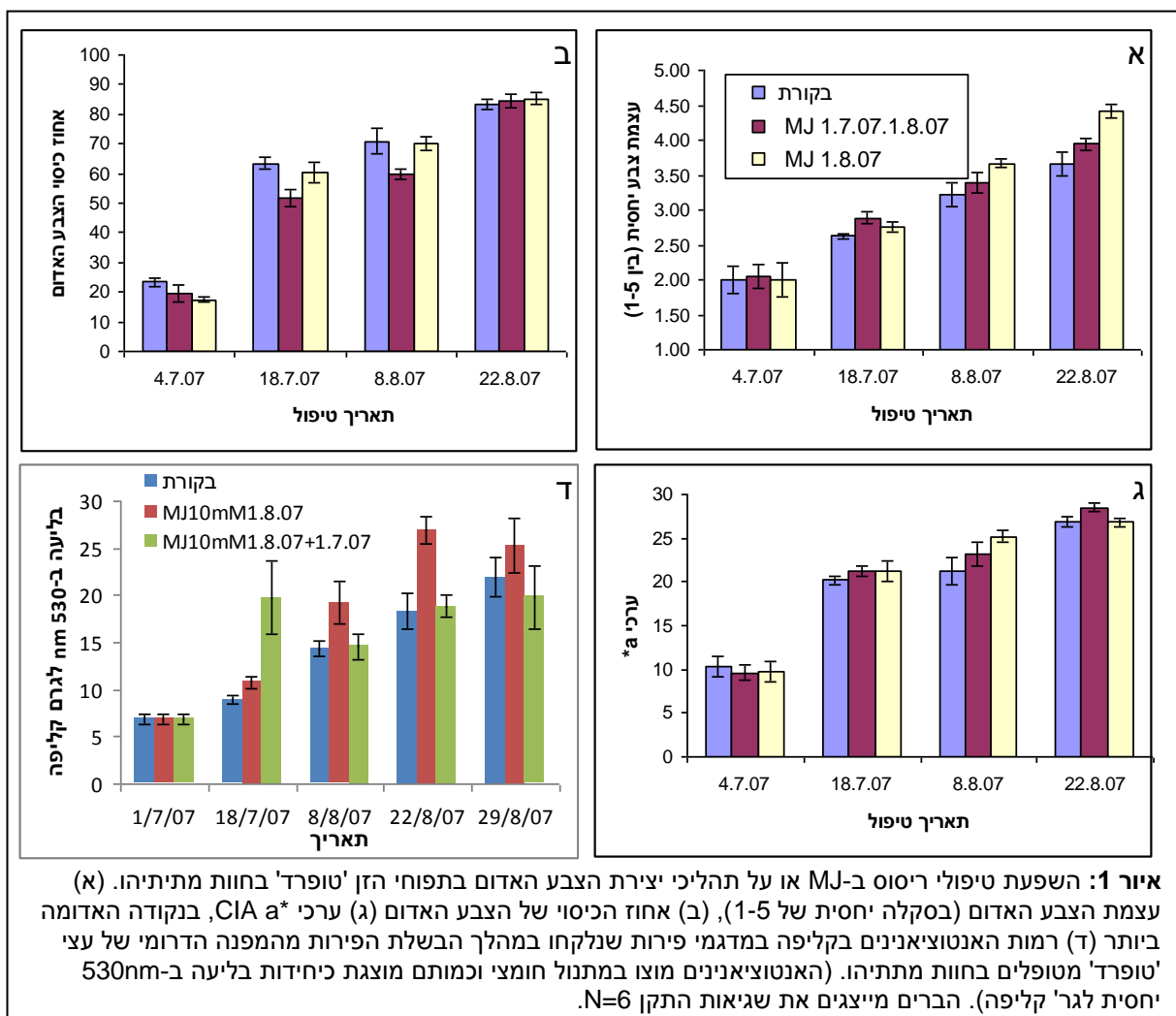
### ד. אפיון רמות הצבע במעבדה

בניסויים שנעשו בעצים שלמים מדגמי פרי (שישה פירות מייצגים מכל עץ - שלושה במפנה דרומי ושלושה במפנה צפוני) נלקחו למעבדה כל כשבועיים ממועד הריסוס ועד הקטיף. בעת הקטיף (דרגת עמילן של כ-5) נאספו דוגמאות נוספות של פירות לבדיקה במעבדה. בניסויים שבוצעו על ענפים

