

חקר המיקרוביום לצורך ייצור ושימור מזון

סמיר דרובי¹

אנו חיים בתוך "עולם מיקרוביאלי" שוקק חיים, שבו יצורים מיקרוסקופיים (מיקרואורגניזמים) מאכלסים כמעט כל נישה ביולוגית שאפשר להעלות על הדעת. אוויר, מים, קרקע, צמחים ובעלי חיים מהווים אתר מחיה של מספר גדול מאוד של מיקרואורגניזמים מסוגים ומינים רבים המשתייכים למגוון רחב של משפחות ותת-משפחות.

לבין כלל המיקרואורגניזמים המאכלסים אותו יכולים להיות טפיליים (פרזיטיים/פתוגניים), שיתופיים/הדדיים (מוטואליזם) או קומונסליים (רק צד אחד מפיק תועלת מהקשר). קשר זה מתבטא בהשפעה על עמידות הצמח לפתוגניים, בהספקה של חומרי מזון ובייצור הורמונים המבקרים תהליכים התפתחותיים שונים בצמח. על כן יש היום הסכמה הולכת ומתרחבת בקרב ביולוגים העוסקים באבולוציה, שהגנים של צמחים או בעלי חיים והגנים של האורגניזמים החיים בסימביוזה אתם קשורים אלה באלה. בהקשר זה בשנת 1991 הציעה לן מרגוליס, מדענית אמריקנית בתחום הביולוגיה ההתפתחותית, להגדיר את הצמח על שלל המיקרו-אורגניזמים והמאקרו-אורגניזמים שלו [כהולוביונט](#) (Holobiont).

דיווחים רבים מראים שצמחים יכולים לקבוע את הרכב המיקרוביום שלהם באמצעות הפרשה פעילה של חומרים המעודדים או מעכבים מרכיבים ספציפיים של המיקרופלורה הצמחית. ממצא זה מצביע על האפשרות שאוכלוסיית המיקרואורגניזמים נמצאת תחת בקרה גנטית של הצמח. אמנם נושא זה נחקר במספר מצומצם מאוד של מערכות צמחיות (בהקשר של חיידקים המשמשים להדברה ביולוגית), ולכן הידע הקיים בנושא אף הוא מוגבל מאוד. עם התרחבות המחקר בתחום זה אנו מצפים שהבנתנו את הקשר הקיים בין סוג הצמח, מצבו הפיזיולוגי והרכב המיקרואורגניזמים המאכלסים אותו תתבהר.

אנו חיים בתוך "עולם מיקרוביאלי" שוקק חיים, שבו יצורים מיקרוסקופיים (מיקרואורגניזמים) מאכלסים כמעט כל נישה ביולוגית שאפשר להעלות על הדעת. אוויר, מים, קרקע, צמחים ובעלי חיים מהווים אתר מחיה של מספר גדול מאוד של מיקרואורגניזמים מסוגים ומינים רבים המשתייכים למגוון רחב של משפחות ותת-משפחות. לכל אתר אכלוס יש מיקרוביום (microbiome) אופייני משלו, שמורכב מתערובות של מיקרואורגניזמים לסוגיהם השונים: חיידקים, נגיפים ופטטריות עם כל היסודות הגנטיים שלהם (גנים).

בין בעלי החיים והצמחים לבין המיקרוביום שלהם מתקיימים יחסי גומלין הדדיים באופן רצוף שלרוב מביאים תועלת לשני הצדדים, למעט מקרים שבהם נגרם נזק למאכלס כתוצאה מהפרה של המאזן הקיים במערכת ביולוגית מסוימת. ידוע כיום שלמיקרוביום בחלקי הצמח החיצוניים והפנימיים יש תפקיד מרכזי בעיצוב פני כדור הארץ - החל מהצמחייה הטבעית ומערכות הייצור החקלאיות ועד בריאות האדם. ככל שהמחקר בנושא זה הולך ומעמיק, קשה לדמיין איך יתקיים בעל חיים או צמח כישות נפרדת [מהמיקרוביוטה](#) (microbiota) המאכלסת אותו.

הידע הקיים על הקשר ההדוק בין מיקרואורגניזמים ובין צמחים, בחלקיהם השונים (על-קרקעיים ותת-קרקעיים), הוא עצום (Berg et al., 2014). יחסי הגומלין (סימביוזה) בין הצמח

¹ פרופ' סמיר דרובי, המחלקה לחקר תוצרת חקלאית טרייה לאחר הקטיף, מנהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, ראשון לציון.



בשני העשורים האחרונים מתקיים מחקר ופיתוח נרחב בעולם בכל הקשור לפיתוח טכנולוגיות ידידותיות לסביבה ולאדם המבוססות על מיקרואורגניזמים בודדים כתחליפים לחומרי הדברה ודשנים כימיים. המדענים החלו לאמץ גישות חדשניות לחקר יחסי הגומלין של צמחים ומיקרואורגניזמים וללימוד פעילותם המועילה והשפעת תנאי הגידול השונים עליהם. מידע זה מאפשר לנו לנצל את ההשפעות הסינרגיסטיות או המשלימות של מיקרואורגניזמים מסוימים ולתכנן מיקרוביום אשר ישפר את גידול ובריאותו של הצמח. כיום ברור שחקלאות העתיד תתבסס על מערכת ייצור משולבת ושהתכשירים הביולוגיים יהיו חלק חשוב ממנה. למותר לציין ששוק התכשירים הביולוגיים לשימושים חקלאיים בעולם צומח בקצב שנתי של כ-15% לעומת 5% צמיחה בשוק הכימיקלים.

