

# **השפעת השקיה על התבטאות תסמיני מחלת קיפול העלים בגפן ועל איכות הפרי**

**עבודת גמר מוגשת לפקולטה לחקלאות, מזון וסביבה ע"ש  
רוברט ה. סמית של האוניברסיטה העברית בירושלים לשם  
קבלת תואר "מוסמך למדעי החקלאות"**

**על ידי**

**ישי רושנסקי**

**טבת תשע"ד \ דצמבר 2013**

**רחובות**

**השפעת השקיה על התבטאות תסמיני מחלת  
קיפול העלים בגפן ועל איכות הפרי**

**עבודת גמר מוגשת לפקולטה לחקלאות, מזון וסביבה ע"ש  
רוברט ה. סמית של האוניברסיטה העברית בירושלים לשם  
קבלת תואר "מוסמך למדעי החקלאות"**

**על ידי**

**ישי רושנסקי**

**טבת תשע"ד \ דצמבר 2013**

**רחובות**

**עבודה זו נעשתה בהדרכתם של:**

ד"ר תרצה זהבי- שרות ההדרכה והמקצוע- משרד החקלאות.

פרופ' אמנון שוורץ, המכון למדעי הצמח והגנטיקה בחקלאות, הפקולטה למדעי החקלאות,  
מזון וסביבה ברחובות, האוניברסיטה העברית בירושלים.

## הבעת תודה

ברצוני להביע תודה בראש ובראשונה למנחים שלי: ד"ר תרצה זהבי משה"מ, משרד החקלאות ופרופסור אמנון שורץ מהפקולטה לחקלאות של האוניברסיטה העברית, על כל הידע שהעברתם לי לאורך התקופה ותמיד במקצועיות, בסבלנות וברוח טובה, זה לא מובן מאליו- תודה!

תודה לד"ר עומר קראין ממו"פ צפון על כל ההנחיה והעזרה בבדיקות המולקולריות.

תודה גדולה לחברים שסייעו לי לאורך כל התקופה, תמר סוקולסקי, אשרף פרחאת.,

תודה רבה לנועה מעוז מיקב רמת הגולן על כל העזרה.

תודה מיוחדת לשירי רוזנטל מיקב רמת הגולן, על כל העזרה בהכנת היין ביקב המיקרו, עזרה שתמיד לוותה בחיוך ובשמחה. תודה רבה!

תודה לצוות הייננים ביקב רמת הגולן על עריכת טעימת היינות של הניסוי.

תודה רבה לענת ולוויה ולכל צוות המעבדה ביקב רמת הגולן על כל העזרה .

תודה רבה להנהלת יקב רמת הגולן, שאפשרו לי ועודדו אותי לצאת ללימודים ותמכו בי לאורך כל התקופה, בהחלט לא מובן מאליו.

תודה רבה ליוני גל, פרופסור עמוס נאור, ד"ר גל ספיר, שלקחו חלק בניסוי ותרמו לי רבות מהידע הרחב שלהם.

תודה ליקבי כרמל ולראובן ללום שאפשרו לערוך את הניסוי בכרם שעל.

תודה לעמיחי ממו"פ צפון על העזרה בבדיקות הפוטוסינתזה.

תודה לסבא שלי- פרופסור אברהם מלינסקי ז"ל שסייע לי רבות ונפטר לפני כחודש- יהי זכרו ברוך.

תודה להורי היקרים על כל העזרה, הייעוץ, ההכוונה והתמיכה.

ואחרונים חביבים: תודה רבה למשפחתי האהובה שנותנים כל יום סיבה לחייך מחדש: לאשתי היקרה חני- שבלעדיה לא הייתי יכול לבצע את העבודה ושעודדה אותי בימים, לקדם את העבודה. לילדים המתוקים שלי יאיר ותמר, שעודדו אותי בלילות לכתוב את העבודה...

**מחקר זה נערך במסגרת "מיזם הווירוס" בתמיכת המדען הראשי של משרד החקלאות והמועצה לגפן היין.**

## תקציר

### השפעת השקיה על התבטאות תסמיני מחלת קיפול העלים בגפן ועל איכות הפרי

מחלת קיפול העלים (grapevine leafroll disease) נחשבת למחלה הנפוצה ביותר מבין המחלות הוויראליות בגפן. מחלה זו, מהווה בעיה כלל עולמית בכרמי היין וגורמת לנזקים כלכליים כבדים. המחלה פוגעת באיכות הענבים בכך שגורמת להבשלה בלתי אחידה של הפרי, ירידה בתכולת הסוכר בענבים וירידה ברמת הצבע ובאיכות היין. גיל הגפן, עונת השנה, צורת הגידול, תערובת הווירוסים הנמצאים בגפן הנגועה והטיפוס המדויק של הווירוס הנם חלק מהגורמים שיכולים להשפיע משמעותית על התפתחות התסמינים של המחלה. בדרך כלל, המחלה מתבטאת בהאדמה של העלים מלבד העורקים שלרוב נשארים ירוקים והתקפלות של שולי העלים כלפי מטה. בישראל, הווירוס העיקרי שנמצא כגורם המחלה הינו וירוס קיפול העלים 3 (Grapevine leaf roll-associated virus 3). הפתרון העתידי הוא החלפת הכרמים בנטיעות מחומר ריבוי נקי ומניעת הידבקות בשטח. היות ותהליך זה הינו יקר ואורך זמן רב, יש צורך למצוא דרכי התמודדות עם נוכחות הווירוס בכרמים קיימים. נראה כי ישנה שונות בהתבטאות התסמינים בין כרמים שונים ובין גפנים שונות באותו הכרם. מתצפיות הקדמיות נראה כי באזורים עם צימוח חזק יותר ישנם תסמינים חזקים יותר של המחלה. בשל כך הועלתה ההשערה כי ייתכן וקיים קשר בין רמת ההשקיה לעוצמת התבטאות התסמינים ולהשפעת המחלה על הפיזיולוגיה של הגפן ואיכות הפרי. בעבר, נעשו עבודות המראות את השפעת הווירוס על הפיזיולוגיה של הגפן ועל איכות הפרי וכן עבודות המראות את השפעתה של השקיה גרעונית מבוקרת על איכות הפרי. אך עד כה לא נעשו עבודות שבחנו את ההשפעות של טיפולים שונים בכרם נגוע על התבטאות התסמינים. לצורך כך הוקם ניסוי השקיה בכרם יין מזן "קברנה סוביניון" נגוע בוורוס. בניסוי זה נבחנו טיפולי השקיה קיצוניים והשפעתם על הופעת התסמינים. טיפול השקיה גבוהה (תא לחץ בין MPa 0.8 ל -0.6) וטיפול השקיה נמוכה (תא לחץ MPa -1.4 עד -1.2). מאחר וכיוון מחקר זה היה חדשני השתמשנו בטיפולי השקיה קיצוניים (כ- 400 קוב/דונם בטיפול ההשקיה הגבוהה, לעומת כ- 100 קוב שניתנו בטיפול ההשקיה הנמוכה) על מנת לוודא שבמידה וישנה השפעה של מצב המים היא תבוא לידי ביטוי. השפעת ההשקיה ניכרה באופן מובהק בצימוח שנמדד גם ע"י שקילות גזם וגם ע"י מדידות שטח עלווה, כאשר בטיפול ההשקיה הגבוהה הצימוח היה גבוה יותר. נמצא כי בטיפול ההשקיה הגבוהה התסמינים החלו להופיע מוקדם יותר, עוצמתם הייתה גבוהה יותר ואחוז העלים שביטאו תסמינים בגפן היה גבוה, לאורך כל עונת הגידול באופן מובהק ביחס לטיפול ההשקיה הנמוכה. כמו כן, ערב הבציר נצפה הבדל מובהק בחומרת התסמינים בין הטיפולים. בטיפול ההשקיה הגבוהה, כמעט כל העלים היו אדומים ואילו בטיפול ההשקיה הנמוכה רק כמחצית מהעלים. מבחינה פיזיולוגית ידוע כי הווירוס עשוי לפגוע ביעילות הפוטוסינתטית של הגפן. בעבודה הנוכחית, נמצא כי

בטיפול ההשקיה הנמוכה המערכת הפוטוסינתטית הייתה יעילה יותר, הן מבחינת קצב הולכת האלקטרונים והן מבחינת קצב הטמעת הפחמן בתהליך הפוטוסינתזה ביחס למוליכות הפיוניות. מוליכות הפיוניות הייתה גבוהה יותר בטיפול ההשקיה הגבוהה, אולם לא היה הבדל משמעותי בערכי הטמעת הפחמן בעלים שנבדקו. נראה כי הגפן לא ניצלה את משק המים המשופר ואת פתיחת הפיוניות על מנת לקבץ פחמן. כמו כן, נראה כי ישנו שיבוש ביחס התקין בין פוטנציאל המים בגזע לבין מוליכות הפיוניות. במעקב אחר ההבשלה נצפה שיפור בקצב התקדמות הבוחל, דבר המעיד על הבשלה אחידה יותר. בטיפול ההשקיה הנמוכה, הבוחל החל 10 ימים מאוחר יותר אולם התקדמותו הייתה מהירה יותר באופן מובהק. היבול לגפן בטיפול ההשקיה הגבוהה היה גבוה באופן משמעותי ביחס לטיפול ההשקיה הנמוכה, כאשר היבולים בטיפול ההשקיה הנמוכה הם מעט נמוכים, בין 3.5 ק"ג לגפן בעונת 2011 ל 3.8 ק"ג לגפן בעונת 2012 ובהשקיה הגבוהה 4.5 ק"ג לגפן ו 6 ק"ג לגפן בשתי העונות, בהתאמה. מבחינת מדדי האיכות של הענבים בבציר, נראה הבדל מובהק ומשמעותי בבריסק בין טיפולי ההשקיה הנמוכה והגבוהה (22.6 ו 18.7 אחוז סוכר, בהתאמה). כמו כן נמצא הבדל בריכוז הצבע בגרגר בין הטיפולים לטובת טיפול ההשקיה הנמוכה (5.85 מ"ג מלבידין/ גרם גרגר בהשקיה הגבוהה לעומת 11.01 מ"ג בנמוכה). כמו כן נמצאו הבדלי איכות משמעותיים ביין שהוכן משני הטיפולים לטובת טיפול ההשקיה הנמוכה. נמצאו הבדלים בריכוז הפנולים והאנטוציאנינים לטובת טיפול ההשקיה הנמוכה. בבדיקה ב Real-Time PCR לא נמצאו הבדלים בכמות הווירוס בין גפנים משני הטיפולים על אף ההבדלים המובהקים בהתבטאות התסמינים.

#### לסיכום:

בעבודה זו נמצאו לראשונה שישנה השפעה של ההשקיה על התבטאות התסמינים של הווירוס ועל איכות הפרי בכרם נגוע. בטיפול ההשקיה הגבוהה קצב הופעת התסמינים ועוצמתם היו גבוהים באופן מובהק מאשר בטיפול ההשקיה הנמוכה. בנוסף לכך, בהשקיה הנמוכה, למרות שהוחזקה בתנאי עקה, לא נצפתה ירידה במדדים הפיזיולוגיים של הגפן. יתרה מכך, היעילות הפוטוסינתטית הייתה גבוהה יותר. כמו כן על פי כל המדדים, איכות הפרי בטיפול ההשקיה הנמוכה נראית גבוהה יותר. קשה להפריד בין ההשפעות של עקת המים להשפעות של הווירוס, אולם, קיימים שינויים פיזיולוגיים שמתבטאים בהתבטאות התסמינים ובחוסר היעילות הפוטוסינתטית בטיפול ההשקיה הגבוהה ביחס לנמוכה. לכן, ניתן להסיק באופן ברור שהגפן לא מתפקדת כמו שהיינו מצפים שתפקד עם כל עקה בנפרד. כלומר, נראה כי ישנה אינטראקציה בין העקות שגורמת לגפן הנמצאת בעקת מים להגיב לנגיעות בוורוס באופן שונה מגפן הנמצאת במצב מים טוב יותר. נראה כי על ידי תכנון אסטרטגיית השקיה והתאמת מצב המים הרצוי בגפן בהתאם למצב הנגיעות, למצב המים

בקרקע ולשליבים הפנולוגיים בהתפתחות הגפן ניתן לשפר את האיכויות בכרמי יין נגועים  
בוירוס.

## תוכן עניינים

1.....	רשימת קיצורים ומושגים	1
2.....	מבוא	2
2.....	2.1 מחלות וירוס בגפנים	2.1
2.....	2.1.1 מחלת קיפול העלים	2.1.1
3.....	2.2 ההשפעות של וירוס קיפול העלים	2.2
3.....	2.2.1 גובה היבול	2.2.1
3.....	2.2.2 השפעה על איכות הענבים	2.2.2
3.....	2.2.2.1 השפעה על הצטברות הסוכרים	2.2.2.1
4.....	2.2.2.2 השפעה על הצטברות האנטוציאנינים	2.2.2.2
5.....	2.2.2.3 השפעה על pH וחמיצות כללית (titrable acidity)	2.2.2.3
6.....	2.2.2.4 השפעה על איכות היין	2.2.2.4
6.....	2.2.3 השפעות על הפוטוסינתזה	2.2.3
8.....	2.2.4 השפעות אנטומיות	2.2.4
8.....	2.2.5 השפעה על כנות ומערכת השורשים	2.2.5
8.....	2.2.6 השפעה על הגזע וצמיחת הנוף	2.2.6
9.....	2.2.7 השפעת הווירוס על גודל העלה	2.2.7
9.....	2.2.8 פנולוגיה	2.2.8
10.....	2.2.9 השפעה על אורך החיים של הגפן	2.2.9
10.....	2.3 השקיה בגפן	2.3
10.....	2.3.1 השפעת מים ואזור הגידול על איכות הגפן והתפתחותה	2.3.1
10.....	2.3.2 השלבים הפנולוגיים בהתפתחות הגפן והפרי ומצב המים הרצוי בהם	2.3.2
12.....	2.3.3 השקיית כרמים בעולם	2.3.3
13.....	3. חומרים ושיטות	3
13.....	3.1 מדידות הורטיקולטוריות:	3.1
13.....	3.1.1 שקילת גזם	3.1.1
14.....	3.1.2 מדידת שטח עלווה	3.1.2
14.....	3.2 ההשפעה על הפרי	3.2
14.....	3.2.1 מעקב בוחל	3.2.1
14.....	3.2.2 מעקבי הבשלה	3.2.2
15.....	3.2.3 מדידת ריכוז הצבע בענבים	3.2.3
15.....	3.2.4 נתוני בציר	3.2.4
15.....	3.3 הכנת יין	3.3



16.....	3.3.1 טעימת היינות.....
16.....	3.4 התבטאות תסמיני המחלה.....
16.....	3.4.1 מיפוי ויזואלי של תסמיני המחלה.....
17.....	3.4.2 בדיקת פיגמנטים בעלים.....
17.....	3.4.3 בדיקת נוכחות הווירוס.....
17.....	3.4.4 בדיקות מינרלים בעלים.....
17.....	3.5 מדידות פיזיולוגיות.....
17.....	3.5.1 פוטנציאל המים בגזע.....
18.....	3.5.2 פלורסנציה של הכלורופיל.....
19.....	3.5.3 פוטוסינטזה.....
19.....	3.5.4 מהלכים יומיים.....
19.....	3.6 ניתוח סטטיסטי.....
20.....	4. תוצאות.....
20.....	4.1 מנת המים המצטברת.....
20.....	4.2 מדדי צימוח.....
20.....	4.2.1 משקל גזם.....
21.....	4.2.2 מספר ועובי הזמורות.....
22.....	4.2.3 שטח העלווה.....
24.....	4.3 ההשפעה על הפרי.....
24.....	4.3.1 קצב התקדמות הבוחל.....
24.....	4.3.2 מעקבי הבשלה.....
25.....	4.3.2.1 מדידת החומצה בתירוש (TA).....
26.....	4.3.2.3 מדידת משקל גרגר.....
26.....	4.3.2.4 מדידת כלל מוצקים מסיסים בתירוש- בריקס.....
27.....	4.3.2.5 מדידת ריכוז הצבע בגרגר.....
28.....	4.3.3 נתוני בציר.....
28.....	4.3.3.1 ספירת אשכולות ומשקל יבול לגפן.....
29.....	4.3.4 הכנת היין.....
29.....	4.3.4.1 נתוני קבלה של התירוש.....
31.....	4.3.4.2 תוצאות היין.....
32.....	4.3.4.3 טעימת היינות.....
34.....	4.4 התבטאות תסמיני המחלה.....
34.....	4.4.1 מדידת קצב ותדירות הופעת התסמינים של המחלה.....

37.....	4.4.2 מדידות ביוכימיות.....
38.....	4.4.2.1 בדיקת פיגמנטים בעלים.....
38.....	4.4.2.2 ריכוז הווירוס בגפן.....
39.....	4.4.2.3 בדיקות ריכוז המינרלים בעלים.....
40.....	4.5 מדידות פיזיולוגיות.....
40.....	4.5.1 מדידת פוטנציאל המים בגזע.....
40.....	4.5.2 מדידת הפלואורסנציה של הכלורופיל.....
44.....	4.5.3 מדידת קצב קיבוע הפחמן.....
47.....	5. דיון.....
48.....	5.1 התבטאות תסמיני המחלה.....
50.....	5.2 ההשפעה על איכות הפרי והיין.....
51.....	5.3 השפעות פיזיולוגיות.....
52.....	6. סיכום ומסקנות.....
53.....	7. רשימת ספרות.....
60.....	8. נספחים.....

## 1. רשימת קיצורים ומושגים

- GLRaV - Grapevine leafroll-associated virus 1-9**
- GFkV - Grapevine Fleck Virus**
- GFLV - Grapevine fanleaf virus**
- Gs - Stomatal conductance**
- Pn - Net Photosynthesis**
- PPFD - Photosynthetic Photon Flux Density**
- ETR - Electron Transport Rate**
- VPD - Vapour Pressure Deficit**
- LAI - Leaf Area Index**
- RNA - Ribonucleic acid**
- PCR - Polymerase Chain Reaction, תגובת שרשרת של פולימראז,**
- Brix - (°Bx) – יחידת מדידה לריכוז הסוכר בתמיסה מימית**
- °C - מעלות צלזיוס, יחידה למדידת טמפרטורה**
- TA - Titrable Acidity**
- TPI - Total Phenol Index**
- ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay**
- RT PCR - Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction**



Golino (1993) הראה הבדלים בתגובות הגפן למחלה במיני *Vitis* שונים ובין גזעים של הווירוס, אך לא נמצאה ב *Vitis vinifera* עמידות ל GLRaV-3.

## 2.2 ההשפעות של ווירוס קיפול העלים

### 2.2.1 גובה היבול

נכתבו עבודות רבות על ווירוס קיפול העלים והשפעתו על היבול. מרבית העבודות דיווחו על פחיתה ביבול בגפנים נגועות לעומת גפנים שאינם נגועות. שיעור הירידה היה שונה משמעותית בעבודות השונות. לדוגמה בגפני "בורגר" נגועות בוורוס וללא דילול נוף (full crop), היבול במשך שתי עונות ירד ב 14% לעומת גפנים לא נגועות עם אותה רמה של דילול (Lider et al., 1975). לעומת זאת, בגפני "אלבנה" מודבקות, סכום היבול בשבע שנות המחקר ירד ב 73% עד 80% (Credi & Babini, 1997). בעבודה אחרת, הראו Cabaleiro & Segura (1996) כי GLRaV-3 פגע בהתפתחות הפרי וכתוצאה מכך גם נפגע גובה היבול, אך לא מצוין באיזו מידה. בעבודה שנעשתה בזן הפורטוגזי "טוריגה נאסיונל" מצאו כי נגיעות ב GLRaV-3 בנוסף לנגיעות ב GLRaV-1 גרמה לירידה משמעותית ביבולים (Moutinho - Pereira et al., 2012). לעומת עבודות אלה, בעבודות אחרות שנעשו בזנים "נבילול" ו"אלברינו" לא נמצא שינוי משמעותי בגובה היבול בין גפנים נגועות ובריאות (Guidoni et al., 1997, 2000, Cabaleiro et al., 1999). נראה כי לטווח הקצר אין הוכחות משמעותיות לפגיעה בגובה היבול כתוצאה מהנגיעות בוורוס.

### 2.2.2 השפעה על איכות הענבים

בשנים האחרונות חלה עלייה במודעות ליינות איכות, וכרמים ויקבים רבים משקיעים משאבים רבים בנטיעת כרמים מחומר ריבוי איכותי ונקי מווירוס בגלל חוסר הכדאיות בגידול של ענבים באיכויות נמוכות יותר. GLRaV-3 מוכר כבעל פוטנציאל לפגוע ביכולת לייצר יין איכותי במיוחד. מדדים כמו הצטברות סוכר, חומציות, אנטוציאנינים בענבים, ו pH הם מרכיבים קריטיים בייצור יין באיכות גבוהה (Bonfiglioli et al., 2002, Bonfiglioli & Stewart, 2005). לרוב, הווירוס פוגע במדדים אלו ולכן איכות הפרי נפגעת בכרמים נגועים בוורוס (Borgo, 1991., Borgo et al., 2002, 2003. Cabaleiro et al., 1999, Mannini et al., 1998, 1999).

#### 2.2.2.1 השפעה על הצטברות הסוכרים

כבר בעבודות מוקדמות, Goheen (1959) מצא כי רמת הסוכר בגפנים נגועות נמוכה יותר מאשר בגפנים בריאות, אך לא היה ברור מה המנגנון האחראי לכך. כיום ישנן עשרות עבודות שמדווחות על ווירוס קיפול העלים והשפעתו על רמות הסוכר בפרי. ברוב העבודות נמצא כי יש ירידה משמעותית ברמת הסוכר בפרי לעומת פרי מגפן לא נגועה

( Schoeffling, 1980, Ueno et al., 1985, Borgo, 1991., Borgo et al., 2002,2003, )  
זה (Kim et al., 2003,Wolpert & Vilas, 1992, Cabaleiro et al., 1996,1999  
יכול להגיע עד 5 יחידות בריקס (Over De Linden & Chamberlain, 1970). עם זאת,  
ישנן מעט עבודות בהן לא מצאו הבדל ברמת הסוכר בין גפנים נגועות לבריאות  
(Credi & Babini, 1997 Guidoni et al., 1997, Mannini et al., 1994). מספר חוקרים  
ציינו שהבדלים לא משמעותיים ברמת הסוכר יכולים להיות קשורים להבדלים שנמצאו בגובה  
היבול בין גפנים בריאות ונגועות (Lider et al., 1975, Kliewer & Lider, 1976).  
בקליפורניה מצאו שע"י הפחתת היבול למחצית בגפנים נגועות בוורוס, התקבלה רמת סוכר  
דומה לזו שהתקבלה בגפנים בריאות שנשארו יבול כפול (Lider et al., 1975).  
בהסתמך על תוצאות של עבודות רבות אלו, נראה שווירוס קיפול העלים גורם לפגיעה  
ביכולתה של הגפן לאגור סוכר בפרי ובכך מעכב את הבשלתו. בתנאי אקלים קרים, בהם  
הבשלת הענבים מתרחשת בסתיו המאוחר, העיכוב יכול לגרום לאי הבשלה של הענבים.  
בתנאים כאלה, לכל גורם שמעכב את ההבשלה יש השלכות כלכליות חמורות (Cabaleiro  
& Segura, 1996). בעבודה שנעשתה באירופה, Walker וחבריו (2004) הוכיחו שרמת  
הסוכר הנמוכה בענבי יין מהזן "אלברינו" מגפנים נגועות בוורוס גורמת לירידה דרמטית  
בהכנסות של המגדל. בזן "בורגר", נגיעות בוורוס קיפול העלים עיכבה את הבשלת הפרי  
ביותר מחודש (Lider et al., 1975). באותה עבודה הראו שאפשר להתגבר על עיכוב זה ע"י  
דילול היבול בחצי, בגפנים נגועות. למרות שטיפול דרסטי כזה אינו כדאי מבחינה כלכלית,  
הוא מראה שיש אפשרות להקטין את השפעות GLRaV-3 על ידי טיפולים אגרוטכניים.

#### **2.2.2.2 השפעה על הצטברות האנטוציאנינים**

קיים קשר הדוק בין הצטברות הסוכרים להצטברות האנטוציאנינים בזמן הבשלת הענבים  
(Mullins, et al. 1992). בגפנים נגועות, רמת האנטוציאן בענבים, במספר זנים, ירדה  
משמעותית לעומת גפנים בריאות ( Kim et al., 2003, Borgo et al., 2002, 2003 )  
(Mannini et al., 1994,1996,1999, Guidoni et al., 1997). בעבודה נוספת שנעשתה  
באוסטרליה השוו את ההשפעה של גזעים שונים של הווירוס שנאספו מכרמים שונים, על  
הבשלת הפרי בזן המאכל "אמפרור" (Krake, 1993). בעבודה זו, כל הגזעים של הווירוס  
שנבדקו הורידו בצורה משמעותית את הצבע בפרי לעומת פרי מגפני "אמפרור" בריאות.  
בעבודה שנעשתה בזן "טוריגה נאסיונל" נצפתה ירידה של כ 50% באנטוציאן בגפנים נגועות  
ב-GLRaV-1 ו-GLRaV-3 (Moutinho - Pereira et al., 2012). התובנה שעולה מכלל  
המחקרים היא שרמות אנטוציאנין הצטברו בעינב בקצב מהיר יותר בגפנים בריאות מאשר  
בנגועות. בנוסף, Guidoni וחבריו (1997) הראו שרמות האנטוציאן בעינב בגפנים נגועות  
לא הגיעו לרמות שבגפנים הבריאות, למרות שהגפנים הנגועות נבצרו שבוע לאחר הגפנים  
הבריאות. הסבר אפשרי להקטנת רמת האנטוציאנין בעינב בגפנים נגועות יכול להיות קשור

להשפעות של הווירוס על הפעילות האנזימטית של סינתזת האנטוציאנינים (Guidoni et al., 1997a). לירידה ברמת האנטוציאנינים בעינב, יש השפעה משמעותית על איכות היין האדום בכלל ויינות פרימיום בפרט (Mannini et al., 1994, 1996).