בודדים, הובאו בקטיף כל הפירות למעבדה לבדיקת איכות הפרי. במעבדה הוערכו אחוז הכיסוי של הצבע האדום ועצמתו (בהערכה ויזואלית). בנוסף נמדדה איכות הצבע (בנקודות האדומה ביותר בכל פרי) בעזרת מכשיר למדידת צבע מסוג Color Guide של חברת Gardner BYK. נמדדו גם משקל התפוחים, אחוז הסוכר ומידת הקושי של הפרי. דוגמאות של קליפה (דסקיות בקוטר של כ-1.2 ס"מ מ-3 תפוחים מייצגים) מהאזורים האדומים ביותר בפרי, הוקפאו בחנקן נוזלי. הפיגמנטים האנטוציאנינים מוצו מקליפת הפרי בעזרת מתנול חומצי, ורמתם נקבעה באמצעות בליעתם בספקטורופוטומטר (באורך גל של 530nm). כמו כן נבחנו מדדי פרי נוספים (משקל הפרי, מוצקותו ואחוז הסוכר בציפה).

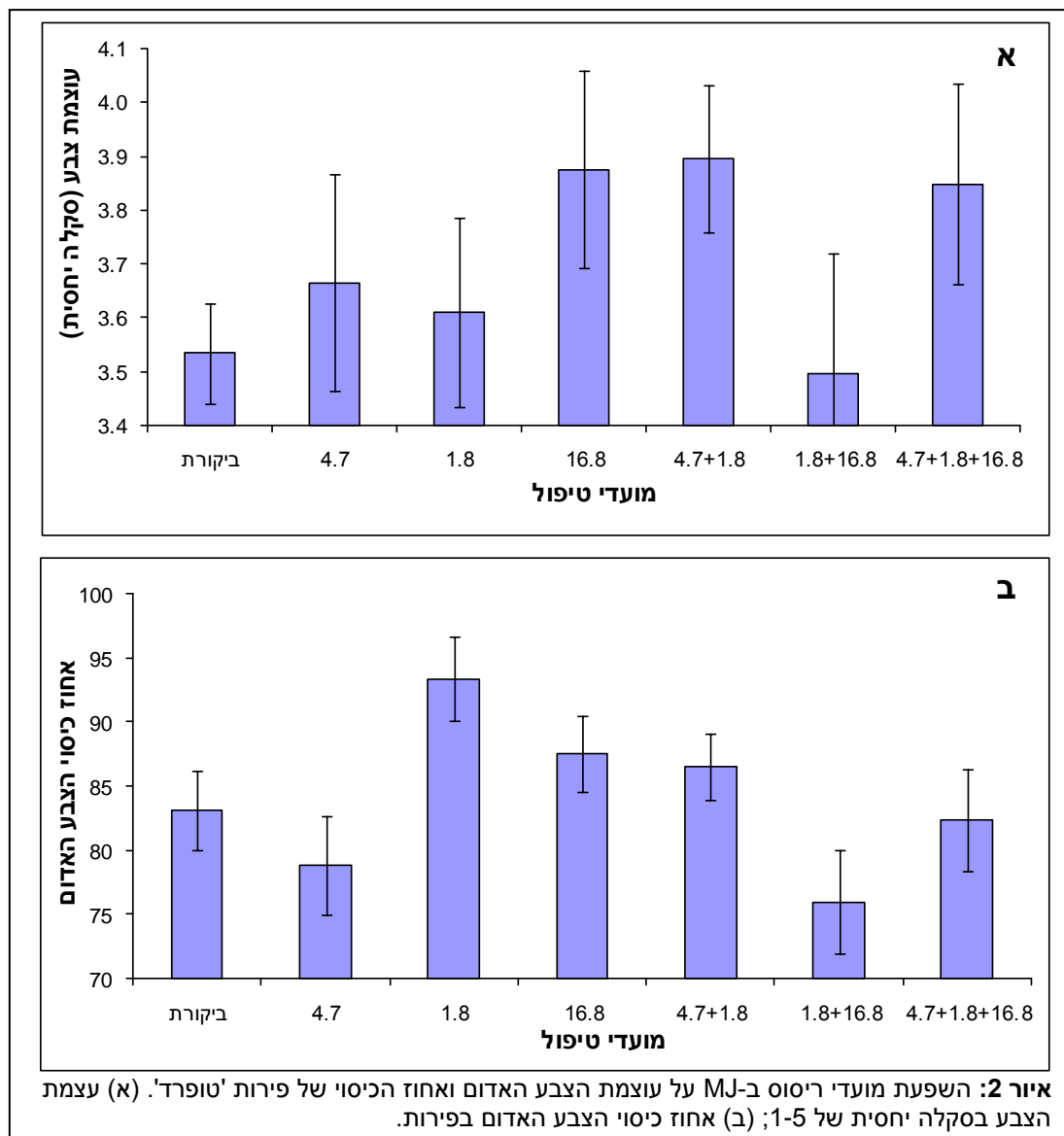
### השפעת טיפולים ב-MJ על רמות הצבע האדום בפירות הזן 'טופ-רד':

