

המכללה האקדמית תל חי
החוג לביוטכנולוגיה

השפעת טיפולי חילון על עמידות הגפן לפטריית הבוטריטיס ועל
איכות היין בזנים סובניון בלאן ו-ויונייה.

The effect of leaf removal on the susceptibility to
gray mold and wine composition in sauvignon blanc
and viognier.

העבודה נעשתה בהנחיית ד"ר מאיר שליסל פרופ' סגולה מוצפי וד"ר תרצה זהבי

מוגש על ידי: נעה סימן טוב

עבודה זו התבצעה בהדרכת: _____

מאושר על ידי _____

תאריך _____

מאושר על ידי _____

תאריך _____

(ראש התוכנית לתואר השני)

תודות

ראשית ברצוני להודות למנחים שלי שעבדו איתי בתקופה זו, ד"ר מאיר שליסל וד"ר תרצה זהבי על הנחיה צמודה, מקצועית, מלאה בסבלנות ופניות לעזור בכל השאלות. על כך שידעו מתי לתת לי יד חופשית ולסמוך עליי ועל הרצון לקדם אותי ולשפר בכל דבר שאפשר. תודה רבה גם לפרופסור סגולה מוצפי על ההירתמות והעזרה המקצועית. לצוות המעבדה האנליטית על כל העזרה והליווי בדרך, סעיד, סולימאן ורון. לצוות מעבדת המחקר והיין במכללת תל חי, שי, עליסה, יעל, ליאת, על כל העזרה, הסבלנות, החיוכים ועל האווירה הכי טובה שיש במעבדה, היה לי תענוג להיות איתכם. לחברה ממו"פ צפון על העזרה בעונות הבציר ולפני. ולכל מי שלקח חלק, הקשיב ונתן רעיונות.

6.....	1. תקציר
7.....	2. מבוא
7.....	2.1 חילון גפנים
8.....	2.2 טיפולי החילון הנבחרים במחקר
8.....	2.2.1 טיפול חילון מוקדם (בתחילת פריחה) בגובה האשכולות
8.....	2.2.2 טיפול חילון מאוחר (לאחר חנטה) בגובה האשכולות
9.....	2.3 פטריית הבוטריטיס ונוקיה
9.....	2.3.1 התפשטות הפטרייה ותנאים מועדפים
9.....	2.3.2 הדבקה והתבססות
10.....	2.4 פיזיולוגיה של הפרי
13.....	2.5 איכות היין
13.....	2.5.1 חומרי ארומה בין והשפעה על איכותו
13.....	2.5.2 השפעת המיקרו-אקלים על איכות היין
16.....	3. היפותוזת המחקר
16.....	3.1 מטרת המחקר וחשיבותו
16.....	3.1.2 מטרות משנה
17.....	4. שיטות וחומרים
17.....	4.1 חלקת המחקר
18.....	4.2 מדדים אחריהם עקבנו
19.....	4.2.1 נתוני קרינה לאחר טיפולי החילון
19.....	4.2.2 נתוני בציר
19.....	4.2.3 מעקבי הבשלה
19.....	4.3 השפעת החילון על נגיעות בבוטריטיס
19.....	4.3.1 נגיעות בשטח
19.....	4.3.2 חומרת נגיעות
19.....	4.4 בדיקות במעבדה
19.....	4.4.1 דיגום האשכולות והענבים
20.....	4.4.2 מדידת קצב התייבשות
20.....	4.4.3 גידול הפטרייה בתנאי מעבדה
20.....	4.4.4 הדבקת אשכולות
21.....	4.4.5 הדבקת גרגרים
21.....	4.5 בדיקות כימיות פיזיקליות של הגרגרים
21.....	4.5.1 הרכב הגרגרים במכשיר ה-lcms
22.....	4.5.2 בדיקת עובי קליפה
22.....	4.6 בדיקות איכות יין
22.....	4.6.1 בדיקת פנולים כללית
23.....	4.6.2 בדיקת הרכב חומרים נדיפים ביינות במכשיר GCMS
23.....	4.6.3 טעימת יינות
25.....	5. תוצאות
25.....	5.1 עמידות הגפן לבוטריטיס ורקבונות
26.....	5.1.1 שכיחות וחומרת התפתחות הפטרייה בשטח
30.....	5.1.2 בדיקת עמידות גרגרים ואשכולות בניסוי מעבדה
34.....	5.2 הרכב ואנטומיה של הענב
34.....	5.2.1 מדידת עובי קליפת הענב

35.....	5.2.2	בדיקת הרכב הגרגירים במכשיר ה-LCMS
40.....	5.3	הרכב ואיכות היין
40.....	5.3.1	ריכוז פנולים כללי
41.....	5.3.2	פרופיל חומרים גדיפים במכשיר ה-GCMS
47.....	5.3.3	טעימת יינות
48.....	6	דיון
48.....	6.1	השפעת החילון על נגיעות הפטרייה
48.....	6.1.1	תצפיות בכרם
49.....	6.1.2	בחירת פרמטרים נוספים במעבדה
51.....	6.1.3	מטבוליטים בענב
52.....	6.2	מטבוליטים בין
52.....	6.2.1	איכות היין
53.....	7	מסקנות
55.....	8	ספרות מצוטטת

רשימת איורים

12.....	איור 1	מחזור הנגיעות של פטריית הבוטריטיס בצורה האל מינית בענבים
15.....	איור 2	גליקוזידים והמסלולים המטבוליים
Error! Bookmark not defined.	איור 3	טיפול החילון הנבחנים במחקר
24.....	איור 4	טעימות היין שנערכו במכללת תל חי
25.....	איור 5	עצמת הקרינה שנמדדה באזור האשכולות
26.....	איור 6	אחוז וחומרת הנגיעות שנמדדו בשטח בגפנים מזן סוביניון בלאן
Error! Bookmark not defined.	איור 7	אחוז וחומרת נגיעות שנמדדו בשטח בגפנים מזן ויוניה
30.....	איור 8	קצב התייבשות האשכולות בון סוביניון בלאן
31.....	איור 9	קצב התייבשות האשכולות בון ויוניה
32.....	איור 10	אחוז אשכולות נגועים לאחר אילוח במעבדה מזן סוביניון בלאן 2019
32.....	איור 11	אחוז אשכולות נגועים לאחר אילוח במעבדה מזן סוביניון בלאן 2020
33.....	איור 12	אחוז אשכולות נגועים לאחר אילוח במעבדה מזן ויוניה 2019
34.....	איור 13	אחוז אשכולות נגועים לאחר אילוח במעבדה מזן ויוניה 2020
35.....	איור 14	עובי קליפת הענב שנבדק על ענבי סוביניון בלאן מבציר 2019
36.....	איור 15	גרף מסוג PCA המראה את התפלגות הטיפולים ממיצוי שנעשה מקליפות ענבי סוביניון בלאן 2018
37.....	איור 16	פיזור החומרים שנמצאו במיצוי הקליפות מזן סוביניון בלאן 2018
38.....	איור 17	חומרים ספציפיים שנמצאו בענבי סוביניון בלאן מבציר 2018 והשינוי בריכוזם
Error! Bookmark not defined.	איור 18	גרף מסוג PCA המראה את התפלגות הטיפולים ממיצוי שנעשה מקליפות ענבי סוביניון בלאן 2019 .. not defined.
40.....	איור 19	פיזור החומרים שנמצאו במיצוי הקליפות מזן סוביניון בלאן 2019
41.....	איור 20	ריכוז כלל התרכובות הפנוליות ביינות מזנים סוביניון בלאן (b) ו-ויוניה (a) בטיפולי חילון שונים, בציר 2018
42.....	איור 21	ריכוז כלל התרכובות הפנוליות ביינות מזנים סוביניון בלאן (b) ו-ויוניה (a) בטיפולי חילון שונים, בציר 2019
43.....	איור 22	שינויים בפרופיל המטבולי בין יינות מטיפולי חילון שונים מהזן סוביניון בלאן בציר 2017
44.....	איור 23	שינויים בפרופיל המטבולי בין יינות מטיפולי חילון שונים מהזן סוביניון בלאן בציר 2018
44.....	איור 24	שינויים בפרופיל המטבולי בין יינות מטיפולי חילון שונים מהזן סוביניון בלאן בציר 2019
Error! Bookmark not defined.	איור 25	שינויים בפרופיל המטבולי בין יינות מטיפולי חילון שונים מהזן ויוניה בציר 2018
45.....	איור 26	שינויים בפרופיל המטבולי בין יינות מטיפולי חילון שונים מהזן ויוניה בציר 2019
Error! Bookmark not defined.	איור 27	טבלה המסכמת את המטבוליטים שנמצאו ביינות ואת האיכויות המאפיינות אותם
Error! Bookmark not defined.	איור 28	ניקוד היינות בטעימות יין שנערכו במכללת תל חי מבציר 2018

רשימת נספחים

- נספח 1 מבחן דייוויס המשמש לטעימות יין 60
- נספח 2 פרוטוקול הכנת יין לבן 61
- נספח 3 תמונת חתך של גרגיר בהסתכלות מיקרוסקופית. 61

1. תקציר:

היין הוא מוצר חקלאי שאופיו ואיכותו תלויים בזן הגפן, באזור הגידול, בטיפולים האגרוטכניים בגפן ובתהליך ייצורו. "טרוראר" מתאר את מכלול הגורמים הסביבתיים המשפיעים על איכות היין, טעמו ואופיו ללא קשר לתהליך הייצור שלו. גורמים סביבתיים אלו כוללים תנאים בלתי נשלטים כגון: מיקום הכרם, הרכב הקרקע, אקלים (טמפרטורה, לחות, קרינת שמש) אך גם תנאים נשלטים אשר לכורם השפעה ישירה עליהם באמצעות פעולות אגרוטכניות שונות, הכוללות: זמירה, דילול שריגים, חילון והשקיה, המשפיעים על אופן צמיחת הגפן ועל המיקרו-אקלים באזור האשכולות הענבים. אחד מטיפולי הנוף המרכזיים בגידול גפן הוא ה"חילון", טכניקה אשר השתרשה בעולם בתחום גידול הענבים ליין, פעולה בה מדללים חלק מהעלים באזור האשכולות על מנת לחשוף ולאוויר אותם, כך הם חשופים יותר לשמש ולקרינה. הגפן חשופה למס' רב של פתוגניים, ואחת ההשפעות הנחקרות ביותר של חילון גפנים היא הגנה מפני פגעים אלו. החילון הוכח כאפקטיבי לשליטה ברקבונות הודות לכך שהוא משפר את המיקרו-אקלים: מגדיל זרימת אויר, יוצר חדירה טובה יותר של קרני השמש, מפחית לחות ויוצר תנאים מועדפים פחות להתפתחות פתוגניים שונים. פטריית הבוטריטיס הידועה כגורמת למחלת העובש האפור מושפעת מאד מהאקלים והמיקרו-אקלים של סביבת האשכול. הפטרייה מתפתחת בעיקר באקלים רטוב ולח, ועלולה להשפיע על צבע היין, לגרום לריחות לוואי, וכן לנזקי חמצון ולהזדקנות מואצת של הענב. הפטרייה יכולה להפחית במידה ניכרת את יבול הגפנים ואיכותם, לפגוע באשכולות שלמים ולגרום לנזקים כלכליים כבדים ולכן נחשבת באזורי גידול מסוימים כפתוגן המזיק ביותר בייצור של ענבי יין וענבי מאכל. הסרת העלים באזור האשכול הוכחה כאופציה יעילה בהפחתת התפשטות העובש האפור.

בעבודת מחקר זו התמקדנו בטיפולי חילון שונים (מיקום, עיתוי ועצמה) וכיצד הם יכולים לשפר את בריאות הענב ועמידות הגפן לפטריית הבוטריטיס. וכן את השפעתם על איכות היין בזנים סובניון בלאן ווינוניה, המייצגים זנים לבנים רגישים יותר ופחות לפטרייה, בהתאמה. זאת בעזרת כלים אנליטיים מתקדמים LC/MS GC/MS ועל ידי בחינת רגישות הענבים לפטרייה. תרומתו המרכזית של מחקר זה הינה בחינה

מקיפה מהו טיפול החילון האופטימלי ב-2 זני ענבים (סובניון בלאן ו-ויונייה). מציאת הטיפול היעיל ביותר הוא פרויקט בעל חשיבות חקלאית וכלכלית מקיפה ויכול לתת תשובות רבות למגדלי ענבים או ייננים. בחלקה הראשון, העבודה עסקה בעמידות הגפן לרקבונות בשני הזנים. ענבים מטיפול החילון בשלב מוקדם בתחילת הפריחה, נמצאו העמידים ביותר לרקבונות הנגרמים מפטריית הבוטריטיס בבדיקות שנעשו בשטח ובמעבדה בזן סובניון בלאן במהלך שלוש עונות הניסוי בצורה מובהקת. בזן ויונייה, זן נוסף שנבחן ומייצג במערכת זו זן פחות רגיש לרקבונות, המגמה שנצפתה הייתה זהה, טיפול החילון המוקדם הראה עמידות גבוהה יותר לרקבונות אך ההשפעה אינה מובהקת לאורך כל עונות הניסוי. במגמה לבחון מהו הגורם המשתנה בעקבות החילון באשכול ובענבים אשר עשויים להשפיע על עמידות הגפן לרקבונות נבחנו פרמטרים נוספים: צפיפות האשכול, עובי קליפת הגרגיר וההרכב הכימי של הענב. זאת במטרה לעקוב אחרי תרכובות אנטי פטרייטיות (phytoalexins) בגפן. נמצא כי ביחד עם בחינת פרמטרים אלו לא ניתן היה להצביע על גורם מובהק שחזר לאורך עונות הניסוי.