בזמן שבמשך מאות שנים רתם האדם את הפטריות, השמרים והחיידקים לביצוע תהליכי תסיסה לייצור ושימור מזון, ההבנה של החשיבות הנודעת למיקרואורגניזמים בגידול מסחרי של צמחים הבשילה רק בעשור האחרון. דוגמאות לכך ניתן למצוא, למשל, ביחסי הגומלין של פטריות מיקוריזה עם שורשי הצמח המאפשרים קליטה טובה יותר של חומרי מזון, או בתפקיד החיידקים קושרי החנקן (ריזובקטריה) בדגניים. בשנים האחרונות המחקר על חיידקים מאיצי גידול צמחים (plant growth promoting bacteria, PGPB) התמקד בעיקר במינים מסוימים, אך לא התייחס למכלול המיקרוביום של הצמח. היות שמיקוריזה וריזוביום מהווים רק חלק קטן של המיקרוביום הצמחי, היכולת שלנו לנצל את כלל המיקרוביום לייצור בר-קיימא של מזון עדיין מוגבלת מאוד בגלל מחסור בידע על הגורמים המשפיעים על ההרכב והדינמיקה של המיקרוביום הצמחי (Berg et al., 2014).

שימור מזון באמצעות מיקרואורגניזמים

מיקרואורגניזמים מהווים את הקבוצה הגדולה ביותר מבין האורגניזמים החיים על כדור הארץ, ועד עכשיו בודדו וזוהו מספר מינים מצומצם ביותר מהמכלול הרב הקיים. באוכלוסיות המיקרואורגניזמים קיימת שונות גנטית, ביוכימית, ופיזיולוגית גדולה, דבר המאפשר התרבות מהירה ופלסטיות של הגנום, שני גורמים החשובים להסתגלות לתנאי הסביבה המשתנים ולביצוע

אין ספק שלתזונה ולמרכיבי סל המזון ואיכותו יש תפקיד חשוב בבקרת הסביבה של המיקרוביום ובכך בעיצוב המיקרוביום האנושי שכלל הנראה משפיע באופן משמעותי על הבריאות שלנו. כמעט בכל יום מתפרסם מחקר שמצביע על הקשר בין המיקרוביום האנושי לבעיות רפואיות החל מכיב, השמנה, מחלות לב ועד מחלות נפשיות ודגנרטיביות. ברוב המחקרים הקשר בין תזונה ואורח החיים לבין ההרכב והתפקוד של המיקרוביום מוצג כחוליה המרכזית במערך המורכב של יחסי הגומלין המתקיימים בין המיקרוביום לגוף. לכן יש חשיבות רבה לחקר הרכב המיקרוביום של המזון הנכנס לגוף. חשוב לא פחות לחקור כיצד שיטות הייצור של תוצרת חקלאית טרייה וכיצד טכנולוגיות העיבוד והטיפול בה משפיעות על הגוף ועל המיקרוביום שלו.

ייצור מזון במאה ה-21 - שימוש מושכל במיקרוביום הצמחי

האתגר המרכזי של חקלאות העתיד (חקלאות הדור הבא) הוא איך לייצר מספיק מזון לאוכלוסיית העולם ההולכת וגדלה, באופן בר-קיימא ובלי להזיק לסביבה. כולנו יודעים שהמהפכה הירוקה (green revolution), שהתרחשה בין שנות השלושים לשנות השישים של המאה הקודמת, ואשר הביאה להגברת ייצור המזון בעולם, התבססה בעיקר על פיתוח טכנולוגיות ייצור מתקדמות של כימיקלים להדברת מזיקים ומחלות, זנים חדשים, חומרי צמיחה ודשנים להאצת הצימוח ושיפור היבול. אמנם ייצור המזון עלה, אולם ההשפעות השליליות של החקלאות האינטנסיבית ושל השימוש המסיבי בחומרי הדברה ודשנים על הסביבה והאדם הן עצומות.

בשנים האחרונות מתרחשת מהפכה ירוקה חדשה בעקבות ההתפתחויות הדרמטיות במדע ופריצות הדרך ביכולת שלנו לרצף DNA ולנתח את המידע הגנטי ברמה של ביטוי גנים במערכות ביולוגיות שונות יחד עם טכנולוגיות מתקדמות של עריכה גנטית. היום אנחנו יכולים לשאול שאלות מורכבות ולחקור את מכלול יחסי הגומלין בין צמחים ובין המאכלסים שלהם ואפילו לנטרל גנים לא רצויים או להגביר את ביטויים של אחרים המקודדים לתכונות חשובות לייצור מזון מן החי והצומח.



שימור ביולוגי מתייחס להארכת חיי המדף ושיפור בטיחותם של מוצרי מזון באמצעות שתי גישות:

א) הוספת מיקרואורגניזמים למזון מנגנה על המוצר על-ידי ייצור של חומרים מעכבים או בשל אפקט תחרותי עם הפתוגן או גורם העובש/קלקול;

ב) שימוש במטבוליטיים/חומרים אנטיביוטיים נקיים של מיקרואורגניזמים כמו בקטריוצינים.