בזן 'טופ-רד' התקבלו השנה רמות צבע גבוהות מאוד, במרבית המטעים בצפון הארץ. "שנת צבע" זו נובעת, כנראה ממשטר הטמפרטורות הנוח יחסית, והעדר חמסינים בולטים במהלך הבשלת הפירות. רמות הצבע של הפרי בביקורת היו כל כך גבוהות שגם ללא טיפול בחומרי צמיחה היתה כמעט כל קליפת הפרי אדומה (ממוצע של למעלה מ-80% משטח הקליפה של הפירות היה בצבע



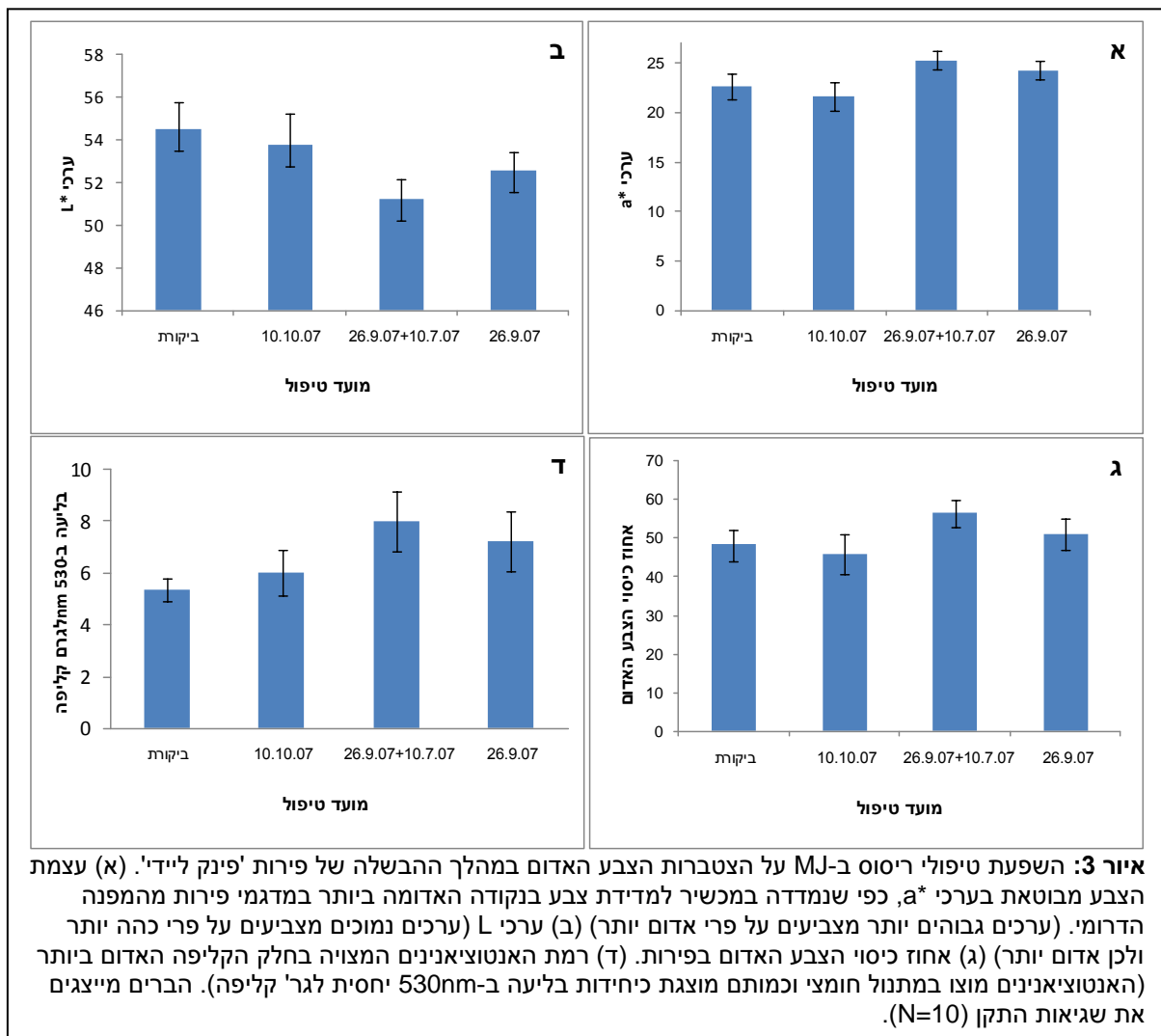
אדום בעת הקטיפה בפירות הביקורת, איור 1, ב', טיפול הביקורת). גם עוצמת הצבע האדום היתה חזקה מעצמות הצבע הטיפוסיות לזן בשנים אחרות איור 1, א', טיפול הביקורת).

טיפול הריסוס הביאו לעליה מועטה בלבד ברמת הצבע. שיפור זה הובחן בכל הפרמטרים של הפרי. טיפולים חוזרים הביאו לשיפור מעט חזק יותר (איור 1). תוצאות דומות התקבלו בניסוי דומה במטע אורטל (תוצאות לא מוצגות). בניסוי בענפים בודדים בחוות מתתיהו התקבלה ככלל עליה מועטת ברמת הצבע בפירות הטיפולים השונים (איור 2). אולם, מצאנו שונות גדולה בין הטיפולים בעצי הניסוי השונים. נראה כי השפעת מיקומו של כל ענף על העץ (מבחינת מפנה, גובה וחשיפה של הפירות לשמש) השפיעה על צבע הפירות. תוצאות הניסוי לא היו ברורות מספיק כדי להסיק מסקנות לגבי משמעות הטיפולים החוזרים על עידוד נוסף ביצירת הצבע.