חלקה השני של העבודה עסק בהשפעת החילון על איכות היין ועל הפרופיל הארומטי שלו, נבדקו ריכוזי הפנולים ביינות מטיפולי חילון שונים, ובנוסף יינות משלושה בצירים עוקבים בסובניון בלאן ומשני בצירים עוקבים בויונייה נעשתה בדיקה במכשיר ה- GCMS במטרה לבדוק האם קיים הבדל בפרופיל החומרים הנדיפים מבין היינות שהוכנו מהטיפולים השונים. כן נערכו טעימות יין מקצועיות ליינות מהטיפולים השונים בזנים הנבדקים. לא נמצאו הבדלים מובהקים בפרופיל הארומטי של היינות מהטיפולים השונים שנבחן במכשיר ה- GCMS, ולא נמצא טיפול מועדף או לא מועדף בטעימות היין או מגמה המראה עדיפות ליינות מטיפול מסוים, מכך ניתן להסיק כי לטיפול החילון לא הייתה השפעה על האיכות הכללית של היין ועל הפרופיל הארומטי שלו.

2. מבוא ותיאור הבעיה:

2.1 חילון גפנים-

דילול עלים בגפן היא פעולה אגרוטכנית נפוצה בתחום גידול ענבי מאכל ויין, פעולה זו נעשית בכרם בשלבים שונים של הגידול ובעצמה שונה ומשמשת לשיפור המיקרו-אקלים של אזור הפרי בגפן ע"י הגברת החשיפה לשמש ישירה ובכך לשיפור איכות הענבים והיין (1,2). מקובל והוכח בעבודות בעולם שחשיפת האשכולות משפרת את הרכב הפרי ומורידה שכיחות רקבונות (3,4,8). באמצעות טכניקה זו כורמים וייננים יכולים לבצע "מניפולציות" כדי להגיע אל פרי באיכות מיטבית, ולהפחית פגעים בכרם. עם זאת, דילול עלים הראה תגובות שונות בהתאם לעיתוי ועוצמת היישום, זן הגפן ותנאי הסביבה המשתנים (2) ולכן, יש צורך בחקירת העיתוי והעוצמה בזנים ובאזורי גידול שונים על מנת ליעל את התוצאות וכדי להבין טוב יותר את השפעת

החילון על איכות הפרי והיין. כאשר מתייחסים לפעולת החילון, המועדים המקובלים ביותר הם בעת שלפני פריחה ("חילון מוקדם"), בין חנטה לבוחל ("חילון מאוחר") או אחרי תחילת הבשלת הפרי (3). בנוסף, החילון יכול להיעשות במספר רמות, ועלינו לדעת מהן ההשפעות של החילון הספציפי על הגפן- שיטה אחת היא הורדת עלים עד גובה האשכול, וזאת כדי למנוע קרינה ישירה בצהריים, שיטה נוספת היא הורדת עלים מסיבית מעל האשכולות המתבצעת במטרה לשפר כניסת אור תוך נוף הגפנים (4), או דילול עלים החושף את האשכולות עצמם. על מנת להתאים לכל חלקה את החילון המתאים יש לדעת מהן ההשפעות של כל אופי חילון.

פעולת החילון מתבצעת בדרך כלל באופן ידני ולכן פעולה אגרוטכנית זו דורשת זמן עבודה רב ומחירה גבוה. בשנים האחרונות פותחו מכונות המבצעות חילון, אולם מידת החשיפה הרצויה של האשכולות ומועד ביצוע החילון, אם באופן ידני, ואם באופן ממוכן, והשפעותיו על רגישות הגפן ואיכות היין עדיין לא ברורים. אשכולות צפופים שלא זוכים לחשיפה לשמש יכולים לגרום לירידה באיכות הענבים. מצד שני, חשיפה גבוהה מידי לשמש עלולה לגרום לכוויות שמש ועיכוב בהתפתחות הצבע, ולכן עצמת החילון קריטית בכדי לקבל ענבים בריאים ובאיכות גבוהה (5).

ההשפעה המשמעותית והעקבית ביותר בדיווחים בעקבות חילון עלים היא על שכיחות מחלות, השפעה זו נובעת הן משיפור החזירה של חומרי הדברה (6), הן משינוי המיקרו-אקלים באזור האשכולות והן משינוי מורפולוגי של האשכול הגורם לאשכולות פחות צפופים (בעקבות חילון מוקדם) (7). לאשכולות מגפנים שעברו חילון יש אינדקס התאדות גבוה יותר כתוצאה מכך הם מתייבשים מהר יותר ומקטינים את יכולת ההתפתחות של פטריית הבוטריטיס (8). מדד מיקרו-אקלימי נוסף ומשמעותי המשפיע על שכיחות המחלות הוא הקרינה המגיעה לאשכולות (9,10), קרינה זו משפיעה על ההרכב הכימי של הענבים ויתכן שבכך משפיעה באופן עקיף על התפתחות מחלות על ידי יצירת תרכובות אנטי פטרייתיות (phytoalexins) בגפן (44,45). חשיפה לשמש ולקרני UV משפיעה על התפתחות מזיקים שונים גם באופן ישיר (2), אם כי התפתחות הנבגים של פטריית הבוטריטיס לא מושפעת מקרינת שמש ישירה (11).

2.2 טיפולי החילון העיקריים הנבחנים במחקר-

2.2.1 טיפול חילון מוקדם (תחילת פריחה) בגובה האשכולות: מספר עבודות קודמות הציעו לבצע את דילול העלים בשלב מוקדם של תחילת הפריחה. בשלב זה, בנוסף לשינויים במיקרו- אקלים של אזור האשכול החילון גורם לוויסות ברמת היבול (8,12) ע"י שינוי היחס בין צריכת הסוכרים ורמת הפוטוסינתזה דבר המשפיע על חנטה וגורם להתפתחות אשכולות פחות קומפקטיים ודחוסים. עם זאת, במספר מקרים נמצא שהסרת כמות עלים אינטנסיבית מידי בשלב מוקדם זה עלולה להפחית את היבול ולפגוע באיכות הפרי (13,4). מבחינה מטאבולית, הסרת עלים בשלב מוקדם זה גורמת לשינוי בהרכב הענב והתרכובות שבו ובכך

עשויה להשפיע על עמידות הגפן לרקבונות ולהשפיע גם על איכות היין המיוצר ממנו. בעבודות קודמות נמצא שיש עלייה בריכוז המוצקים המסיסים (TSS) ובתרכובות פנוליות (TP) הנמצאות בעיקרן בקליפות הגרגירים (4), כך גם משערים כי נגרמת עלייה בעובי קליפת הגרגירים (37) דבר העשוי להשפיע על חדירת פתוגניים לגפן.

2.2.2 טיפול חילון מאוחר (לאחר חנטה) בגובה האשכולות: הסרת עלים בעיתוי מאוחר היא שיטה נפוצה המתבצעת בין שלב החנטה לבוחל, הזמן המקובל הוא בין שבועיים לארבעה שבועות לפני הבוחל (14). המטרה בעיתוי זה היא השפעה על הרכב הגרגיר כדי לשפר את איכות היין אך יתכן והשינוי משפיע גם על שכיחות מחלות. הטכניקה כוללת דילול של העלים התחתונים מצדו המזרחי של הכרם מה שעשוי ליצור הפחתה בצפיפות האשכולות, שיפור תנועת האוויר, חדירות טובה יותר של חומרי הדברה לאזור האשכול והגדלת היעילות לקטילת פטריות (2). ניתן להפחית את התפתחות ריקבון הבוטריטיס על ידי שילוב של דילול עלים והדברה כימית וכך למקסם את איכות היין בשתי דרכים- באמצעות הפחתת זיהום פטרייתי ושיפור איכות הענבים (7).

2.3 פטריית הבוטריטיס ונזקה-

מחלת העובש האפור נגרמת על ידי הפטרייה הנקרטרופית *Botrytis cinerea* אשר ידועה כסכנה עולמית בגידול גפנים וגידולים נוספים, הנזקים הכלכליים הגלובליים המוערכים מהפטרייה בכלל הגידולים החקלאיים הוא משמעותי מאד בעולם ועולה על מילארד אירו בשנים האחרונות (53), לפי מחקר חדש בוטריטיס מדורגת במקום השני מתוך עשר הפתוגניים בעלי החשיבות הכלכלית הגבוהה בעולם (16). הצורה הנפוצה בגידול גפנים היא הצורה האל-מינית של הפטרייה ושכיחותה משתנה בהתאם לעונות השנה והאקלים (איור 1).

הנושא של עמידות גפנים עקב דילול עלים בשטח נחקר כבר בעבודות משנת 1988, כבר אז מצאו Tomas & English שפעולה זו עשויה להפחית בצורה ניכרת את מחלת העובש האפור במחקר שהתבצע בקליפורניה, ומאז עבודות רבות נעשו בנושא והמצאים היו די עקביים (17). עבודות נוספות מצאו כי חילון מפחית את נגיעות וחומרת הרקבונות הנגרמים מהפטרייה וכי באמצעות טכניקה זו ניתן להפחית את הרקבונות (15) אולם, עד כה רוב העבודות התמקדו בנושא של שיפור המיקרו-אקלים כגורם העיקרי המשפיע על התפתחות הפטרייה, בעבודה זו ננסה לבדוק אם בנוסף להשפעה הישירה על הפטרייה, החילון משנה את הגרגירים ואת הרכבם וגורם להם להיות עמידים יותר, נבודד את הגורמים המושפעים מטכניקת החילון ועשויים להשפיע על מחלת העובש האפור, תוך התייחסות לכל מדד בנפרד.

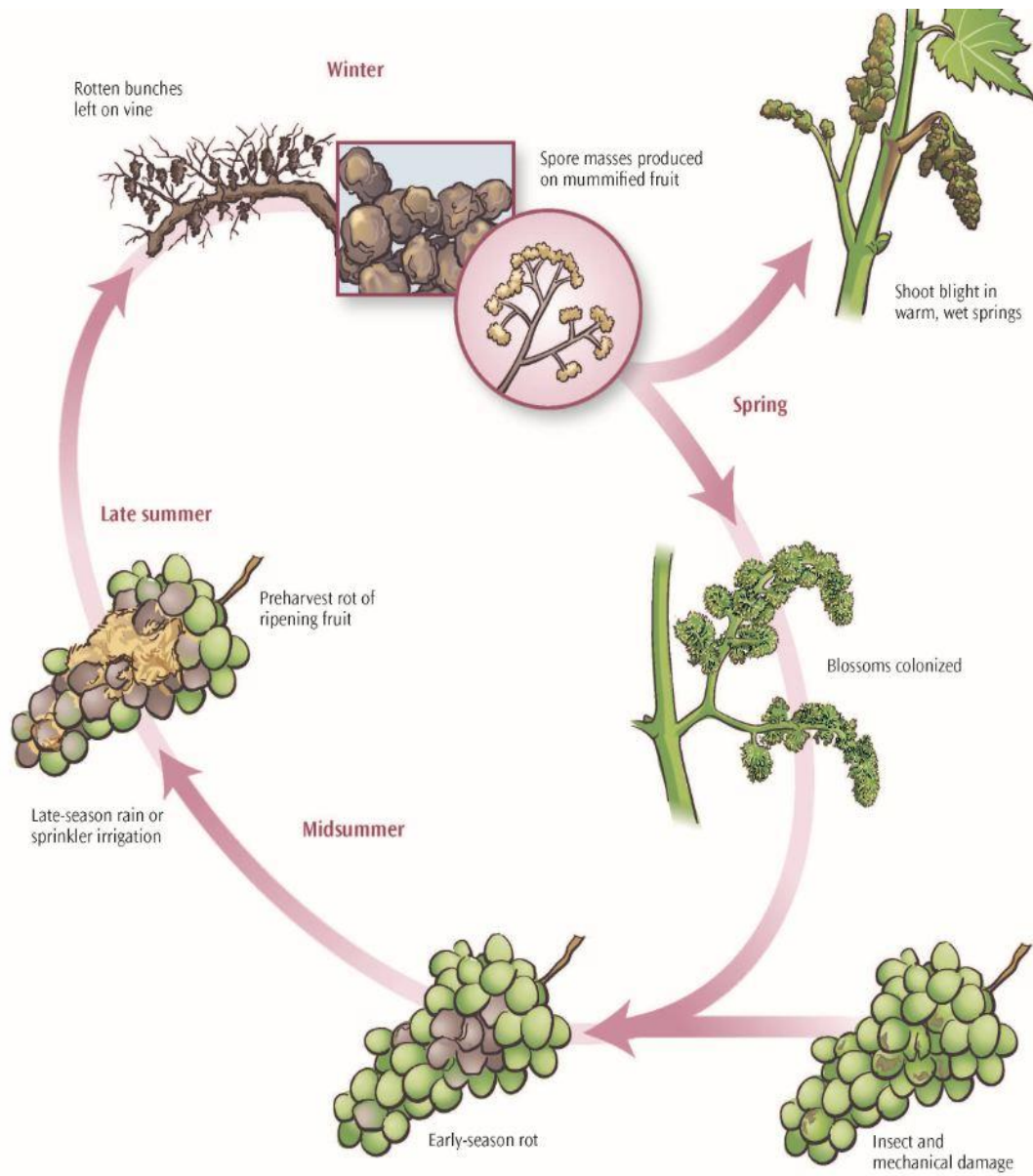
2.3.1 התפשטות הפטרייה ותנאים מועדפים:

הפטרייה מתפשטת בעיקר בתנאי לחות גבוהים, בעזרת השקיה, טל וגשמים. התפטר מתפתח בתוך הגרגירים וגורם להצטמקות הענב עקב יציאת הנוזלים שבו ולפגיעה ביבול, על פני הפרי תפתח שכבת עובש אפורה (תפטיר ונבגים) הגורמים לטעמי לוואי לא רצויים ומהווים מקור מדבק לגרגירים נוספים. כתלות בתנאי הסביבה יש תנאים בהם לא תהיה הנבגה חזקה אך בשלבים מאוחרים יותר של הבשלת הענב הגרגירים יפתחו כתמים חומים אדמדמים עקב פעילות אנזימטית שפוגעת בשכבת הקוטיקולה באפידרמיס (14,17). טמפרטורות אידיאליות להתפתחות נבגים של הפטרייה הן טמפרטורות מתונות (בין 20-27 מע"צ), כאשר הנזק החמור עלול להתפתח מתקופת הבוחל ועד תקופת הבציר. בדרך כלל רמת הנזק עולה ככל שרמת הסוכר עולה בגרגירים, והוא חמור יותר באשכולות בעיקר בשלבי ההבשלה המאוחרים, הריקבון עצמו מתחיל להופיע בשלב שינוי הצבע כאשר ריכוז הסוכר בפרי מגיע לכ- 10%-12% (18). נבגי הפטרייה זקוקים לתקופה ממושכת של לחות בכדי להדביק את הענבים וכן מושפעים מאחוז הלחות והנוטריינטים הנמצאים בקרקע ובגרגירים עצמם, ולכן פעולת החילון המשפיעה באופן ישיר על הקרינה והלחות בשטח (18,20) עשויה לשנות את התבססות הפטרייה והתפתחות הנבגים. גם לזן הגפן השפעה על התפתחות הפטרייה בגלל הבדלים במבנה האשכול, עובי הקליפה וכימיה שונה של הגרגיר. תקופת הפריחה נחשבת בעולם כזמן הדבקה קריטי לפטרייה בעיקר במיקרו-אקלים לח ורטוב, לאחר החדירה בשלב זה של הפטרייה היא נכנסת לשלב הלטנטי בו היא ממתינה לתנאים טובים להתפתחותה עם צבירת הסוכר בשלב מאוחר יותר (19, 20) לעיתים רחוקות, היא יכולה להתפשט כבר בשלבים מוקדמים יותר ולגרום לנזק חמור יותר ביבול.

2.3.2 הדבקה והתבססות: בתחילת האביב באקלים ממוזג מתחיל הפתוגן במחזוריו האל-מיניים בחלקים שונים של הצמח, הוא מתחיל לנבוט ולייצר נבגים המשמשים כמקור הדבקה ראשוני (16). הזיהום עצמו מתרחש כאשר נבג הפטרייה מגיע לרקמת צמח רגישה. נבגי הבוטריטיס נחשבים בדרך כלל לנבגים קצרי חיים, והישרדותם תלויה באופן ישיר בלחות היחסית, חשיפה לשמש וטמפרטורה, מדדים המשתנים עקב פעולת החילון (21). זיהום מוצלח של הצמח כרוך בכמה גורמים- לחות יחסית RH גבוה (מעל 90%) מים חופשיים וטמפרטורה מתונה. נוטריינטים, בעיקרם גלוקוז ופרוקטוז המצטברים בפרי משמשים כמקור מזון עיקרי של הפטרייה ומזרזים את הנביטה והתפתחות התפטיר לאחר הבוחל (17). במידה וכל התנאים הללו מתקיימים, הפטרייה תייצר נבגים להדבקות נוספות.

2.4 פיזיולוגיה של הפרי-

הסרת העלים וחיפית האשכולות לאור השמש משפיעים על מורפולוגית הגרגיר והאשכולות השלמים, נמצא כי להסרת עלים בתחילת פריחה השפעה רבה על צורת האשכול העשויה להשפיע על התפתחות הגפן והתפתחות פתוגניים בגפן (30, 31). קיימות עבודות המראות שהסרת עלים טרום הפריחה עשויה לקצר את אורך האשכול ולהגדיל את מסת הקליפה היחסית מה שמספק חסם נוסף להתפתחות פטריות וגורמי אילוח נוספים (29,37). שינויים מורפולוגיים אלו עשויים להיות גורם קריטי בהתפתחות המחלה וברגישות הענבים למחלה זו בפרט, שינויים בצפיפות ומספר התאים של קליפת הגרגיר משפיעים על הרגישות של הגפן להתפתחות מחלת העובש האפור שכן הקליפה מהווה חציץ בין הסביבה החיצונית ותוך הענב (37). גם תדירות גבוהה יותר של סדקים מגדילה את רגישות הענב לפטרייה ויוצרת יותר נקודות חדירה דרכן הפתוגן עשוי להיכנס. מבחינה אנטומית, קיימת הנחה כי טיפולי חילון ושמשי ישירה גורמים לגרגירים להיות בעלי קליפה עבה יותר (40). מספר התאים ועובי שכבת האפידרמיס והיפודרמיס נמצאו במספר עבודות כבעלי קורלציה חיובית לעמידות לבוטריטיס (37, 40) העמידות עשויה להיות תלויה גם בעובי שכבת הקוטיקולה ובמבנה וצורת התאים. בנוסף, טנינים ותרכובות פנוליות נוצרים בקליפה בתגובה לעקה בצמח או לזיהום וכך משפיעות על תכונות ביוכימיות של הגרגירים. תרכובות אלו ידועות ונמצאו כחשובות לעמידות הצמח כנגד מחלת העובש האפור (3, 41).



מקור: (Grape pest management – third edition.)

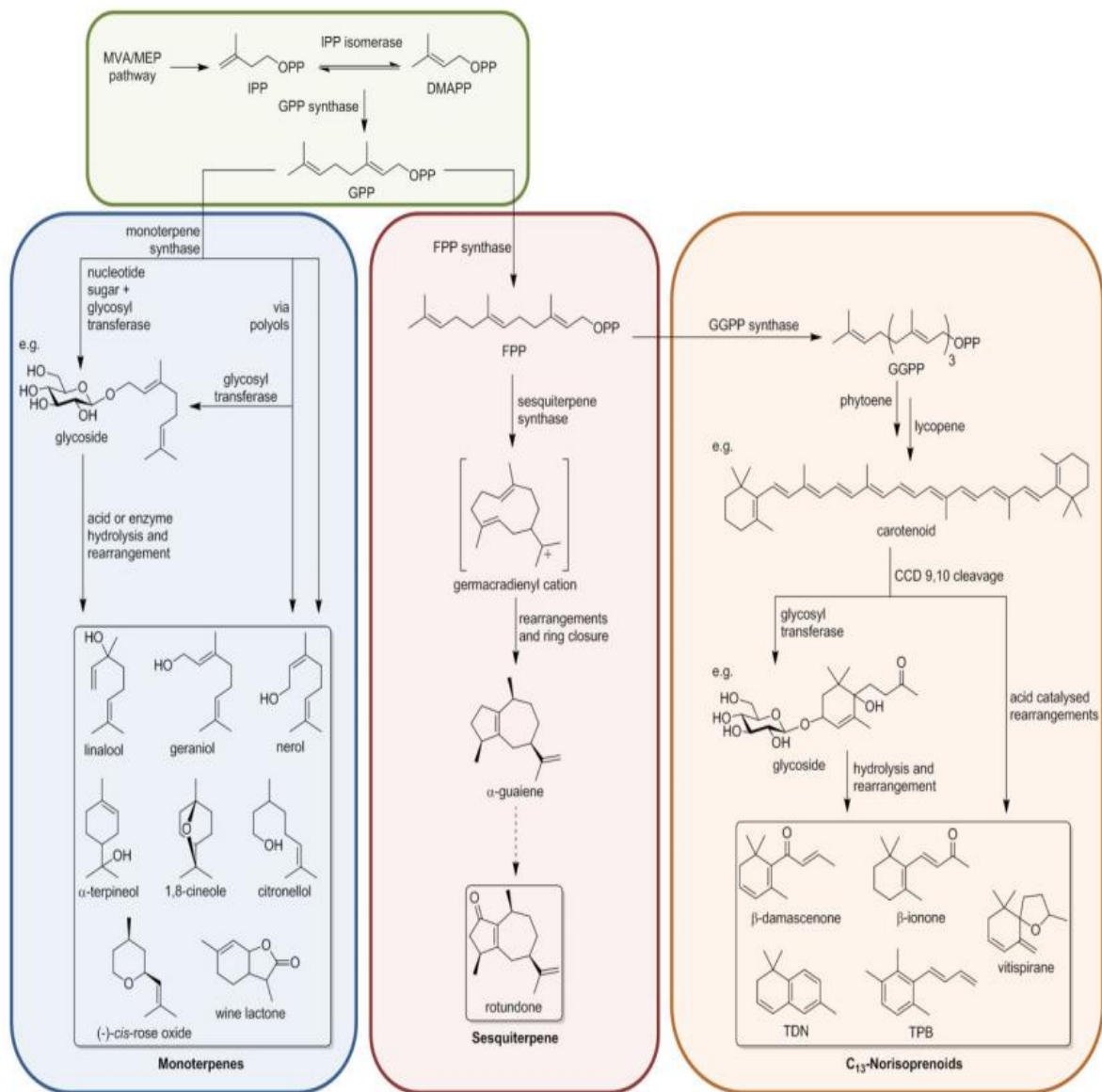
2.5 איכות היין-

2.5.1 חומרי ארומה ביין והשפעתם על איכותו: ההגדרות ליין איכותי מקושרות לפרמטרים ויזואליים כמו צבע, צלילות וכן לפרמטרים נוספים כמו טעם וארומה, הערכת גורמים אלו עשויה להיות משימה לא פשוטה מכיוון שמרבית פרמטרים אלו הם סובייקטיביים, ומשתנים מטועם לטועם ובין תרבויות שונות ובהתאם לאופנה. ניתוח כימי של היינות יכול להיות שיטה מהימנה ואידיאלית יותר להערכת איכות היין ויכולה להיות מקושרת גם להערכה חושית. ביין קיימים בין 600 ל-1400 חומרי ארומה נדיפים המשפיעים על איכותו וטעמו. תרכובות אורגניות אלו הן בין הגורמים החשובים ביותר בקביעת איכות יין, שכן מלבד הטעם והריחות שהן מעניקות לענב וליין יש להן השפעה על כלל התכונות הסנסוריות והאורגנולפטיות של היין. תרכובות אלו מושפעות מזן הענב, משיטת הגידול, האקלים ומתהליך ההכנה של היין ביקב. ארומה היא תכונה בעלת חשיבות בקביעת איכות יין ומושפעת הן מתהליך ההכנה של היין הכולל תסיסה, והתיישנות והן מזן הענב עצמו (22). תרכובות הארומה העיקריות הנמצאות בענבים וביין כוללות תרכובות נדיפות וחופשיות וכן כאלו המחוברות לסוכרים אשר משתחררות בתהליך התסיסה והופכות לחומרים נדיפים גם הם. סובניון בלאן ו-ויוניה הם שני זנים המאופיינים בטעמים וריחות שונים. סובניון בלאן מאופיין בארומות "ירוקות", עשוי להזכיר ריחות של עשב, פלפל ירוק, וריחות הדריים כמו אשכולית ולימון (32) ואילו ויוניה, זן בעל הבשלה מאוחרת יותר, מאופיין בריחות וטעמים "פירותיים" יותר ואף עשוי להזכיר ריחות מתקתקים יותר של דבש, אגס ופרחים. כל אלו מקושרים באופן ישיר להרכב הכימי של הענב, ומשתנים לפי תנאי הגידול והמניפולציות של מגדלי הענבים (33). עבודות רבות נעשו בנושא של "norispreoids", תרכובות ארומה שנוצרות מדגרדציה של קרטנואידיים, לתרכובות אלה תפקיד חשוב בפרופיל הארומה הסופי של היינות (35), בין התרכובות הנפוצות ביותר "β-damascenone, vitispirane, Bionone" and אשר תורמות לארומה פירותית ופרחנית שמאפיינת יינות מזני סובניון בלאן ו-ויוניה וקיימת בשאר זני ענבים נוספים. ריכוז גבוה יותר של חומרים אלו נצפה בתנאי אור ושמשי גבוהים יותר בעבודות רבות, והעלייה בריכוז מקושרת להצטברות גדולה יותר של קרטנואידיים (33).