### 2.2.2.3 השפעה על pH וחמיצות כללית (titrable acidity)

החומצה הכללית וה-pH הם שני מדדים המשפיעים על איכות היין. במהלך ההבשלה ישנה מגמה של ירידה בחומצה הכללית בענב ועליה ב-pH. בעבודות רבות מדדו ישירות את pH התירוש. למרות שהעבודות נעשו בגפנים בגילאים שונים, במספר זנים ואזורי גידול ובגפנים המורכבות על כנות שונות, נמצא בדרך כלל ש-pH התירוש היה נמוך יותר בפרי מגפנים נגועות בוורוס לעומת זה שהופק מגפנים בריאות (Credi & Babini, 1997, Mannini et al., 2000, Guidoni et al., 1999, al.). בניגוד לכך, ישנן עבודות אחרות בהן לא היה הבדל משמעותי ב-pH התירוש (Cabaleiro & Segura, 1996, Guidoni et al., 1997). בעבודה שנעשתה בארה"ב, הושוו גפנים מזן "ידל בלנק" בריאות, לנגועות ב-GLRaV-3 בלבד ולנגועות ב-GLRaV-3 ווירוס נוסף GFkV (Grapevine Fleck Virus) שנחשב בד"כ לוורוס לא משמעותי. לא נמצאו הבדלים משמעותיים ב-pH בין הגפנים הבריאות והגפנים הנגועות רק ב-GLRaV-3. לעומת זאת, בגפנים שהודבקו ב-GLRaV-3 ו-GFkV הייתה ירידה משמעותית ברמת ה-pH בתירוש (Kovacs et al., 2001). תוצאה דומה נמצאה באיטליה בזנים "אלבנה" ו"טרביאנו רומגנולו" (Credi & Babini, 1997). ה-pH בתירוש מגפנים בריאות של שני הזנים הושווה עם תירוש של אותם הזנים מגפנים נגועות ב-GLRaV-3 וב-GFLV או ב-GLRaV-3 בלבד. במשך 6 שנים, ה-pH הממוצע בגפנים הבריאות מהזן "אלבנה" היה גבוה יותר מאשר בגפנים הנגועות. בניגוד לכך, ב"טרביאנו רוגנולו", לא נמצאו הבדלים משמעותיים ברמות ה-pH בין גפנים בריאות ואלו שהודבקו. נעשו עבודות רבות שבדקו את השפעת הנגיעות בוורוס קיפול העלים על רמת החומצות המטוטרת בפרי. כאשר נבדק תירוש מגפנים נגועות בוורוס ונתוניו הושוו לתירוש מגפנים שאינן נגועות, נמצאה רמה גבוהה יותר באופן משמעותי של חמיצות (0.2-1.3 גר' לליטר), בתירוש מגפנים נגועות לעומת גפנים בריאות (Borgo et al., 1991, 2003, Clingeffer & Krake, Hale & Woodham, 1979, Cabaleiro & Segura, 1996, Mannini et al., 1997, 1992). בניגוד לכך, תוצאות מעבודות אחרות (Mannini et al., 1994, 1996) הראו שאין הבדלים בחמיצות הכללית בין הגפנים הנגועות והבריאות. בהתבסס על התוצאות של רוב העבודות, ניכר שרמות החמיצות הכללית היו גבוהות יותר בנוכחות הווירוס. לעומת זאת, נעשתה עבודה באיטליה, המראה כי החמיצות שנמצאה בגפנים בריאות הייתה משמעותית גבוהה יותר מזו של שני טיפולים שהכילו תערובת של GLRaV-3 ווירוסים נוספים (Credi & Babini 1997). נתונים אלו ככל הנראה קשורים

ליבול הנמוך באופן משמעותי בגפנים נגועות לעומת בריאות שהשפיע גם על מדדים איכותיים אחרים בגפן, כגון הצטברות הסוכרים.

#### 2.2.2.4 השפעה על איכות היין

מעט עבודות חקרו את השפעות הווירוס על התוצר הסופי – היין. אנליזות ספקטרוגרפיות והערכות חושיות הראו בכל העבודות שאיכות היין מגפנים נגועות הייתה ירודה לעומת היין מגפנים בריאות (Ueno et al., 1985, Over de Linden & Chamberlain, 1970, Mannini et al., 1998). בנוסף לכך, Mannini וחבריו (1998) טענו שיין שיוצר מגפני "נבילול" בריאות הכיל בשומת (bouquet) יותר מורכבת, וכן טעם וצבע יותר טוב ועוצמתי בהשוואה ליין שהופק מגפנים שנגועות ב GLRaV-3 וב viti-virus A.

#### 2.2.3 השפעות על הפוטוסינתזה

ההשפעות של הווירוס על הפעילות הפוטוסינתטית והפיגמנטית בגפנים נבדקה במספר עבודות. נמדדו פוטוסינתזה (Pn), קצב נשימה (E), מוליכות פיוניות (gs), תכולת כלורופיל (Chl) וקרטנואידים (Car) כמתואר בטבלה 1.

טבלה 1: השפעת הווירוס על מדדים פוטוסינתטיים

זן	וירוסים ניבדקים	Pn	E	Gs	פיגמנטים	ציטוט
אלברינו	GLRaV-3	-65%	-19%	ns		Cabaleiro et al. 1997
לאגרין	GLRaV-3	-65%	-48%	-59%	Car-22% Chl-38%	Bertamini et al. 2004
מלוואסיה	GFLV GLRaV-1,2,3	-45%		-44%	Chl-41% Car-29%	Sampol, Bota et al. 2003
LN33	GLRaV-3				Chl-18%- -40%	Kim et al. 2003
נבילול 415	GLRaV-3	-50%				Mannini et al. 1997
נבילול	GLRaV-3	-30%		עד -60%		Mannini et al. 1996
טוריגה נאסיונאל	GLRaV-3, GLRaV-1	-30%		-50%	עד -50%	Moutinho- Pereira et al. 2012



בשיתלי "קברנה סוביניון" שגדלו בעציצים *in vitro*, נמצאה ירידה בתכולת הכלורופיל והקרנואידים בצמחים נגועים בוירוס לעומת כאלו שאינם נגועים בוירוס (Hristov & Abrasheva, 2001). לעומת זאת, בזן "אלברינו" (זן לבן) שגודל בתרבית, לא נמצאו הבדלים בפיגמנטים בין צמחים נגועים ב-GLRaV-3 לבריאים (Gonzalez et al., 1997). תוצאות אלו עולות בקנה אחד עם ניסוי נוסף בזן "אלברינו", בו לא נמצאו שינויים בערכי הפוטוסינתזה נטו, מוליכות הפיוניות והנשימה (Cabaleiro et al., 1997). בניגוד לכך, בניסוי שנערך בזן "מלוואסיה" בשיתלים שגדלו בעציצים, צמחים נגועים ב-GFLV (Grapevine fanleaf virus) וב-GLRaV-1,2,3 (בהדבקה משולבת), הראו ירידה של עד 45% בפוטוסינתזה נטו - תלוי בגיל העלה, ירידה במוליכות הפיוניות בכ-44%, בתכולת הכלורופיל ב-41% ובקרנואידים ב-29% (Sampol, Bota et al., 2003). בניסויים אחרים (Cabaleiro et al., 1997, 1999), נצפתה ירידה ב פוטוסינתזה בשיעור שבין 53% ל-65%, ללא שינויים משמעותיים בנשימה או במוליכות הפיוניות, בין גפנים בשטח שהיו נגועות ב-GLRaV-3, לבין כאלו שלא היו נגועות בוירוס. ירידה דומה בפוטוסינתזה נמצאה גם כאשר הייתה נגיעות ב-GLRaV-3 בשילוב עם ווירוסים נוספים (Guidoni et al., 1997) וזה לווה לרוב בירידה בנשימה, מוליכות הפיוניות, תכולת הכלורופיל והקרנואידים (Bertamini et al., 2004, Mannini et al., 1996). בכל אופן, ברור שבכל המצבים, הפוטוסינתזה ירדה ב-25% ובמקרים מסוימים אפילו ב-65%. רמה זו של דיכוי משפיעה ישירות על הגדילה והיבול מכל ההיבטים. לא כל הגפנים הנגועות ב-GLRaV-3 מראות סימנים של התקלות העלים. בניסויים שנערכו בזן "מלוואסיה" (Sampol et al., 2003) ו"אלברינו" (Cabaleiro et al., 1999), נצפה כי בגפנים שהראו תסמינים של התקלות העלים ערכי הפוטוסינתזה נטו ירדו בין 48% ל-59%, בהשוואה לגפנים שלא הראו תסמינים, אך היו נגועות בוירוס. כלומר, הופעת התסמינים בגפנים נגועות השפיעה לרעה על הפעילות הפוטוסינתטית שלהן. אולם, בניגוד לכך, ישנן תוצאות שמראות שהפוטוסינתזה נטו יורדת בגפנים עם GLRaV-3 למרות שעדיין לא נראים תסמינים חיצוניים (Guidoni et al., 1997, Mannini et al., 1997). בעבודה שנעשתה בזן "נבילול", ראו שבגפנים נגועות ב-GLRaV-3, הפוטוסינתזה נטו נפגעה כבר בתחילת העונה, הרבה לפני הופעת התסמינים של התקלות והאדמת העלים (Mannini et al., 1996). משתמע מכך, שהיכולת הפוטוסינתטית הנמוכה יכולה להשפיע על הגפנים עוד לפני שהכורם מודע לבעיה. בעבודה שנעשתה על הזן הפורטוגזי "טוריגה נאסיונאל", מצאו שישנה ירידה בפוטוסינתזה של הגפן כאשר היא נגועה בוירוס לעומת גפנים שאינם נגועות בו (Moutinho-Pereira et al., 2012). השפעת דישון על הפעילות הפוטוסינתטית נבדקה בניסוי אחד בשטח והתברר שהשימוש בהזנה עלוותית הקטין את השפעת המחלה על ערכי הפוטוסינתזה נטו ומוליכות הפיוניות (Sampol et al., 2003). מעניין בהקשר זה שבניסיונות בגולן לא נמצאה השפעה של הזנה עלוותית על התבטאות תסמיני המחלה או איכות הפרי (מוואסי, מ. 2013).

#### 2.2.4 השפעות אנטומיות

ווירוסי קיפול העלים שוכנים בשיפה (Mannini et al., 2000, Pietersen, 2004). נצפתה התנוונות של תאי פלואם בעלים ובד"כ זה לווה בהצטברות של עמילן בעלים, ככל הנראה, בגלל עיכוב של יצוא פחמימות. דבר זה יכול בתורו להוות מנגנון משוב שבו הפעילות הפוטוסינתטית מופסקת בעלים נגועים. סימני התנוונות דומים לא נראו בצינורות השיפה בשורשים ובשריגים (Hoefert & Gifford, 1967).

#### 2.2.5 השפעה על כנות ומערכת השורשים

ישנם מחקרים מעטים שבדקו את השפעת GLRaV-3 על מערכת השורשים. (Gonzalez et al., 1995) מצא כי בשתילים מהזן "אלברינו" שגדלו במעבדה, ההדבקה ב GLRaV-3 לא השפיעה על מספר ההסתעפויות שהשורש יצר, או על מספר השורשים שנוצרו מהסתעפות אחת. אולם ההדבקה ב GLRaV-3 הקטינה את אורך השורש ב 43%. כמו כן, הראו Hristov & Abrasheva (2001) כי במערכת השורשים של שתילי "קברנה סוביניון" מאולחים, אורך השורש היה קצר ב 13% ומסת השורש ירדה ב 18% וייצרה פחות תחילי שורשים (בכ- 17%) לעומת שתילים לא מאולחים. בזן "קברנה פרנק" שגדל על שורשיו בכרם, לא נמצאה השפעה של נגיעות ב GLRaV-3 על אורך השורש (Clingeffer & Krake, 1992). בכרמים מסחריים, גפנים נשתלות כצמחים מורכבים על כנות שהן הכלאות של מיני Vitis אמריקאים. כנות אלו אינן מראות תסמינים של קיפול עלים, למרות שהן יכולות להיות נשאות של הווירוס (Goheen, 1988). חוסר הופעת התסמינים אינו מעיד על סיבולת גנטית או על עמידות כלשהיא לוורוס (Kovacs et al., 2001). למרות שרוב המחקר על קיפול עלים נעשה בכרמים מסחריים, שרובם מורכבים, נעשו מעט מאוד עבודות על ההשפעה של הכנה. (Credi & Babini, 1996) מצאו שקצב הצימוח בשלושה זנים שגודלו על כנות שונות ירד בין 43% ל 90% כאשר הכנות הודבקו בוורוס GLRaV-3. השוני בפגיעה בקצב הצימוח היה תלוי בצירוף הווירוסים שהופיעו בנצר ובכנה. ישנה השערה שהווירוס יכול לגרום לאי התאמה graft incompatibility בגפנים, אך יש מעט מידע על כך עם GLRaV-3. Lider וחבריו (1975) לא מצאו שוני באיכות ההרכבה מחומר שנלקח מצמח בריא או מצמח נגוע בוורוס.

#### 2.2.6 השפעה על הגזע וצמיחת הנוף

ישנם מאמרים רבים המדווחים על ההשפעות של GLRaV-3 (לבד או בשילוב עם ווירוסים נוספים) על גידול חלקים וגטיביים של הגפן. רובם מתייחסים ל"גדילת הנוף" (בד"כ, משקל הגזם בזמירה או אורך השריגים), אך לעיתים גם למשקל הצימוח הרב שנתי, או רוחב הטבעות מסביב לגזע. Cabaleiro וחבריו (1996) הראו ירידה של 33% במשקל הגזם בזן

"אלברינו" בגפנים נגועות ב GLRaV-3. Guidoni וחבריו (1997) הראו ירידה של 15% במשקל הגזם בזן "נבילול" בגפנים נגועות בוורוס. נעשתה עבודה שבדקה את ההשפעה של הירידה בצימוח על המורפולוגיה של הגזע והכנה בגפני "קברנה סובינין", שגודלו בשדה ועברו זמירה קצרה (spur pruned). מספר הפרקים לשריג לא השתנה בגפנים הנגועות, אך אורך הפרקים בגפנים הנגועות, ירד ב 15% (Clingeffer & Krake, 1992). Woodham וחבריו (1983) מצאו שהירידה בגדילת השריגים, נעה בין 0 ל 50%, תלוי בעונה, מה שמרמז על השפעות הנובעות מתנאי הסביבה השוררים בעונה מסוימת. גם במינים אמריקאים והכלאות של מינים אמריקאים עם "וויניפירה" מצאו תופעות דומות. בעבודה עם הזנים "בקו A22" ו "מסיון" בניו זילנד, מצאו שקיפול העלים מקטין את גודל הגפן ב"מסיון" אבל לא ב"בקו" (Over de Linden & Chamberline, 1970). חשוב להדגיש כי חוסר הימצאות תסמינים בצמחים נגועים במחלת קיפול העלים אינו מרמז שהוורוס לא משפיע על הצמח מבחינה פיזיולוגית, בהשוואה לצמחים לא נגועים, אם כי לעיתים יש קורלציה בין עוצמת התסמינים לבין הפגיעה בגדילת הגפן. גדילת הנצר והכנה בגפני "סולטנינה" ו"קברנה פרנק" עם תסמינים חלשים של קיפול עלים, נפגעת פחות מאשר בגפנים עם תסמינים חריפים יותר (Clingeffer & Krake, 1992, Woodham et al., 1983).

### 2.2.7 השפעת הוורוס על גודל העלה

Sampol וחבריו (2003) מצאו שבזן "מלוזיה" שגדל בעציצים, הייתה ירידה של 25% במספר העלים וירידה ב 53% בשטח העלה בגפנים הנגועות בוורוס GLRaV-3 בשילוב עם וירוס נוסף - GFLV. הם גם מצאו שינויים משמעותיים בתכולת המינרלים בעלה, בין היתר עליה בנתרן וזרחן וירידה בסידן וחנקן.

### 2.2.8 פנולוגיה

לא פורסמו מאמרים שהוקדשו ספציפית לשינויים פנולוגיים בגפנים כתוצאה מהדבקה בוורוס GLRaV-3, אך מספר חוקרים הוסיפו נתונים מעטים במאמרים שלהם. ב "נבילול" מצאו שההתעוררות (bud break) הייתה מוקדמת יותר בגפנים נגועות (Mannini et al., 1999). לעומת זאת, ב"סולטנינה", "מסיון" ו"בקו A22", ההתעוררות בגפנים נגועות התאחרה (Woodham et al., 1984, Over De linden & Chamberline, 1970). למרות שמקשרים הדבקה ב GLRaV-3 והתעוררות (bud break) מוקדמת, Guidoni וחבריו (1997) מצאו בזן "נבילול", שהבוהל (veraison) נדחה בשבוע בגפנים נגועות. בזנים "מסיון" ו"בקו 22A", הפריחה עוכבה ב 10 עד 14 יום (Over De linden & Chamberline, 1970).

### **2.2.9 השפעה על אורך החיים של הגפן**

בספרות ניתן למצוא דעות שונות על השפעתה של מחלת קיפול העלים על אורך החיים של הגפן. Goheen (1988) טוען שאין השפעה. במאמר היחיד שמביא תוצאות מספריות, הדבקה ב-GLRaV-3 האריכה את אורך החיים בגפני "מרלו" (Borgo & Michelini, 2000). החוקרים משערים שהדבר נובע מעומס היבול הנמוך יותר בגפנים אלו. עובדה זו מחזקת את הטענה שעל ידי ניהול תקין וקביעת משטר נכון של דילולים וטיפול נוף בגפנים נגועות בוורוס, ישנה אפשרות להתגבר על השפעות שליליות של ההדבקה.

### **2.3 השקיה בגפן**

#### **2.3.1 השפעת מים ואזור הגידול על איכות הגפן והתפתחותה**

למשק המים של הגפן השפעה רבה על פרמטרים שונים בהתפתחות הגפן, כגון: הצימוח, הפוטוסינתזה, מוליכות הפיוניות וכמובן ההבשלה ואיכות הפרי (Williams, 2012), (Romero et al., 2010). נראה כי עד רמה מסוימת של הוספת מים אין פגיעה באיכות הענב והיין, גם כאשר יבול הענבים עולה. אולם, השקיה בכמויות גבוהות יותר של מים עשויה להעלות את יבול הענבים לרמות גבוהות העשויות לגרום לפגיעה באיכות הגרגרים, בעיקר בשל חוסר צבירת צבע, רמות סוכר נמוכות וחוסר יציבות בחומציות. החומרים המושפעים ביותר מההשקיה הם פוליפנולים, המשפיעים; על מבנה היין, יציבות הצבע, והתיישנות היין, כפי שהראו Olivo וחבריו (2008). מחקרים רבים מראים שאחד הגורמים העיקריים להבדלים באיכות הענבים בחלקות שונות באותו הכרם, הוא אסטרטגיית השקיה שונה (Nadal & Varnet, 2010). השקיה מבוקרת עקה, בהתאמה לשלבים הפנולוגיים של הגפן, עשויה לשפר את איכות הענבים במידה ניכרת. עם זאת, לעיתים, ישנה פחיתה ביבול בעקבות השקיה גרעונית קיצונית (Lopez et al., 2007, Chalmers et al., 2010).

#### **2.3.2 השלבים הפנולוגיים בהתפתחות הגפן והפרי ומצב המים הרצוי בהם**

מהלבלוב ועד הפריחה יש צורך במים להתפתחות השורשים והשריגים ולשמירה על תפקוד העלים (Nicholas 2004, Chaves at al., 2007). בתקופה זו, ברוב אזורי גידול הכרמים, תכולת המים בפרופיל הקרקע מגשמי החורף והאביב מספקת והצורך בהשקיה יהיה רק בשנים בהן יש מעט משקעים או בתנאי מזג אוויר קיצוניים (Nicholas, 2004, Walker (Nicholas, 2004, Chaves at al., 2007, Gibberd, 2002). עקת מים בתקופה זו יכולה לגרום לירידה בהתארכות השריגים ולהשפיע שלילית על הפריחה והחנטה, דבר שיוביל ליבול נמוך (Nicholas, 2004). השלב הראשון בהתפתחות הפרי הוא משלב הפריחה ועד אשכול צפוף. בשלב זה, יש צורך במים להתפתחות שורשים, תפקוד עלים והתפתחות הענב. עקת מים בשלב זה תוביל לחנטה נמוכה ואשכולות קטנים שיגרמו ליבול נמוך (Nicholas, 2004, Chaves, 2007). השלב השני הוא מאשכול צפוף ועד הבוחל, שלב שינוי הצבע

(veraison). בשלב זה, ישנה גדילה מאסיבית של התאים בגרגר וניתן לעיתים להשפיע על גודל הגרגר באמצעות משטר השקיה. ההשקיה תהיה תלויה בתכולת המים בקרקע ובאסטרטגיית הגידול. מחסור במים בשלב זה עשוי להיות מועיל, על מנת למנוע גידול וגטטיבי. במקרים רבים, הפחתה בגידול ווגטטיבי עד לשינוי הצבע רצויה בכדי להשיג מעבר טוב יותר לשלב ההבשלה (Nicholas, 2004, Chaves, 2007). משלב הבחול ועד הבציר, יש צורך במים בעיקר לתפקוד העלים, גדילת הענבים והבשלתם. עקת מים חמורה בתקופה זו מעכבת צבירת סוכרים ומשפיעה לרעה על התפתחות ואיזון חומרי טעם בענבים (Bravdo et al., 1985, Chalmers, 2007, Nicholas, 2004). המדדים העיקריים המבטאים את איכות הענב הנם: הפנולים- הצבע, כלומר כמות והרכב האנטוציאנינים שנצברו בהיפודרמיס הקליפה, הטאנינים, החומצות (מאלית וטרטארית), חומרי הטעם והארומה וכמובן, הבריקס- אחוז הסוכר שנצבר בענבים, שיהפוך בתהליך התסיסה לאלכוהול. ככל שהענבים באיכות גבוהה יותר, כך גם היין המתקבל ופוטנציאל השימור והיישון שלו גבוה יותר לאורך זמן, בין אם בחביות או בבקבוקים. עבודות שנעשו בזנים "שיראז" ו"קברנה סוביניון" הראו כי ישנו שיפור באיכות הצבע של יין איכותי במהלך ההתיישנות (Chalmers et al., 2010, Chaves et al., 2007). לאחר הבציר, דרושים מים להמשך גדילת השורשים ותפקוד העלים (Nicholas, 2004). עקה חמורה עלולה להוביל לנשירת עלים מוקדמת שתגביל את עתודות הפחמימות לעונה הבאה (Nicholas, 2004, Walker & Gibberd, 2002). רק לאחר הבנת הצרכים של הגפן בכל שלב וקביעת אסטרטגיית הגידול לכל כרם (המושפעת מאופי היין הרצוי), ניתן ליישם משטר מים יעיל. בנוסף להשפעות הישירות של מצב המים על הצימוח והתפתחות הפרי שאטטו לעיל, נמצאו בעבודות הקדמיות בגולן רמזים להשפעה של מצב המים על התבטאות תסמיני מחלת קיפול העלים (מואסי, מ., 2013).

#### בקרת השקיה

באזורים רבים שבהם הקיץ יבש, מווסתים את כמות המים שניתנת לגפנים באמצעות ההשקיה, כאשר ניתן למדוד ולהעריך את מצב המים של הגפן בשיטות שונות, כגון: תא לחץ- למדידת פוטנציאל המים בגזע, מדידת קצב התאדות המים מגיית, טנסיומטרים וחיישני גבס למדידת רטיבות הקרקע (Lopez et al., 2007, Chaves et al., 2007). שתי האחרונות אינן משקפות את מצב המים בגפן, אלא מעריכות אותו על סמך מצב המים בקרקע. מתן השקיה מתאימה, כלומר, תזמון מדויק של מועד ההשקיה וכמות המים, ממלא תפקיד מכריע לגבי כמות היבול ואיכותו. מחסור במים יכול להשפיע לטובה או לרעה, תלוי במצב הפנולוגי של הגפן ובמידת ומשך העקה. ישנן מספר אסטרטגיות השקיה אפשריות במהלך הגידול. לפי אסטרטגיית ההשקיה הנפוצה, כאשר הנוף מספיק גדול, כלומר, ישנם מספיק עלים על מנת לבצע פוטוסינתזה לצבירת הסוכרים בפרי, יש להצמיא באופן חלקי את הגפן. הצמאת הגפנים באופן מבוקר גורמת לעצירת הצימוח והוגטטיבי והשקעת האנרגיה והמוטמעים בתהליך ההבשלה בפרי.

### 2.3.3. השקיית כרמים בעולם

כרם בעולם הישן מגודל בשיטת "בעל" (ללא השקיה), במקרים רבים על קרקעות שוליות עם תאחיזת מים נמוכה. לכשני שלישים מאזורי גידול הגפנים בעולם, כמות משקעים נמוכה מ 700 מ"מ בשנה. יותר מכך, חלק גדול מכרמים אלו ממוקמים באזורים בהם תקופת היובש מקבילה לעונת גידול הגפנים (לדוגמה אזורים עם אקלים ים תיכוני). באזורים אלו, מחסור במים בקרקע וגירעון לחץ האדים גבוה (Vapour Pressure Deficit VPD) מהעלה לאוויר, הנובעים מיובש האוויר והטמפרטורה, משפיעים לרעה על היבול ולעיתים על האיכות (Flexas et al., 2010). גורם נוסף המשפיע על הצורך בהשקיה הוא חוסר בעתודות מים בפרופיל הקרקע (Williams et al., 2005). במדינות רבות בהן מגדלים כרמים, כגון קליפורניה ואוסטרליה, מקובל להשקות את הכרמים בגלל שיעור התאיידות גבוה וכמות משקעים נמוכה במשך עונת הגידול. בעת האחרונה החלו בהשקיית כרמים גם באזורי גידול מסורתיים באירופה, דבר זה גרם בין היתר להעלאת היבולים (Cifre et al., 2005). עבודות שונות הראו שחוסר מים בקרקע משפר את איכות הענבים ליין (Williams et al., 2005). שמירה על עקת מים מתונה בצמח יכולה לשפר את מבנה והרכב הגרגר ומצד שני למנוע גידול וגטטיבי עודף (Jones, 2004, Chalmers et al., 1986). בעבודות אלה ונוספות פותחה המדיניות של "השקיה גרעונית מבוקרת" (regulated deficit irrigation RDI) המקובלת היום בכרמים רבים. עם זאת, נמשך הדין בקביעת מידת העקה הרצויה בכל אחד משלבי ההתפתחות של הגפן, והשפעתה על איכות הפרי.