לשימוש בבקטריוצינים במזון יש חסרונות רבים, העיקרי שבהם הוא יעילות נמוכה בגלל הקשירה למרכיבי מזון כמו שומן, חלבונים ותוספי מזון שונים. לעומת זאת לשימוש במיקרואורגניזמים חיים המייצרים בקטריוצינים יש יתרון בשל יכולתם לייצר מגוון רב של חומרים נוספים (חומצות אורגניות, דו-תחמוצת הפחמן, אתנול, מי חמצן ודי-אצטיל) בעלי פעילות אנטימיקרוביאלית (Schnürer and Magnusson, 2005). יתרה מכך, מיקרואורגניזמים המוספים למזון יכולים לגרום להשפעות בריאותיות מועילות לאדם וגם לשפר את הטקסטורה, הטעם והארומה של המוצר. כדוגמה לכך יכולים לשמש חיידקי חומצת החלב (lactic acid bacteria, LAB) המהווים את הקבוצה העיקרית המשמשת את תעשיית המזון לביצוע תהליכי תסיסה רבים, וידוע שאין להם השפעות שליליות על בריאות האדם. חלקם הגדול מוגדרים כ-GRAS (generally regarded as safe). בנוסף לחשיבותם התעשייתית בתהליך הייצור ושימור המוצר, לחיידקים אלה יש חשיבות בריאותית בייצוב המיקרופלורה במערכת העיכול, למשל.

גורמי ריקבון וזיהום בפירות וירקות טריים

יחסי הגומלין בין מיקרואורגניזמים ומזון טרי או מעובד מוצגים בד"כ בהקשרים שליליים כמו קלקול מיקרוביאלית כתוצאה של נוכחות חיידקים, שמרים ועובשים, או זיהום בחיידקים גורמי מחלות לאדם. ידוע שעל גבי מוצרי מזון טריים יש אוכלוסייה עשירה בעלת מגוון רחב מאד של מיקרואורגניזמים, כולל גורמי הקלקול והפתוגנים, שלרוב אינם גורמים להשפעות שליליות כל שהם. בתנאים מסוימים, חלה הפרה של האיזון הביולוגי/מיקרוביאלית הטבעי ומיקרואורגניזמים בודדים מתרבים וגורמים לריקבון. נשאלת השאלה מה הם הגורמים להפרת המאזן הביולוגי העדין המתקיים על התוצרת והמביא להתפתחות מיקרואורגניזמים פתוגניים שגורמים לריקבון? שיווי המשקל בין המיקרואורגניזמים לבין תוצרת חקלאית טרייה

מגוון תפקידים חשובים בתהליך ייצור המזון במערכות אקולוגיות שונות. מיקרואורגניזמים מועילים הם הקבוצה הפונקציונאלית החשובה ביותר בתהליך ייצור ועיבודו של המזון, והם קובעים את תכונות המזון המותסס (כמו חומציות, טקסטורה, טעם וארומה) ומביאים לתועלת בריאותית שהיא הרבה מעבר למרכיבים התזונתיים. מיקרואורגניזמים אלה יכולים להימצא במזון באופן טבעי או בעקבות הוספה מכוונת כתרביות סטרטר החשובות לתהליך התסיסה. תרביות מיקרואורגניזמים משמשות גם לייצור מגוון רחב של אנזימים וחומרי טעם וריח המוספים באופן מכוון או שהם מיוצרים בתהליך התסיסה של המזון.

במשך אלפי שנים השתמש האדם בשמרים, בפטריות עובש ובחיידקים לייצור מוצרי מזון כמו לחם, בירה, יין, חומץ, יוגורט וגבינה, מוצרי דגים ובשר וירקות כבושים. לרוב גרמו המיקרואורגניזמים לתסיסה, שהיא השיטה העתיקה ביותר לייצור ושימור מזון. תהליך ביולוגי זה מאפשר לא רק לשמר את המזון אלא גם לשפר את האיכות והערך התזונתי והאורגנולפטי (טעם, מראה, ריח ומרקם). תהליך התסיסה מביא בדרך-כלל להתרבות של מיקרופלורה שיכולה לדכא מיקרופלורה לא רצויה וכך למנוע התפתחות עובשים תוך כדי שיפור הטעם והמרקם.

תפקידם של מיקרואורגניזמים בתהליכי ייצור מזון נצפה לראשונה בשנת 1837 כאשר מדענים גילו ששמרים מעורבים בתסיסה כוהלית. מאוחר יותר ניסה הכימאי הצרפתי הידוע לואי פסטר להסביר מה קרה בתהליך ייצור בירה וחומץ, והוא מצא שמיקרואורגניזמים הם האחראים לכך. אולם רק לאחר מלחמת העולם השנייה החלה תעשיית המזון בפיתוח טכנולוגיות ותהליכים ביוטכנולוגיים המתבססים על מיקרואורגניזמים לייצור מזון בהיקפים תעשייתיים מבוקרים. כיום ידועים בעולם יותר מ-3500 מוצרי מזון מותססים, שאליהם מוספים מיקרואורגניזמים או התוצרים שלהם, והם משמשים כחלק חשוב בחיי היום-יום שלנו. זה שנים רבות תעשיית המזון משתמשת במונח "תרבות מגינה" (Protective culture), כאשר הכוונה היא לתרביות של מיקרואורגניזמים בעלי יכולת מטבולית של עיכוב מיקרואורגניזמים פתוגניים או חיידקים ופטריות עובש המייצרים רעלנים (טוקסינים).