2.5.2 השפעת מיקרו-אקלים על איכות היין: קיים קשר ישיר בין האקלים שבו גדלה הגפן לבין איכות היבול והיין המיוצר ממנו, עם זאת, יש השפעה גם לטיפולים האגרוטכניים השונים הנעשים בכרם ומשפיעים על המיקרו-אקלים של הגפן, בעיקר באזור האשכולות. השינוי במיקרו אקלים יכול להשפיע על איכות הפרי והיין כתוצאה מחשיפה מוגברת לשמש שעשויה להגביר את ייצור תרכובות הארומה ואת טעם היין כתוצאה מכך (23). באקלים קריר יינות לבנים יהיו רעננים יותר, יותר חומציים ומאופיינים בארומה עשירה לעומת אזורים

חמים בהם נקבל יינות עם אחוזי כוהל גבוהים בעלי טעמים וארומות דלים יותר. הרכב הענב הוא תוצאה של שילוב בין התנאים האקלימיים השונים של הגידול לבין זן הענב, שכן פעילות האנזימים שבו אינה קבועה ותלויה בתנאי הסביבה ואופי הצימוח. לחשיפת הגרגירים לשמש יש השפעה על ריכוז הגליקוזידים בענב, חלק מגליקוזידים אלו הם פרקורסורים לחומרי ארומה וטעם כגון טרפנים והשינוי בהם עשוי לסייע להגדיר יין איכותי (24). עבודות עבר מראות כי הענב, כמו צמחים רבים נוספים הוא בעל גמישות פיזיולוגית ומפתח מטבוליטים שניוניים - חומרי ארומה וצבע, כנוגדי חמצון בתגובה לעקה של חשיפה מוגברת לשמש (2). הצמח יכול לשנות את הרכבם וכמותם בהתאם לתנאי המיקרו-אקלים והסביבה (11). מאידך, אקלים חם וחשיפה רבה לשמש יגרמו לפירוק של חומרי ארומה בענב וליצירת יין פחות איכותי וארומטי (17), ולכן חשוב לדעת מהו הטיפול האופטימלי עבור כל זן ולהגיע לרמת חשיפה מבוקרת.

טיפול חילון הראו השפעה על הרכב החומרים הנדיפים בענבים וכפועל יוצא מכך גם על היין. בעבודות שונות דווח כי ריכוז הגליקוזידים והמונוטרפנים בענבי סובניון בלאן שעברו חילון עלה ביחס לכאלו שלא עברו חילון, דבר שגרם ליצירה של יינות עם ארומה הדרית, טרופית ופרחונית (28,34). לתרכובות טרפניות, ובעיקרן תרכובות מונוטרפניות יש תפקיד חשוב בהגדרת יין איכותי מכיוון שיש להם תפקיד חשוב בקביעת ההבדלים בין זני הגפן (24). תרכובות נוספות שענבי סובניון בלאן מאופיינות בהם, הם המתוקסיפירזינים. נמצא כי החילון מפחית את ריכוז המתוקסיפירזינים וגורם ליצירת יין בעלי ארומות פחות עשבוניות ולימוניות, וטעם פחות חמצמץ (1,10). ויונייה הוא זן פחות נפוץ מהסובניון בלאן ולכן זכה לתשומת לב מועטה יחסית אך הוא צובר תאוצה בשנים האחרונות והביקוש ליינותיו הולך ועולה (25), הריחות המאפיינים אותו משתנים בהתאם לאזור הגידול ולטיפולים שעובר הכרם. יינות ויוניה איכותיים הם בעלי פרופיל ארומטי מובהק, מאופיינים בריחות פירותיים של משמש, אפרסק, אגס ומלון. הריח הפירותי המאפיין אותו מקושר לבציר שנעשה בשלב מאוחר של ההבשלה, וכן גם לאחוזי האלכוהול (26). התרכובות שאחראיות לארומות אלו בדרך כלל מקושרות לתרכובות כמו מונוטרפנים אלכוהוליים כמו linalool, terpinol. ריכוזם מושפע ומשתנה ממידת הבשלות של הפרי, מרמת החשיפה לשמש וכן מסביבת הגידול (14). שינוי במיקרו אקלים של חופת הגפן יכול להגדיל את איכות הפרי והיין כתוצאה מחשיפה מוגברת לשמש שעשויה להגביר את תרכובות הארומה ואת טעם היין (23).



איור מס' 2- מסלולים מרכזיים ליצירת חומרי ארומה נדיפים בגפן ממשפחת הטרפנים (64).

3. היפותזה

- טיפולי חילון משפיעים על ההרכב הכימי והמבנה האנטומי של הענב ועל המורפולוגיה של האשכול, ובכך מעלים את עמידות הענבים לפטריית הבוטריטיס ומעלים את איכות היין.

3.1 מטרת המחקר וחשיבותו-

מטרת המחקר היא בחינת השפעת טיפולי חילון בעיתוי שונה ובעצמה שונה, בכרמים מקומיים ברמת הגולן על ההרכב הכימי ומבנה המורפולוגיה של הענבים בזנים סובניון בלאן ו-ויוניה.

3.1.2 מטרת משנה:

- השפעת השינויים הכימיים והמורפולוגיים על התפתחות הפטרייה בשטח ובתנאי מעבדה.
- בחינת השפעת טיפולי החילון השונים על איכות היין מבחינת הרכב כימי ובמבחני טעימה.

מעבודות קודמות שבוצעו במחקר בארבעה זנים מובילים (סובניון בלאן, ויוניה, קברנה סובניון ושיראז) נמצא כי התפתחו רקבונות רק בזן סובניון בלאן הן בשטח והן בהדבקות של אשכולות שלמים בפטרייה בתנאי מעבדה, וכן כי השכיחות הנמוכה ביותר לנגיעות בפטרייה נמצאה בטיפול החילון המוקדם. לכן הוחלט להתמקד בזן סובניון בלאן כזן רגיש לפטריית הבוטריטיס ובזן ויוניה כזן עמיד יחסית שישמשו במערכת שלנו כמייצגים זנים רגישים ופחות רגישים לרקבונות.

4. שיטות וחומרים

4.1 חלקת המחקר-

המחקר בוצע בכרם הרוח של קיבוץ מרום גולן, בחלקות של הזנים "סובניון בלאן" ו"ויונייה". מרווחי הנטיעה הם: שלושה מטר בין השורות ומטר וחצי בין הגפנים בשורה. בכרם ישנה מערכת הדליה הכוללת חוט הדליה ראשי בגובה 90 ס"מ מעל פני הקרקע ושני זוגות של חוטי שילוב. הניסוי החל בתקופת הפריחה בעונת 2017 ונמשך עד סוף עונת הבציר 2020.

הטיפולים השגרתיים בגידול הגפן שאינם קשורים לניסוי בוצעו כמקובל. הניסוי כלל שני טיפולי חילון להלן:

4.1.2 טיפולי החילון:

1) חילון מוקדם בתחילת פריחה -עד שני עלים מעל האשכול ובוצע משני צדי הגפן. 2) חילון מאוחר בין פריחה לבוחל מצדה המזרחי של הגפן (בלבד, 3) טיפול הביקורת שאינו מחולן. החילון בוצע באופן ידני.

מבנה הניסוי: בלוקים באקראי בחמש חזרות, כל חזרה כוללת בתוכה שש גפנים.



איור מס' 3 א- טיפול ביקורת בגפנים מזן "סובניון בלאן", ללא "חילון" (צילום עצמי)



איור מס' 3 ב- טיפול חילון מוקדם בגפנים מזן "סובניון בלאן" (צילום עצמי)



איור מס' 3 ג- טיפול חילון מאוחר בגפנים מזן "סובניון בלאן" (צילום עצמי)

בעונת הניסוי של שנת 2018 נבחנו שלושה טיפולים נוספים המשלבים עיתוי וחומרת חילון שונים, מהסקת המסקנות בשטח ובמעבדה הוחלט להוריד אותם ולהתמקד בשלושת הטיפולים האלו בשנה העוקבת. התוצאות של טיפולים אלה אינן מוצגות.

טיפולים נוספים:

חילון לאחר חנטה על שריגים חיצוניים מעל האשכולות (טיפול "שחור")
חילון לאחר חנטה על שריגים חיצוניים של שני עלים מתחת לאשכולות (טיפול "כחול")
חילון בגובה האשכולות לאחר חנטה על שריגים פנימיים בלבד (טיפול "ירוק")

4.2 מדדים אחריהם עקבנו-

4.2.1 נתוני קרינה לאחר טיפולי החילון:

תנאי אקלים בכרם תועדו על ידי תחנה מטאורולוגית: גשם, קרינה וטמפ' ממוצעת. עוצמת האור באזור האשכולות נבדקה עם מכשיר Sun Calibration316 - שהוחזק צמוד לאשכולות במקביל לשורת הגפנים. הקרינה נמדדה בשלוש גפנים בכל חזרה, הקרינה נבחנה פעם בחודש בשעות הצהריים במהלך עונת הגידול (סה"כ שלוש פעמים בכל זן). סטטיסטיקה לבדיקת הבדלים נערכה בתוכנת SPSS במבחן ANOVA.

4.2.2 נתוני בציר:

הגפנים נבצרו באופן ידני ונקבע משקל היבול ומספר האשכולות בכל אחת מגפני הניסוי.

4.2.3 מעקבי הבשלה:

בוצע מעקב אחר קצב ההבשלה של הענבים ע"י מדידת בריקס (אחוז הסוכר), ו-pH. הבדיקה נעשתה אחת ל-10-14 יום על ידי לקיחת 100 גרגירים באופן הבא: מכל חזרה נדגמו חמישים גרגירים מכל צד של השורה. עשרה אשכולות מכל צד ומכל אשכול 5 גרגירים תוך הקפדה לדגום גרגירים מכל חלקי האשכולות. הגרגרים נשקלו לקבלת משקל גרגר ממוצע ונסחטו לקבלת תירוש על מנת למדוד את יתר מדדי ההבשלה. - בדיקת ה-pH נעשתה בעזרת מד VWR pH, תוצרת גרמניה. - בדיקת הבריקס נעשתה באמצעות מכשיר רפרקטומטר דיגיטלי, Atago pal1, תוצרת יפן.

4.3 השפעת החילון על נגיעות בפטריית הבוטריטיס-

4.3.1 שכיחות הנגיעות בשטח:

על מנת לבדוק את שכיחות הנגיעות בשטח נבדקו אשכולות בשטח משלושת הטיפולים, 25 אשכולות מכל צד של השורה בחמש חזרות לטיפול. עבור כל אשכול צוין מספר הגרגירים הרקובים (בעלי החמה אופיינית או גרגירים מנביגים) שכיחות הנגיעות חושבה כאחוז האשכולות הנגועים מסך האשכולות. סטטיסטיקה לבדיקת הבדלים נערכה בתוכנת SPSS במבחן ANOVA.