### 2.3.4 לסיכום

מהיכרותנו עם הכרמים בישראל, נראה שקיימים הבדלים ברמת התסמינים של המחלה בגפנים בין כרמים שונים, שנטעו מאותו חומר ריבוי, דבר שיכול להעיד על השפעה של ממשק גידול על התופעה. לעיתים רואים את ההבדלים באזורים שונים באותו כרם, במקרים רבים השונות מאופיינת במקביל, ברמת הצימוח של גפנים. מכאן הועלתה ההשערה שלרמת ההשקיה יש השפעה על מידת הופעת התסמינים של מחלת קיפול העלים. כיום, עדיין, רוב הכרמים בארץ נגועים בוורוס והחלפת הכרמים בכרמים נקיים מוורוס היא תהליך יקר מאוד ומורכב, שיארך עוד שנים רבות. מטרת העבודה הנוכחית היא לבחון את ההשפעה של משק המים בצמח על התבטאות תסמיני המחלה ועל איכות הפרי המתקבל.

### שאלת המחקר

האם ניתן להפחית את התסמינים של מחלת קיפול העלים על ידי השקיה מבוקרת והאם קיים קשר בין עוצמת התסמינים לאיכות הפרי?

### 3. חומרים ושיטות

א. חלקת המחקר.

המחקר בוצע בכרם של מושב שעל ברמת הגולן, בחלקה של 5 דונם מהזן "קברנה סובינין", מורכב על כנה "ריכטר 110". החלקה ניטעה ב 1999. מרווחי הניטעה הם: שלושה מטר בין השורות ומטר וחצי בין הגפנים בשורה. מערכת ההדליה כוללת חוט הדליה ראשי בגובה 90 ס"מ מעל פני הקרקע ושני זוגות של חוטי שילוב. שיטת העיצוב של הכרם היא שילוב שריגים אנכי (VSP - Vertical Shoots Position). הניסוי החל בתקופת הפריחה בעונת 2010 ונמשך עד חורף 2012-2013.

הטיפוליים השגרתיים בגידול הגפן שאינם קשורים לניסוי בוצעו כמקובל. החלקה כולה נגועה בוירוס קיפול העלים 3 ודרגת התבטאות התסמינים בינונית- גבוהה.

הניסוי כלל שתי רמות השקיה, גבוהה ונמוכה לאורך כל תקופת הגידול.

כמויות המים הדרושות נקבעו עפ"י מדידות תא לחץ. ההשקיה בטיפול "גבוה" הוגדרה בין MPa (-0.7) עד (-0.8), כשתחילת ההשקיה הייתה בכל מקרה לפני הפריחה. בטיפול "נמוך", פוטנציאל המים בעלים נשמר בין MPa (-1.2) ו (-1.4), עיתוי תחילת ההשקיה נקבע על פי מדידות תא לחץ.

מבנה הניסוי: בלוקים באקראי בחמש חזרות. כל חזרה ברוחב שלוש שורות, שורת מדידה במרכז ושורת גבול מכל צד.

- בכל חזרה 12 גפנים, שלוש גפנים מסומנות כגפני מדידה. גפני המדידה אינן גפנים קיצוניות בחזרה והן נבחרו כגפנים המייצגות את רוב החלקה. אם לא צוין אחרת, כל המדידות הפרטניות בוצעו בגפנים אלה.
- מדידות של פוטנציאל המים בגזע (stem water potential) בוצעו באמצעות תא לחץ, אחת לשבוע לפני ההשקיה המתוכננת. המדידות אפשרו לוודא שאנחנו ברמת ההשקיה הרצויה, אם היה צורך, תוגברה או הוחסרה השקיה על מנת לשמר את הגפן במצב המים בו היינו מעוניינים. המדידה נעשתה בשני עלים בכל חזרה.
- דישון- הדשן ניתן בעיקר לאחר הבציר, בכמות שווה לכל הטיפולים. סוג הדשן היה מקבוצת "עידית", בדרך כלל 6-0-9, לעיתים 6-3-9 בהתאם לבדיקות עלים ולהמלצות המדריכים.

#### המדדים אחריהם עקבנו במהלך הניסוי:

#### 3.1 מדידות הורטיקולטוריות:

##### 3.1.1 שקילת גזם

- בחורף, החלקה נזמרה לסעיפים באורך 2 עיניים, 14-16 סעיפים לגפן. הגזם של כל גפן נשקל, כאינדיקציה לעוצמת הצימוח של הגפן בעונה החולפת ונספרו הסעיפים

שהושארו על כל גפן. כמו כן, נספרו בנפרד הזמורות העבות (מעל 6 מ"מ קוטר) והדקות בכל גפן.

### 3.1.2 מדידת שטח עלווה

- אינדקס שטח העלווה (LAI) של הגפנים מחושב לפי השטח המוצל מתחת לגפן ונבדק בסוף השלב הראשון והשני של תקופת הגידול (סוף חנטה, וסוף הבוחל) כמדד לכמות העלווה.

אינדקס שטח העלווה הוא היחס בין שטח העלווה של הצמח לשטח הקרקע אותו הוא תופס. בגפן הוא מעיד על אורך השריגים וצפיפות העלים.

המדידות נעשו במכשיר - SunScan Canopy Analysis System, בעזרת מכשיר זה ניתן לבצע מדידה בלתי הרסנית של שטח העלווה (LAI) (Delta-T Devices, Cambridge, UK). המכשיר מורכב מגשש (Probe) - שרביט באורך 1 מטר המכיל 64 חיישני קרינה המודדים אור בטווח הפוטוסינתטי (PAR). בעזרת ה Probe מודדים את האור המועבר דרך הנוף, ע"י מדידה של הצל המוטל על ידי הגפנים. המדידה מתבצעת כשהשרביט מונח על הקרקע במקביל לשורת הגפנים. אינדקס שטח העלווה מחושב על סמך ממוצע של שמונה מדידות המתבצעות במרחק הולך ועולה משורת הגפנים, כל 20 ס"מ. בצורה זו המדידה מכסה רוחב של 1.5 מטר ומתקבל ערך המייצג את השטח המוצל ע"י הגפן.

כיול המכשיר נעשה ע"י Netzer וחבריו (2009) ע"י הסרות חלקיות של העלים, כאשר לאחר כל אחת מהם בוצעה מדידת LAI באמצעות ה-SunScan. העלים שהוסרו הובאו למעבדה ושטחם נמדד באמצעות סורק שולחני תוצרת LI-COR (Nebraska, USA) מודל LI-3100, Area Meter. נתקבל מתאם גבוה,  $r^2=0.982$ , בין שטח העלים הנמדד באופן ישיר באמצעות LI-3100 בעקבות כל הסרה, לבין הערכים שנמדדו באמצעות ה-SunScan.

## 3.2 ההשפעה על הפרי

### 3.2.1 מעקב בוחל

- אחד המדדים המעניינים לאפיון הבדלים בין טיפולים הוא מעקב בוחל. מתחילת חילוף צבע הענבים, אחת לשבועיים, נבדקו 10 אשכולות בכל גפן ודורגו לפי שיעור הגרגרים ששינו את צבעם. על מנת לשמור על עקביות בבדיקה נבדק האשכול הקרוב ביותר למרכז הגפן והאשכולות ממערב לו.

### 3.2.2 מעקב הבשלה

- בוצע מעקב אחר קצב ההבשלה של הענבים ע"י מדידת בריקס (אחוז הסוכר), pH וחומצה כללית (TA). הבדיקה נעשתה אחת לשבועיים על ידי לקיחת כ 100 גרגרים באופן הבא: מכל אחת משלוש גפני המדידה נדגמו כ 30 גרגרים. מכל גפן נדגמו מ 8 אשכולות מייצגים (4 בכל צד) 4 גרגרים לאשכול. (סה"כ 32 גרגרים לגפן).



הגרמים נשקלו לקבלת משקל גרגר ממוצע ונסחטו לקבלת תירוש על מנת למדוד את יתר מדדי ההבשלה.

- בדיקת ה pH נעשתה בעזרת מד pH (Seven Multi) Mettler Toledo, תוצרת סין.
- בדיקת ה-TA נעשתה באמצעות טיטרציה עם NaOH וחישוב החומצה הכללית כאילו כולה חומצה טרטריית, במכשיר (Titrimo plus 848) Metrohm, תוצרת שוויץ.
- בדיקת הברינקס נעשתה באמצעות מכשיר Anton Paar (DMA 35) version 3 תוצרת אוסטריה.

### 3.2.3 מדידת ריכוז הצבע בענבים

- בנוסף לנתוני התירוש שנמדדו במסגרת מעקב ההבשלה, נבדק בבציר גם צבע הענבים בהתאם לפרוטוקול (Moscovitch and Hrazdina 1981) 100 גרם ענבים (מספר גרגרים ידוע) רוסקו ב 100 מ"ל אתנול טכני 96% HCl + בריכוז סופי של 0.9%. אחרי השהייה למשך הלילה ב 4 מעלות, הרסק הובא לטמפרטורת החדר וסונן לקבלת נוזל צלול. קריאת הצבע נעשתה בספקטרופוטומטר באורך גל של 518 ננומטר אחרי מיהולים מתאימים. ריכוז האנטוציאן המבוטא במ"ג מלבדין גלוקוזיד לקילוגרם פרי חושב לפי הנוסחה:

$$X = \frac{(Y - 0.074) * F}{0.062}$$

כאשר:

X = מלבדין 3-גלוקוזיד מ"ג/גרם פרי

Y = 518 nm A (בליעה)

F = פקטור מיהול (40) על מנת להגיע לא A בין 0.1 ל 1

לאחר מכן העברנו את הערכים לערכים המקובלים שהם מיליגרם מלבדין גלוקוזיד לגרם גרגר.

### 3.2.4 נתוני בציר

הגפנים נבצרו באופן ידני ונבדקו משקל היבול ומספר האשכולות בכל אחת מגפני המדידה.

### 3.3 הכנת יין

בעונת 2012 הוכן יין מהענבים של שני הטיפולים ביקב המיקרו ויניפיקציה ביקבי רמת הגולן. ע"פ הפרוטוקול המופיע בנספח 1.

### 3.3.1 טעימת היינות

ערכנו פאנל טעימה לארבעה יינות מהניסוי, שתי חזרות מכל טיפול ע"י צוות הייננים של יקב רמת הגולן המונה 5 ייננים. היינות דורגו מ 1 ל 4 עבור כל אחד מהמדדים הבאים: צבע, ארומה, טעם ואיכות כללית.

### 3.4 התבטאות תסמיני המחלה

#### 3.4.1 מיפוי ויזואלי של תסמיני המחלה

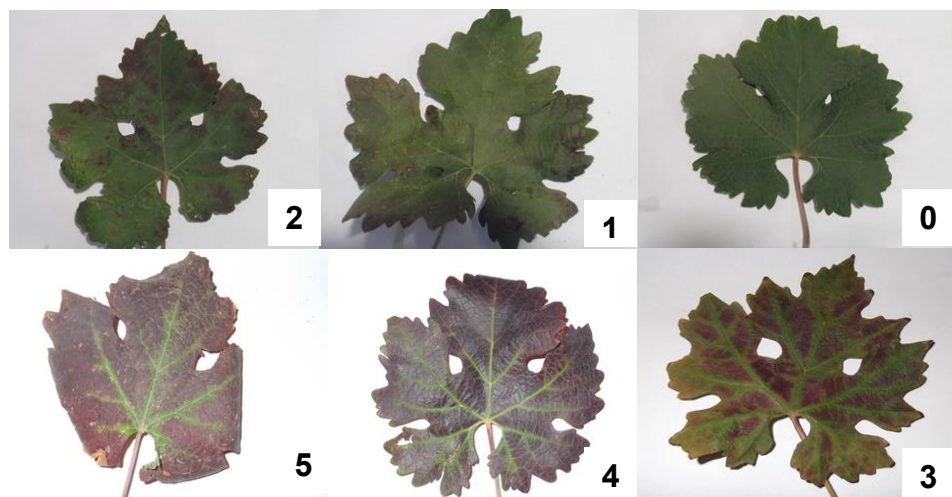
במשך עונות הניסוי בוצע מעקב אחת לשבוע-שבועיים אחר תסמינים נראים של המחלה. בעונות 2010-2011 צוינו בכל מועד הגפנים המבטאות תסמינים ללא התייחסות לחומרתם ובערב הבציר ניתן ציון לחומרת הנגיעות של גפני המדידה. בשנת 2012 המיפוי נעשה בכל מועד לפי חומרת התסמינים הממוצעת של עלים עם תסמינים ושעור העלים בגפן המבטאים תסמיני מחלה. הופעת התסמינים הוגדרה במספר מדדים:

א: הופעת התסמינים, כלומר, התאריך בו הגפן החלה לבטא את תסמיני המחלה ללא קשר לעוצמת התסמינים.

ב: חומרת התסמינים, כלומר עוצמת תסמיני המחלה בעלים.

עוצמת התסמינים דורגה ע"פ הדירוג הבא: 0- עלה ללא תסמינים. 1- כתמים בודדים. 2- משטחים אדומים (פחות מחצי עלה). 3- חצי עלה אדום. 4- כל העלה אדום. 5- עלה אדום ומקופל. (תמונה 1)

מיפוי זה נערך לכל הגפנים בניסוי ולא לגפני המדידה בלבד.



תמונה 1- דירוג חומרת תסמיני המחלה בעלים. צילום: ישי רושנסקי

### 3.4.2 בדיקת פיגמנטים בעלים

לקראת הבציר נאספו שמונה עשר עלים משני הצדדים של כל גפן מדידה, תשעה מצד צפון ותשעה מצד דרום. העלים נלקחו מזמורות בשני צדי הגזע מהחלק התחתון, האמצעי והעליון של הנוף. מהעלים נוקבו 10 דסקיות בקוטר 1 ס"מ. פיגמנטים מהדסקיות מוצו באתאנול 95%, עברו השרייה למשך הלילה וקריאה באמצעות ספקטרופוטומטר באורכי הגל הבאים: 518-אנטוציאן, 470-קרטנואידים, 648-כלורופיל b, 664-כלורופיל a, ע"פ פרוטוקול: " Leaf Chlorophyll and Carotenoid determination" (Lichtenthaler 1987) (מדידת האנטוציאן נעשתה אחרי הוספת HCl בריכוז סופי של 0.9%).

### 3.4.3 בדיקת נוכחות הווירוס

בזמן הזמירה, לאחר עונת 2012, נאספו 3 זמורות מכל חזרה, אחת מכל גפן מדידה, לבדיקת נוכחות הווירוס. הזמורה שנבחרה הייתה זמורה הממוקמת במרכז הגפן ומייצגת את הגפן מבחינת גודלה ומראה. בנוסף, במהלך העונה נאספו 3 פטוטורות מכל גפן מדידה, עלה אחד מהחלק התחתון של הגפן, באזור האשכולות, עלה נוסף ממרכז הגפן ועלה מהחלק העליון של הגפן. החומר הצמחי נאסף למיכל עם חנקן נוזלי והוחזק במקרר ב-80 מעלות, עד להפקה. מהזמורות ומהפטוטורות הופק RNA לוודא את הנגיעות בוורוס ולקבוע את עוצמתה היחסית לפי פרוטוקול המפורט בנספח 2.

### 3.4.4 בדיקות מינרלים בעלים

בעונת 2012 בוצעו בדיקות של תכולת המינרלים בעלים, נאספו 50 עלים מכל חזרה ונשלחו למעבדה לביצוע אנאליזה של מקרואלמנטים ומיקרואלמנטים. חנקן חנקתי, זרחן ואשלגן נבדקו בפטוטורות. חנקן במיצי מימי, זרחן ואשלגן במיצי שריפה רטובה (איכול בחומצה). מגנזיום, מנגן ואבץ נבדקו בטרף, בשריפה רטובה.

## 3.5 מדידות פיזיולוגיות

### 3.5.1 פוטנציאל המים בגזע

פוטנציאל המים בגזע בצהרים (Midday Stem Water Potential, MD-SWP) נמדד בעזרת תא לחץ מסוג "ארימד 2" (א.ר.י, כפר חרוב, ישראל). או "600PMS" (PMS instruments, Oregon, USA). המדידות נערכו בעלים בוגרים ובריאים הקרובים לאשכולות. המדידות התבצעו על פי פרוטוקול המדידה של McCutchan וחובריו (1992), העלים הוחשכו בשקית אלומיניום אטומה למשך 90 דקות על מנת למנוע טרנספירציה ופוטוסינתזה של העלה ולהביאו לשיווי משקל עם מתח המים בצינורות העצה בגזע. העלים שהו בצל למשך כל זמן ההכמנה. נמדדו 2 עלים מכל חזרה. שעות המדידה היו בין 13:00-

15:00 בצהריים, עת הגפנים נמצאות בשיא העקה. בדרך כלל המדידות נערכו אחת לשבוע לצורכי מעקב אחר השתנות פוטנציאל המים בגזע וקביעת מנת המים הניתנת לטיפול בהתאם. בנוסף, נערכו מספר פעמים בעונה, מדידות צפופות יותר שנועדו לבחון את השתנות פוטנציאל המים בגזע לאורך שעות היום ולאורך מחזור ההשקיה.

### 3.5.2 פלואורסנציה של הכלורופיל a

מדידות פלואורסנציה של כלורופיל a בוצעו בעונת 2011-2012 באמצעות מכשיר PAM 2000 (Walz, Effeltrich, Germany), המצויד במד שטף קרינה פוטוסינתטית (PPFD) ובמד טמפרטורת העלה. המדידות נערכו במקביל למדידות פוטנציאל המים בגזע. עוצמת האור החזק (Saturation Pulse) שנועד למדידת  $F_m'$  הייתה כ  $2000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{sec}^{-1}$ . כאשר עלה קולט אור, מתרחש עירור אלקטרונים במולקולות כלורופיל למצב אנרגטי גבוה והנעה של שרשרת מעבר האלקטרונים במערכת הפוטוסינתטית. מאחר והעלה לא מנצל לפוטוסינטיזה את כל האנרגיה שנבלעה, חלק מהאנרגיה משתחררת כחום (ריאקציה מאהלר) וחלק נוסף כפלואורסנציה. כאשר העלה אינו שרוי בעקה, תהא עוצמת הפלואורסנציה הנפלטת באור (Ft) נמוכה יחסית. כאשר העלה שרוי בעקה סביבתית ומתרחשת פגיעה במערכת הולכת האלקטרונים, חלק גדול יותר מהאנרגיה משתחרר בצורת חום או נפלט כפלואורסנציה. השימוש במדידות פלואורסנציה של כלורופיל a התרחב מאוד בשנים האחרונות כמדד לעקה ביוטית או אביוטית בה מצוי הצמח (Maxwell & Johnson 2000).

המדד המבטא את הפעילות של מערכת אור 2 בפוטוסינתזה הוא "היעילות הקוונטית" של PSII, "Yield" Y, המתואר באמצעות הנוסחה מס' 1:

$$\text{Yield} = [(F_m' - F_t) / F_m'] \quad (1) \quad (\text{Genty et al. 1989})$$

כאשר  $F_m'$ : עוצמת הפלואורסנציה המקסימאלית בתגובה לעוצמת אור גבוהה Saturated light,  $F_t$ : עוצמת הפלואורסנציה תחת תאורת השמש.

כל מדידות האור נערכו תחת עוצמת אור השמש ובחישוב התוצאות נכללו רק המדידות שנערכו כשעוצמת האור PPFD (photosynthetic photon flux density) הייתה מעל  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

חישוב היעילות הקוונטית של PSII מאפשר לחשב את ETR (electron transport rate) - קצב מעבר האלקטרונים, מדד התלוי בשטף הקרינה הפוטוסינתטית המחושב עפ"י נוסחה מס' 2:

$\text{ETR} = \text{Yield} \times \text{PPFD} \times 0.84 \times 0.5$  (Bjorkman & Krall & Edwards 1992) (2)  
המקדם 0.84 מייצג את האנרגיה הנבלעת ע"י העלה מכלל האנרגיה המגיעה לפני העלה. והמקדם 0.5 את נתח האלקטרונים המועברים בעזרת PSII לעומת PSI (Edwards & Baker 1993; Erismann et al. 2008).

### 3.5.3 פוטוסינתזה

מדידות פוטוסינתזה נטו (Pn) התבצעו מספר פעמים במהלך עונות 2011, 2012 בעזרת מכשיר Ciras 2 (PPSystems International, Amesbury, Ma, USA). בשל איטיות המכשיר והרצון למנוע את השפעת גורם הזמן על המדידה, נמדדו 2 עלים לחזרה, כל אחד מגפן שונה. כל המדידות בוצעו בימים בהירים ללא עננים. העלים שנבחרו היו עלים מייצגים בגפן, עלים בוגרים, מעל גובה האשכול. ריכוזי ה- $\text{CO}_2$  החיצוני שסופק ע"י המכשיר היה 385 ppm כמקובל בצמחי C3 (Long & Bernacchi 2003) ובשטף קרינה פוטוסינתטית (PPFD) של  $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ . מפתח העלים בו נעשה שימוש היה 18 מ"מ, מפתח מקובל במדידות בגפן. כאשר שאר הפרמטרים הרלבנטיים לחישוב ה- $\text{CO}_2$  היו משתי קבוצות:

1. פרמטרים שנמדדו מהסביבה: טמפרטורה, לחות יחסית ולחץ האדים בין העלה לסביבה
2. פרמטרים קבועים שאנחנו בוחרים להכניס למכשיר כמו לחץ אטמוספרי (ביחידות של bar) או זרימת מסה של אוויר פנימה (במקרה שלנו  $200 \text{ mol m}^{-2}$ )

### 3.5.4 מהלכים יומיים

במהלך עונות 2011 ו- 2012 בוצעו ימי מדידה ארוכה, שמטרתם הפקת עקומים יומיים של פוטנציאל המים בגזע, מוליכות הפיוניות לאדי מים וקצב מעבר האלקטרונים, נערכו כ- 4 סבבי מדידה ליום. פרוטוקולי המדידה היו כפי שהוסבר לעיל.

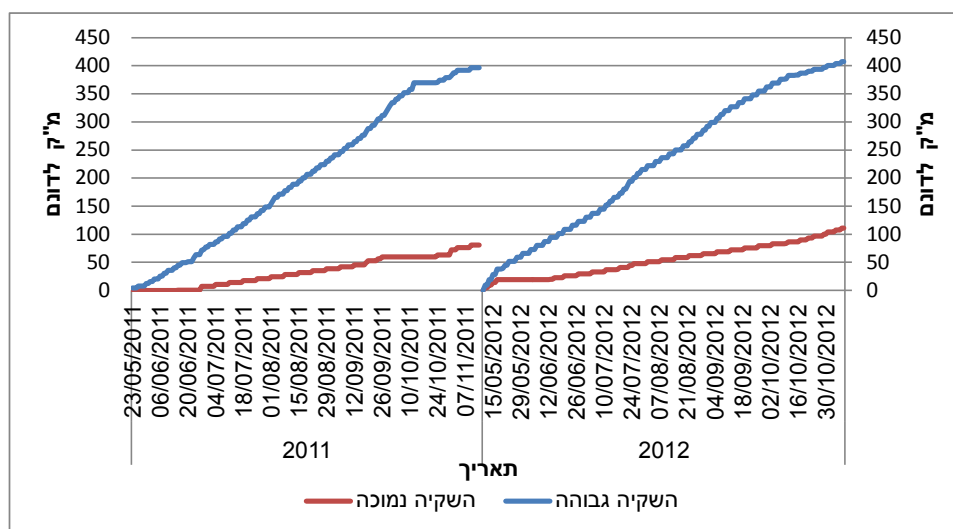
### 3.6 ניתוח סטטיסטי

לכל מדד חושבה שגיאת התקן. השוואת הממוצעים נעשה על ידי מבחן T בתוכנת: אקסל ו- 8 Jump וההבדלים נחשבו מובהקים כאשר  $P < 0.05$ .

## 4. תוצאות

### 4.1 מנת המים המצטברת

קביעת כמות ההשקיה בניסוי בוצעה על פי מדידות פוטנציאל המים בגזע באמצעות תא לחץ. איור 1 מציג את כמות המים (בקוב/דונם) שניתנה לכל טיפול במהלך עונות הניסוי.



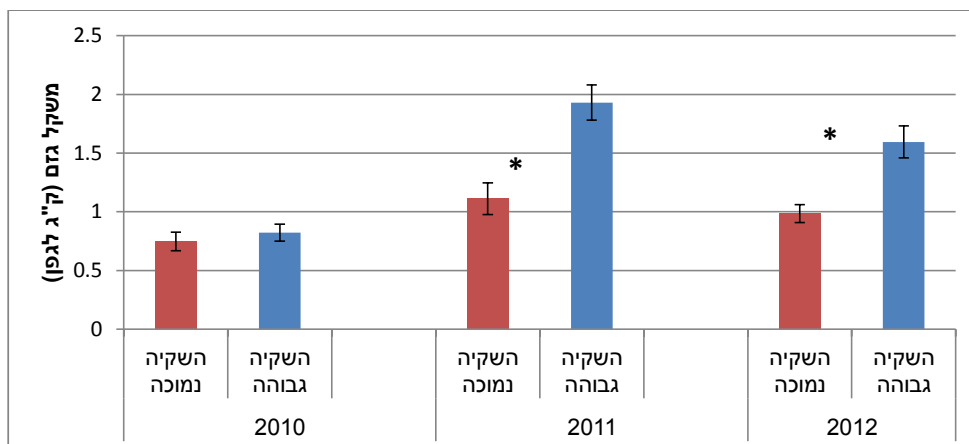
איור 1- מנת מים מצטברת בעונות המחקר 2011 ו-2012 בחלקות מחקר בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך מתחילת עונת ההשקיה ועד הבציר.

ניתן לראות כי בטיפול ההשקיה הגבוהה ניתנו כ- 400 מ"ק לדונם עד הבציר ואילו בטיפול ההשקיה הנמוכה ניתנו כ- 100 מ"ק לדונם עד הבציר (איור 1). לצורך השוואה, בחלקה המסחרית השכנה ניתנו בשתי העונות כ- 100 קוב לדונם עד הבציר.

### 4.2 מדדי צימוח

#### 4.2.1 משקל גזם

על מנת לבדוק שאכן הגפנים הושפעו מכמות המים שניתנה במהלך הניסוי, בדקנו את משקל הגזם בחורף, כמדד לצימוח של הגפן בעונה החולפת. משקל הגזם גם יכול להעיד על פוטנציאל הצימוח של הגפן בעונה הבאה.