הפטטריות והחיידקים המזהמים, אך ברוב המקרים חיטוי זה אינו יעיל בגלל שהמזהמים נמצאים בחללים נסתרים שהחיטוי אינו מגיע אליהם או כרבדים ביולוגיים (ביופילמים) מוגנים. פעולת החיטוי שאינה סלקטיבית גורמת גם להרג מגוון רב של מיקרואורגניזמים מועילים המאכלסים את התוצרת באופן טבעי והמעורבים ביצירת שיווי המשקל הביולוגי הנחוץ לשליטה באוכלוסיית הפטריות והחיידקים המזהמים.

השימוש בחומרי הדברה סינתטיים לפני ואחרי הקטיפ למניעת גורמי הריקבון והמזהמים בתוצרת החקלאית, עודנו אמצעי מקובל אצל חלק לא קטן של היצרנים. זה שנים רבות שנושא השימוש בחומרי הדברה במוצרי מזון ממשיך להיות במוקד הדיון הציבורי והממלכתי ברוב המדינות בעולם. זאת בעקבות המודעות הגבוהה לאיכות ולבטיחות ובהתחשב בשאריות חומרי ההדברה והשפעותיהם השליליות ארוכות הטווח על בריאות הציבור והסביבה. על כן לכל הגורמים המעורבים בייצור, שימור ושיווק מזון (חקלאים, אנשי התעשייה, רשויות הבריאות והסביבה, קהילת המחקר והצרכנים) יש אינטרס מובהק למצוא תחליפים לחומרי ההדברה המשמשים למניעת גורמי ריקבון של תוצרת חקלאית לאחר הקטיפ; אמצעים יעילים, בטוחים ורווחיים מבחינה כלכלית. בשל החשש מאיסור/הגבלת השימוש בחומרי הדברה לאחר הקטיפ, נעשים מאמצים רבים לפיתוח אמצעים חלופיים להגנה מפני מחוללי מחלות. עבודות מחקר רבות המתבצעות בארץ ובעולם, בוחנות כיוונים שונים, לרבות שיטות ביולוגיות וכן שימוש בחומרים טבעיים הנחשבים כלא מסוכנים לצרכן והמוגדרים כללית כ-GRAS, אשר יוכלו להוות תחליף לכימיקלים הסינתטיים הרעילים. מבין החלופות הרבות הדברה ביולוגית, המתבססת על שימוש במיקרואורגניזמים אנטגוניסטיים טבעיים, הייתה ועודנה במרכז ההתעניינות של הקהילה המדעית, חברות פרטיות והתעשייה של תוצרת חקלאית טרייה.

שימוש במיקרואורגניזמים טבעיים לשימור תוצרת חקלאית טרייה - מחקר פורץ דרך

רעיון השימוש באמצעים ביולוגיים כתחליף לחומרי הדברה בתוצרת חקלאית טרייה לאחר הקטיפ, התחיל להתבסס כתחום מחקר מרכזי רק באמצע שנות השמונים של המאה הקודמת, כאשר המניע המרכזי היה דו"ח של המועצה הלאומית

יכול להתערער בכמה דרכים. ראשית, קצב ההתכלות המואץ של הפרי או הירק לאחר הקטיפ מביא לשינויים פנימיים וחיצוניים המעודדים אוכלוסייה מסוימת של מיקרואורגניזמים, שיודעת לנצל לטובתה את היחלשות הרקמות ואת עודף חומרי המזון הזמינים ולגרום למחלה/ריקבון. בנוסף פתוגנים יכולים לחדור לתוצרת דרך פצעים הנגרמים במהלך הגידול, ולאחר הקטיפ בזמן הטיפול והאריזה. פטריות וחיידקים הם בדרך-כלל הגורם הדומיננטי בהתכלות תוצרת חקלאית טרייה לאורך שרשרת הספקת המזון (תמונה 1). לפי דו"ח של ארגון המזון והחקלאות של האו"ם (FAO) שהתפרסם ב-2011, ממוצע הפחיתים כתוצאה מגורמי ריקבון באירופה, בצפון אמריקה ובאוקיאניה מגיע לכ-29%, לעומת כ-38% בארצות אסיה המתועשות, דרום-מזרח אסיה, אפריקה ואמריקה הלטינית.

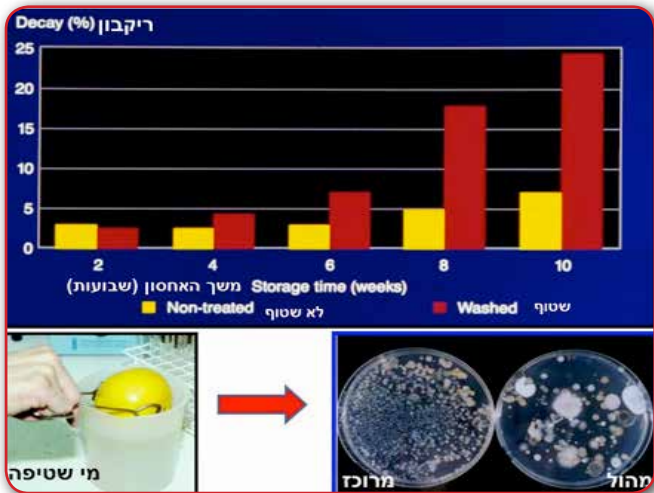


תמונה 1: ריקבון הנגרם על-ידי פטריות וחיידקים במגוון פרות וירקות לאחר הקטיפ.