4.3.2 חומרת נגיעות:

חומרת הנגיעות נקבעה כאחוז הגרגירים הנגועים באשכולות. נבדקו 25 אשכולות מכל צד של השורה בחמש חזרות לטיפול. סטטיסטיקה לבדיקת הבדלים נערכה בתוכנת SPSS במבחן ANOVA.

4.4 בדיקות במעבדה-

4.4.1 דיגום האשכולות והענבים: הדיגום נעשה מדי שבועיים, בשלושה מועדים בזן סובניון בלאן, ושני מועדים בזן וויניה בעקבות בציר מוקדם בשנת 2019. ובשני מועדים נוספים מידי שבועיים לכל זן בשנת 2020, הדיגום לניסוי החל כאשר ריכוז הסוכר בענבים היה כ-16%. בכל מועד נדגמו מכל חזרה ביולוגית בכרם 6 אשכולות מהצד המזרחי של השורה, כלומר מהצד המחולן. בסה"כ נדגמו 40 גרגירים מהצד המזרחי של הגפן בכל טיפול, 10 גרגירים לחזרה ביולוגית. הגרגירים נדגמו מ-3 אשכולות שונים, ובמיקום שונה על האשכול.

סובניון בלאן	וויוניה
05-08-2019	26-08-2019
19-08-2019	15-09-2019
02-09-2019	
סובניון בלאן	וויוניה
19-08-2020	19-08-2020
01-09-2020	01-09-2020

טבלה מס' 1: תאריכי האיסוף שנעשו בשטח בזנים סובניון בלאן וויוניה בעונות 2019-2020.

4.4.2 מדידת קצב התייבשות וצפיפות אשכולות:

קצב התייבשות יכול לשמש כמדד לצפיפות האשכולות. ההנחה היא כי קיים יחס הפוך בין קצב התייבשות לצפיפות האשכול. פרמטר זה נבחן על ידי טבילת אשכולות במים, שקילתם וחישוב קצב התייבשות על סמך שקילות חוזרות. בכל מועד נבדקו 36 אשכולות (12 מכל טיפול, 3 אשכולות לחזרה) אשר נדגמו בכל מועד מהצד המזרחי של השורה.

משקל אשכול יבש נמדד לכל אשכול (DCW) ולאחר מכן האשכול נטבל במים ונקבע משקל האשכול הרטוב בזמן אפס (WCW1). האשכולות נתלו כל אחד בשקית רשת והוחזקו בטמפרטורה חיצונית ללא קרינה ישירה במשך כ-4 שעות שבמהלכן נשקלו כל 45-60 דקות. קצב התייבשות חושב ע"י שקילות חוזרות של האשכולות כתלות בזמן (WCWn) ואחוז התייבשות לכל נקודת זמן חושב על פי הנוסחה: $(WCWn-DCW) / (WCW1-DCW)$.

4.4.3 גידול הפטרייה בתנאי מעבדה:

לצורך קביעת עמידות האשכולות להדבקה ע"י פטריית הבוטריטיס, הפטרייה שהובאה מראש מהשטח בודדה ונזרעה על צלחות PDA עם כלורמפניקול. הצלחות והודגרו באינקובטור בטמפ' של 22 מע"צ על מנת ליצור תנאים אופטימליים להתפתחות הפטרייה. הצלחות חודשו מידי כשבוע בעונה שלפני הבציר.

4.4.4 הדבקת אשכולות בפטרייה:

להדבקה במעבדה, נדגמו בכל מועד מהצד המזרחי של השורה 6 אשכולות לחזרה, 3 אשכולות שימשו להדבקה ו-3 שימשו לביקורת. האשכולות נדגמו בשעות הבוקר המוקדמות והועברו למעבדה. שם הודבקו על

ידי טבילה בתרחיף נבגים בריכוז של 10^4 שהוכן באותו יום. לפני ההדבקה האשכולות חוטאו ע"י טבילת בתמיסת נתרן היפוכלורי 1% במשך דקה ואז נטבלו במים סטריליים ויובשו לפני הטבילה בתרחיף. כביקורת שימשו אשכולות שלא נטבלו בתרחיף פטרייה, אלא נטבלו במים בלבד כביקורת. אחרי ההדבקה האשכולות הוחזקו בקופסאות פלסטיק סגורות והתפתחות הרקבונות נבדקה מספר פעמים למשך 10 ימים. עבור כל אשכול צוין אחוז הגרורים הנגועים ברקבון.

4.4.5 הדבקת גרורים:

120 גרורים נאספו מגפנים בכרם בכל מועד דיגום, 40 גרורים כל טיפול, הגרורים חוטאו ע"י טבילה בתמיסת נתרן היפוכלורי 1% במשך דקה 1 ואז נטבלו במים סטריליים ויובשו למשך שעתיים. בכל קופסא עם תנאי לחות קבועים הונחו על סרט דביק 9 גרורים מכל טיפול, על כל גרגיר טופסף תרחיף – 10 מיקרוליטר בריכוז של 10^7 . מספר הגרורים הרקובים נספר כל שלושה ימים מיום הזריעה, ממוצע חושב עבור כל חזרה. הועמדו קופסאות ביקורת ללא תרחיף פטרייה.

4.5 בדיקות כימיות - פיזיקליות של הגרורים-

4.5.1 הרכב הגרורים במכשיר LCMS:

נבדקו גרורים שנאספו שבועיים וארבעה שבועות לפני בציר בעונות השונות. הוכנסו בשטח לחנקן נוזלי ונשמרו במעבדה ב-80 מע"צ. לבדיקה, הגרורים הופשרו, קולפו ידנית והקליפות יובשו. ממס (מתנול/אתיל אצטט 50/50) בתוספת סטנדרט פנימי (4-hydroxystilben) בריכוז 2ppm הוספו לקליפות במשקל 1 גרם ביחס של 10 מ"ל ממס ל-1 גרם קליפות. הקליפות נטחנו בהומוגיניזר ב-16,000rpm למשך דקה ונסגרו במבחנות קוניות בנפח 50 מ"ל, עברו סרכוז בצנטריפוגה (12,000rpm) למשך 10 דקות. לאחר מכן נלקח רק נוזל עליון ועבר מיהול של 1:10 עם מתנול להרצה במכשיר LCMS.

תנאי הרצה אופטימליים- 5 מיקרוליטר דוגמא הוזרקו למכשיר לתוך UHPLC עם גלאי photodiode

(Dionex Ultimate 3000) בקולונה הידרופובית. פאזה נעה מורכבת מ (A) מים מזוקקים עם 0.1% חומצה פורמית. גרדיאנט מתחיל ב-95% A לשתי דקות ואז עולה ל-90% B למשך 11 דקות עד לעלייה ל-100% של B שם הוחזק לשתי דקות נספות. קצב הזרימה הוא 0.4 מ"ל/דקה.

LC-MS/MS בוצע עם (HESI-II) מחובר לספקטרוסקופיית מאסות מסוג Quadrupole-Orbitrap™. קפילרת ESI הוחזקה במתח של $\sqrt{300}$ ובטמפרטורה של 350°C ובקצב זרימה של 10 מ"ל/דקה. ערכי m/z נעו בין 100-1000.

עיבוד תוצאות: קביעת שטחים ואינטגרציה שלהם נעשתה ע"י תוכנת

Compound Discover (Thermo Xcalibur, Version 3.0.0.294) אינטגרציה עצמית נערכה באופן ידני במקרה הצורך.

4.5.2 בדיקת עובי קליפה במיקרוסקופ אור ע"י קיבוע דוגמאות וצביעתן:

בתקופת הבציר 2019 נאספו כ-4 גרגירים מכל חזרה בבקבוקוני סנטילציה (סה"כ 4 בקבוקונים לטיפול) אל תוך צידנית עם קרח ולאחר מכן הוכנסו אל תמיסת פיקסציה שהוכנה מראש (50 מ"ל אתנול 95%, 10 מ"ל פורמאלדהיד 37%, 5 מ"ל חומצה אצטית ו-35 מ"ל מים מזוקקים) כאשר הגרגירים חתוכים לרוחבם, הדוגמאות עברו דהידרציה באחוזי אתנול עולים עד הגעה ל 100% אתנול אבסולוטי והושרו באתנול אבסולוטי למשך לילה. הדוגמאות הועברו בין תמיסות של אתנול:היסטוקליר ביחסים של 1:3, 1:1, 3:1 בהתאמה, לבסוף הומסו פתיתי פרפין אל תוך הבקבוקונים עד לרוויה ב42 מע"צ.

חיתוך הדוגמאות וצביעתן: בתוך בלוקים הונחו חיתוכי הגרגירים לרוחבן ועליהן הומס פראפין, הדוגמאות התקררו במי קרח ונחתכו במכשיר מיקרומטר בעובי של 12 מיקרון על זכוכית נושאת. הדוגמאות עברו רה-הידרציה באחוזי אתנול יורדים ולאחר מכן נצבעו בצבע ספרנין, וצבע ירוק כך שרק תאי הקליפה נצבעים בצבע חזק שניתן לראות במיקרוסקופ.

בדיקות במכשיר המיקרוסקופ: הבדיקה נעשתה במיקרוסקופ אור מתוצרת leica, תמונות נאספו בתוכנת MotiC31R ונמדדו אורכן של 3 נקודות רנדומליות על גבי הקליפה.

סטטיסטיקה לבדיקת הבדל בעובי הקליפה נעשתה בתוכנת SPSS במבחן ANOVA.

מצ"ב תמונה בנספחים.

4.6 בדיקות איכות היין-

בדיקות בוצעו על יינות מבצירים 2017, 2018 ו 2019. יינות מארבע חזרות מכל טיפול הוכנו ביקב הנסיוני של מכללת תל חי במיקרוויניפיקציה, כ-25 ק"ג ענבים מכל חזרה, הענבים נבצרו על פי רמת הסוכר כפי שנקבעה ע"י דיגום גרגרים בשטח (במוזכר לעיל).

4.6.1 בדיקת פנולים כללית: הבדיקה נעשתה לפי פרוטוקול בדיקת Total phenol בשיטת פולין קיאלטו לבדיקת פנולים כללית ביין (28). בדיקת ריכוז הפנולים בוצעה ב-4 חזרות לכל דוגמת יין (חזרות טכניות), 4 חזרות מכל טיפול, קביעת ריכוז הפנולים נעשה כנגד עקום כיוול של ח' גאלית. סטטיסטיקה לבדיקת הבדלים נערכה בתוכנת SPSS במבחן ANOVA.

4.6.2 בדיקת הרכב חומרים נדיפים ביינות במכשיר GCMS:

אנליזת החומרים הנדיפים ביינות מהטיפולים השונים נעשתה בשיטת HS-SPME-GCMS, בקולונות מסוג HP-5- MS, 30 m x 0-25 mm i.d (sigma Aldrich), שימוש בסיב DVB. גז הליום משמש כפאזה הנעה וגלאי מסות סלקטיבי מחובר למערכת לצורך זיהוי החומרים ביציאה מהקולונה. בוצעו שתי חזרות לכל דוגמת יין. בכל ווייל הוספו 6.5 מ"ל דוגמת יין, 1.3 גר' מלח אנליטי, 8 מ"ל תמיסת ppm 5 D-Toluene (sigma Aldrich) המשמש כסטנדרט פנימי. הדוגמאות עורבבו ידנית עד להמסת המלח. הרצת הדוגמאות: בתחילה הועברו בקולונה 2 דוגמאות בלנק של אוויר, דוגמת סטנדרט של Toluene (עם 6.5 מ"ל מים במקום יין) ולאחר מכן שאר הדוגמאות. זיהוי הפיקים התבצע ידנית ונורמל בהתאם לריכוז ידוע של סטנדרט פנימי לפי הנוסחה הבאה: (שטח חומר מזהה*100)\שטח סטנדרט פנימי. תנאי הרצה אופטימליים HP5: לפני הזרקה לקולונה הדוגמאות מושהות באגיטור ב60 מע"צ ל5 דקות במהירות של 250 RPM. גרדיאנט טמפרטורות: טמפ' הזרקה התחלתית 40 מע"צ, עליה לינארית של 2 מע"צ לדקה עד להגעה לטמפ' של 240 מע"צ ועצירה ל180 שניות בטמפרטורה זו. ערכי M/Z נעים מ35 ל350. בוצעה אנליזת PCA לניתוח תוצאות ו manova למציאת הבדלים ספציפיים בין החומרים שנמצאו ביינות.