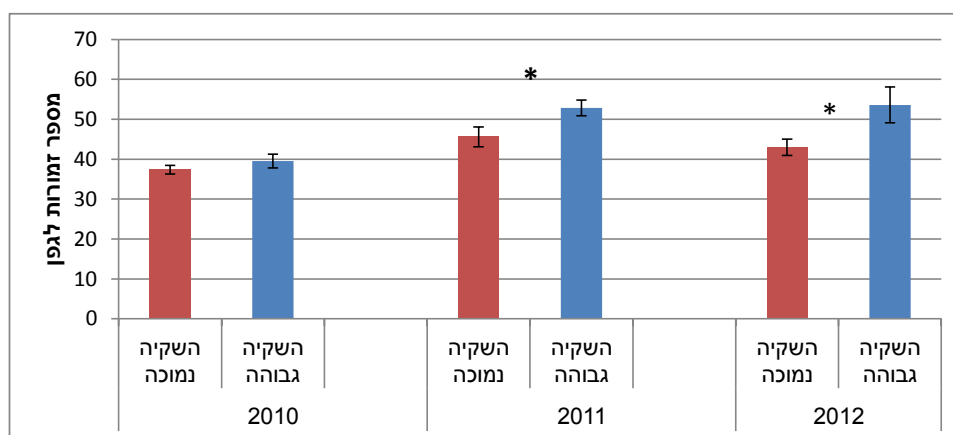


איור 2- משקל גזם (ממוצע ק"ג לגפן ± שגיאת תקן) לאורך שלוש שנות המחקר (2012-2010) בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות כי לאחר עונת 2010 שהייתה העונה הראשונה של הניסוי ובה החלה ההשקיה הדיפרנציאלית רק בפריחה, לא היו הבדלים מובהקים במשקלי הגזם בין הטיפולים ואילו לאחר עונות 2011 ו- 2012 נצפו הבדלים מובהקים וגבוהים מאוד במשקלי הגזם בין הטיפולים (איור 2).

#### 4.2.2 מספר ועובי הזמורות

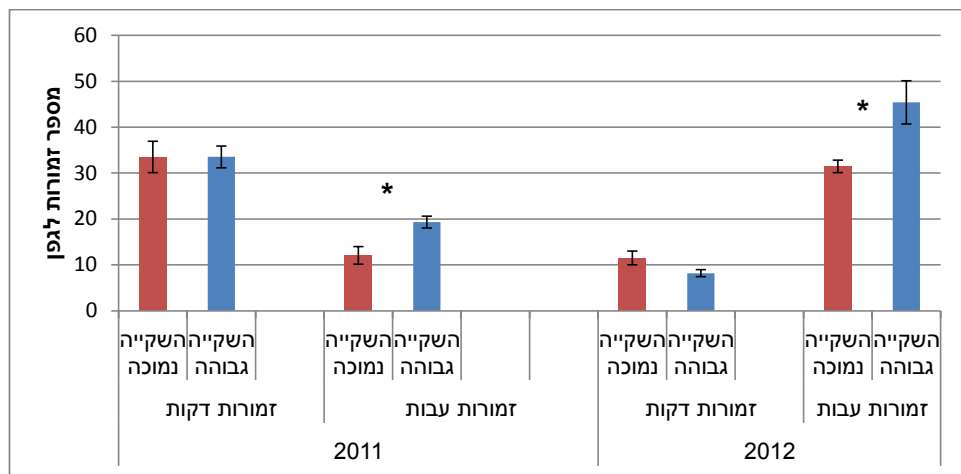
מדד נוסף המעיד על עוצמת הצימוח ויכול להיות מושפע מהשקיה הוא מספר הזמורות לגפן וקוטרן. אלה נספרו בסוף כל עונה, בזמן הזמירה ומויניו לזמורות דקות ועבות (מתחת ומעל 6 מ"מ קוטר בבסיס הזמורה בהתאמה).



איור 3- מספר זמורות לגפן בזמירה (ממוצע ± שגיאת תקן) לאורך שלוש שנות המחקר (2012-2010) בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות כי בעונת 2010, שבה החל הניסוי לא נצפו הבדלים משמעותיים במספר הזמורות לגפן, אולם לאחר עונה של ניסוי ההשקיה, כלומר בעונות 2011 ו 2012, היו הבדלים מובהקים במספר הזמורות בין הטיפולים (איור 3).

מקובל כי זמורות עבות מועדפות לנשיאת פרי איכותי. לכן בוצעה מדידה וחלוקה של הזמורות לעבות ודקות לפי קוטר גבוה או נמוך מ"מ בבסיס הזמורה בהתאמה. ניתן לראות באיור 4 את החלוקה בין זמורות עבות ודקות. בעונות 2011 ו-2012 היה הבדל מובהק במספר הזמורות העבות בין הטיפולים. מכאן שההבדל שהתקבל במספר הזמורות הכללי נבע מהמספר הגבוה יותר של זמורות עבות בטיפול ההשקיה הגבוהה.

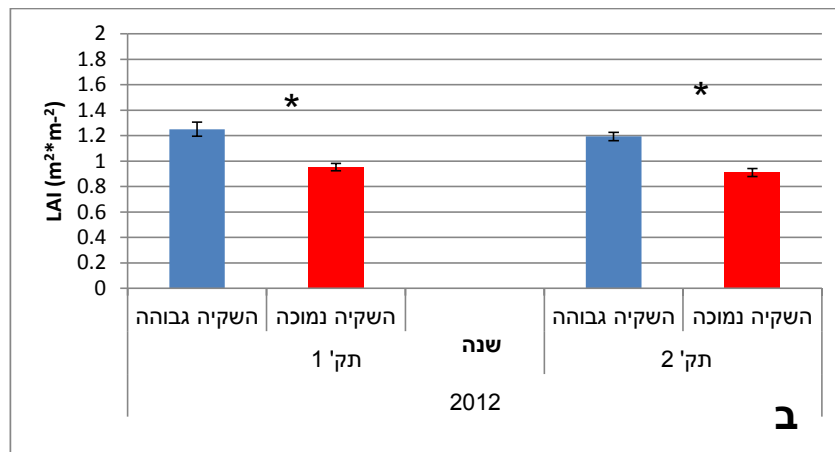
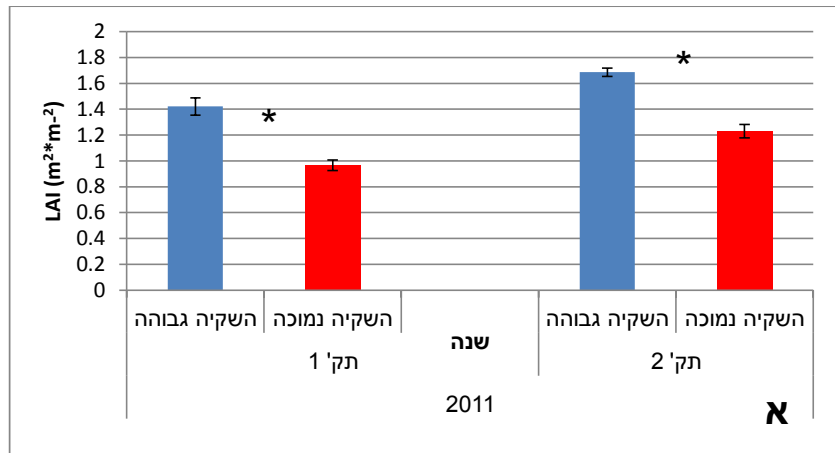


איור 4 – התפלגות מספר זמורות לגפן לעבות ודקות (ממוצע ± שגיאת תקן) לאורך שתי שנות המחקר (2011, 2012) בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה ( $p < 0.05$ ).

### 4.2.3 שטח העלווה

דרך נוספת לבדוק את עוצמת הצימוח של הגפן במהלך העונה היא באמצעות מדידת השטח המוצל מתחת לגפן וחישוב של אינדקס שטח העלווה (LAI). המדידות נערכו פעמיים בכל עונת גידול בשני שלבים פנולוגיים – סוף חנטה (תק' 1), תקופה שחופפת בדרך כלל לסוף תקופת הצימוח הנמרץ, סוף בוחל (תק' 2).





איור 5-א-ב. נתוני מדידת אינדקס שטח עלווה (מוצע  $\pm$  שגיאת תקן) בתקופה 1 ו-2 בעונות המחקר 2011 ו-2012 בחלקות טיפול בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה ( $p < 0.05$ ).

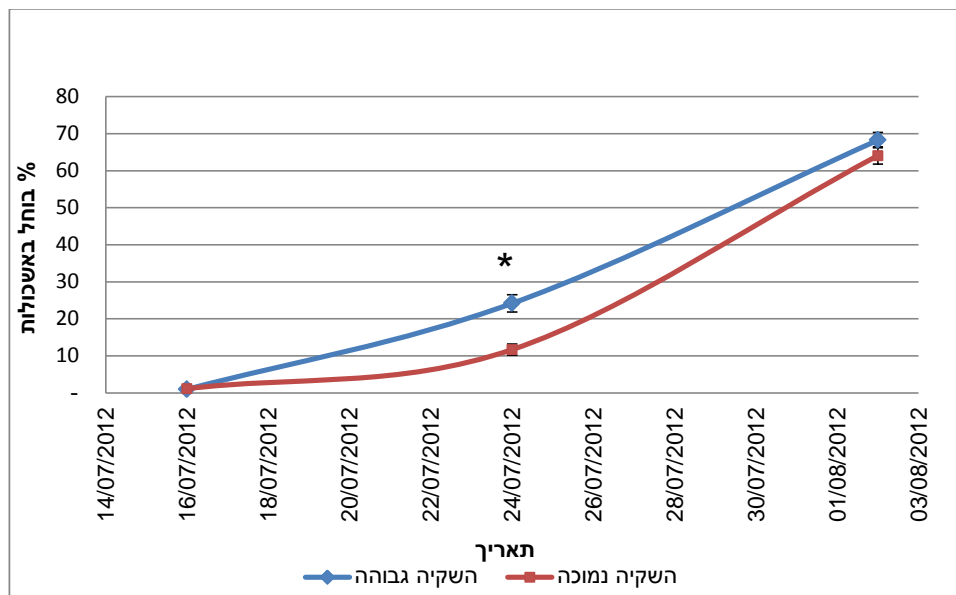
בשתי עונות הניסוי ניתן לראות הבדלים מובהקים באינדקס שטח העלווה בין הטיפולים, בשני מועדי המדידה, בטיפול ההשקיה הגבוהה היה כ-50% יותר עלווה ביחס לטיפול ההשקיה הנמוכה. בשנת 2011 הייתה בשני הטיפולים עליה ב LAI בין התקופה הראשונה לשנייה, סביר שההבדל נובע מהתארכות שריגים ומיצירת נוף צפוף יותר בגלל התפתחות של ענפים צדדיים בתקופה שבין החנטה לבוחל. בשנה זו השתדלנו לדחות את קיטום השריגים כדי לאפיין בצורה נכונה את ההבדלים בצימוח. דבר זה גרם בטיפול ההשקיה הגבוה להשתפלות של השריגים מעל חוטי השילוב ולהצללה לא רצויה על אזור האשכולות לפיכך ב 2012 הקיטום בוצע במועד המשקי וניתן לראות שלא הייתה עליה ב LAI בין שני מועדי המדידה (איור 5-א-ב).

### 4.3 ההשפעה על הפרי

#### 4.3.1 קצב התקדמות הבוחל

אחד הגורמים שמעידים באופן ישיר על קצב ההבשלה ואיכות ההבשלה הינו הבוחל, כלומר שלב שינוי הצבע בגרגר. ככל שהבוחל קצר יותר, החלקה אחידה יותר בהבשלה וההבשלה מהירה יותר.

ב- איור 6 ניתן לראות את קצב התקדמות הבוחל בעונת 2012.



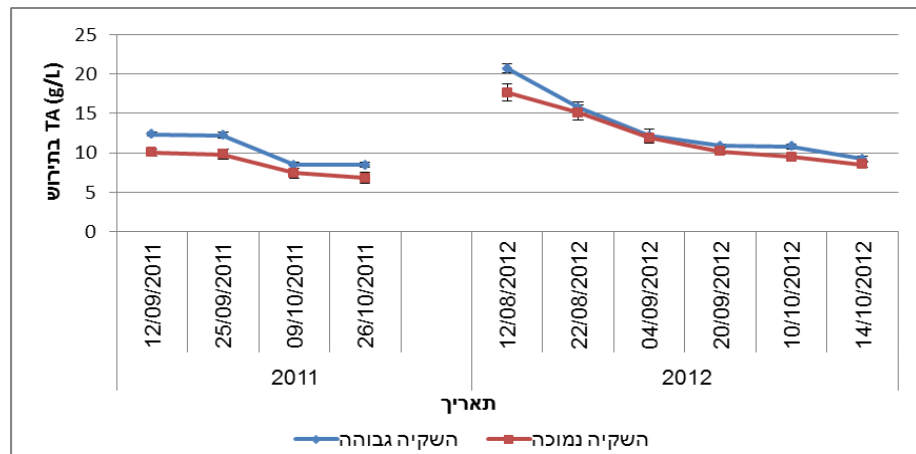
איור 6- אחוז הגרגרים באשכולות שהחלו בוחל (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) לאורך עונת המחקר (2012) בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה בכל מועד דיגום ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות כי קצב התקדמות הבוחל היה מהיר יותר בטיפול ההשקיה הנמוך, כלומר הבוחל החל בשבוע מאוחר יותר בממוצע, אולם הסתיים בתאריך דומה לטיפול ההשקיה הגבוהה (איור 6).

#### 4.3.2 מעקבי הבשלה

לאחר שלב הבוחל בוצעו מעקבי הבשלה של הענבים בשני הטיפולים. מעקבי ההבשלה כללו מדידת החומצה בתירוש, מדידת pH התירוש, מדידת אחוז המומסים (בריקס) ומדידת גודל גרגר.

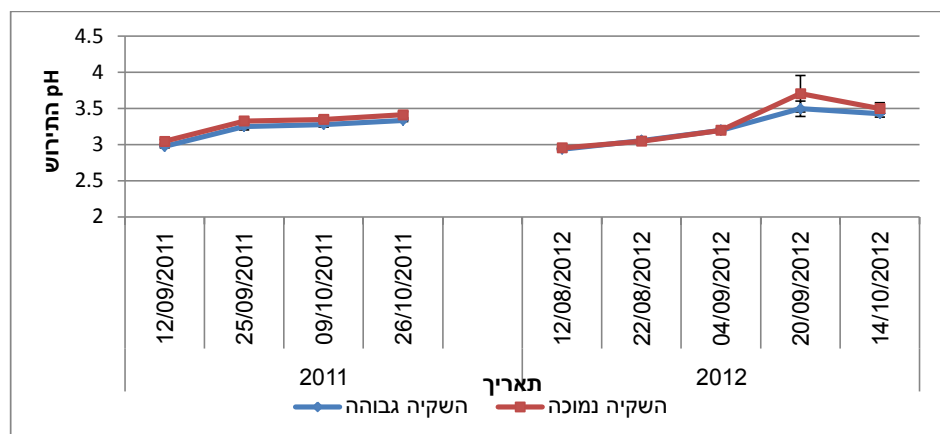
#### 4.3.2.1. מדידת החומצה בתירוש (TA)



איור 7 – מדידת חומצה (TA) (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) לאורך עונות המחקר 2011 ו-2012 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה בכל מועד דיגום ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות כי לא היו הבדלים מובהקים ב TA בתירוש בין שני הטיפולים. במהלך ההבשלה ישנה ירידה ב TA במקביל לעליה בבריקס, ניתן לראות כי הייתה ירידה בשני הטיפולים לאורך שתי עונות המחקר, אולם בעונת 2012 ערכי ה TA נשארו גבוהים בזמן הבציר, מה שיכול להעיד על פגיעה בהבשלה בשני הטיפולים (איור 7).

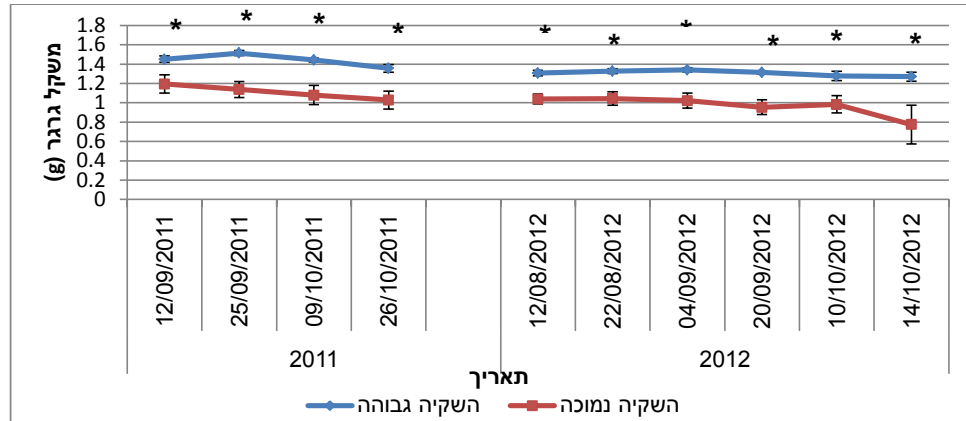
#### 4.3.2.2. מדידת החומציות בתירוש (pH)



איור 8 – מדידת חומציות (pH) (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) לאורך עונות המחקר 2011 ו-2012 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה בכל מועד דיגום ( $p < 0.05$ ).

לאורך ההבשלה במקביל לירידה בריכוז החומצה בגרגר, ישנה עליה בpH. ניתן לראות כי לא היו הבדלים מובהקים ב pH בין הטיפולים לכל אורך הניסוי והעליה הייתה די מתונה, מה שיכול אולי להעיד על פגיעה מסויימת בהבשלה בשני הטיפולים (איור 8).

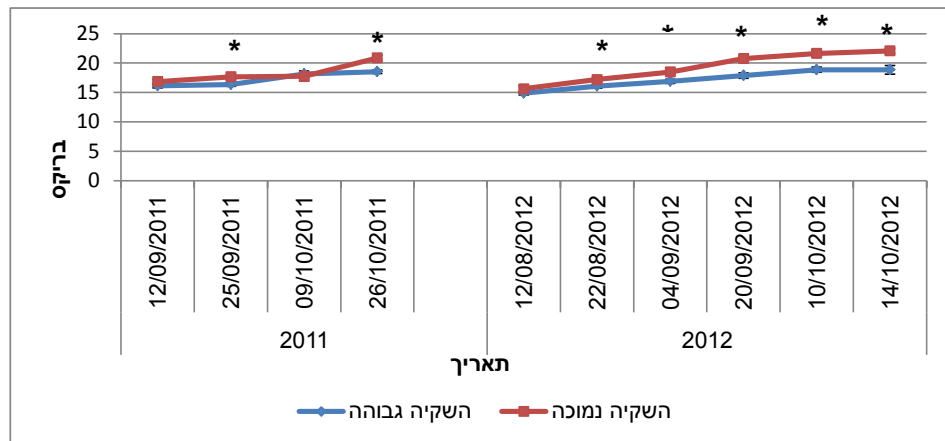
#### 4.3.2.3 מדידת משקל גרגר



איור 9 – משקל גרגר (ממוצע ± שגיאת תקן) לאורך עונות המחקר 2011 ו-2012 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה במועד הבדיקה ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות הבדלים מובהקים במשקל הגרגר לכל אורך הניסוי. בטיפול ההשקיה הגבוהה משקל הגרגר היה גבוה ביחס לטיפול ההשקיה הנמוכה (איור 9).

#### 4.3.2.4 מדידת כלל מוצקים מסיסים בתירוש- בריקס

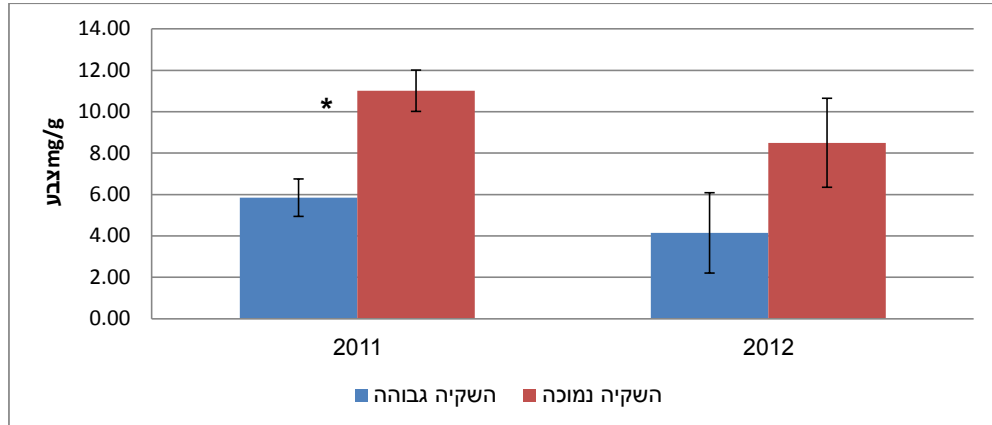


איור 10 – אחוז סוכר (Brix °) (ממוצע ± שגיאת תקן) לאורך עונות המחקר 2011 ו-2012 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה במועד הבדיקה ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות כי כמעט לכל אורך הניסוי הבריסק בטיפול ההשקיה הנמוכה היה גבוה יותר מאשר בטיפול ההשקיה הגבוהה. נתון זה מאוד משמעותי, היות ובתסיסה הסוכר הופך

לאלכוהול, ולבריקס יש השפעה ישירה על איכות היין. ערכי הבריקס בטיפול ההשקיה הגבוהה גבוליים מבחינת היכולת להכין מהם יין (איור 10).

#### 4.3.2.5 מדידת ריכוז הצבע בגרגר

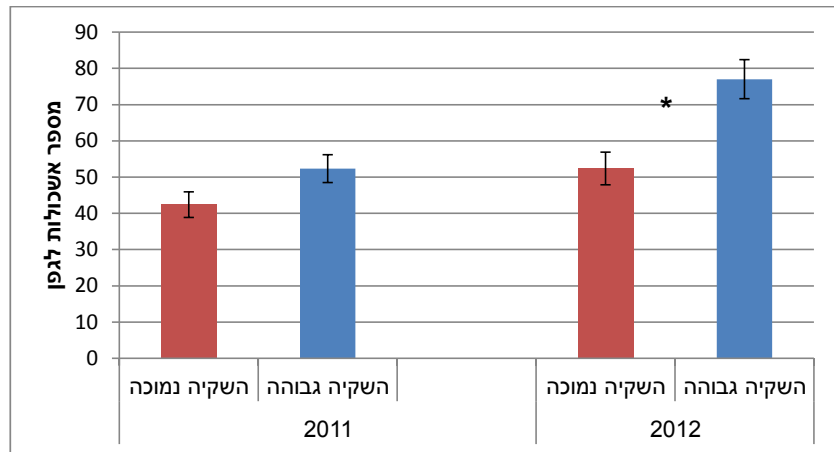


איור 11- ריכוז הצבע בגרגר (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) בענבים שמקורם בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך בעונת 2011 ו- 2012 כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה במועד הבדיקה ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות הבדלים משמעותיים בריכוז הצבע בגרגר לטובת טיפול ההשקיה הנמוכה, הצבע הינו גורם חשוב ומוערך לאיכות היין ולפי מחירון מועצת גפן היין ישנו בונוס על צבע, כאשר הריכוז הוא מעל 9 mg/g. ניתן לראות שהענבים מטיפול ההשקיה הנמוכה בעונת 2011 עברו רף זה וגם בעונת 2012 היו קרובים אליו ואילו בטיפול ההשקיה הגבוהה, הערכים נמוכים באופן ניכר (איור 11).

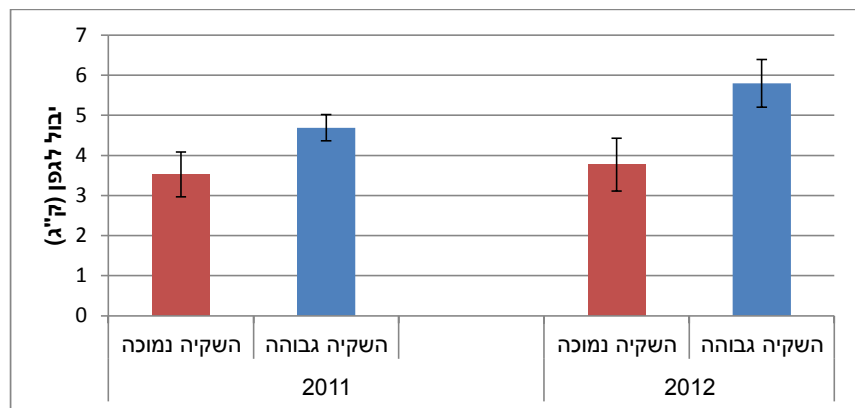
### 4.3.3 נתוני בציר

#### 4.3.3.1 ספירת אשכולות ומשקל יבול לגפן



איור 12 – מספר אשכולות לגפן (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) בשתי שנות המחקר (2011, 2012) בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה בשנת מחקר ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות כי בעונת 2011 מספר האשכולות לגפן היה גבוה באופן משמעותי ובעונת 2012 מספר האשכולות לגפן היה גבוה באופן מובהק בטיפול ההשקיה הגבוה. חשוב לציין כי לא בוצעו דילולי אשכולות בחלקת הניסוי. בעונת 2012 מספר האשכולות לגפן בטיפול ההשקיה הגבוהה היה די גבוה, כ- 75 אשכולות לגפן בממוצע ביחס למקובל, כ- 40-50 אשכולות לגפן (איור 12).



איור 13 – יבול לגפן בק"ג (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) בשתי שנות המחקר (2011, 2012) בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך ( $p > 0.05$ ).