זיהום תוצרת חקלאית טרייה ומעובדת בחיידקי מעיים כגון: קוליפורמים, ליסטריה וסלמונלה ופטריות המייצרות טוקסינים, מהווה גורם פגיעה חשוב באיכות ובטיחות המזון. הזיהום עלול להתרחש בשלבים שונים החל משלב הגידול בשדה/מטע, הקטיפ, והטיפול בבית האריזה וכלה בשלב העיבוד במפעל ובבית הצרכן. בתעשייה מקובל להשתמש בחומרי חיטוי שונים (בעיקר קוטלי פטריות ותכשירי כלור) כדי להפחית את אוכלוסיית



לראשונה באמצע שנות השמונים על-ידי צ'ארלס ווילסון ולארי פיוסי, שני חוקרים ממרכז המחקר של ה-USDA במערב וירג'יניה בארה"ב (Wilson and Pusey, 1985).



תמונה 2: השפעת שטיפה של פרות הדר על שיעור הרקבון במהלך אחסון של 10 שבועות, והתפתחות מיקרואורגניזמים ממי השטיפה על גבי צלחות פטרי.

הם טענו שמיקרואורגניזמים טבעיים כמו שמרים, פטריות וחיידקים מצויים באופן טבעי על פני שטח הפרי, אך בדרך כלל בכמויות שאינן מספיקות כדי למנוע את התפתחות גורמי הריקבון. לכן הם הציעו לבודד מיקרואורגניזמים משטח הפנים של פירות ולסרוק את פעילותם בעיכוב גורמי ריקבון שונים. לאחר איתור מיקרואורגניזם יעיל, ניתן יהיה לגדלו בכמות גדולה ולהחזירו לתוצרת בעת הטיפול בה לאחר הקטיפה. בגלל הרתיעה משימוש באנטיביוטיקה בחקלאות, ניתנה עדיפות למיקרואורגניזמים אשר מנגנון הפעולה שלהם אינו מבוסס על הפרשה של חומרים אנטיביוטיים. לכן עיקר המחקר שנעשה בתחום זה התמקד בשמרים שאינם מפרישים מטבוליטים משניים בעלי פעילות אנטימיקרוביאלית. כמו כן ההנחה הייתה שלשמרים יש תכונות רבות המתאימות למדבירים ביולוגיים כגון: דרישות תזונתיות פשוטות, אכלוס שטחים יבשים לתקופות זמן ארוכות וגדילה מהירה על מצעים זולים בביוריאקטור.

הרציונל המרכזי שעליו התבסס מחקר פורץ דרך זה היה שבניגוד למערכות ההדברה הביולוגית של גורמי מחלה בשורשי צמחים

האמריקנית למחקר (1987) (NRC), שבו נאמר במפורש: "כקבוצה, קוטלי פטריות מצויים קשיים מיוחדים בפנינו בגלל 9 תרכובות מסרטנות המהוות כ-90% מכלל המכירות של קוטלי הפטריות בעולם". הדו"ח גם מצביע על כך שקוטלי פטריות היוו 60% מסה"כ הסיכון הפוטנציאלי של כלל חומרי ההדברה הגורמים לסרטן. עובדות אלו עוררו דאגה רבה בקרב העוסקים בשימור תוצרת חקלאית לאחר הקטיפה, בגלל החשש ששלטונות הבריאות ורישוי חומרי ההדברה יאסרו את השימוש בקוטלי פטריות בחקלאות. מאוחר יותר (1993) החריפו חששות אלה בעקבות דו"ח נוסף של NRC אשר הצביע על רגישות מוגברת של ילדים לחומרי הדברה סינתטיים. כל המידע המדאיג הזה תרם לחיפוש תחליפים לחומרי ההדברה המשמשים למניעת גורמי מחלות של צמחים בכלל וגורמי ריקבון של תוצרת חקלאית טרייה בפרט.

קיום מיקרואורגניזמים טבעיים לעיכוב גורמי ריקבון על פני הפרי והירק לאחר הקטיפה הוצע כבר לפני שנים רבות. תוצאות של ניסויי אחסון רבים בפרי הדר, שבהם שולב כביקורת פרי שלא קיבל כל טיפול, הצביעו על כך שהפרי הטבעי עמיד יותר לרקבון באופן יחסי. לדוגמה, בניסוי חצי מסחרי שנעשה באשכוליות שאוחסנו ב-11 מ"צ למשך 14 שבועות, התפתחו בפרי שלא קיבל טיפול רק 4%-5% רקבונות במשך האחסון, ואילו בפרי שעבר שטיפה זהירה במים וייבוש לפני האריזה והאחסון הגיע שיעור הרקבונות ל-37% (תמונה 2). תוצאות אלה הצביעו על כך ששטיפה עלולה להרחיק מעל פני הפרי מיקרואורגניזמים או גורמים אחרים, המקנים לפרי עמידות בפני רקבונות. בבחינת התכולה המיקרוביאלית של מי השטיפה של פירות הדר שנעשתה מיד לאחר הקטיפה נמצאה תכולה גבוהה של חיידקים ושמרים (תמונה 2). עם זאת, כאשר דגמו ממי השטיפה שנזרעו בצלחות פטרי - לא התפתחו פטריות חוטיות מסוג הפטריות הגורמות רקבונות של פירות וירקות לאחר הקטיפה. הסתכלויות אלה חיזקו את ההנחה כי על פני הפרי עשויים להימצא מיקרואורגניזמים הפועלים כאנטגוניסטים טבעיים של גורמי הריקבון, ומשום כך עשוי הפרי הבלתי-מטופל לשמש גם כמקור לבידודם של אנטגוניסטים אלה.