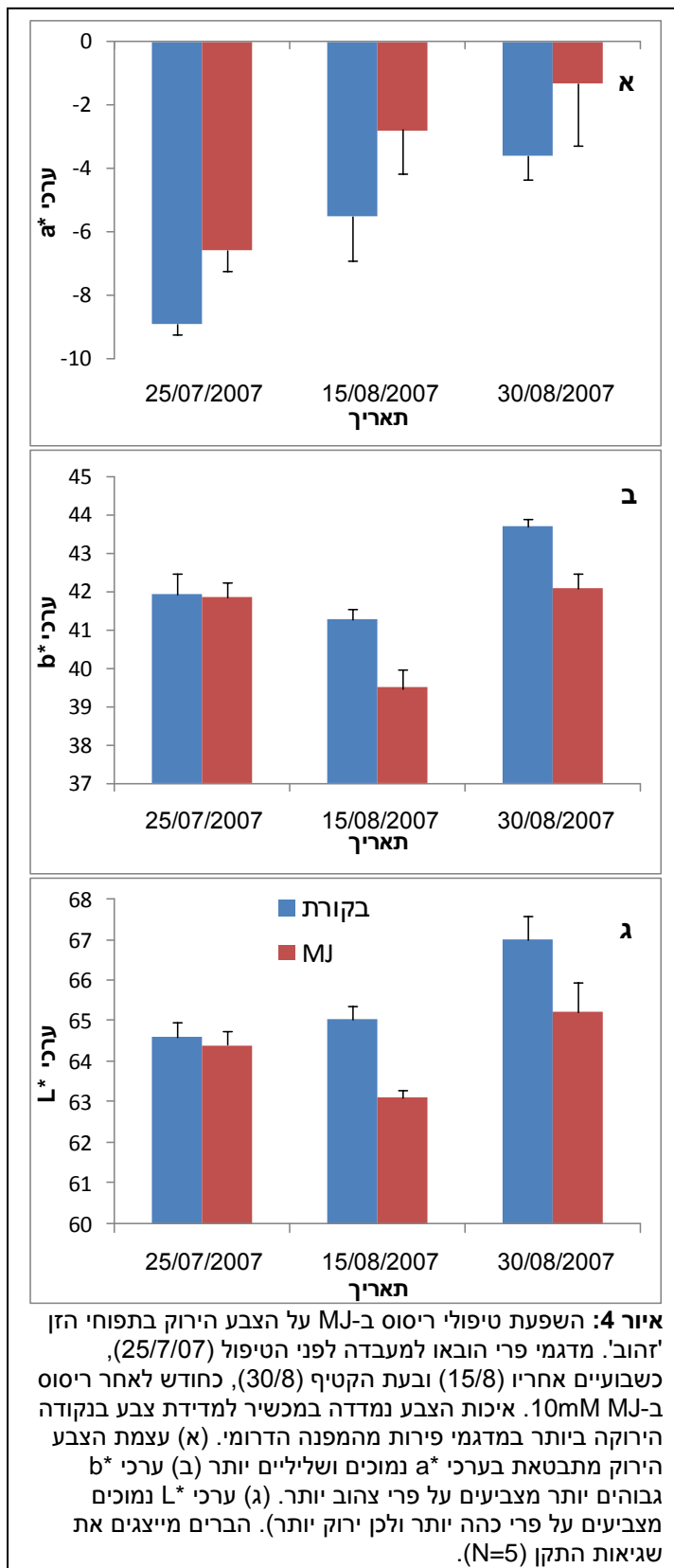
### השפעת טיפולים ב-MJ על רמות הצבע האדום בפירות הזן 'פינק לייד':

הזן 'פינק לייד' מבשיל כחודש וחצי מאוחר יותר מהזן 'טופרד'. אבל, גם בזן זה היו רמות הצבע השנה גבוהות מאוד וחרیגות יחסית לפרי האופיני בשנה ממוצעת. לפירות הזן 'פינק לייד' יש בדרך כלל לחי ורדרדה, ומכאן שמו של הזן. אולם, בשנת 2007 היה כיסוי רב של צבע אדום חזק בקליפה. גם בזן 'פינק לייד' הטיפולים ב-MJ הביאו רק לשיפור קל ברמות הצבע. איור 3 מתאר את השפעת הטיפולים ב-MJ על צבע הפרי בקטיף. השיפור ברמות הצבע התבטא בעליה באחוזי הכיסוי של הפרי (איור 3, ג') וגם בעליה בעצמתו של הצבע האדום (איור 3, א' ב'), והיה בולט במיצויים של הפיגמנטים האנטוציאניניים מחלקי הקליפה האדומים ביותר (איור 3, ד').