ניתן לראות כי בעונות 2011 ו 2012 היבול לגפן היה גבוה משמעותית בטיפול ההשקיה הגבוהה, בעונת 2011 ( $p = 0.083$ ) ואילו בעונת 2012 ( $p = 0.051$ ) (איור 13)

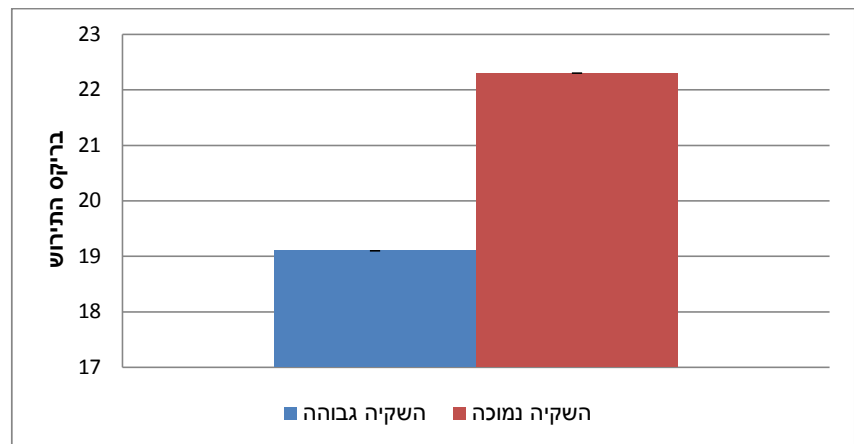
היבולים היו סבירים לקברנה סוביניון, בין 800 קילו לדונם בטיפול ההשקיה הנמוכה לבין 1.2 טון לדונם בטיפול ההשקיה הגבוהה. חשוב לציין כי רמת יבולים כזו, אינה מוגדרת כעומס יבול לגפן ולא בוצעו דילולי אשכולות במהלך הניסוי.

#### 4.3.4 הכנת היין

בעונת 2012 הוכן יין מ 2 הטיפולים. נלקחו אנליזות יין בקבלת התירוש, בסוף התסיסה, בסוף התסיסה המלולקטית ובזמן הבקבוק. ניתן לראות את ההבדלים בין 2 הטיפולים בנתוני הקבלה של הענבים (איור 14-16). היות ובוצעו 2 ינות מכל טיפול, נבדקו התוצאות וסטיית התקן בינהן.

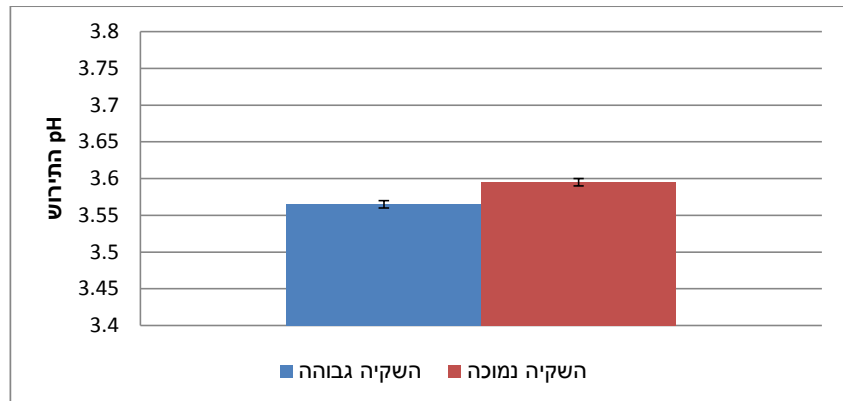
##### 4.3.4.1 נתוני קבלה של התירוש

המדד העיקרי בהבשלה של הענבים הוא הבריקס, כלומר אחוז המומסים בגרגר, כאשר המומס העיקרי הינו סוכר.



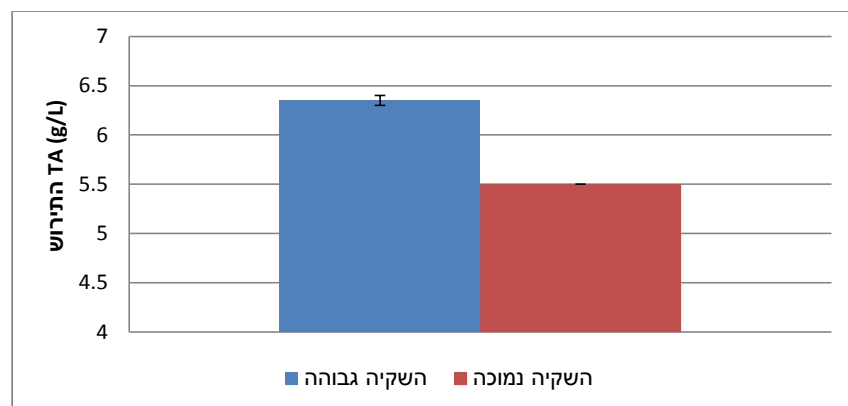
איור 14-אחוז סוכר (° Brix) (ממוצע  $\pm$  סטיית תקן) בתירוש מענבים שמקורם בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך בעונת המחקר 2012.

ניתן לראות הבדל משמעותי מאוד בבריקס הקבלה של תירוש הענבים, בטיפול ההשקיה הגבוהה הבריקס היה כ 19 ואילו בטיפול ההשקיה הנמוכה הבריקס היה מעל 22. נתון זה מאוד משמעותי, היות ובתסיסה הסוכר הופך לאלכוהול, לבריקס יש השפעה ישירה על איכות היין וערכי הבריקס בטיפול ההשקיה הגבוהה גבוליים מבחינת היכולת להכין מהם יין. (איור 14).



**איור 15-מדידת החומציות (pH) (ממוצע  $\pm$  סטיית תקן) בתירוש מענבים שמקורם בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך בעונת המחקר 2012.**

ניתן לראות כי ב pH התוצאות היו דומות יחסית, בטיפול ההשקיה הגבוהה היה כ 3.56 ואילו בטיפול ההשקיה הנמוכה ה pH היה כ 3.6 (איור 15).



**איור 16-מדידת החומצה (TA) (ממוצע  $\pm$  סטיית תקן) בתירוש מענבים שמקורם בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך בעונת המחקר 2012.**

בנתוני TA ניתן לראות הבדלים ברמת החומצה, כאשר בטיפול ההשקיה הגבוהה רמת החומצה הייתה גבוהה יותר באופן משמעותי. במהלך ההבשלה, במקביל לצבירת הסוכרים, ישנה ירידה של החומצה בתירוש. ערכי החומצה הגבוהים יותר בטיפול ההשקיה הגבוהה עשויים להעיד על פגיעה בקצב ההבשלה ביחס לטיפול ההשקיה הנמוכה (איור 16).



#### 4.3.4.2 תוצאות היין

בעונת 2012 הוכן יין משני הטיפולים, שתי חזרות לכל טיפול. נבדקו הפנולים והאנטוציאנינים ביין בגמר התסיסה, בגמר התסיסה המאלולקטית ובזמן הבקבוק.

להלן **טבלה 2** המרכזת את ממוצע ריכוז האנטוציאנינים והפנולים ביינות השונים בזמני הדגימה השונים.

**טבלה 2 - ריכוז האנטוציאנינים ביין, שיעור הפילמור והאינדקס של סך הפנולים ביין.**

זמן הדגימה	טיפול	פנולים מפולמרים (%)	סך אנטוציאנים (mg/L)	אינדקס פנולים (TPI)
גמר התסיסה	השקיה גבוהה	55	72	18
	השקיה נמוכה	49	206	31
גמר תסיסה מלולקטית	השקיה גבוהה	51	81	18
	השקיה נמוכה	47	238	33
בקבוק	השקיה גבוהה	68	71	18
	השקיה נמוכה	60	200	33

ניתן לראות כי גם בסך הפנולים היה הבדל משמעותי לטובת טיפול ההשקיה הנמוכה. כמו כן, ניתן לראות כי בטיפולי ההשקיה הנמוכה האנטוציאנינים היו ברמה גבוהה פי 3 ביחס לטיפולי ההשקיה הגבוהה, דבר הבא לידי ביטוי בצבע של היין ובטעם והארומה (**טבלה 2**).

**בתמונה 2** ניתן לראות את הבדלי הצבע בין הטיפולים.



**תמונה 2 -** כוס ימנית מטיפול ההשקיה הגבוהה וכוס שמאלית מטיפול ההשקיה הנמוכה. ניתן לראות כי היין בכוס השמאלית הינו בעל צבע אדום מלא יותר מאשר היין בכוס הימנית, שהינו בעל גוון ורדרד.

### 4.3.4.3 טעימת היינות

נערכה טעימה ליינות על ידי חמשת הייננים של יקב רמת הגולן (תמונה 3)

הטעימה הייתה "טעימה עיוורת" כלומר, הטועמים לא ידעו מה היה הניסוי ומאיזה טיפול כל יין.

הטועמים דירגו את 4 היינות מ 1-4, כאשר 1 זה הציון הגבוה ביותר ו 4 הנמוך ביותר, לפי מספר פרמטרים:

1: צבע היין

2: ארומה

3: טעם

4: סיומת של היין

כל יין דירג בדירוג הסופי את היינות מ 1 עד 4 ולבסוף נעשה שקלול של תוצאות כל הטועמים.

: טבלה 3- ריכוז תוצאות הטעימה

טיפול	דירוג סופי	סה"כ	טלי	שירי	דורית	מייקל	ויקטור
השקיה גבוהה	4	18	4	3	4	3	4
השקיה נמוכה	1	5	1	1	1	1	1
השקיה גבוהה	3	17	3	4	3	4	3
השקיה נמוכה	2	10	2	2	2	2	2

ניתן לראות כי היינות מטיפול ההשקיה הנמוכה קיבלו ציון טוב יותר מאשר אלו מטיפול ההשקיה הגבוהה. (טבלה 3).

להערכת הייננים, מהענבים של טיפול ההשקיה הגבוהה לא ניתן לייצר יין ללא הוספת ענבים מאיכות גבוהה יותר. מבחינה כספית מוערך שווי הענבים מטיפול ההשקיה הנמוכה פי 3 לטון מאשר מטיפול ההשקיה הגבוהה.

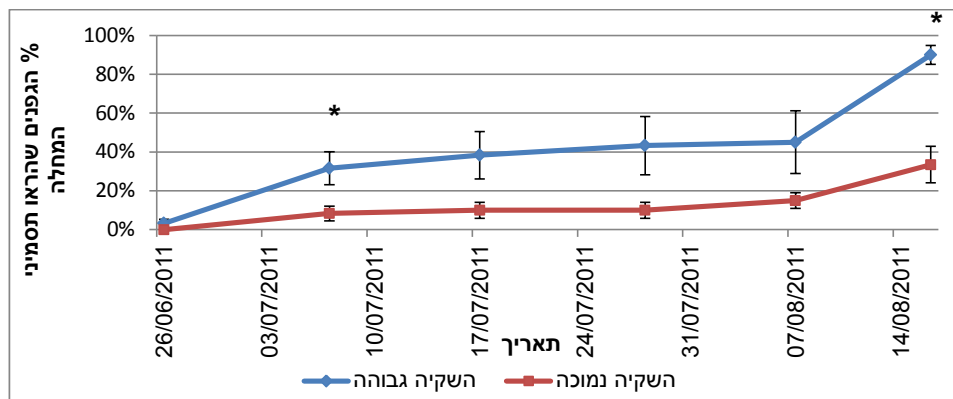


**תמונה 3- טעימת היינות על ידי יינני יקב רמת הגולן, 04/08/2013.**

#### 4.4 התבטאות תסמיני המחלה

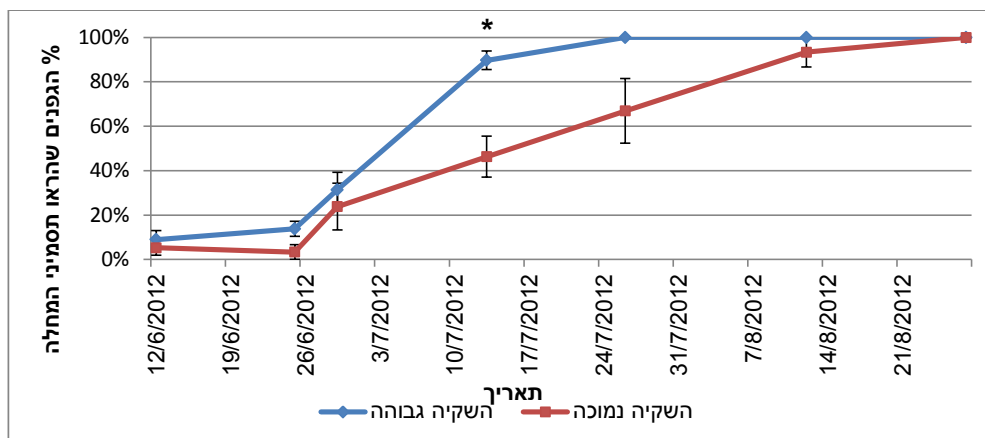
##### 4.4.1 מדידת קצב ותדירות הופעת התסמינים של המחלה קצב הופעת תסמיני המחלה לאורך עונת הגידול

נבדקו במהלך עונות הגידול 2011 ו 2012 קצב הופעת התסמינים, כלומר מתי הגפן הראתה לראשונה תסמינים כלשהם של מחלת קיפול העלים. בדיקה זו בוצעה לכל הגפנים בניסוי ולא רק לגפני המדידה (איורים 17-18)



איור 17- אחוז הגפנים בעלות התסמינים (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) בעונת המחקר 2011 בחלקות טיפול בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין הטיפולים ( $p < 0.05$ ).

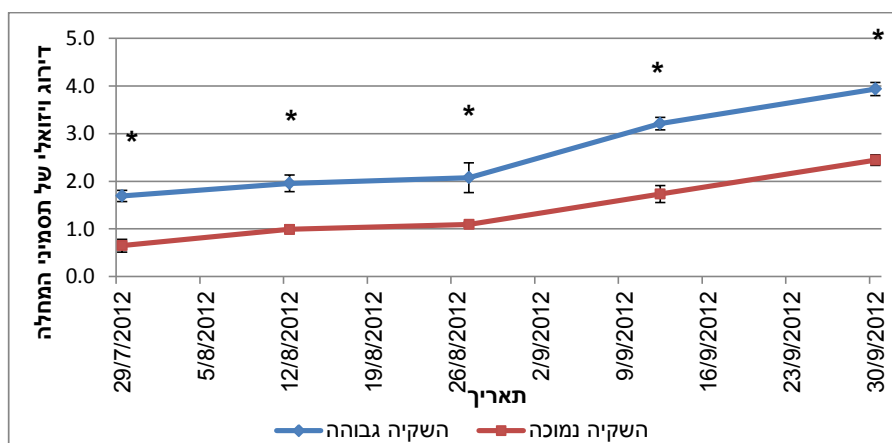
ניתן לראות כי לכל אורך הניסוי אחוז הגפנים שהראו תסמינים כלשהם של המחלה היה גבוה יותר באופן עקבי בטיפול ההשקיה הגבוהה. חשוב לציין כי במועד הבדיקה האחרון, כאשר בטיפול ההשקיה הגבוהה אחוז הגפנים שהראו תסמינים היה כ 90%, בטיפול ההשקיה הנמוכה היה כ 30%. בנוסף בוצע חישוב של השטח מתחת לעקומות והתקבלה מובהקות סטטיסטית ( $p = 0.03$ ), (איור 17).



איור 18 – אחוז הגפנים בעלות התסמינים (ממוצע ± שגיאת תקן) בעונת המחקר 2012 בחלקות טיפול בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות שקצב הופעת התסמינים לכל אורך הניסוי היה מהיר יותר, באופן מובהק, בטיפול ההשקיה הגבוהה. כמו כן, ניתן לראות כי בטיפול ההשקיה הנמוכה הגפנים הראו תסמינים באופן מלא כחודש מאוחר יותר מאשר בטיפול ההשקיה הגבוהה, נתון זה מאוד משמעותי מבחינת תקופת ההבשלה. בנוסף לכך, השיפוע של קצב הופעת התסמינים בטיפול ההשקיה הגבוהה היה מהיר יותר. בנוסף בוצע חישוב של השטח מתחת לעקומות ונמצאו הבדלים מובהקים סטטיסטית ( $p = 0.018$ ). (איור 18).

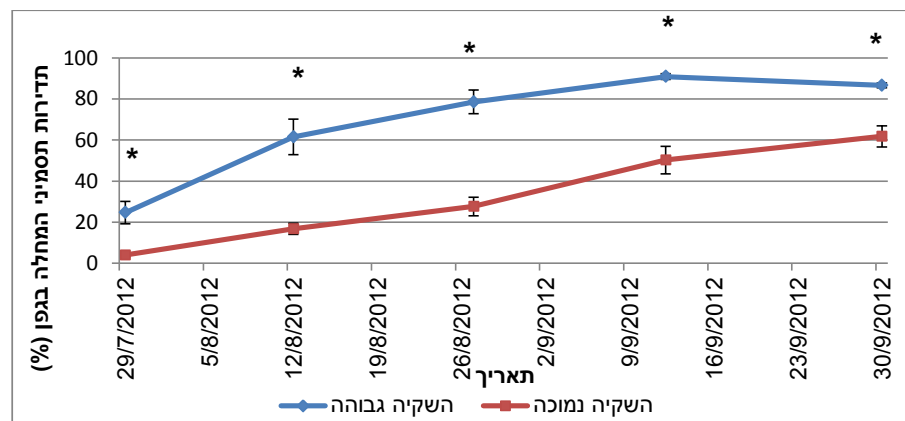
#### חומרת תסמיני המחלה



איור 19 – חומרת התסמינים (ממוצע ± שגיאת תקן) לאורך עונת המחקר 2012 בחלקות טיפול בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות כי בעונת 2012 חומרת תסמיני המחלה, כלומר התסמינים החמורים ביותר שנראו בכל גפן, ללא קשר לכמות העלים שהראו אותם, הייתה גבוהה באופן מובהק לכל אורך העונה, בטיפול ההשקיה הגבוהה. הערכים היחסיים של חומרת התסמינים היו כמעט כפולים בגפנים מטיפול ההשקיה הגבוהה ביחס לגפנים מטיפול ההשקיה הנמוכה, מתחילת התבטאות התסמינים (איור 19).

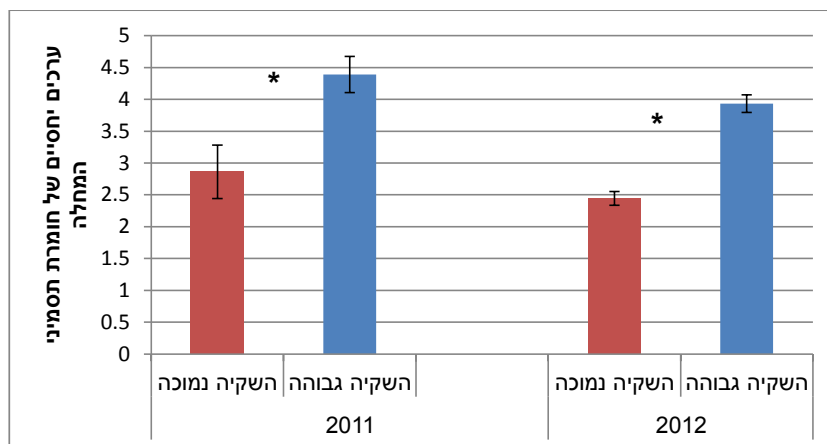
#### תדירות התסמינים בגפן



איור 20 – הערכת תדירות הנגיעות בגפנים, (אחוז העלים בגפן המראים את התסמינים) (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) לאורך עונת המחקר 2012 בחלקות טיפול בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות כי לאורך כל העונה תדירות הנגיעות בגפן הייתה גבוהה יותר בטיפול ההשקיה הגבוהה באופן מובהק. ישנה חשיבות לתדירות התסמינים בגפן על מנת לוודא שהתסמינים לא מתבטאים באופן נקודתי, במספר עלים מצומצם, אלא באופן שמאפשר מדד השוואתי בין הגפנים בטיפולים השונים ובאותו הטיפול (איור 20).

בנוסף לכך, נעשה דירוג תסמינים וויזואלי ערב הבציר, דירוג זה כלל גם את תדירות הנגיעות בגפן וגם את החומרה, על מנת לראות באיזה מצב מבחינת עוצמת התסמינים הגפן הגיעה למועד הבציר. המצב בו הגפן הגיעה לבציר משקף באופן עקרוני את מצב הגפן בשלבי ההבשלה הסופיים והחשובים מאוד מבחינת צבירת הסוכרים והחומרים הנוספים (איור 21).



**איור 21 – חומרת תסמיני מחלת קיפול העלים (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) לאורך שתי שנות המחקר (2011, 2012) בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה ( $p < 0.05$ ).**

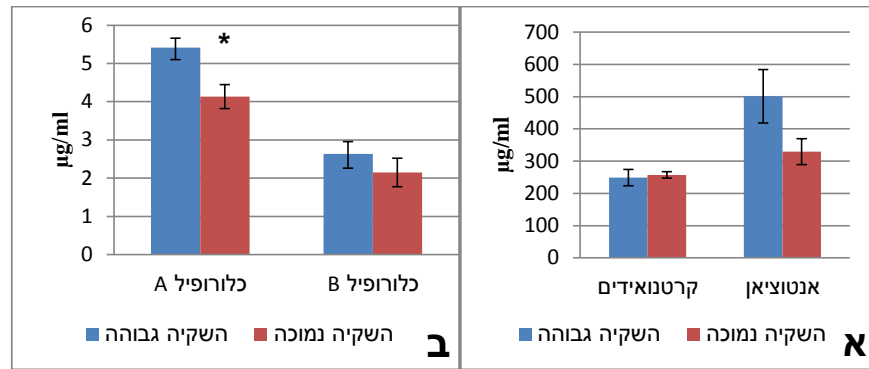
ניתן לראות כי בטיפול ההשקיה הגבוהה חומרת התסמינים הייתה גבוהה באופן מובהק לאורך כל תקופת הניסוי. עוצמת תסמינים בזמן הבציר הייתה גבוהה בכ- 50% בטיפול ההשקיה הגבוהה (**איור 21**).

בתמונה 4 ניתן לראות את הופעת התסמינים בעונת 2012 ערב הבציר.



**תמונה 4 – הופעת התסמינים בעונת 2012 ערב הבציר. מימין גפני טיפול ההשקיה הגבוהה, משמאל גפני טיפול ההשקיה הנמוכה.**

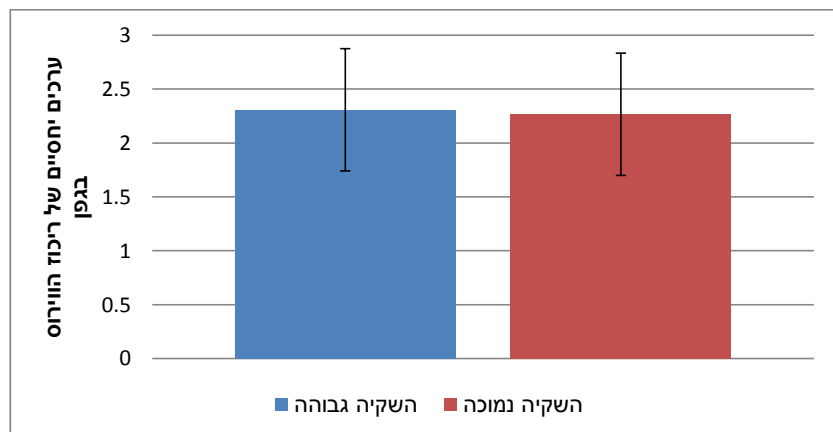
**4.4.2 מדידות ביוכימיות**  
**4.4.2.1 בדיקת פיגמנטים בעלים**



איור 22 א,ב- בדיקת פיגמנטים בעלים (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) לפני הבציר בעונת המחקר 2011 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה בכל מועד דיגום ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות שבהתאם לצבע העלים שהיה אדום יותר בטיפול ההשקיה הגבוהה כתוצאה מתסמיני המחלה, גם רמת האנטוציאן הייתה גבוהה יותר בעלים של הגפנים מטיפול ההשקיה הגבוהה. אולם באופן מפתיע גם הרמה של כלורופיל A הייתה גבוהה יותר בטיפול ההשקיה הגבוהה למרות שבאופן ויזואלי העלים נראו פחות ירוקים ויותר אדומים (איור 22-א,ב).

**4.4.2.2 ריכוז הווירוס בגפן**

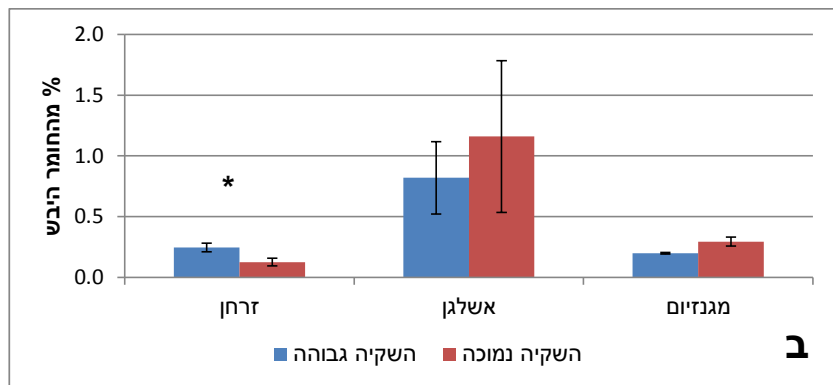
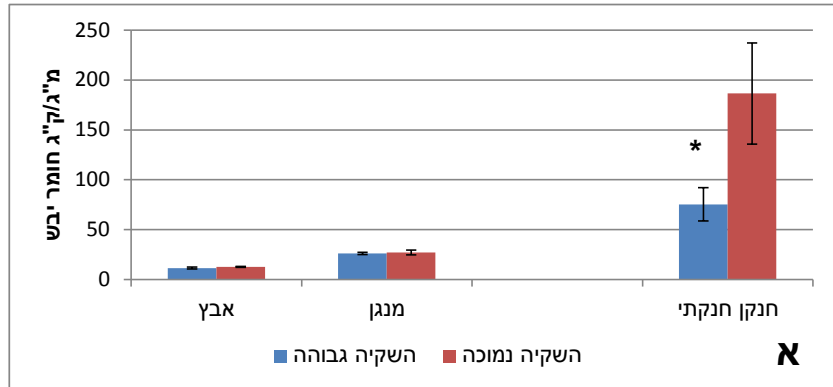


איור 23- מדידת נוכחות הווירוס בגפן (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) לפני הבציר בעונת 2012 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה בכל מועד דיגום ( $p < 0.05$ ).