השימוש הפוטנציאלי במיקרואורגניזמים טבעיים המבוסס על המיקרוביום למניעת התפתחות פתוגנים לאחר הקטיפה, דווח



לאור המתואר לעיל, אנו עדים לעובדה שלמרות שפיתוח המוצרים היה מוצלח - הפוטנציאל המסחרי המלא שלהם, כפי שנמדד היום על ידי מידת השימוש בהם בשוק, עדיין מוגבל יחסית. יש לכך גורמים רבים שהעיקריים הם:

1) חוסר עקביות ברמת ההדברה בהשוואה לתכשירים הכימיים, המספקים יעילות שנעה בין 98%-100%. רמה זו, מושגת רק לעתים רחוקות בעזרת מוצרי הדברה ביולוגיים כאשר הם משמשים כטיפול עצמאי. לכן חשוב לדון במרכיבים שהם קריטיים לפיתוח מוצר, ביעילות ההדברה בתנאים מסחריים ובכדאיות הכלכלית.

2) יש חשיבות רבה לתכנון קפדני של סוג וייעוד המוצר החל משלבי המחקר הראשונים וכלה בפיתוח הפרומולציה, הייצור ההמוני וצורת המוצר הסופי.

3) יש חשיבות רבה לשותף האסטרטגי המסחרי, אשר בסופו של דבר יכולתו להחדיר את המוצר לשוק תקבע את ההצלחה או הכישלון.

כפי שתואר לעיל, המחקר על שימור תוצרת חקלאית טרייה התמקד בבידוד מיקרואורגניזמים משטח הפנים של הפרי/ירק ובסלקציה במערכות מודל מעבדתיות של חיידק, פטריה או שמר בעלי יכולת עיכוב הדבקה והתפתחות פתוגנים. בהקשר זה הנחת היסוד היא שאם אנו נחזיר את האנטגוניסט במספרים גבוהים לתוצרת הקטופה, אזי הוא ידחק את גורם הריקבון באמצעות מגוון מנגנוני פעולה (תחרות על חומרי מזון, הפרשה של חומרים מעכבים, השראת עמידות). הבעיה בגישה זו היא התעלמות מתפקידן של אוכלוסיות אחרות של מיקרואורגניזמים ומהשפעתן על הדינמיקה של התפתחות פתוגנים ועל התבססותן של המדביר הביולוגי על הפרי או הירק. אי לכך איננו מבינים עד היום מהם הגורמים המעורבים בירידה ביעילות ההדברה הביולוגית ובאי הדירותה בתנאים מסחריים.

חקר המיקרוביום כאמצעי לפיתוח גישות חדשניות לשימור מזון טרי

התפתחות טכנולוגיות ריצוף ה-DNA ו-RNA הביאה לשינוי דרמטי ביכולות שלנו לחקור את כלל אוכלוסיות המיקרואורגניזמים בבת אחת וללמוד את ההרכב והדינמיקה שלהן בבתי גידול שונים. התפתחויות אלו הניבו מסה אדירה של מידע גנומי, והצפי הוא שהמאגר המטאגנומי יהיה גדול יותר ממאגר רצף הגנומים

(ריזוספירה) ובחלקים העל-קרקעיים של הצמח (פילוספירה), הסביבה לאחר הקטיף פשוטה יותר וניתנת לשליטה ביתר קלות בכל הקשור לטמפרטורה, לחות, המצב הפיזיולוגי של התוצרת ורמת האוכלוסייה של האנטגוניסטים המיושמים על שטח הפנים של הפרי (קרפוספירה) או הירק. לכן סיכויי ההצלחה הם הרבה יותר גבוהים. מחקר משותף של קבוצת המחקר שלנו במנהל המחקר החקלאי במכון וולקני ושל הקבוצה האמריקנית ב-USDA שארך כ-10 שנים, הניב את המוצר המסחרי הראשון להדברה ביולוגית של גורמי ריקבון לאחר הקטיף. מוצר זה היה מבוסס על תבדיד של שמר טבעי (*Candida Oleophila*), אשר עד שנת 2000 שווק בישראל ובארה"ב תחת השם המסחרי *Aspire™* על-ידי חברה אמריקנית (Ecogen Inc.). מאחר שחברה זו נסגרה בעקבות קנייתה על-ידי חברה בינ"ל, הופסק המשך הייצור והשיווק של המוצר. חשוב לציין שתוצאות מחקר משותף זה, שהתפרסמו בעיתונות המקצועית הבינלאומית, הניחו את התשתית וסיפקו את הרעיון הראשוני שהביא בעקבותיו שפע של פעילות מחקרית ופיתוח של מוצרים נוספים, בנוסף למאות פרסומים בנושא מדי שנה בעולם. מספר שנים לאחר השקת תכשיר ה-*Aspire™*, פותחו שני מוצרים נוספים בארה"ב ובדרום-אפריקה: *Biosave* ו-*YieldPlus*, המבוססים על החיידק *Pseudomonas Syringea* והשמר *Cryptococcus albidus* בהתאמה. תכשיר ה-*Biosave* המורשה בארה"ב נמצא עדיין בשימוש מוגבל למניעת ריקבונות לאחר הקטיף של בטטות ואגסים, בעוד שהשימוש בתכשיר ה-*YieldPlus* הופסק לאחר מספר שנים בשל נתח שוק קטן וחוסר רווחיות של החברה.