### השפעת טיפולים ב-MJ על רמות הצבע הצהוב ועל העלמות הצבע הירוק בזן 'זהוב'

MJ ידוע לא רק כמעודד יצירת אנטוציאנינים, אלא גם כמפעיל את האנזים chlorophyllase, המביא לפרוק של הכלורופיל. בחנו את השפעת MJ בחלקה בגולן שבחלק מהשנים נוטה לפרי ירוק



מדי. אולם, השנה לא זוהתה בחלקת הניסוי בעיה של פירות בצבע ירוק מדי, ורמת התופעה הכללית בתפוחי הזן 'זהוב' בארץ הייתה נמוכה. בהערכה כללית של הפירות (שכאמור, לא נטו להיות ירוקים) לא התקבל שיפור ניכר בצבע הצהוב של הפרי. יחד עם זאת תוצאות המעבדה מצביעות על ירידה מסוימת ברמת הצבע הירוק של הפרי (התקבלו ערכי  $a^*$  פחות שיליים, וערכי  $L^*$  יותר גבוהים) ונטייה לפרי צהוב יותר (שמתבטא כערכי  $b^*$  גבוהים יותר) בעקבות הטיפול (איור 4).

### מסקנות והשלכותיהן על המשך ביצוע המחקר

שנת 2007, כמו שנת 2006 שקדמה לה, הייתה שנה חריגה ויוצאת דופן לטובה ברמות הצבע האדום בפירות התפוח מכל הזנים ברחבי הארץ. הפירות שהתקבלו בשני הזנים האדומים שנבחנו בניסוי היו אדומים מאוד, במרבית היקפם, שלא בהתאם לרמות הצבע המאפיינות אותם בשנים אחרות. בפירות שני הזנים ניתן היה להבחין רק בשיפור מועט ברמת הצבע בעקבות הטיפולים לעומת פירות הביקורת. תוצאות אלה שונות מאוד מהתוצאות שהתקבלו בעקבות הטיפולים ב-MJ בשנת 2004, שהביאו לשיפור ניכר מאוד ברמות הצבע בשני הזנים. בדומה לכך, בזן 'זהוב' לא

התקבלה תופעה של פרי "ירוק מדי", אך נראה שהטיפול כן הפחית, במידה מסוימת את רמת הצבע הירוק בקליפה.



לחומצה הג'סמונית ונגזרותיה (החומר MJ) תפקיד מרכזי במנגנוני ההגנה של הצמח מפני תנאי עקה ופתוגנים. כחלק מפעילותם, הם מעוררים את מסלול הסינתזה של האנטוציאנינים (וכן של פוליפנולים אחרים המשמשים בהגנה מפני מזיקים ופתוגנים). לכן, לחומרים אלה פוטנציאל לעידוד יצירת הצבע דווקא כאשר תנאי הסביבה (בעיקר טמפרטורה נמוכה) אינם אופטימאליים, על ידי הדמיה של "תנאי עקה". אולם, כאשר תנאי הסביבה מעודדים יצירת צבע, ומסלול הביוסנתזה של האנטוציאנינים פעיל, חומרים אלה יכולים כנראה לשפר את התהליך רק במעט. ב"שנת צבע" שכזו טיפול לאינדוקציה של יצירת צבע נוספת אינו דרוש מהבחינה החקלאית. יש לבחון האם ניתן יהיה לזהות שנה שכזו, במועד מוקדם בהבשלת הפירות כדי להעריך מראש את הצורך בטיפולים לעידוד הצבע. בנוסף, נראה שיש להתרכז דווקא בניסויים בתנאים לא אופטימאליים (בחלקות המגודלות באיזורים נמוכים יותר בהן הטמפרטורות בזמן ההבשלה גבוהות יותר ובעצים בודדים בתנאי טמפרטורה מבוקרים בפיטוטרון). אנו מצפים שדווקא בחלקות אלה תהא לטיפול ב-MJ השפעה גדולה יותר.