ניתן לראות כי כל הגפנים שנבדקו נמצאו נגועות בוורוס קיפול העלים 3. כמו כן ניתן לראות כי לא נמצאו הבדלים משמעותיים בריכוז הווירוס בגפן בסוף עונת 2012. יתכן כי היות והמדידה בוצעה בסוף העונה, כאשר היו תסמינים חזקים בגפנים ריכוז הווירוס בגפנים היה גבוה, גם בטיפול ההשקיה הגבוהה וגם בטיפול ההשקיה הנמוכה (איור 23).

#### 4.4.2.3 בדיקות ריכוז המינרלים בעלים

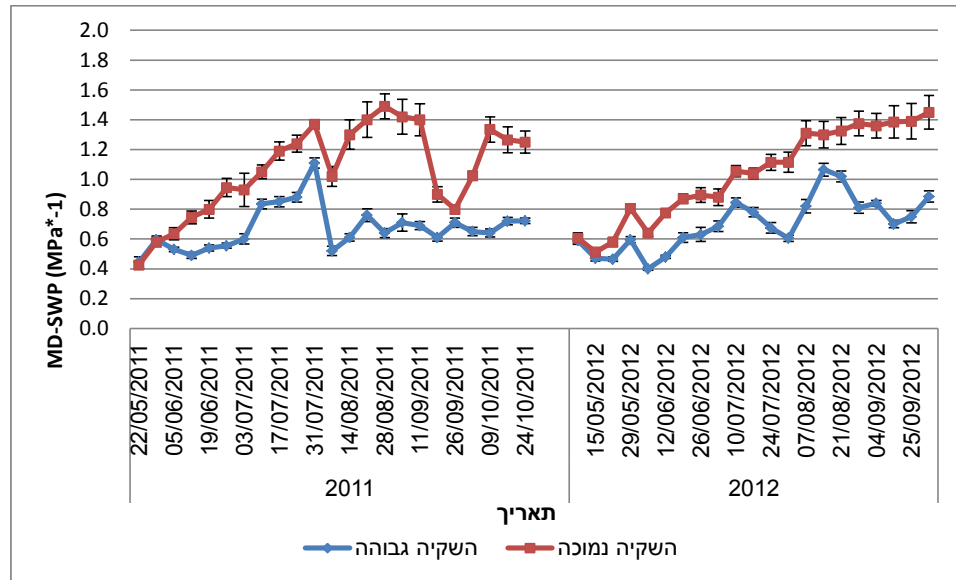


איור 24 א,ב- בדיקת ריכוז מינרלים בעלים (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) לפני הבציר בעונת המחקר 2012 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה במועד הדיגום ( $p < 0.05$ ).

ניתן לראות כי ריכוז החנקן היה גבוה יותר בטיפול ההשקיה הנמוכה ואילו ריכוז הזרחן היה גבוה יותר בטיפול ההשקיה הגבוהה, (איור 24- א, ב)

## 4.5 מדידות פיזיולוגיות

### 4.5.1 מדידת פוטנציאל המים בגזע

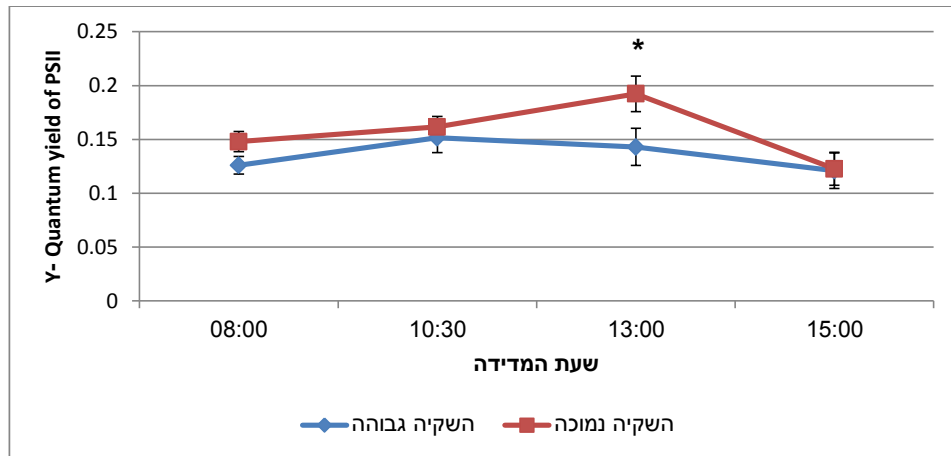


איור 25 - מדידת פוטנציאל המים בגזע באמצע היום (מומצע  $\pm$  שגיאת תקן) בעונות המחקר 2011 ו-2012 בחלקות מחקר בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך.

ההשקיה בניסוי בוצעה על פי ערכי תא לחץ של פוטנציאל המים בגזע. המדידות בוצעו אחת לשבוע לפני ההשקיה. ניתן לראות כי ערכי תא הלחץ בטיפול ההשקיה הגבוהה היה סביב  $-0.8$  MPa, בעוד שבטיפול ההשקיה הנמוכה ערכי תא הלחץ הגיעו לערכים של  $-1.2$  MPa עד  $-1.4$  במהלך העונה (איור 25).

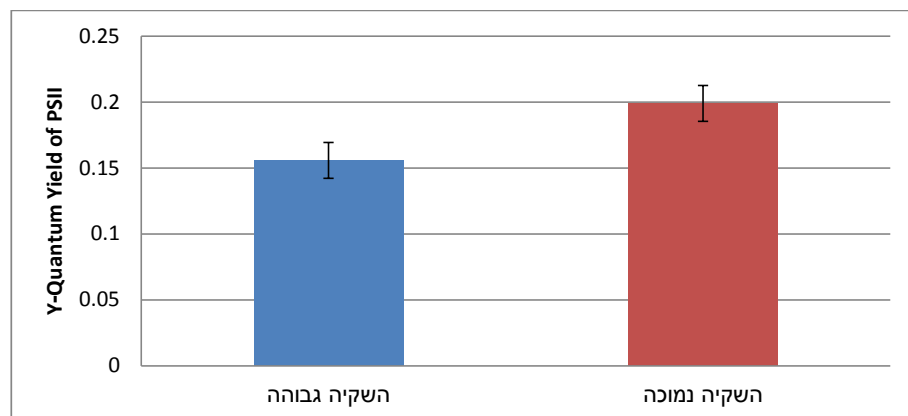
### 4.5.2 מדידת הפלואורסנציה של הכלורופיל

בשני מועדים שונים במהלך העונה נמדדה הפלואורסנציה של הכלורופיל a כמדד להשפעת הווירוס על פעילות המערכת הפוטוסינתטית של הגפן. הערך שנמדד הוא היעילות הקוונטית  $Y$  (Quantum yield  $\phi$ ) של PSII שמבטא את הפוטנציאל של המערכת לביצוע הפוטוסינתזה. מדידה מקבילה של שטף הקרינה הפוטוסינתטית אליו היה חשוף העלה, מאפשרת לחשב את הערך ETR שמבטא את קצב מעבר האלקטרונים במערכת הפוטוסינתטית. באיורים 26-27 ניתן לראות את ערכי ה  $\phi$  Quantum yield שנמדדו בשני הטיפולים לאורך המחקר.



איור 26- ה  $\phi$  Quantum yield של מערכת אור 2 (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) בסוף תקופה 1 בעונת המחקר 2012 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה במועד הבדיקה ( $p < 0.05$ ).

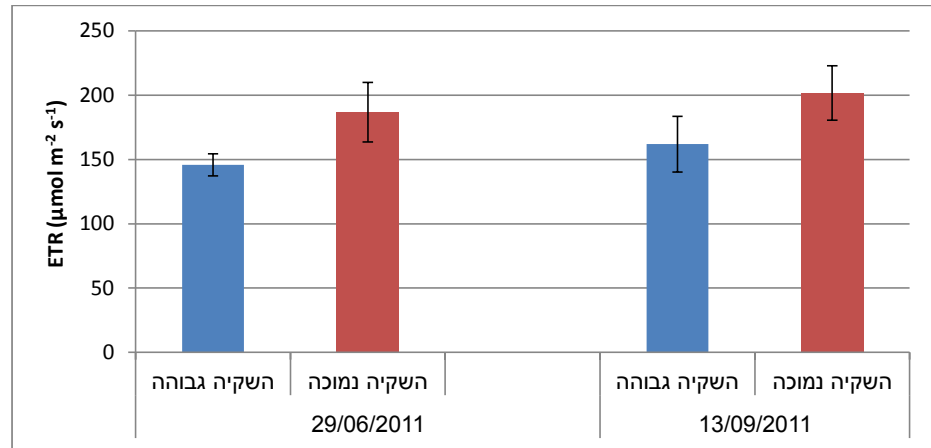
ניתן לראות כי במדידה שבוצעה בסוף שלב 1 (סוף החנטה) בשעות הצהריים 13:30  $\phi$  Quantum yield של מערכת אור 2 בעלים של הגפנים מטיפול ההשקיה הנמוכה היה גבוה באופן מובהק מהערך שנמדד בעלים מטיפול ההשקיה הגבוהה. ניתן לציין כי בשלב זה רק החלה הופעת התסמינים של המחלה בטיפול ההשקיה הגבוהה, למרות שהבדיקות המולקולריות הוכיחו את קיומו של הווירוס של שני טיפולי ההשקיה. (איור 26).



איור 27- מדידת  $\phi$  Quantum yield של מערכת האור 2 (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) בתקופה 2 בעונת המחקר 2012 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך ( $P = 0.057$ ).

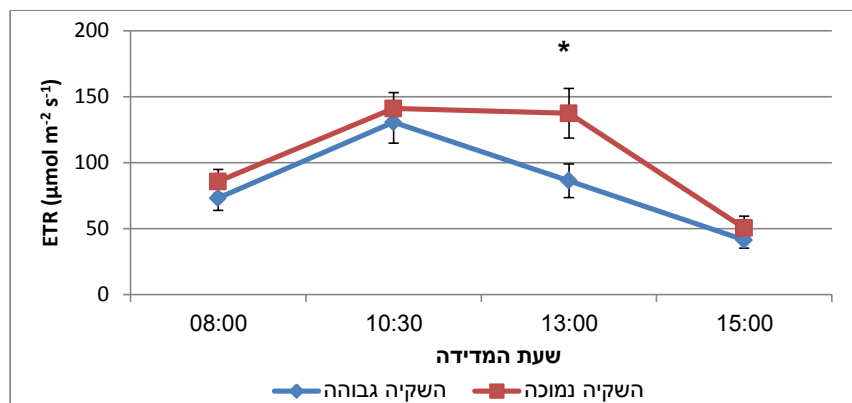
ניתן לראות כי  $\phi$  Quantum yield של מערכת האור 2 היה גבוה יותר בכ- 25% בעלים שנמדדו בגפנים בטיפול ההשקיה הנמוכה מאשר זה שנמדד בעלים של הגפנים בטיפול ההשקיה הגבוהה. חשוב לציין כי הערכים שהתקבלו בשני הטיפולים, נמוכים מהערכים המקובלים בעלים של גפנים בריאות שאמורים להיות בקירוב בין 0.3 ל 0.5 (איור 27).

הפלוואורסנציה של כלורופיל a נמדדה בשני מועדים שונים בגפנים נגועות בוורוס. המועד הראשון בוצע בסוף שלב החנטה והמועד השני לאחר שלב הבוחל. המדידות בוצעו בשעות הצהריים כאשר שטף הקרינה הפוטוסינתטית גבוה מ-  $1000\mu\text{mol m}^{-2}\text{sec}^{-1}$ . מדידות שנמצא כי בוצעו בשטפי קרינה נמוכים מזה שצוין הושמטו. המדידות בוצעו יום לפני ההשקיה במקביל למדידות פוטנציאל המים של העלים.



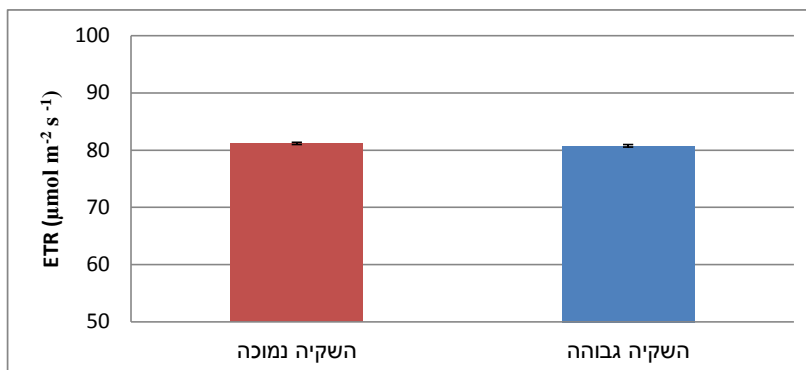
איור 28 – מדידת קצב הולכת האלקטרונים (ETR) (ממוצע  $\pm$  שגיאת תקן) בשני מועדים בעונת המחקר 2011 בצהרי היום בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך (ב 29/6 -  $P=0.069$  וב 13/9 -  $P=0.098$ )

ניתן לראות כי ערכי קצב הולכת אלקטרונים בעלים של הגפנים מטיפול ההשקיה הנמוכה היו בשני מועדי המדידה גבוהים בכ- 20% מהערכים שנמדדו בעלים של גפני טיפול ההשקיה הגבוהה. ההבדל שנמדד בין הטיפולים לא היה מובהק באופן סטטיסטי. (איור 28).



**איור 29 – עקום יומי של קצב הולכת האלקטרונים (ETR) (ממוצע ± שגיאת תקן) בסוף תקופה 1 בעונת המחקר 2012 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה במועד הבדיקה ( $p < 0.05$ ).**

במדידה שבוצעה בשעות הצהריים 13:30 קצב הולכת האלקטרונים ETR בטיפול ההשקיה הנמוכה היה גבוה באופן מובהק מאשר בטיפול ההשקיה הגבוהה. ביתר המדידות לא נצפו הבדלים משמעותיים בין הטיפולים. (איור 29) חשוב לציין כי הערכים שהתקבלו מעט נמוכים מהערכים המקובלים בגפנים בריאות שאמורים לנוע סביב  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ .

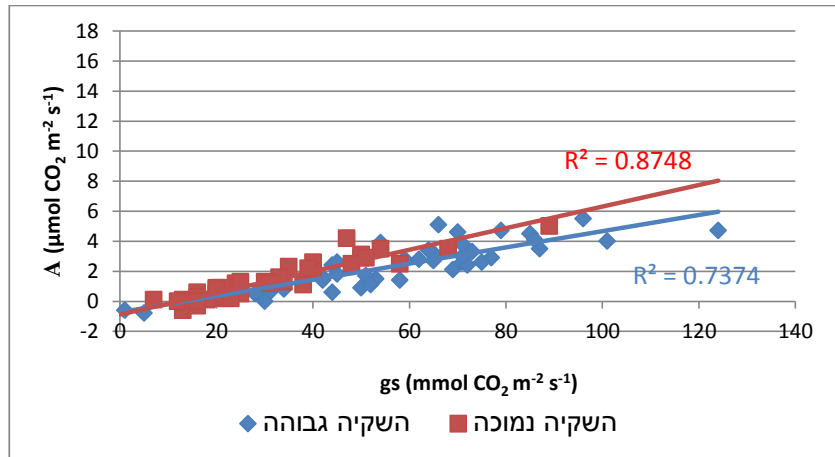


**איור 30 – מדידת קצב הולכת האלקטרונים (ETR) (ממוצע ± שגיאת תקן) בתקופה 2 בעונת המחקר 2012 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך. כוכבית מעידה על הבדלים מובהקים סטטיסטית בין משטרי ההשקיה ( $p < 0.05$ ).**

ניתן לראות כי בתקופה 2 בעונת 2012 לא היו הבדלים משמעותיים בקצב הולכת האלקטרונים (ETR) בין שני הטיפולים, חשוב לציין כי בעונת 2012 התבטאו תסמיני המחלה הייתה חזקה יחסית ובתקופה זו רמת התסמינים של המחלה הייתה גבוהה בשני הטיפולים (איור 30).

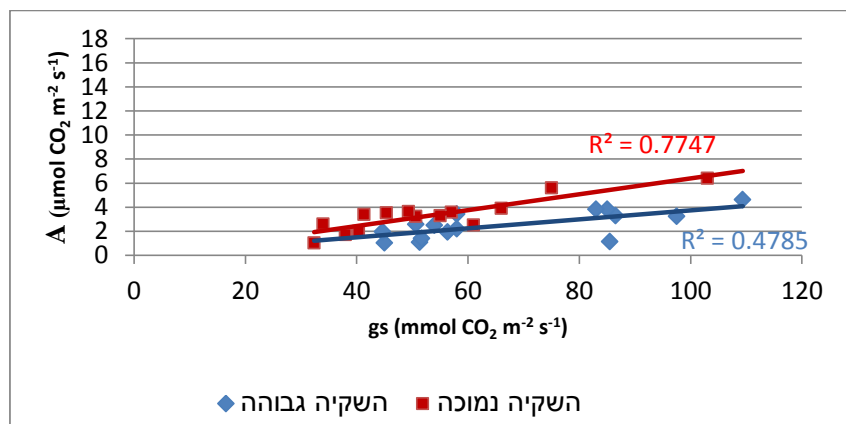
### 4.5.3. מדידת קצב קיבוע הפחמן

במקביל למדידות הפלוארסנציה של הכלורופיל a, נמדדה מוליכות הפיוניות על מנת לוודא שאכן, בגפנים בטיפול ההשקיה הגבוהה מוליכות הפיוניות גבוהה יותר, מאשר בגפנים בטיפול ההשקיה הנמוכה. כמו כן נמדד קצב קיבוע הפחמן על מנת לבחון את הקשר בין קצב קיבוע הפחמן לבין מוליכות הפיוניות (איורים 31-34).



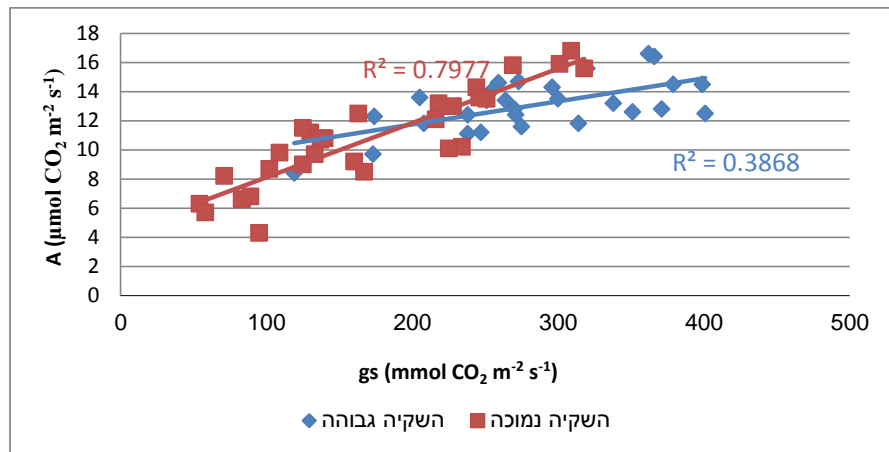
איור 31- מדידת קצב קיבוע הפחמן A כפונקציה של מוליכות הפיוניות gs בתקופה 2 (22/9/10) בעונת המחקר 2010 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך.

נמצא כי בטיפול ההשקיה הנמוכה מוליכות הפיוניות, כצפוי, נמוכה מזו שנמדדה בגפני טיפול ההשקיה הגבוהה. כמו כן, השיפוע של קו המגמה חד יותר, כלומר, באותה מוליכות פיוניות קצב קיבוע הפחמן גבוה יותר. בנוסף לכך, ניתן לראות שהמתאם ( $r^2$ ) בין מוליכות הפיוניות לבין קצב קיבוע הפחמן גבוה יותר בטיפול ההשקיה הנמוכה (איור 31).



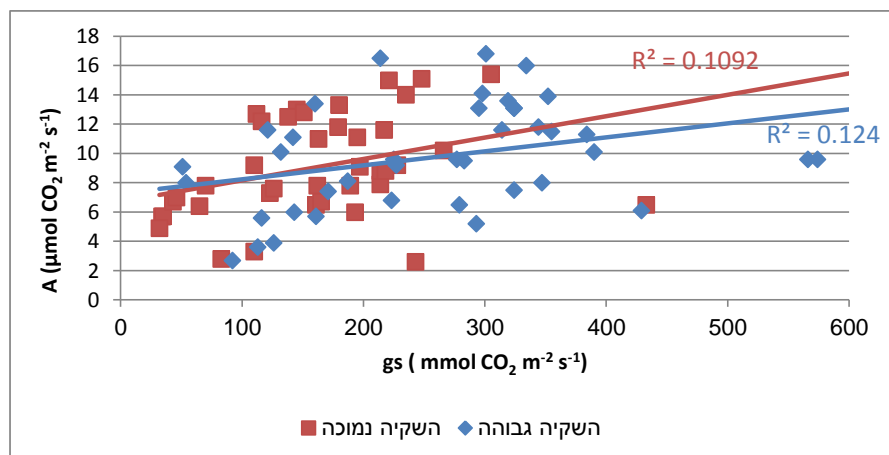
איור 32- מדידת קצב קיבוע הפחמן A כפונקציה של מוליכות הפיוניות gs בתקופה 3 (6/10/10) בעונת המחקר 2010 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך.

במדידות שבוצעו בתקופה 3 המוצגות באיור 32 ניתן לראות כי בטיפול ההשקיה הנמוכה מוליכות הפיוניות נמוכה יותר. כמו כן, השיפוע של קו המגמה חד יותר, כלומר, באותה מוליכות פיוניות קצב קיבוע הפחמן גבוה יותר. בנוסף לכך, ניתן לראות ש  $r^2$  גבוה יותר בטיפול ההשקיה הנמוכה.



איור 33- מדידת קצב קיבוע הפחמן A כפונקציה של מוליכות הפיוניות gs בתקופה 1 (26/6/11) בעונת המחקר 2011 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך.

בטיפול ההשקיה שנערכו בשלב 1 בעונות 2011 ו-2012 נמצא כי מוליכות הפיוניות הייתה גבוהה יותר בהשקיה הגבוהה 10. המתאם  $r^2$  בין מוליכות הפיוניות לבין קצב קיבוע הפחמן בשני טיפולי ההשקיה היה גבוה יותר בעונת 2011 מאשר בעונת 2012 (איורים 33 ו-34).



איור 34- מדידת קצב קיבוע הפחמן A כפונקציה של מוליכות הפיוניות gs בתקופה 1 (12/6/12) בעונת המחקר 2012 בחלקות בעלות משטר השקיה גבוה ומשטר השקיה נמוך.

ניתן לראות כי השיפוע של קו המגמה חד יותר בטיפול ההשקיה הנמוכה, כלומר, באותה מוליכות פיוניות בטיפול ההשקיה הנמוכה קצב קיבוע הפחמן גבוה יותר ביחס לטיפול ההשקיה הגבוהה. לא נראה הבדל ב  $r^2$  בין שני הטיפולים (איור 34).



## 5. דיון כללי

מחלת קיפול העלים מהווה איום על ענף גפן היין בעולם בכלל ובישראל בפרט. כרמים רבים נעקרים עוד לפני שהחזירו את ההשקעה כתוצאה מהנגיעות בוורוס. עד כה מחקרים אשר עסקו בהשפעתו השלילית של הוורוס GLRaV-3 החשוד כגורם למחלה, התמקדו בהשוואה בין גפנים בריאות לחולות. במחקרים אלו נבחנה השפעת הוורוס על הפיזיולוגיה של הגפן ואיכות הפרי (Walter and Martelli, 1996, Guidoni et al., 1997, Cabaleiro et al., 1999, Borgo and Angelini, 2002, Mannini, 2003, Komar et al., 2007, Lee and Martin, 2009).

בישראל, הפתרון העתידי הוא החלפת הכרמים בנטיעות מחומר ריבוי נקי (שלמה צדוק, נועה מעוז, יקב רמת הגולן, תקשורת אישית). אולם, תהליך זה הינו יקר ואורך זמן רב ולכן יש צורך למצוא דרכי התמודדות עם נוכחות הוורוס בכרמים קיימים. ההנחה המקובלת הייתה שיש תנאי גידול מיטביים הכוללים השקיה גבוהה ודישון העשויים לשפר את ההתמודדות של הגפן ולהקטין את התסמינים של הנגיעות בוורוס.

בכרמים נגועים, נצפתה רמה שונה של התבטאות תסמינים בין כרמים שונים ובין גפנים שונות שנמצאו כנגועות, באותו הכרם (מוואסי, מ., 2013). בתצפיות הקדמיות (מוואסי, מ., 2013), נמצא כי בכרמים שהגפנים בהם בעלות צימוח נמרץ נתגלו תסמינים חזקים יותר של המחלה. בשל כך הועלתה ההשערה כי ייתכן וקיים קשר בין רמת ההשקיה לעוצמת התבטאות התסמינים ולהשפעת המחלה על הפיזיולוגיה של הגפן ואיכות הפרי.

במחקר הנוכחי, לראשונה, נבדקה ונמצאה השפעה של טיפולי השקיה שונים (השקיה גבוהה והשקיה נמוכה) על התבטאות תסמיני המחלה. מאחר וכיוון מחקר זה חדשני נבחנו טיפולי השקיה קיצוניים כדי להבטיח שבמידה וישנה השפעה למצב המים היא תבוא לידי ביטוי. בהתאם לכך, מנת המים אשר ניתנה בטיפול ההשקיה הגבוהה הייתה גבוהה מאד (כ- 400 מ"ק לדונם), לעומת טיפול ההשקיה הנמוכה (כ 100 מ"ק לדונם), הדומה בכמותו להשקיה בחלקות המסחריות סביב (70-140 מ"ק לדונם לעונה). בהשוואה בין ערכי פוטנציאל המים בטיפולי ההשקיה השונים לבין הערכים הנהוגים בממשק השקיה רגיל, ניתן להגדיר את טיפול ההשקיה הגבוהה כהשקיה בעודף ואילו טיפול ההשקיה הנמוכה כהשקיה גרעונית, אך לא מצב של חוסר מים קיצוני, שעלול לגרום להתייבשות ולעקות מים חריפות ובלתי הפיכות (פוטנציאל של -0.6 -0.7 MPa, לעומת -1.3 -1.4 MPa, בהתאמה) (McCarthy, 1997).