4.6.3 טעימת יינות:

יינות מהזנים ויוניה וסובניון בלאן מבצירים 2018-2019 נטעמו על ידי צוות טועמים מאומן שעבר הכשרה בקורס מקצועי על ידי יינן מוסמך. הכשרת הטועמים נערכה במשך שבעה מפגשים במכללת תל חי בחודשים יולי אוגוסט 2019. בקורס למדו הטועמים על טעמי היין האופייניים, טעימות מקצועיות והערכת יין לבן. בסוף הקורס נערכו טעימות בשתי שיטות, "מבחן משולש" הנערך על מנת לבדוק הבדלים כלליים בין היינות, בו הטועמים קיבלו 3 כוסות עם שני יינות זהים ואחד שונה ונאלצו לדווח מהו היין השונה בעיניהם. ומבחן דיוויס המדרג את היינות לפי פרמטרים מוסכמים. לכל מדד משקל שונה בדירוג היינות (מבחן דיוויס מצ"ב בנספחים)

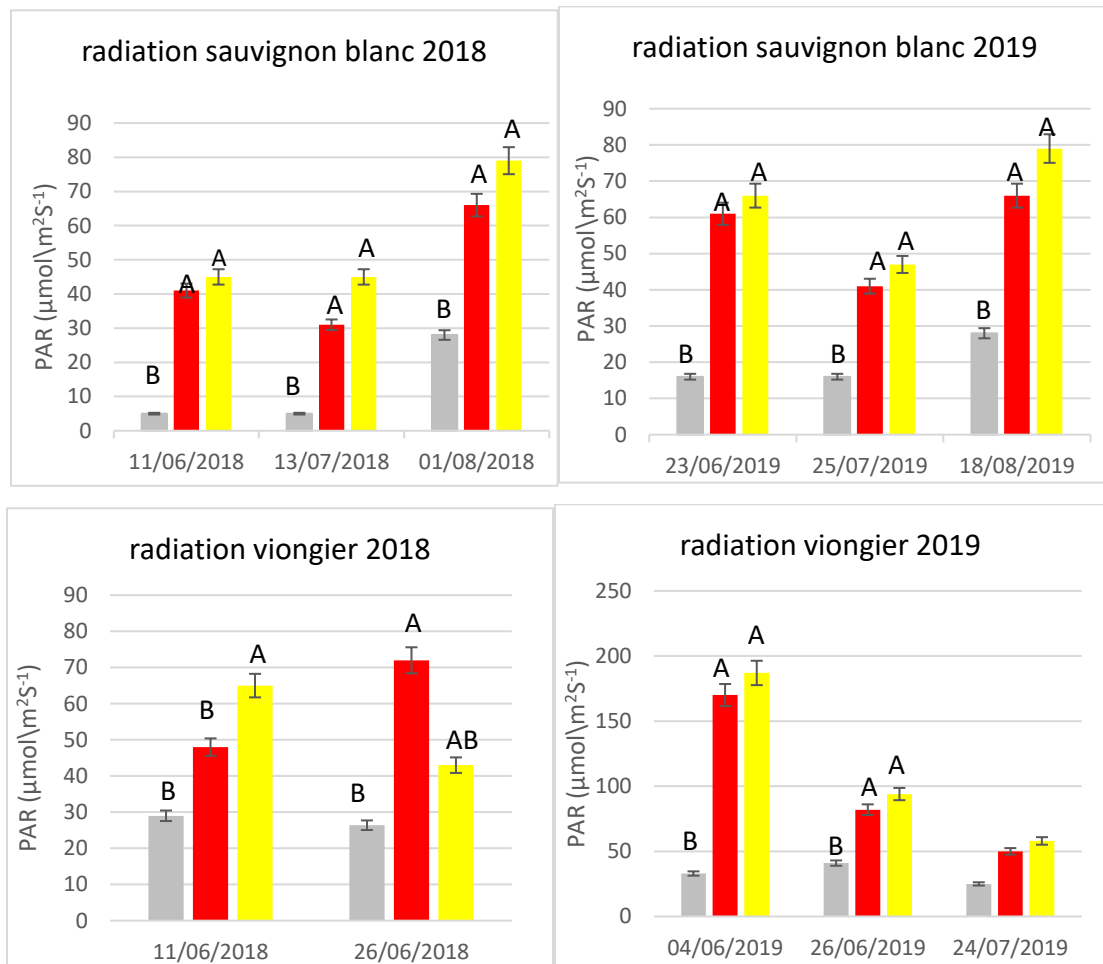


איור מס' 4- מבחן טעימות יין הנערך במכללת תל- חי. (צילום עצמי)

5. תוצאות

5.1 עמידות הגפן לבוטריטיס ורקבונות ובדיקות בשטח-

מדידת עוצמת הקרינה על אשכולות הענבים: המדד הראשון שמושפע מדילול העלים הוא הקרינה הישירה שאליהם חשופים הענבים והעלים. חשיפה מבוקרת לקרינת UV ידועה כבעלת פוטנציאל להגברת ריכוז הפנולים והטרפנים, אך ידוע גם כי חשיפה מוגברת לקרינת UV עלולה להוביל לטמפרטורה גבוהה ולפירוק וירידה בריכוז הפנולים והטרפנים ולכן יש חשיבות לחשיפת מבוקרת. פעולת החילון חושפת את הענבים לקרינת השמש ורצינו לבדוק את הקשר בין החשיפה לקרינה בעקבות טיפול החילון לעלייה או ירידה ברמות הפנולים. הקרינה בגפנים מטיפול החילון המוקדם והמאוחר (המסומנים באדום וצהוב בהתאמה), נבחנו אל מול גפנים מטיפול הביקורת במהלך עונות הניסוי. איור 5 מציג את עצמת הקרינה שנמדדה בגפנים (par- photosynthetic active radiation) על ידי מדידה במכשיר sun calibration.

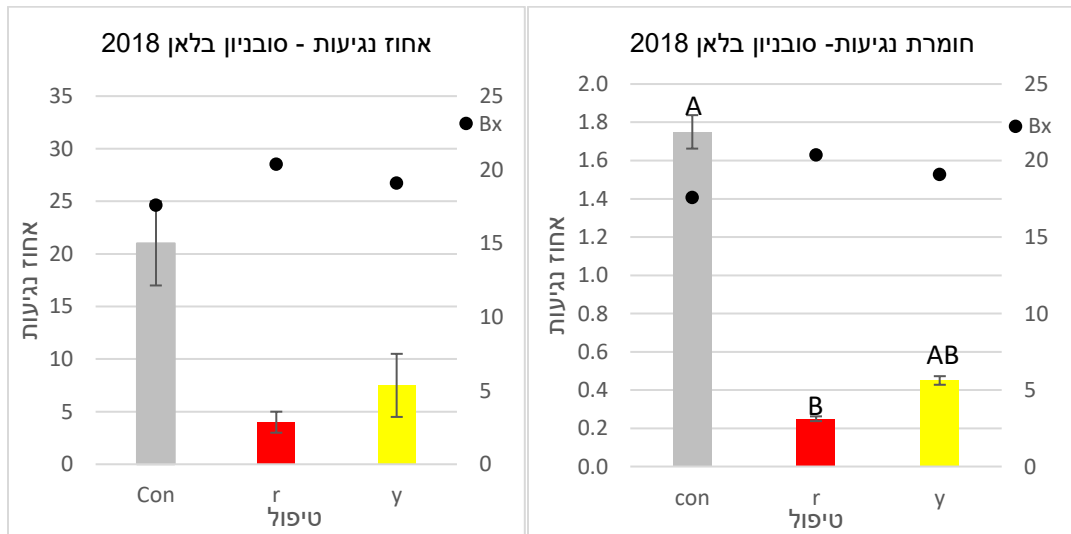


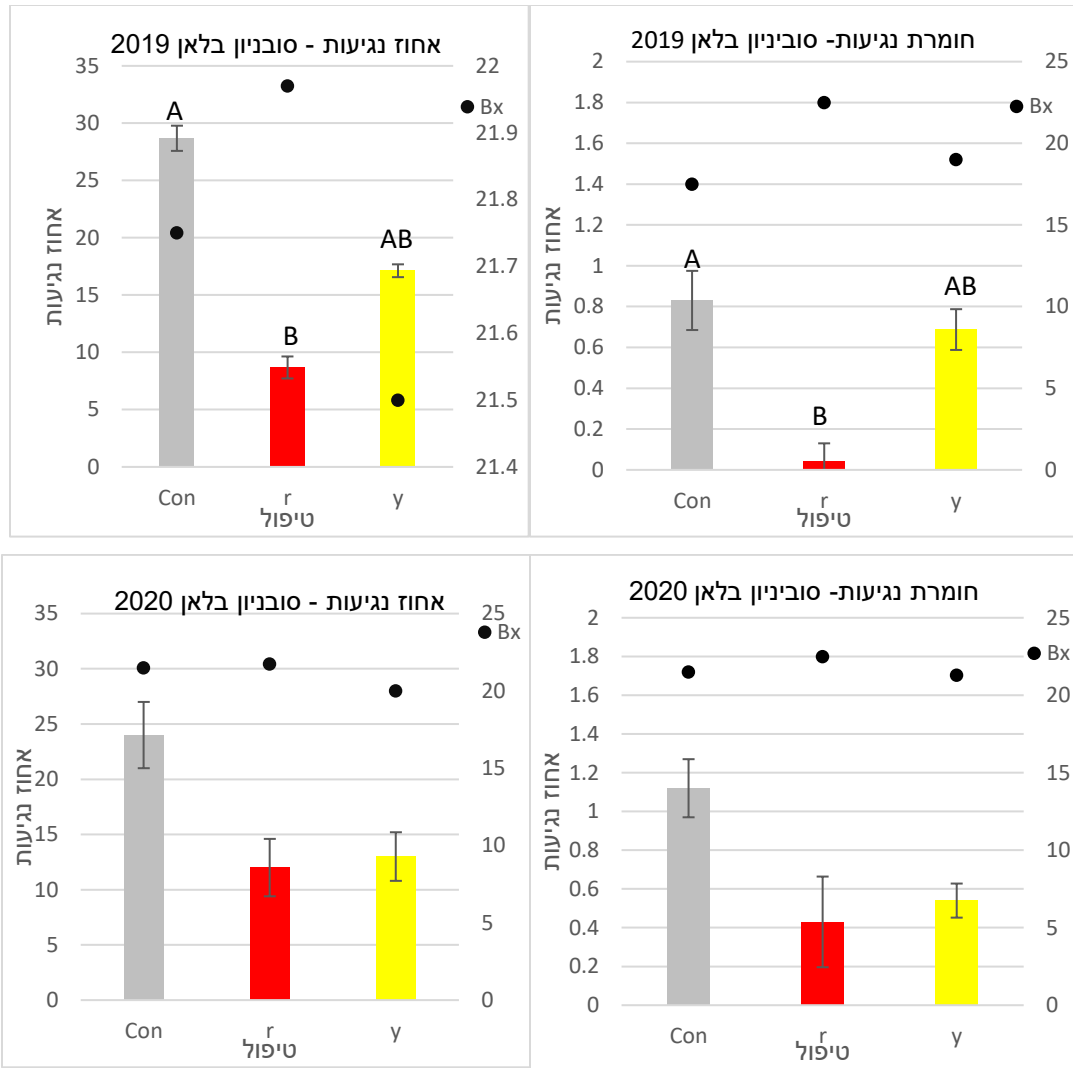
איור מס' 5 : עוצמת הקרינה (PAR) באזור האשכולות.

עוצמת האור באזור האשכולות נבדקה עם מכשיר Sun Calibration316 - שהוחזק בתוך הנוף במקביל לשורת הגפנים. כל נתון הוא ממוצע של חמש חזרות שבכל אחת נמדדה התאורה בשלוש גפנים. ביקורת לא מחולגת (אפור), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום). מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$). באיור מס' 5 ניתן לראות בשני הזנים במשך שתי העונות הנבדקות כי הקרינה שנמדדה בטיפול החילון, המוקדם והמאוחר גבוהה באופן מובהק מטיפול הביקורת, מלבד תאריך אחד בזן ווינויה. בשנים 2018-2019 ניתן לראות כי הגפנים מטיפול החילון המאוחר (המסומן בצהוב) נמצאו כחשופות ביותר לשמש, תוצאות אלו מאששות את הנחת היסוד כי חילון חושף את האשכולות לקרינת שמש חזקה יותר ומכאן ניתן להמשיך ולבדוק את ההשפעות הנלוות מכך על פרמטרים נוספים.