המחקר והפיתוח בנושא המשיך ביתר שאת בשל העניין הרב והצורך באמצעי הדברה ירוקים. דבר זה הביא לפיתוח שורה ארוכה של מוצרים נוספים, שחלקם קיבל רישוי לשימוש במדינות רבות בעולם, כולל אירופה וארה"ב. על מוצרים אלה נמנים שלושה מוצרים מבטיחים אשר קיבלו לאחרונה רישוי לשימוש באירופה (טבלה 1) והמבוססים על שמרים: *Metschnikowia fructicola*, *Nexy (Candida) "Shemer"* ו-*BoniProtect (oleophila Aureobasidium pullulans)*. שלושה מוצרים נוספים פותחו בספרד ודרום-אפריקה עד לשלב של תוארית (פורמולציה) ומוצר סופי, אך נפלו בדרך בגלל חוסר עניין מסחרי (Droby et al., 2016).



טבלה 1: מוצרים להדברה ביולוגית של גורמי ריקבון של תוצרת חקלאית טרייה

מוצר	חומר פעיל	ארץ/חברה	רישוי לשימוש
Aspire	<i>Candida oleophila</i>	Ecogen	תפוחים, אגסים, פרי הדר, תות-שדה
YieldPlus	<i>Cryptococcus albidus</i>	Lallemand	תפוחים, אגסים, פרי הדר
Candifruit	<i>Candida sake</i>	IRTA/Sipcam-Inagra	תפוחים, אגסים, פרי הדר
Biosave	<i>Pseudomonas syringae</i>	Jet Harvest	תפוחים, אגסים, פרי הדר, תות-שדה, תפוח-אדמה
Avogreen	<i>Bacillus subtilis</i>	South Africa	אבוקדו
Nexy	<i>Candida oleophila</i>	Belgium/Leasafree	תפוחים, אגסים, פרי הדר
BoniProtect	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Austria	תפוחים, אגסים
Pantovital	<i>Pantoea agglomerans</i>	IRTA/Sipcam-Inagra	תפוחים, אגסים
Shemer	<i>Metschnikowia fructicola</i>	Bayer/Koppert	תפוחים, אגסים, פרי הדר, תות-שדה, פירות גלעיניים

אם ננסה לצאת מאופן החשיבה הלינארי ונסתכל על הצמח/ המוצר הטרי לאחר הקטיפה מנקודת מבט רב-מערכתית, נגלה את מורכבות המערכת שבה המיקרוביום מעורב בכלל התהליכים הקשורים להתפתחות פגעים וגורמי ריקבון בפרי או הירק לאחר הקטיפה. להדגמה של מורכבות העולם המיקרוביאלי של פירות ביצענו לאחרונה, במעבדתנו במכון וולקני בשיתוף עם חוקרים אמריקנים (Abdelfattah et al., 2016), עבודה מטאגנומית על תפוחים אורגניים ולא אורגניים. מעבודה זו התבררו הממצאים הבאים:

- 1) חלקים שונים של התפוח, שיש להם מורפולוגיה והרכב ביוכימי שונה (עוקץ, קליפה, ציפה, פיטם), מכילים הרכב שונה של אוכלוסיות מיקרואורגניזמים;
- 2) השונות (המספר הכללי של המינים או שונות אלפא - alpha diversity) בתפוחים אורגניים וקונבנציונליים דומה, אבל ההרכב של המינים שונה;
- 3) הימצאות מספר רב של מיני פטריות, במיוחד שמרים, שלא דווחו בעבר כמאכלסים של תפוחים. המעניין הוא שאוכלוסיות המיקרואורגניזמים באזור העוקץ והפיטם של הפרי התקבצו ביחד והיו שונות מאלה שנמצאו בקליפת הפרי או הפצעים שנעשו בקליפה (תמונה 3).

של מיקרואורגניזמים בודדים שכבר קיים. כמו כן היכולות שלנו לחקור פרופילים מטבוליים ופרוטיאומיים הולכות ומשתפרות ככל שהכלים החישוביים הופכים זמינים יותר. בקרוב יהיה צורך לעבור משלב תיאור ההרכבים של האוכלוסיות לשלב הבנה מעמיקה יותר של העקרונות השולטים בהתהוות, בדינמיקה ובתפקוד האוכלוסיות השונות. כל זה יהיה אפשרי אם נוכל לאמץ גישות חדשניות של ביולוגיה מערכתית (system biology) ובמיוחד של פיתוח מודלים מתמטיים וחישוביים ללימוד יחסי הגומלין בין המרכיבים השונים והדינמיקה שלהם באוכלוסייה מסוימת של מיקרואורגניזמים. חשוב להדגיש את הצורך בפענוח מנגנון האותות הכימי המעורב ביחסי הגומלין של מיקרואורגניזמים - בינם לבין עצמם ובינם לבין המאכלסים שלהם (Massart et al., 2015).