## 5.1 התבטאות תסמיני המחלה

### הגורמים המשפיעים על התבטאות מחלת קיפול העלים וההבשלה

ידועים מספר גורמים המשפיעים על התבטאות תסמיני מחלת קיפול העלים בגפן ועל איכות הפרי. במחקר קודם נמצא כי לצורת הגידול, כלומר שיטת ההדליה, טיפולים הורטיקולטוריים וכו' (Kovacs et al., 2001) עשויה להיות השפעה משמעותית על התפתחות התסמינים של המחלה. כמו כן, שילוב של מספר ווירוסים והטיפוס המדויק של הווירוס עשויים להשפיע על ההתבטאות (Woodham et al., 1983, Cabaleiro et al., 1999; Golino, 1993; Guidoni et al., 1997; Kliewer & Lider, 1976; Kovacs et al., 2001). בעבודות אחרות נמצא כי ישנה השפעה של עונות השנה על התבטאות התסמינים ומיקום הווירוס ברקמות הגפן (Teliz et al., 1987, Ling et al., 2001). בנוסף, בעבודות קודמות נמצא כי לגיל הגפן ישנה השפעה על עוצמת התסמינים, ככל שהגפן מבוגרת יותר ועבר יותר זמן מההדבקה, התבטאות המחלה תהיה חמורה יותר (Sampol et al., 2003). כמו כן, הוכח כי הכלאה של גפן אירופאית (*Vitis Vinifera*) עם אחד ממיני הגפן האמריקאית, גורמת להפחתת התבטאות תסמיני המחלה (Goheen, 1988, Over de Linden & Chamberlain, 1970a). ישנם הבדלים בהתבטאות גם בהתאם לזן הגפן, לדוגמה, זנים לבנים לא מבטאים את תסמיני המחלה (Over de Linden & Chamberlain, 1970a). כך שניתן לראות שיש הבדלים בהתבטאות התסמינים במצבים שונים.

בעבודתם של Ben salem – Fnayou וחבריו (2006) נמצא כי ישנה השפעה של תנאי האקלים על נוכחות הווירוס. בעבודה זו אשר נערכה בסהרה, תוניסיה, נמצא שמתוך גפנים נגועות בוורוס שניטעו ובדקו לאחר שנה, כ 80% מהגפנים נמצאו שליליות לוורוס ולאחר שנה נוספת כ 93% מהגפנים נמצאו שליליות לוורוס בבדיקות שבוצעו באמצעות ELISA ו- RT-PCR. לעומת זאת, בעבודה שלנו נמצאה השפעה של משטר ההשקיה על התבטאות התסמינים, אך בבדיקות מולקולריות באמצעות RT-PCR לא מצאנו הבדלים בריכוז הווירוס בגפן. ייתכן וההשפעה של עונות השנה כמו ההשפעה של אזור הגידול ותנאי האקלים באות לידי ביטוי באופן דומה לזה של השפעת ההשקיה ומצב משק המים של הגפן, על ידי יצירת עקת יובש. החידוש בעבודה שלנו הוא שבגפנים עם נתוני פתיחה זהים (זן, כנה, גיל וכולן נגועות בוורוס קיפול העלים) קיבלנו על ידי טיפולי השקיה שונים השפעה על התבטאות התסמינים ואיכות הפרי. נמצאו הבדלים במועד התחלת ההתבטאות, בשיעור הגפנים הסימפטומטיות ובחומרת התסמינים לאורך העונה ועד הבציר. ראינו שכאשר בטיפול ההשקיה הגבוהה החומרה בזמן הבציר הייתה רמה 4, כלומר כל העלה אדום, בטיפול ההשקיה הנמוכה החומרה הממוצעת הייתה 2.5, כלומר, פחות מחצי עלה אדום בממוצע. נתון זה מאוד משמעותי מבחינת ההבשלה וצבירת הסוכרים. אחד ההסברים האפשריים לירידה ברמות הבריקס הינו ירידה בקצב הפוטוסינתזה. מצאנו בעבודה הבדלים ביחס בין

מוליכות הפיוניות לקצב ההטמעה בין גפנים משני טיפולי ההשקיה. בגפנים מטיפול ההשקיה הגבוהה שהיו יותר סימפטומטיות, מוליכות הפיוניות הייתה גבוהה יותר מאשר בטיפול ההשקיה הנמוכה בכל שלבי הגידול. קצב קיבוע הפחמן היה לעומת זאת דומה בשני הטיפולים ועל כן ניתן להסיק שיעילות ניצול המים של גפני טיפול ההשקיה הנמוכה הייתה גבוהה יותר. בספרות מתוארת פגיעה בתכולת הכלורופיל והקרטנואידים בגפנים נגועות בוורוס (Hristov & Abrasheva, 2001). בעבודה שלנו, בבדיקת הפיגמנטים בעלים, אנו רואים עליה דווקא בכלורופיל בטיפול ההשקיה הגבוהה ובמקביל עליה באנטוציאן, שמקנה לעלה את הצבע האדום. תוצאה זו אינה סותרת את הספרות משום שבעבודה שלנו כל הגפנים נגועות בוורוס ולא הייתה השוואה בין גפנים נגועות לגפנים בריאות.

תסמיני המחלה דומים לסימני מחסור בזרחן (Herschler, 1936) ואחת האפשרויות שהוצעו להבדלים שקיבלנו בחומרת התסמינים היא שההשקיה השונה גרמה לריכוז זרחן נמוך יותר בטיפול ההשקיה הגבוהה. השערה זו נפסלה שכן בבדיקת המאקרואלמנטים בעלים הראתה יותר זרחן בטיפול ההשקיה הגבוהה.

בספרות מתוארת פגיעה בהבשלה בגפנים נגועות בוורוס שיכולה להתבטא בעיכוב ההבשלה ובחוסר יכולת להגיע להבשלה טובה. (Lider et al., 1975, Ueno et al., 1985, Borgo, 1991). אחד הגורמים שמעידים באופן ישיר על קצב ההבשלה ואיכותה הינו משך הבחול. ככל שהבחול קצר יותר, החלקה אחידה יותר בהבשלה וההבשלה מהירה יותר. Guidoni (1997) מדווח בעבודתו על עיכוב בבחול בגפנים נגועות בוורוס. בניסוי שלנו ניתן לראות כי קצב הבחול היה מהיר יותר בטיפול ההשקיה הנמוכה. אמנם הבחול בטיפול ההשקיה הנמוכה החל שבוע מאוחר יותר, אולם הסתיים בתאריך דומה לטיפול ההשקיה הגבוהה, כלומר היה מהיר ואחיד יותר מהתהליך בטיפול ההשקיה הגבוהה. מבחינת היבול ומס' האשכולות לגפן, בספרות מתוארת אפשרות לפחיתה ביבול כתוצאה מהנגיעות בוורוס (Moutinho- Pereira et al., 2012, Lider et al., 1975, Credi & Babini, 1997). מאידך, בניסויי השקיה, ללא קשר לנוכחות הוורוס (Chaves et al., 2007, Chalmers et al., 2010), הפחיתה ביבול בטיפול השקיה נמוכה נובעת בעיקר ממשקל גרגר קטן יותר. בדומה, גם בניסוי שלנו משקל הגרגר בטיפול ההשקיה הנמוכה היה קטן יותר ובנוסף לכך, מספר האשכולות לגפן לאורך כל שנות המחקר היה גבוה יותר בטיפול ההשקיה הגבוהה. נתון זה הגיוני משום שבתחום סביר, ככל שהגפן במצב משק מים טוב יותר, ההתמיינות הרפרודוקטיבית שלה שמתרחשת בעונה הקודמת תהיה טובה יותר וישנו פוטנציאל ליותר אשכולות ולאשכולות גדולים יותר. הבדל זה יכול להתבטא גם במספר גרגרים רב יותר לאשכול, שמתבטא בסוף ביבול גבוה יותר. מבחינת היבול לגפן ניתן לראות שהיבול לגפן בטיפול ההשקיה הגבוהה היה גבוה באופן משמעותי מאשר בטיפול ההשקיה הנמוכה, כאשר היבולים בטיפול ההשקיה הנמוכה הם מעט נמוכים, בין 3.5 ק"ג לגפן בעונת 2011 ל 3.8

ק"ג לגפן בעונת 2012 (777 ו 843 ק"ג לדונם, בהתאמה, בצד הנמוך של המקובל באזור). בטיפול ההשקיה הגבוהה היבולים סבירים בהחלט לקברנה סוביניון, בעונת 2011, כ 4.5 ק"ג לגפן וב-2012 כמעט 6 ק"ג לגפן (1000 ו 1330 ק"ג לדונם בהתאמה). יכול זה מעט גבוה אך סביר לזן ולאזור ובהחלט אינו עומס יבול קיצוני. ניתן לראות שהגפנים אכן הושפעו מכמויות המים שניתנו בטיפולים השונים ותגובתם להשקיה הדיפרנציאלית מבחינת צימוח וגטטיבי ופרודוקטיבי והתבטאות תסמיני המחלה, הייתה בהתאם למצופה.

## 5.2 ההשפעה על איכות הפרי והיין

ידועה השפעה שלילית של הווירוס על מדדי האיכות של הפרי בגפנים נגועות. כאשר הגפן נגועה בוורוס, מתוארת בספרות ירידה באיכות הפרי שמתבטאת בירידה בבריקס, עליה ב TA, ירידה ב pH, ובריכוז הצבע. כלומר, הפרי מגפנים נגועות לרוב אינו מגיע לאותה איכות הבשלה כפי שפרי מגפן בריאה מסוגל להגיע (Schoeffling, 1980, Ueno et al., 1985, Borgo, 1991, Borgo et al., 2002, 2003, Kim et al., 2003, Wolpert & Vilas, 1992, Cabaleiro et al., 1996, 1999, Over De Linden & Chamberlain, 1970). חשוב לדעת כי בענבי יין ישנה העדפה לגודל גרגר קטן. ככל שהגרגר קטן יותר, יחס שטח הפנים של הקליפה גדול יותר ביחס לציפה ומשום שבקליפה נמצאים חומרי הטעם והארומה וכן האנטוציאנינים, ליין המתקבל מענבים קטנים יהיה פוטנציאל להגיע לאיכות גבוהה יותר (Chaves et al., 2007, Chalmers et al., 2010, Lopez et al., 2007). במדדים של איכות היין, מתוארת בספרות השפעה חיובית של השקיה גרעונית מבוקרת, כלומר, כאשר מיושמת השקיה גרעונית מבוקרת ללא השריית עקת יובש חמורה, נצפתה עליה באיכות הפרי שבאה לידי ביטוי בבריקס, ב TA, ב pH ובריכוז הצבע (Chaves et al., 2007, Chalmers et al., 2010). גם בניסוי שלנו אנו רואים תוצאות טובות יותר בטיפול ההשקיה הנמוכה שמתבטא בבריקס גבוה יותר ובשיפור בצבע היין, (בטיפול ההשקיה הנמוכה הוא עבר את הסף לקבלת בונוס על צבע לפי מחירון מועצת גפן היין, שהוא 9 מ"ג לליטר). כמו כן, נמצאה עליה בריכוז הפנולים וכמובן דירוג גבוה יותר בתוצאות הטעימה. ניתן לראות כי ברוב מדדי האיכות היו הבדלים לטובת טיפול ההשקיה הנמוכה. הבריקס בטיפול ההשקיה הנמוכה היה גבוה יותר, בחמיצות לא היו הבדלים מובהקים ובהתאם למצופה, גודל הגרגר היה קטן יותר בטיפול ההשקיה הנמוכה. אמנם היבול היה מעט נמוך יותר בטיפול זה, אולם ערך הענבים לטון היה גבוה בערך פי שלוש לעומת הענבים מטיפול ההשקיה הגבוהה (יינני יקב רמת הגולן- תוצאות הטעימה). ניתן לסכם כי בטיפול ההשקיה הנמוכה קיבלנו פרי איכותי יותר על פי כל המדדים. עם זאת, קשה לומר אם ההשפעה על איכות היין נובעת ישירות מההשקיה הגרעונית או מהפחתת התסמינים של המחלה כתוצאה מההשקיה הגרעונית.

### 5.3 השפעות פיזיולוגיות השפעה על קצב קיבוע הפחמן

מוליכות הפיוניות היא בד"כ מדד אמין למצבו הפיסיולוגי של הצמח. גורמי עקה אביוטית, כעקת יובש, וגורמים ביוטיים כנגיעות בוורוס, עלולים להשפיע על מוליכות הפיוניות עד לכדי יצירת מגבלה על קצב הדיפוזיה של CO<sub>2</sub> הנדרש בתהליך הפוטוסינתזה. כאשר זמינות המים יורדת, הצמח מצוי "בדילמה" בין לסגור את הפיוניות כדי למנוע את המשך הירידה של פוטנציאל המים, לבין לשמר מוליכות פיוניות גבוהה ולאפשר דיפוזיה של CO<sub>2</sub> אל תאי המזופיל. במחקרים קודמים, נמצא כי לנוכחות הווירוס בעלי הגפן יש השפעה שלילית על מדדים של קצב קיבוע הפחמן נטו וקצב הולכת האלקטרונים (Sampol, Bota et al., 2003). במחקר שנערך בגפנים מהזן "נביל", נגועות בוורוס, נמצא כי טיפולי חום (37 מעלות צלזיוס) גרמו "לניקוי" הגפן מהווירוס ושיפרו את קצב קיבוע הפחמן (Mannini et al., 1996).

בגפנים "בריאות", מוליכות הפיוניות תלויה בפוטנציאל המים בגזע ומשפיעה ישירות על קצב קיבוע הפחמן (Flexas et al., 2010, Cifre et al., 2005). בעבודה הנוכחית, ניתן לראות בגפנים הנגועות במחלת קיפול העלים קורלציה בין פוטנציאל המים בגזע לבין מוליכות הפיוניות. אולם, הקשר מובהק יותר בגפנים מטיפולי ההשקיה הנמוכה ופחות ברור בגפנים המבטאות תסמיני מחלה ברורים יותר בטיפול ההשקיה הגבוהה. נראה, כי ככל שעוצמת התסמינים גדלה, חל שיבוש ביחס בין פוטנציאל המים בגזע לבין מוליכות הפיוניות, כנראה בשל פגיעה במערכת הפוטוסינתטית. בחלק גדול מהמדידות אנו רואים שהניצול של מוליכות הפיוניות לקיבוע הפחמן הייתה טובה יותר בטיפול ההשקיה הנמוכה, כלומר, יעילות ניצול המים בטיפולי ההשקיה הנמוכה הייתה גבוהה יותר. קצב קיבוע הפחמן ומוליכות הפיוניות היו גבוהים יותר בשלב אחד והקצבים ירדו במעבר לשלב שתיים וירידה נוספת במעבר לשלב שלוש. מבחינת היעילות של המערכת הפוטוסינתטית, ניתן לראות שקצב הולכת האלקטרונים (ETR) היה גבוה יותר בטיפול ההשקיה הנמוכה, כלומר היעילות הפוטוסינתטית שלו בניצול האור הייתה גבוהה יותר למרות שמוליכות הפיוניות הייתה נמוכה יותר. הדבר עשוי לנבוע ממיסוך קטן יותר של הכלורופיל ע"י האנטוציאנין המאפיין את העלים נגועי הווירוס. על פניו, נראה שבטיפולי ההשקיה הנמוכה הייתה פחות פגיעה במערכת הפוטוסינתטית, כלומר הפוטנציאל הפוטוסינתטי היה גבוה יותר ביחס לטיפול ההשקיה הגבוהה.

## **6. סיכום ומסקנות**

לסיכום: קשה להפריד בין ההשפעות של עקת המים על גובה היבול ואיכותו להשפעות של ההתבטאות השונה של תסמיני המחלה שהתקבלו בטיפול השקיה השונים. עם זאת, התבטאות התסמינים השונה בין הטיפולים, הפחיתה ביעילות הפוטוסינתטית דווקא בטיפול ההשקיה הגבוהה ביחס לנמוכה והשיפור באיכויות הפרי בגפנים נגועות בוורוס על ידי טיפול השקיה נמוכה, מעידים שהגפן לא מתפקדת כמו שהיינו מצפים שתתפקד עם כל עקה בנפרד. נראה שישנה אינטראקציה בין העקות שגורמת לגפן הנמצאת בעקת מים להגיב שונה לנוכחות הוורוס (כעין הגנה הדדית). נראה, כי על ידי תכנון אסטרטגיית השקיה והתאמת מצב המים הרצוי בגפן, בהתאם למצב הנגיעות, למצב המים בקרקע ולשילבים הפנולוגיים בהתפתחות הגפן ניתן לשפר את האיכויות בכרמי יין נגועים בוורוס.

## 7. רשימת ספרות

מוואסי, מ. (2013) דו"ח מסכם- מיזם הפחתת נזקי וירוסים בכרמי יין. מיזם ארצי במימון המדען הראשי של משרד החקלאות והמועצה לגפן יין, תכנית מחקר מס' 132-1502.

Atallah, S.S., Gómez, M.I., Fuchs, M.F. and Martinson, T.E. (2012). "Economic Impact of Grapevine Leafroll Disease on *Vitis vinifera* cv. Cabernet franc in Finger Lakes Vineyards of New York." American Journal of Enology and Viticulture **63**: 73-79.

Ben salem- Fnayou, A., Gugerli, P., Zemni, H., Mliki, A. and Ghorbel, A. (2006). "Decreased Detectability of Grapevine Leafroll-associated virus 3 in Sakasly Grapevines Cultivated Under the Sahara Conditions." Journal of Phytopathology **154**: 528–533.

Bertamini, M., Muthuchelian, K. and Nedunchezian, N. (2004). "Effect of grapevine leafroll on the photosynthesis of field grown grapevine plants (*Vitis vinifera* L. cv. Lagrein)." Journal of Phytopathology **152**: 145-152.

Bonfiglioli, R., Hoskins, N. and Edwards, F. (2002). "Grapevine leafroll virus type 3 spreading in New Zealand." Australian & New Zealand Grapegrower and Winemaker **457**: 58-61.

Borgo, M. (1991). "Effect of grapevine leafroll virus on some production parameters." Rivista di Viticoltura e di Enologia **44**(2): 21-30.

Borgo, M. and C. Michielini (2000). "Natural spread of grapevine leafroll on varieties and biotypes of *Vitis vinifera*." Rivista di Viticoltura e di Enologia **53**: 3-13.

Borgo, M. and E. Angelini (2002). "Influence of grapevine leafroll (GLRaV3) on Merlot cv. grape production." Bulletin de l'OIV **75**.

Borgo, M., Angelini, E. and Flamini, R. (2003). "Effects of grapevine leafroll associated virus 3 on main characteristics of three vineyards." L'enologo **3**: 99-110.

Bravdo, B., Hepner, Y., Loinger, C., Cohen, S. and Tabacman, H. (1985). "Effect of irrigation and crop level on growth, yield and wine quality of Cabernet Sauvignon." American Journal of Enology and Viticulture **36**: 132-139.

Cabaleiro, C., Pineiro, A. and Segura, A. (1997). "Photosynthesis in grapevines infected with leafroll virus (GLRaV-3)." 12th Meeting of the international council for the study of viruses and virus-like diseases of the grapevine (ICVG), Lisbon, Portugal.

Cabaleiro, C. and A. Segura (1996). "Effect of grapevine leafroll-associated virus-3 in a commercial cv. Albarino vineyard." Investigacion Agraria: Produccion y Proteccion Vegetales **11**: 451-463.

Cabaleiro, C., Segura, A and Garcia- Berrios, J.J. (1999). "Effects of grapevine leafroll-associated virus 3 on the physiology and must of *Vitis vinifera* L. cv . Albarino following contamination in the field." American Journal of Enology and Viticulture **50**: 40-44.

Chalmers, D.J., Burge, G., Jerie, P.H. and Mitchell, P.D. (1986). "The mechanism of regulation of Bartlett pear fruit and vegetative growth by irrigation withholding and regulated deficit irrigation." Journal of the American Society for Horticultural Science **111**: 904-907.

Chalmers, Y. M. (2007). Influence of sustained deficit irrigation on physiology and phenolic compounds in winegrapes and wine, The University of Adelaide.

Chalmers, Y. M., Downey, M.O., Krstic, M.P., Loveys, B.R. and Dry, P.R. (2010). "Influence of sustained deficit irrigation on colour parameters of Cabernet Sauvignon and Shiraz microscale wine fermentations." Australian Journal of Grape and Wine Research **16**: 301-313.

Chamberlain E.E., Over de Linden A.J. and Berrysmith F. (1970). "Virus disease of grapevines in New Zealand." New Zealand Journal of Agricultural Research **13**: 338-358.

Chaves, M., Santos, P.T., Souza, C.R., Orturno, M.F., Rodrigues, M.L., Lopes, C.M., Maroco, J.P. and Pereira, J.S. (2007). "Deficit irrigation in grapevine improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality." Annals of Applied Biology **150**: 237-252.

Cifre, J., Bota, J., Escalona, J.M., Medrano, H., Flexas, J. (2005). "Physiological tools for irrigation scheduling in grapevine (*Vitis vinifera* L.): An open gate to improve water-use efficiency?" Agriculture, ecosystems & environment **106**: 159-170.

Clingeffer, P. and L. Krake (1992). "Responses of Cabernet franc grapevines to minimal pruning and virus infection." American Journal of Enology and Viticulture **43**: 31-37.

Credi, R. and A. Babini (1996). "Effect of virus and virus-like infections on the growth of grapevine rootstocks." Advances in Horticultural Science: 95-98.

Credi, R. and A. R. Babini (1997). "Effects of virus and virus-like infections on growth, yield, and fruit quality of Albana and Trebbiano Romagnolo grapevines." American Journal of Enology and Viticulture **48**: 7-12.

Demmig, B. and Björkman, O. (1987). "Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O<sub>2</sub> evolution in leaves of higher plants." Planta **171**: 171-184.



- Edwards, G. E. and Baker, N.R. (1993). "Can CO<sub>2</sub> assimilation in maize leaves be predicted accurately from chlorophyll fluorescence analysis?" Photosynthesis Research **37**: 89-102.
- Erismann, N de M., Machado, E.C., MLS'A, Tucci. (2008). "Photosynthetic limitation by CO<sub>2</sub> diffusion in drought stressed orange leaves on three rootstocks." Photosynthesis Research **96**: 163-172.
- Flexas, J., Galmés, J., Gallé, J., Gulías, A., Pou, M., Ribas-Carbo, M.T., Medrano, H. (2010). "Improving water use efficiency in grapevines: potential physiological targets for biotechnological improvement." Australian Journal of Grape and Wine Research **16**: 106-121.
- Genty, B., Briantais, J.M. and Baker, N.R. (1989). "The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence." Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects **990**: 87-92.
- Goheen, A. (1981). Grape virus diseases. Grape pest management. Agricultural Sciences Publications, University of California Berkeley, USA, Flaherty DL: 84-92.
- Golino, D.A. (1993). "Potential interactions between rootstocks and grapevine latent viruses ".American Journal of Enology and Viticulture **44**: 148-152.
- Golino, D.A., Sim, S.T., Gill, R. and Rowhani, A. (2002). "California mealybugs can spread grapevine leafroll disease." California Agriculture **56**: 196-201.
- Gonzalez, E., Diaz, T., and Mosquera, M.V. (1995). "Effects of various types of virus on *Vitis vinifera* L. cv. Albariño cultivated in vitro." Vitis **34**: 243-244.
- Gonzalez, E., Mosquera, M.V., San Jose M.C. and Diaz, T. (1997). "Influence of virus on the chlorophyll, carotenoid and polyamine contents in grapevine microcuttings." J. Phytopathology **145**: 185-187.
- Guidoni, S., Ferrandino, A., Argamante, N., Mannini, F. and Di Stefano, R. (1997). "The effect of grapevine leafroll and rugose wood sanitation on agronomic performance and berry and leaf phenolic content of a Nebbiolo clone (*Vitis vinifera* L.)." American Journal of Enology and Viticulture **48**: 438-442.
- Guidoni, S., Mannini, F., Ferrandino, A., Argamante, N. and di Stefano, R. (2000). "Effect of virus status on leaf and berry phenolic compounds in two wine grapevine *Vitis vinifera* cultivars." Acta Horticulturae **526**: 445-452.
- Hale, C.R. and Woodham, R.C. (1979). "Effect of leafroll disease on the acid and potassium composition of sultana grapes." American Journal of Enology and Viticulture **30**: 91-92.

Herschler, A. (1936) Ernährungsstörungen an reben durch bodenverhältnisse mit besonderer berücksichtigung von kalimangelschäden. Ernährungsstörungen Pflanze **32**: 197-204.

Hoefert, L. (1967). "Grapevine leafroll virus-history and anatomic effects." Hilgardia **38**: 403-426.

Hristov, I. and Abrasheva, P. (2001). "Effect of grapevine fanleaf virus and grapevine leafroll associated virus 3 on vine plants under conditions of in vitro cultivation." Rastenievudni Nauki (Plant Science), Bulgaria **38**: 269-274.

Jones, H.G. (2004). "Irrigation scheduling: advantages and pitfalls of plant-based methods." Journal of Experimental Botany **55**: 2427-2436.

Karasev, A.V. (2000). "Genetic diversity and evolution of *Closteroviruses*." Annual Review of Phytopathology **38**: 293-324.

Kliwer W.M and Lider L.A. (1976). "Influence of leafroll virus on composition of Burgerfruits." American Journal of Enology and Viticulture **27**: 118-124.

Kim, H.R., Chung, J.D., Kim, K.R., Choi, Y.M., Yiem, M.S. and Park, J.W. (2003). "Effects of grapevine leafroll-associated virus 3 infection on vine growth and fruit quality in Kyoho grapevines." Journal of the Korean Society for Horticultural Science **44**: 335-339.

Komar, V., E. Vigne, G. Demangeat, and M. Fuchs. (2007). "Beneficial effect of selective virus elimination on the performance of *Vitis vinifera* cv. Chardonnay." American Journal of Enology and Viticulture **58**:202-210.

Kovacs, L.G., Hanami, H., Fortenberry, M. and Kaps, M.L. (2001). "Latent infection by leafroll agent GLRaV-3 is linked to lower fruit quality in French-American hybrid grapevines Vidal blanc and St. Vincent." American Journal of Enology and Viticulture **52**: 254-259.

Krall, J.P. and G. E. Edwards (1992). "Relationship between photosystem II activity and CO<sub>2</sub> fixation in leaves." Physiologia Plantarum **86**: 180-187

Krake, L. (1993). "Characterization of grapevine leafroll disease by symptomatology." Australian & New Zealand Wine Industry Journal **8**: 40-44.