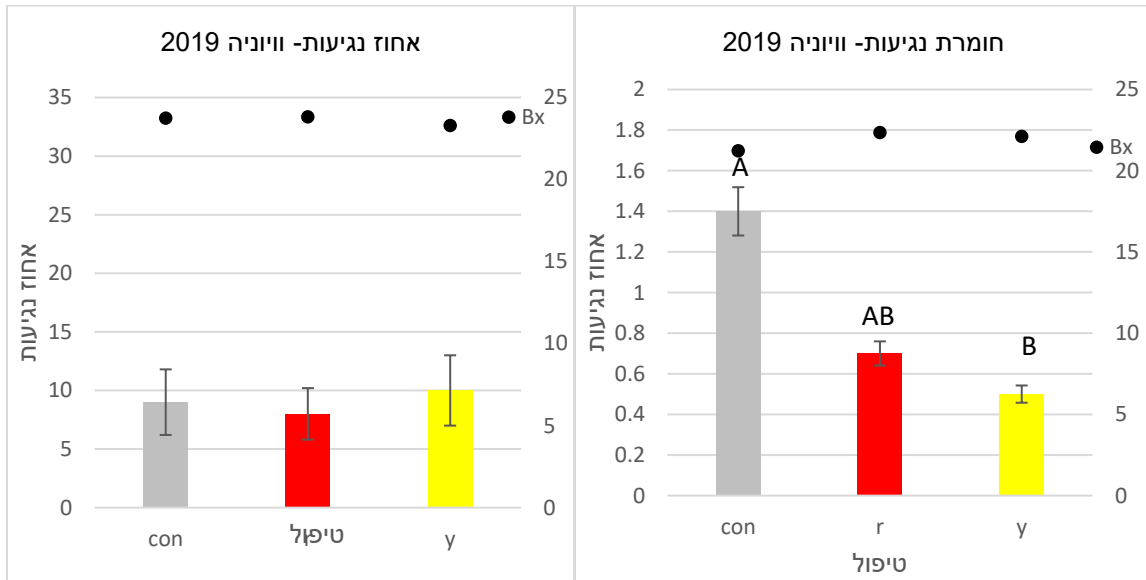
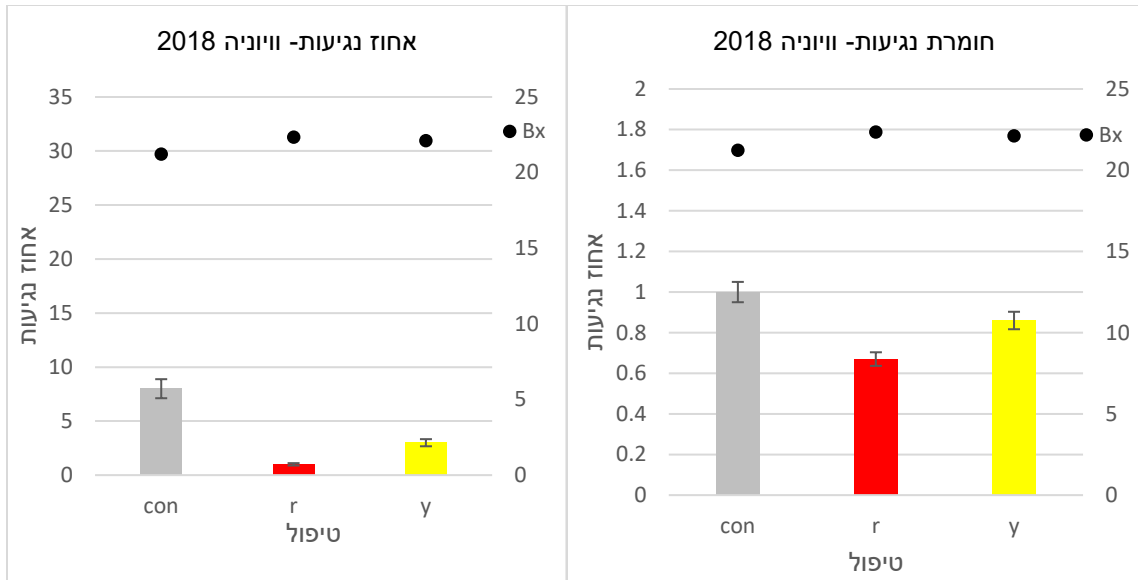
5.1.1 שכיחות וחומרת התפתחות הפטרייה בשטח:

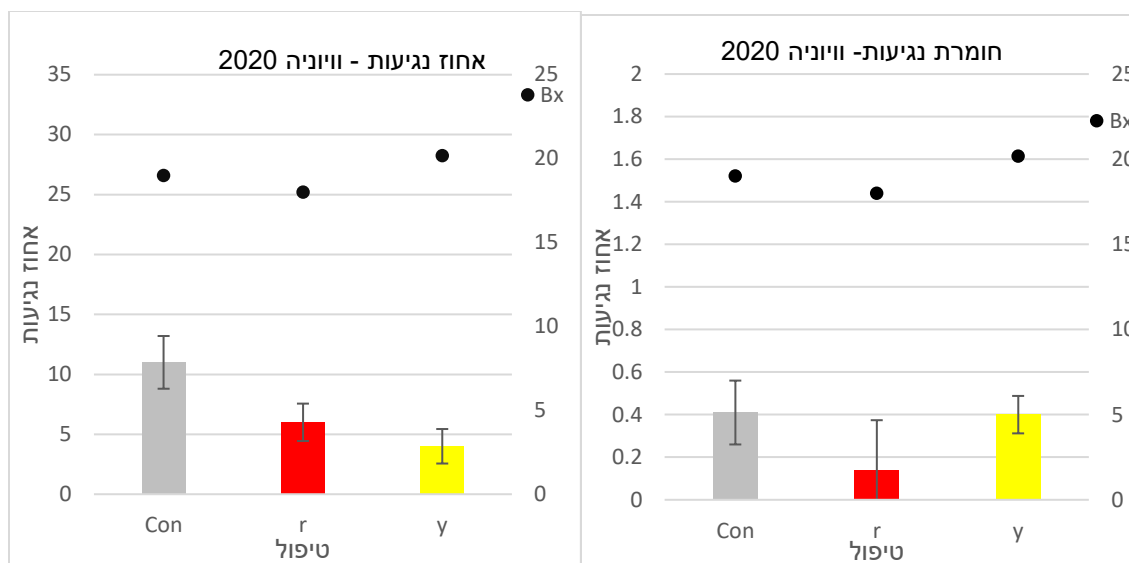
כדי לאשש את ההשערה שחילון במועדים שונים גורם לעמידות הגפן לרקבונות מפטריית הבוטריטיס, שכיחות וחומרת הנגיעות נבדקו בשטח כשבוע לפני הבציר בכל עונות הניסוי בשני הזנים. שכיחות נגיעות חושבה על ידי ספירת כל אשכול בעל נגיעות אופיינית נראית לעין, וחומרת רקבונות נמדדה על ידי אחוז הגרגירים הנגועים באשכול. נספרו 50 אשכולות לכל חזרה משני צידי הגפן.





איור מס' 6: אחוז וחומרת נגיעות לבוטריטיס אשר נבדקו בכרם בין סובניון בלאן. מכל חזרה נבדקו 50 אשכולות משני צידי הגפן בכל עונת ניסוי, חמש חזרות לטיפול. ביקורת לא מחולגת (אפור con), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (Y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום R). נקודות שחורות מציינות את ריכוז הסוכר בענבים Bx. מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).





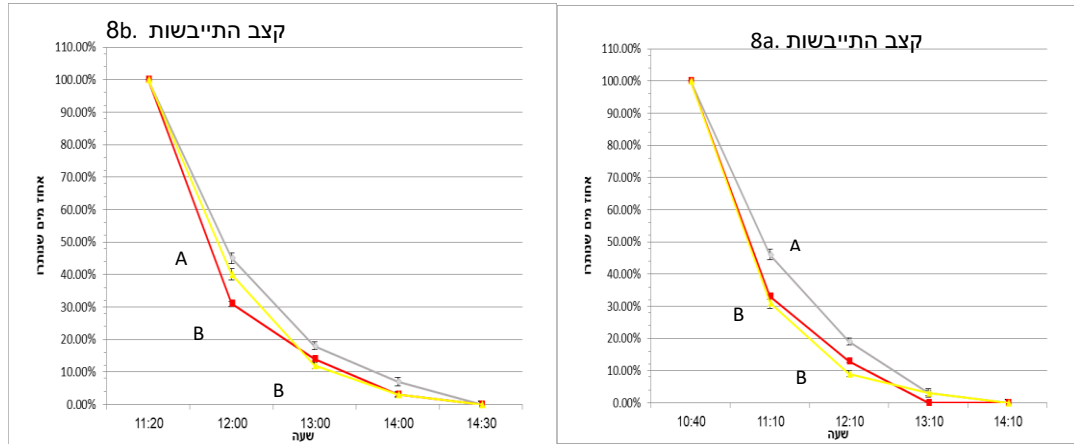
איור מס' 7: אחוז וחומרת נגיעות לבוטריטיס ורקבונות כלליים אשר נבדקו בכרם מזן ויונייה.

מכל חזרה נבדקו 50 אשכולות משני צידי הגפן בכל עונות הניסוי, חמש חזרות לטיפול. ביקורת לא מחולנת (אפור con), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (Y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום R). נקודות שחורות מציינות את ריכוז הסוכר בענבים. Bx מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).

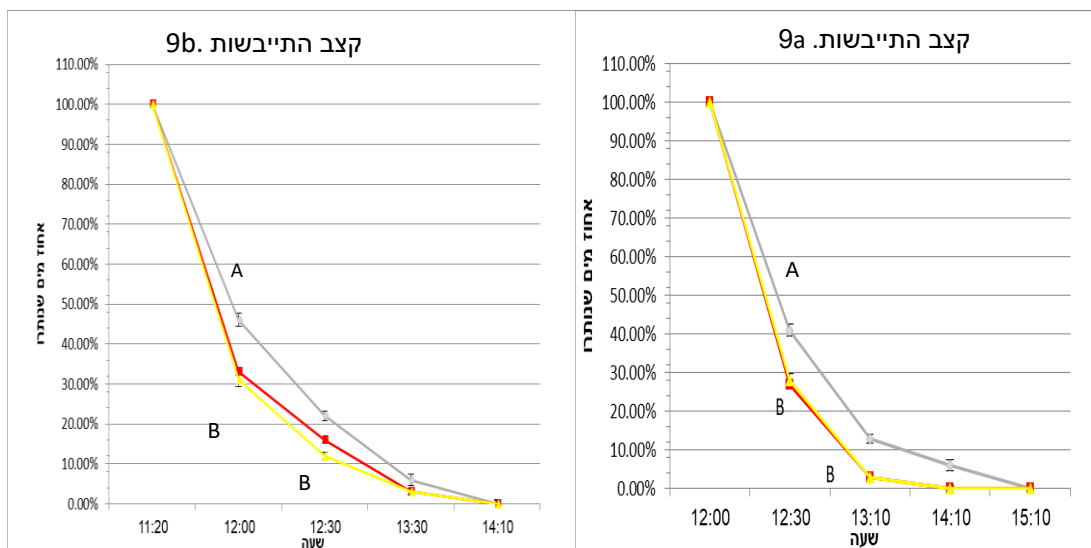
אחוזי וחומרת הנגיעות שנמדדו בשני הזנים במהלך העונות הראו מגמה זהה, בהם טיפול הביקורת שאינו מחולן נמצא כרגיש ביותר לפטרייה, אך לאורך העונות התוצאות אינן עקביות ומובהקות: ניתן לראות בסובניון בלאן, המייצג זן רגיש כי בשלוש עונות הניסוי המגמה זהה, אחוז וחומרת הנגיעות הגבוהים ביותר נצפו בטיפול הביקורת ונבדלו מטיפול החילון המוקדם. בשנת 2020 המגמה הייתה זהה לשאר עונות הניסוי, אך ההבדלים לא נמצאו מובהקים סטטיסטית. בשנת 2019 היו הבדלים מובהקים ומשמעותיים לגבי שני המדדים, וב2018 רק חומרת הנגיעות מובהקת בין הטיפולים. טיפול החילון המאוחר לא נבדל סטטיסטית מטיפול הביקורת וטיפול החילון המוקדם לאורך שלוש עונות הניסוי. תוצאות אלו התקבלו על אף שהסוכר הנמדד בענבים היה גבוה יותר בטיפול החילון המוקדם מה שמעיד על הבשלה גבוהה יותר המזרזת רקבונות. בויונייה המייצג זן פחות רגיש המגמה זהה, אך התוצאות אינן מובהקות וההבדלים קטנים יותר. ניתן לראות אחוז שכיחות נמוכה יותר של הפטרייה לעומת הסובניון בלאן, אך התוצאות מובהקות רק לגבי חומרת הנגיעות בעונת 2019.