היום מבינים שרקמות צמחיות מאוכלסות על-ידי קונסורציום (קבוצה שיתופית) של מיקרואורגניזמים, כאנדופיטיים וכאפיטיים, המייצרים מטבוליטים והמשפיעים על הפיזיולוגיה והבריאות הצמח באופן ישיר או עקיף. ההבנה של השפעות אלו ושל ניצולן לשימור ולשיפור איכות הפירות והירקות עדיין לא נחקרה. עד כה עסק המחקר ברובו באפיון מיקרואורגניזמים יחידים שניתן לבדוד מחלקי הצמח השונים ואשר מהווים כ-1% מסה"כ המיקרואורגניזמים הקיימים בפועל.

מקורות ספרות

Abdelfattah, A., Wisniewski, M., Droby, S. and Schena, L. (2016). Spatial and compositional variation in the fungal communities of organic and conventionally grown apple fruit at the consumer point-of-purchase. *Horticulture Research* 3, .doi.org/10.1038/hortres.2016.47.

Berg, G., Grube, M., Schlöter, M. and Smalla, K. (2014). Unraveling the plant microbiome: looking back and future perspectives. – *Front. Microbiol*, 5, 148

Berg, G., Rybakova, D., Grube, M. and Köberl, M. (2015). The plant microbiome explored: implications for experimental botany. *J. Exp. Bot.* doi:10.1093/jxb/erv466

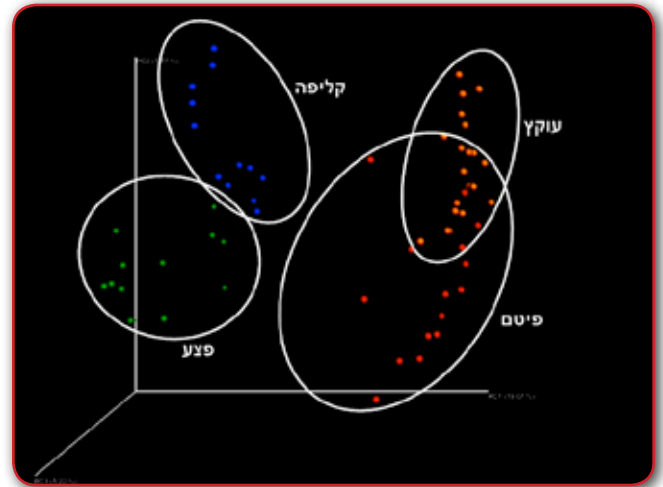
Droby, S., Wisniewski, M., Teixidó, N., Spadaro, D. and Jijakli M.H. (2016). The science, development, and commercialization of postharvest biocontrol products. *Postharvest Biol Technol*, 122; 22-29.

FAO report (2011). *Global Food Losses and Food Waste: Extent, Causes and Prevention*. FAO, 730 Rome. Available at: <http://www.fao.org/docrep/014/mb060e/mb060e.pdf> (Accessed on 7 April 2015)

Massart, S., Perazzolli, M., Höfte M., Pertot, I. and Jijakli M. H., (2015b). Impact of the omic technologies for understanding the modes of action of biological control agents against plant pathogens. *Biol. Cont.* 60, 725-746.

Schnürer, J. and Magnusson, J. (2005). Antifungal Lactic acid bacteria as biopreservative. *Trends in food science & Technology*, 16, 70-78.

מחקר זה סיפק מידע חשוב בנוגע למיקרוביום של חלקי התפוח השונים שהיווה בסיס לחקר התפקיד יחסי הגומלין של המרכיבים השונים הדומיננטיים במיקרוביום של חלקי הפרי השונים.



תמונה 3: פיזור סוגי האוכלוסיות של המיקרואורגניזמים באזורים שונים על פני תפוחי עץ.

המטרה הסופית היא פיתוח גישה חדשנית שתאפשר מניפולציה של המיקרוביום של פירות וירקות לאחר הקטיף לצורכי שימור ושיפור האיכות שלהם. בהקשר זה אנו חוקרים את ההשפעות של גורמים סביבתיים שונים על המיקרוביום כמו: שיטות הגידול, הזן, המיקום הגאוגרפי, האקלים וטיפולים לאחר הקטיף. תוצאות מחקר זה מאפשרות הסתכלות רחבה על נושא חשוב זה. הן פותחות אפיקים וגישות חדשניות לניצול השונות הגדולה של אוכלוסיות המיקרואורגניזמים לבנייה של אוכלוסיות או קונסורציום סינתטי של מיקרואורגניזמים אשר ביכולתם למנוע התפתחות גורמי ריקבון וזיהום, באופן ישיר ו/או באמצעות השראה של מנגנוני הגנה טבעיים בצמח.

כיום יש מחקרים בעולם המכוונים למציאת גנים המעורבים באכלוס או במשיכה של מיקרואורגניזמים מסוימים המועילים לחלקי הצמח השונים. החלום של המיקרוביולוגים הוא להעביר גנים אלו לצמחים ובכך להפוך אותם לעמידים למחלות או לבעלי יכולת גדילה טובה יותר בתנאי שדה שונים. לא ירחק הזמן וחלום זה יהפוך למציאות לאור ההתקדמות המדעית והטכנולוגית אשר משנה את כללי המשחק שהיו מקובלים עד עכשיו.