Lee, J. and R.R. Martin (2009). "Influence of grapevine leafroll associated viruses (GLRaV-2 and-3) on the fruit composition of Oregon *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir: Phenolics." Food Chemistry **112**: 889-896.

Lichtenthaler, H.K. (1987). "Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in Enzymology*" (R. D. Lester Packer, ed.) pp. 350-382. Academic Press

Lider, L.A., Goheen, A.C. and Ferrari, N.L. (1975). "A comparison between healthy and leafroll-affected grapevine planting stocks." American Journal of Enology and Viticulture **26**: 144-147.

Long, SP ; Bernacchi, C.J. (2003). "Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error." Journal of experimental botany **54**: 2393-2401.

Lopez, M. I., Sánchez, M. T.b , Díaz, A.B. , Ramírez, P. and Morales, J. (2007). "Influence of a deficit irrigation regime during ripening on berry composition in grapevines (*Vitis vinifera* L.) grown in semi-arid areas." International journal of food sciences and nutrition **58**: 491-507.

Mannini, F., Credi, R., Gerbi, V., Lisa, A., Minati, J.L. and Argamante, N. (1994). "Effect of viral infections on agronomical and enological behaviour of clones of the grapevine cv. Ruche and Dolcetto." Quaderni della Scuola di Specializzazione in Viticoltura ed Enologia, Univ. Torino **18**: 55-71.

Mannini, F., Argamante, N. and Credi, R. (1996). "Improvements in the quality of grapevine Nebbiolo clones obtained by sanitation." Acta Horticulturae **427**: 319-324.

Mannini, F., Guidoni, S., Ferrandino, A., Argamante, N. and Credi, R. (1997). "Photosynthesis and grape composition of a *Vitis vinifera* clone after virus sanitation." 12th Meeting of the international council for the study of viruses and virus-like diseases of the grapevine (ICVG), Lisbon, Portugal.

Mannini, F., Gerbi, V. and Credi, R. (1998). "Heat-treated V. Virus-infected grapevine clones: agronomical and enological modifications." Acta Horticulturae **473**: 155-164.

Mannini, F., Argamante, N. and Credi, R. (1999). "Contribution of virus infections to clonal variability of some *Vitis vinifera* L. cultivars." Bulletin de l'OIV **72**: 144-160.

Mannini, F., Argamante, N. and Credi, R. (2000). "Leaf morphological modifications induced by different viruses in clones of *Vitis vinifera* cultivars." Acta Horticulturae **528**: 765-768.

Martelli, G.P. (2003). "Grapevine virology highlights 2000-2003." Extended abstracts, 14th Meeting of ICVG, Locorotondo **2003**: 3-10.

Maxwell, K ; Johnson, GN (2000). "Chlorophyll fluorescence - a practical guide." Journal of experimental botany **51**: 659-668.

McCarthy, M. G. (1997). "Effect of timing of water deficit on fruit development and composition of *Vitis vinifera* cv. Shiraz." PhD thesis, The University of Adelaide, Adelaide, Australia.

McCutchan, H. and K. Shackel (1992). "Stem-water potential as a sensitive indicator of water stress in prune trees (*Prunus domestica* L. cv. French)." Journal of the American Society for Horticultural Science **117**: 607-611

Moutinho-Pereira, J., Correia, C.M., Goncalves, B., Bacelar, E.A., Coutinho, J.F., Ferreira, H.F., Lousada, J.L. and Cortez, M.I. (2012). "Impacts of leafroll-associated viruses (GLRaV-1 and-3) on the physiology of the Portuguese grapevine cultivar 'Touriga Nacional' growing under field conditions." Annals of Applied Biology **160**: 237-249.

Mullins, M. G., Bouquet, A. and Williams, L.E. (1992). Biology of the Grapevine, Cambridge University Press, UK: 239 pp.

Nadal, M. and J. M. Vernet (2011). "Deficit irrigation and rootstock effects on water stress, growth, and grape composition in a Mediterranean climate." Contributions to science **6**: 115.

Netzer, Y · Chongren Yao Shenker, M · Bravdo B.A · Schwartz, A (2009) "Water use and the development of seasonal crop coefficients for Superior Seedless grapevines trained to an open-gable trellis system." Irrigation Science **27**: 109-120.

Nicholas, P., (2004). "Soil, irrigation and nutrition." Grape Production Series Number 2. (South Australian Research and Development Institute Adelaide).

Olivo, N., Girona, J. & Marsal, J., (2008). "Seasonal sensitivity of stem water potential to vapour pressure deficit in grapevine." Irrigation Science, **27**: pp.175-182.

Over de Linden A.J. and Chamberlain E.E. (1970). "Effect of grapevine leafroll virus on vine growth and fruit yield and quality." New Zealand Journal of Agricultural Research **13**: 689-698.

Pearson, R. C. and A. C. Goheen (1988). Compendium of grape diseases, American Phytopathological Society.

Pietersen, G. (2004). "Spread of grapevine leafroll disease in South Africa-a difficult but not insurmountable problem." Technical Yearbook 2004/5.

Reid, K. E., Olsson, N., Schlosser, J., Peng F. and Lund S.T. (2006). "An optimized grapevine RNA isolation procedure and statistical determination of reference genes for real-time RT-PCR during berry development." BMC plant biology **6**: 27.

Romero, P., Fernández-Fernández, J.I. and Martínez-Cutillas, A. (2010). "Physiological thresholds for efficient regulated deficit-irrigation management in winegrapes grown under semiarid conditions." American Journal of Enology and Viticulture **61**: 300-312.

Sampol, B., Bota, J., Riera, D., Medrano, H. and Flexas, J. (2003). "Analysis of the virus-induced inhibition of photosynthesis in malmsey grapevines." New Phytologist **160**: 403-412.

Schoeffling, H. (1980). "First results of a field-trial on the performance of heat-treated and non heat-treated white Riesling clones." 7th Meeting of the International Council for the Study of Viruses and Virus-like Diseases of the Grapevine. Niagara Falls, Canada.

Schultz, H. R. (2003). "Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought." Plant, Cell & Environment **26**: 1393-1405.

Ueno, K., Kinoshita, K., Togawa, H. and Iri, M. (1985). "Improvement of the wine quality by elimination of grapevine leafroll virus." Journal of the Brewing Society of Japan **80**: 490-495.

Vega, A., Gutiérrez, R. A. , Peña-Neira, A. , Cramer, G. R. and Arce-Johnson, P. (2011). "Compatible GLRaV-3 viral infections affect berry ripening decreasing sugar accumulation and anthocyanin biosynthesis in *Vitis vinifera*." Plant molecular biology **77**: 261-274.

Walker, R. and M. Gibberd (2002). "Vine and vineyard water requirements." workshop held at the Waite campus, Adelaide University, Australia.

Walker, J.T.S., Charles, J.G., Froud, K.j. and Connolly, P. (2004). "Leafroll virus in vineyards: modelling the spread and economic impact." Hort Research Client Report 12795.

Williams, L. (2012). "Effects of applied water amounts at various fractions of evapotranspiration (ET<sub>c</sub>) on leaf gas exchange of Thompson Seedless grapevines." Australian Journal of Grape and Wine Research 18: 100-108.

Williams, L. and J. Ayars (2005). "Grapevine water use and the crop coefficient are linear functions of the shaded area measured beneath the canopy." Agricultural and Forest Meteorology **132**: 201-211.

Woodham, R.C., Krake, L.R. and Cellier, K.M (1983). "The effect of grapevine leafroll plus yellow speckle disease on annual growth, yield and quality of grapes from Cabernet Franc under two pruning systems." Vitis **22**: 324-330.

Woodham, R.C., Antcliff, A.J., Krake, L.R. and Taylor, R.H (1984). "Yield differences between sultana clones related to virus status and genetic factors." Vitis **23**: 73-83.

Wolpert, J.A. and Vilas, E.P (1992). "Effect of mild leafroll disease on growth, yield and fruit maturity indices of Riesling and Zinfandel." American Journal of Enology and Viticulture **43**: 367-369.

Walter, B., and G.P. Martelli. (1996). Sélection sanitaire et sélection pomologique. Influences des viroses et qualité: Effet des viroses sur la culture de la vigne et ses produits. Bull. OIV **70**: 5-23.

## 8. נספחים

### 1. שלבים בהכנת יין אדום

- שקילת כל הטיפולים והבאת כולם למשקל אחיד.
- קירור למשך הלילה.
- הפרדת שיזרות וריסוק לתוך מיכל של 60 ליטר .
- הפרדה של המיץ מהפרי על ידי אמבטיה ורשת נירוסטה וחלוקה שווה של פרי ומיץ לכל מיכל תסיסה.
- שקילה לשם חישובי התוספות .
- העברת המכלים לחדר של 25 מעלות.
- תוספת  $\text{SO}_2$  - (30 ppm)
- P/D (PUNCH DOWN) – הורדת הקליפות כלפי מטה, היות ומצטברת שכבת קליפות בחלק העליון של היין
- אחרי 3 שעות לקיחת דוגמא לנתוני בציר לבדיקות : TA , BX, K , pH ,  $\Delta\text{PH}$
- תוספות:
  - חומצה טרטריית (לקבלת pH אחיד) – ל PH של 3.45
  - 0.2 g/l - DAP
  - ושמרים (מסוג DV10) 0.2g/l
- פעמיים ביום P/D ומיד אחרי זה של הבוקר בודקים BX
- כאשר ה-BX מגיע ל-  $0 \pm 1$  סוחטים את הענבים לתוך בקבוק 20 ליטר (ראה ליטרים אחרי סחיטה בטבלה)
- סיום תסיסה מוודאים ע"י אנליזת PILL. כאשר התוצאה של הסוכר שאריתי 0.2g/l או פחות היין נחשב יבש.
- כאשר היין יבש עושים שפייה של היין לתוך בקבוק בנפח 12 ליטר ולוקחים דוגמא לבדיקות מעבדה (AL,TA,PH,VA) ROY ועושים טופ (מילוי הבקבוק ע"מ שלא יוצר חמצון של היין).
- תוספת של חיידקים מלולקטיים 0.01g/l וערבוב.
- אחת לשלושה שבועות לוקחים דוגמא, לבדיקה של חומצה מאלית (בדיקה אנזימתית). בתוצאה של 0.2g/l או פחות מכך, היין נחשב יבש מאלית.

- בסיום התסיסה המלולקטית, שפייה לתוך בקבוק בנפח 10 ליטר עם תוספת SO<sub>2</sub> (40ppm) ודוגמאות RML (SO<sub>2</sub>,TA,PH,VA)
- לאחר חודש, מבצעים שפיה נוספת, תיקון SO<sub>2</sub> (אם יש צורך)
- לאחר חודש נוסף שפיה עם תוספת SO<sub>2</sub> (אם יש צורך), סינון דרך PAD, ע"פ פרוטוקול מצורף) לבקבוקים ובדיקות מעבדה BOT (SO<sub>2</sub>, TA, PH, VA, RS, AL, COLOR 420+520).

### פרוטוקול סינון

#### שלב 1 : הכנת המסנן לפני תחילת הסינון

- הרכבת המסנן וחיבור לחנקן
- שטיפה של המערכת עם אתנול 70%
- הרכבת ה-PAD הגס – BECO KD10 כשהצד המחוּספס כלפי מעלה.
- שטיפה עם חומצה ציטרית.
- שטיפה עם יין אדום נקי ואיסוף של כ-3/4 בקבוק 750 מ"ל (לזרוק בסוף העבודה).
- הוצאת שאריות יין נותרים ממיכל הסינון.

#### שלב 2: סינון היין

- הדבקות התוויות על 7 בקבוקים לפי סוג היין/ ניסיון (6 בקבוקים לכל ניסיון והשביעי למעבדה לאנליזת Historical).
- מילוי בקבוקים 750 מ"ל ב-CO<sub>2</sub> ופיקוק בפקק T עד לשלב מילוי היין.
- מילוי מיכל הסינון ביין המיועד לסינון תוך הזרמת חנקן למיכל.
- סינון היין דרך ה-PAD הגס לתוך בקבוקים 750 מ"ל (בקבוקים חדשים ושטופים).
- פיקוק הבקבוקים בפקק סינטטי.

**הפקת RNA.**

1. כלל ה-RNA הופק מהרקמות השונות (זמורות ופטוטורות) בשיטה שהתבססה על (Chang and Cairney, 1993) עם שינויים. נלקחו מתוך הדגימות כ 2 גרם חומר צמחי, הדוגמאות רוסקו בתוך חנקן נוזלי ועורבבו עם בופר מיצוי RNA (20 ml) שחומם קודם לכן ל-65°C. התערובת הודגרה למשך 10 דקות ב-65°C. לאחר מיצוי עם נפח שווה של תערובת כלורופורם:איזואמיל אלכוהול (1:24) למשך 5 דקות בטלטול, נערך סירכוז למשך 10 דקות ב-10,600g בטמפרטורת החדר. הפאזה המימית הועברה למבחנה נקייה ובוצע מיצוי חוזר. לאחר המיצוי השני, הוסף לפאזה המימית LiCl לריכוז סופי של 2.5M והמבחנה הודגרה ב-4°C למשך הלילה. למחרת נערך סירכוז ב-4°C ב-10,600g למשך 20 דקות והפלט נשטף ב 70% אתנול קר. הפלט הורחף ב-SSTE (1 ml) והנוזל הועבר למבחנת אפנדורף 2 מ"ל. לכל מבחנה הוסף נפח זהה של תערובת פנול חומצי: כלורופורם:איזואמיל אלכוהול (1:24:25). לאחר ערבוב וסירכוז בטמפרטורת החדר ב-15,300g למשך 5 דקות, הועברה הפאזה המימית למבחנה חדשה והוסף 1 מ"ל של תערובת כלורופורם:איזואמיל אלכוהול (1:24). נערך סירכוז נוסף והפאזה המימית נאספה למבחנה חדשה והוכנסה להשקעה אתנולית למשך הלילה ב-20°C. RNA הושקע על ידי סירכוז ב-17,900g למשך 15 דקות. הפלט נשטף ב-70% אתנול קר, יובש והורחף ב-sddH<sub>2</sub>O מטופלים ב-DEPC (30 µl). כלל ה-RNA כומת בשתי שיטות: א. שלושה מיקרוליטר RNA הורצו בג'ל אגרוז (1%) במתח קבוע של 70 V למשך כשעה. הג'ל צולם במצלמת UV ואיכות ה-RNA וכמותו היחסית נקבעו מן התמונה. ב. קביעה כמותית של ריכוז ה-RNA תוך שימוש בספקטרופוטומטר מסוג NanoDrop ND-1000 (NanoDrop technologies, Wilmington, USA).

**2. ניקוי RNA מ-DNA**

RNA (50 µl) הודגר עם RNase-free DNase (4 unit) RQ buffer בנכחות 17,900g (6µl) בנפח סופי של 60 µl (שהושלם עם sddH<sub>2</sub>O). הריאקציה הודגרה ב-37 °C למשך 15 דקות ולאחר מכן הועלה נפח הריאקציה ל-200 µl עם sddH<sub>2</sub>O מטופלים ב-DEPC. הוסף נפח שווה של תמיסת פנול חומצי: כלורופורם:איזואמיל אלכוהול (1:24:25), ולאחר סירכוז ב-10,600g למשך 3 דקות הועברה הפאזה המימית למבחנה חדשה. בשלב זה הוסף נפח זהה של תמיסת כלורופורם:איזואמיל אלכוהול (1:24) ונערך סירכוז ב-17,900g למשך 5 דקות. הפאזה המימית הועברה למבחנה נקייה ונערכה השקעה אתנולית למשך הלילה. למחרת אחרי סירכוז למשך 30 דקות ב-17,900g הפלט הורחף ב-sddH<sub>2</sub>O (30µl).



### 3. ריאקציית Reverse Transcription PCR (RT)

cDNA הוכן במבחנת אפנדורף שהכילה Total RNA (2.5µg) ו Random hexamer primer (1.25µg) הושלם ע"י מים לנפח סופי של 12µl. המבחנה הודגרה ב-70°C למשך 5 דקות להפרדת גדילים. לאחר מכן הוספו למבחנה 0.5 mM dNTP (1.25µl) מתמיסת אם בריכוז של 10 mM), 1X1st strand buffer (5µl) מתמיסת אם בריכוז 5X1st strand (buffer), MMLVRT בריכוז של 200 units / µl (1 µl) ו 5.75µl של ddH<sub>2</sub>O. הריאקציה הודגרה ב-37°C למשך 10 דקות, ולאחר מכן ב-42°C למשך 50 דקות. לסיום הריאקציה הודגרה המבחנה ל 15 דקות ב-75°C וקוררה ל-4°C. על מנת לאפיין ולכמת את הווירוס בצמח או בודקים את ביטוי הגנים של הווירוס לעומת גנים יציבים של הצמח

#### . בדיקת ביטוי גנים באמצעות Real Time PCR

חומר צמחי ששימש לריאקציית Real Time PCR נאסף כמתואר בסעיף 3.4.3 בעמוד 17. קביעה כמותית של רמת הווירוס בגפן התבססה על שימוש בטכנולוגיית Real Time PCR. דוגמאות ה-RNA וה-cDNA הופקו כמתואר למעלה (סעיפים: 2-4). cDNA שהוכן עבור כל דוגמא שימש כתבנית לריאקציית Real Time PCR שנערכה במכשיר ABI PRISM 700 (AB Applied Biosystems) על פי הוראות היצרן. הריאקציה נערכה בערכת Syber-green amplification (ABgene, UK) תוך שימוש בפריימרים יחודיים ל גן LLRT של ווירוס קיפול העלים ולגן GAP DH של הגפן. (ראה טבלה).

הגן	פונקציה	Forward Primer	Reveres Primer
LLRT(Leaf roll virus)	Real time PCR	5'GGGTCAAGTGCTCTAGTT AA3'	5'ACCTCGTCCGTTAGCGTA T3'
VvGAPDH	Real time PCR	5'TTCTCGTTGAGGGCTATT CCA3'	5'CCACAGACTTCATCGGT GACA3'

הקשירה של החומר הפלורסנטי Syber-green ל DNA דו-גדילי שנוצר במהלך ריאקציית ה-PCR מאפשר לבחון את קצב היווצרות ה-DNA במערכת באמצעות מדידת הפלורסנציה. בשלב ראשון נערכו ניסיונות לבחירת ריכוז אופטימלי לכל זוג פריימרים כאשר הפרמטר המנחה הוא קבלת תוצר יחיד שאינו מגביל את התקדמות הריאקציה. על בסיס זה נבחר ריכוז פריימרים של 300nM לכלל ריאקציות ה-Real Time PCR השונות. בשלב הבא נבחנה יעילות (efficiency) כל זוג פריימרים ע"י עקומות כיול בהן נבדקו ערכי C<sub>T</sub> שהתקבלו עבור מיהולים שונים של פלסמיד הנושא את רצף הגן הנבחר כולל 3'UTR. הערך C<sub>T</sub> מייצג את מספר מעגלי ריאקציית ה-PCR בהם נמדדה כמות התוצר (על ידי מדידת

הפלורסנציה) הגבוהה מרמת סף שנקבעה (Threshold). רמת הסף נקבעת כך שעקומת הפלורסנציה (המייצגת את כמות התוצר) של הגן הנבדק וגן הביקורת (ראה בהמשך) יהיו בשלב הלינארי של ריאקציית ה-PCR. לבניית עקומת כיוול לינארית חושבו ערכי log לכל מיהול. הגן ששימש לביקורת היה glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) כפי שפורסם בעבר (Reid et al., 2006). עבור כל זוגות הפריימרים שנבחנו, שיפוע העקומות הכיוול עבור גן הביקורת והגן הנבדק היה דומה והוכיח כי ההפרש בין ערכי ה- $C_T$  של הגן הנבדק ושל גן הביקורת אינו תלוי בריכוז ה-cDNA. חישוב ערכי Relative Expression (RE) נעשה על ידי הצבת ערכי  $C_T$  שהתקבלו בריאקציית ה-Real Time PCR בעקומת הכיוול הספציפית לכל גן וחילוץ הנתון של ריכוז cDNA יחסי. בכל סדרת ריאקציות נעשתה, במקביל לריאקציה עם זוג הפריימרים שמייצג את הגן, גם ריאקציה נוספת עם פריימרים לגן הביקורת ששימש כמקור יחוס. RE חושב על ידי חלוקת הערך של ריכוז ה-cDNA היחסי עבור הגן הנבדק, בריכוז ה-cDNA היחסי שהתקבל מגן הביקורת (פעולה זו נועדה לנרמל את רמת ה-RNA של הווירוס לזה של הצמח). ערך RE מייצג לכן את רמת הביטוי של הגן הויראלי יחסית לביטוי גן הביקורת שביטוי קבוע בדוגמאות השונות. עבור כל הדוגמאות גן הביקורת היה GAPDH.

virus and its concentration in the vine tissue was measured with Real Time PCR, and no differences were found between treatments, despite the difference in symptoms expression.

### Summary:

In this work, we demonstrated for the first time, that irrigation has an influence on symptom expression of GLRaV-3 and on fruit quality in an infected vineyard. In the high irrigation treatment, the rate of symptom appearance development and intensity were significantly higher than in the low irrigation treatment. In addition, in the low irrigation treatment, the physiological photosynthetic parameters measured were not less affected by the virus, although the vine was kept in some level of stress. Furthermore, the photosynthetic efficiency was higher. Fruit quality, according to all measured parameters, was better in the low irrigation treatment. It is hard to differentiate between the virus effect and the water stress effect, but it seems that there are physiological changes expressed as differences in the symptoms intensity and in the photosynthesis efficiency between the treatments. Therefore, we can conclude that the vine did not function as expected with each stress factor separately, suggesting that there is an interaction between them. As a result, the vine with water stress can react differently to the virus infection compared to a vine in better water conditions. It seems, that through a suitable irrigation strategy and ~~compatible~~ water conditions compatible to the infection level, with respect to the soil water conditions and the phenologic stages in the vine development, we can improve the quality in virus infected vineyards.

הערה [a1]: לא בטוחה שהבנתי אותך  
אז תראה אם התיקונים בסדר.

~~direction-idea~~ was never ~~checked~~tested before, the irrigation regimes were extreme (400 mm/dunam in the high treatment and 100 mm/dunam in the low treatment) in order not to miss the possible influence. Vigor was measured with pruning weights and leaf area index (LAI) and there was a significant difference in vigor between the high and low treatment (higher in the high irrigation). In addition, in the high irrigation treatment, symptoms of GLRd appeared ~~e-~~arlier, were relatively stronger and the percent of leaves expressing the symptoms ~~were~~was significantly higher throughout the season. A significant difference was also observed in the pre-harvest symptoms between treatments, when all the leaf was red in the high irrigation and only partially red in the low irrigation treatment. It is known that the virus affects the physiology of the vine in decreasing the photosynthetic efficiency. In this work, we demonstrated that photosynthesis as expressed in electron transport chain and CO<sub>2</sub> assimilation was more efficient ~~in electron transport chain and CO<sub>2</sub> assimilation~~, in the low irrigation treatment. Stomatal conductance was higher in the high irrigation treatment, but there was no significant difference in CO<sub>2</sub> assimilation in the leaves from the two treatments that were tested. It seems that the vine did not use its good-better water status and the open stomata to increase CO<sub>2</sub> assimilation. Furthermore, it seems that the correlation between stem water potential and stomata conductance was not differed between the high and low water regimes. always kept. When looking at ripening stages, a difference was observed at-in the rate of color change (Veraison). Short veraison can indicate a more uniform ripening. In the low irrigation treatment, veraison was induced~~started~~ 10 days later but was significantly faster. Yield was significantly higher in the high irrigation treatment - 4.5 and 6 kg/vine, while in the low treatment yields were relatively low - 3.5 and 3.8 kg/vine (2011 and 2012, respectively). Some significant differences were found in fruit quality measurements checked at harvest . Brix ~~-~~levels were 18.7 and 22.6 (high and low treatment, respectively), anthocyanin level were 5.85 mg/g and 11.01 mg/g in the high and low treatment, respectively. Wine was prepared from both treatments and the wine from the low irrigation treatment was significantly better. Phenols

and anthocyanin were measured at different stages of the wine making and higher concentrations were found in the low irrigation treatment. The presence of the

## **Abstract**

### **Irrigation effect on symptoms expression and fruit quality in GLRd (Grapevine Leafroll disease) infected Grapevines**

Leafroll disease is known as the most abundant virus disease in grapevine. This disease affects vineyards worldwide and is causing a great economic loss. The disease causes uneven fruit ripening, lower sugar and color accumulation and therefore a decrease in wine quality. Symptoms severity ~~are~~ is influenced by the age of the vine, the season, ~~viticulture~~ viticultural practices, the strain of the virus and its association with other viruses in the vine. Symptoms ~~are usually described as~~ include leaves becoming red with veins staying green and curling downward. In Israel, the virus that is mostly associated with these symptoms is the Grapevine leaf roll-associated Virus 3 (GLRaV-3). The solution to this problem in the future is to replace the vineyards with clean plant material. This is an expensive and time consuming process and therefore there is a need to find growing methods to increase and improve the life of an infected vineyard. Furthermore, some works described that vines can be infected with GLRaV-3 without showing any symptoms. In addition, it seems that different vineyards and different vines within a vineyard express the symptoms differently. In the past, it was observed that vines with high vigor showed relatively stronger symptoms of the disease. Therefore, an assumption was made that there might be a correlation between the irrigation level, the level of symptom expression and the influence of the disease on vine physiology and fruit quality. Works on the effect of the virus ~~and~~ or regular deficit irrigation (RDI) on vine physiology and on fruit quality were done in the past. But, until now, no work has been done on the effect of different irrigation treatments on the expression of symptoms in infected vineyards. In this study, an irrigation experiment was established on a virus infected Cabernet Sauvignon block. Two extreme irrigation regimes

were applied to check the effect on symptoms expression - high irrigation level (SWP of -0.6 to -0.8 MPa) and - low irrigation level (SWP of -1.2 to -1.4 MPa). ~~Because~~ As this

**Irrigation effect on symptoms expression and  
fruit quality in GLRd (Grapevine Leafroll  
disease) infected grapevines**

**M.Sc. Thesis**

**Submitted to the Robert H. Smith Faculty of  
Agricultural, Food and Environment of the Hebrew  
University of Jerusalem.**

**By**

**Ishay Rushansky**

**Rehovot**

**December 2013**