5.1.2 בדיקת עמידות גרגירים ואשכולות בניסויי אילוח במעבדה:

התפתחות הבוטריטיס תלויה ברמת הלחות על האשכול. קיים יחס בין רמת הלחות לרמת הנגיעות בפטרייה, וכן רמת הלחות נמצאת ביחס ישיר עם צפיפות הענבים באשכולות המשפיעים על המיקרו-אקלים של הענב באשכול. רמת הצפיפות נבדקה על ידי קצב ההתייבשות של האשכולות. נבדקו שני תאריכים בכל זן בשתי מעונות הניסוי (2019-2020) משלב של מתחילת הבשלת הגרגירים. בכל תאריך נבדקו 3 אשכולות לכל חזרה. סה"כ 12 אשכולות לטיפול, 72 אשכולות לכל זן.

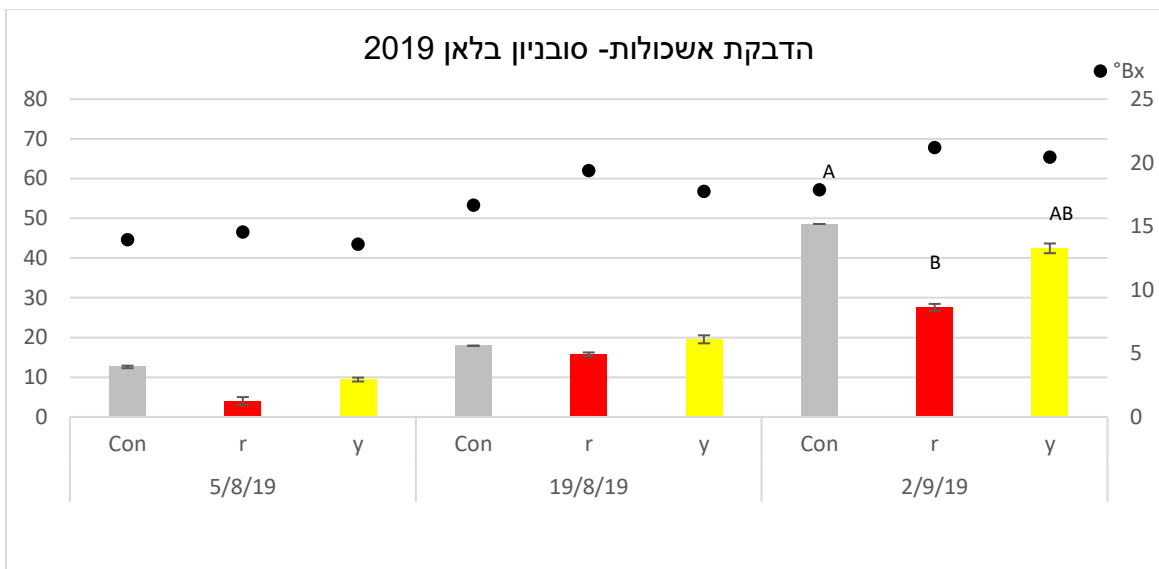


איור מס' 8: קצב התייבשות האשכולות בזן סוביניון בלאן 2019, אשר מעיד על צפיפות האשכולות. נמדד בתאריך 05.08.2019 (a), ובתאריך 19.08.2019 (b) ביקורת לא מחולנת (con), חילון מאוחר אחר הנטה עד שני עלים מעל האשכול (y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום x). מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).

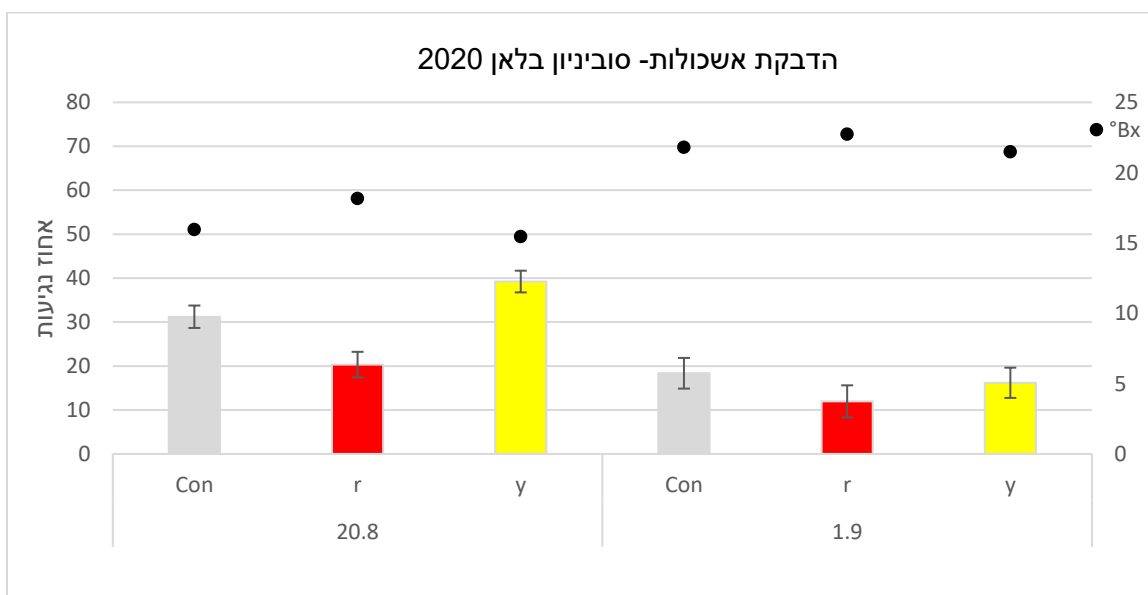


איור מס' 9: קצב התייבשות האשכולות בזן ווינויה 2019, אשר מעיד על צפיפות האשכולות. נמדד בתאריך 26.08.2019 (a) ובתאריך 15.09.2019 (b) ביקורת לא מחולנת (con), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום x). מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).

ניתן לראות מגמה עקבית ומובהקת של קצב התייבשות איטי יותר באשכולות מטיפול הביקורת מול הטיפולים המחולנים מה שמראה על מורפולוגיה שונה של האשכולות בין הטיפולים. אשכולות שלא עברו טיפול חילון הם צפופים יותר ולכן עלולים להיות רגישים יותר להתפתחות רקבונות עקב תנאי הלחות בתוך האשכול.



איור מס' 10: אחוז אשכולות נגועים לאחר אילוח במעבדה לשנת 2019 בשלושת התאריכים הנבדקו כפונקציה של אחוז הסוכר. ביקורת לא מחולנת (con), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום r). מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).

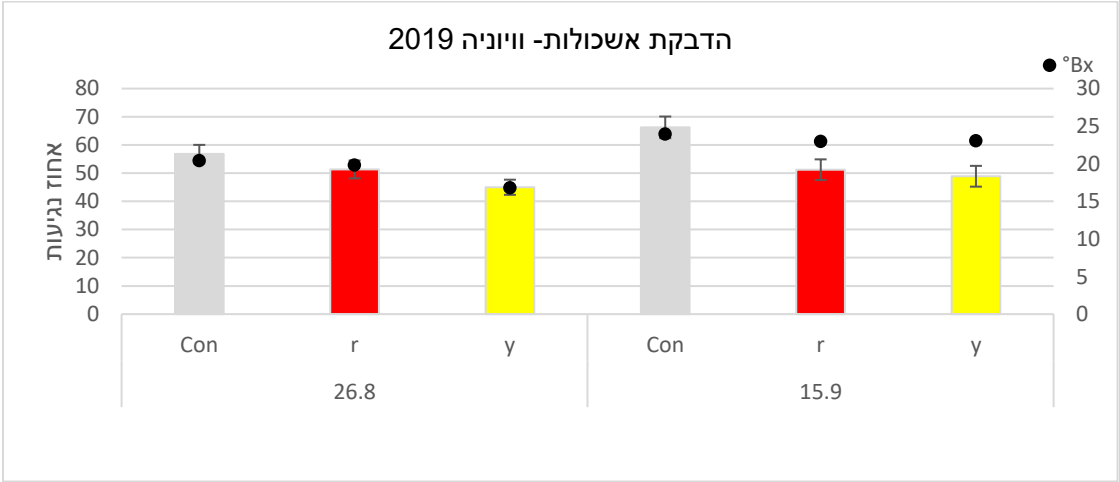


איור מס' 11: אחוז אשכולות נגועים לאחר אילוח במעבדה לשנת 2020 בשני התאריכים הנבדקים כפונקציה של אחוז הסוכר. ביקורת לא מחולנת (con), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום r). מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).

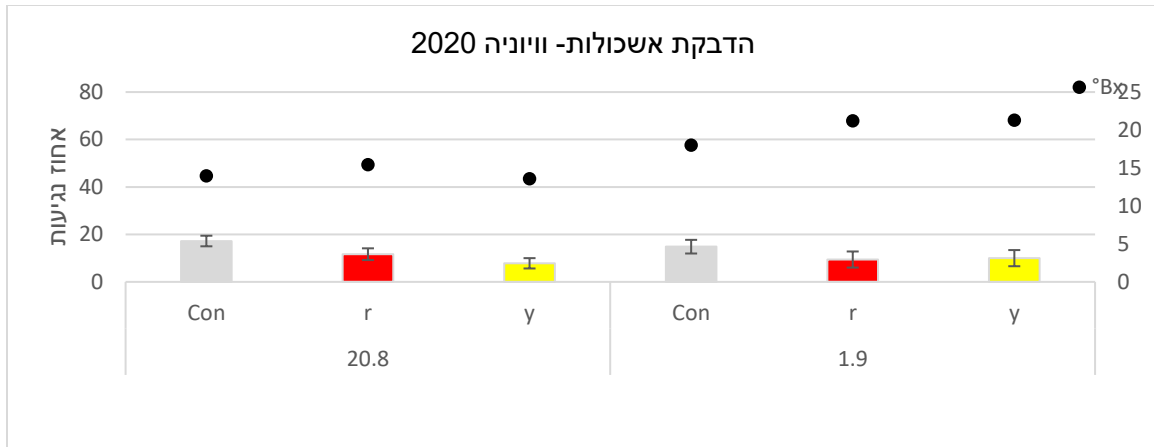
איור 10 מסכם את אחוז הנגיעות של אשכולות שלמים שאולחו במעבדה עם תרחיף פטריות מזן סובניון בלאן מתחילת הבשלה ועד הבציר בשלושה תאריכים כפונקציה של אחוז הסוכר לשנת 2019, ניתן לראות כי הרגישות לרקבונות עלתה ביחס ישר עם מידת ההבשלה ועם העלייה ברמת הסוכר וכי טיפול הביקורת הוא הרגיש ביותר לרקבונות. בדיגום האחרון שנעשה בתאריך 2.9.2019 נצפה הבדל מובהק בין החילון המוקדם לבין חילון הביקורת ברמת הנגיעות. ניתן לראות שאחוז הסוכר בענבי הביקורת במועד זה נמוכים מריכוז הסוכר בענבי החילון המוקדם ויתרה מכך הם אף נמוכים מאחוז הסוכר של ענבים שטופלו בחילון מוקדם מתאריך 19.8.20. יש לציין שנצפו רקבונות רבים בשטח בזן זה וחוסר אחידות בהבשלה וברמת הסוכר.

איור מס' 11 מציג את אחוזי נגיעות של אשכולות שלמים מזן סובניון בלאן שאולחו בתרחיף פטריות בתנאי מעבדה זהים לשנת 2020 גם כאן ניתן לראות כי אשכולות מטיפול החילון המוקדם היו רגישים פחות מטיפול החילון המאוחר ומטיפול הביקורת, אך ההבדלים לא נמצאו מובהקים סטטיסטית כלל לשנה זו.

בהתייחסות כוללת על התוצאות במשך שנתיים, על אף חוסר המובהקות ניתן לומר כי קיימים גורמים נוספים מלבד תנאי השטח שנבחנו במחקר כמו הרכב כימי של הגרגירים, מורפולוגיה ופיזיולוגיה של הענב המשפיעים על עמידות הגפן לפטרייה. זאת מכיוון שבתנאי מעבדה זהים המבטלים את תנאי השטח ענבים מטיפול הביקורת נמצאו רגישים יותר. **איורים 12-13** מסכמים את הנגיעות באשכולות שלמים שאולחו במעבדה בתרחיף פטריות מהזן ויוניה. ניתן לראות מגמה של רגישות גבוהה יותר באשכולות מטיפולים לא מחולנים לעומת טיפולים שעברו חילון, מוקדם או מאוחר. נצפתה עלייה של כ-10% ברגישות בטיפול הביקורת לעומת הטיפולים המחולנים, התוצאות אינן מובהקות.



איור מס' 12: אחוז אשכולות נגועים לאחר אילוח במעבדה לשנת 2019 בשני התאריכים הנבדקים כפונקציה של אחוז הסוכר. ביקורת לא מחולנת (con), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום r). מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).

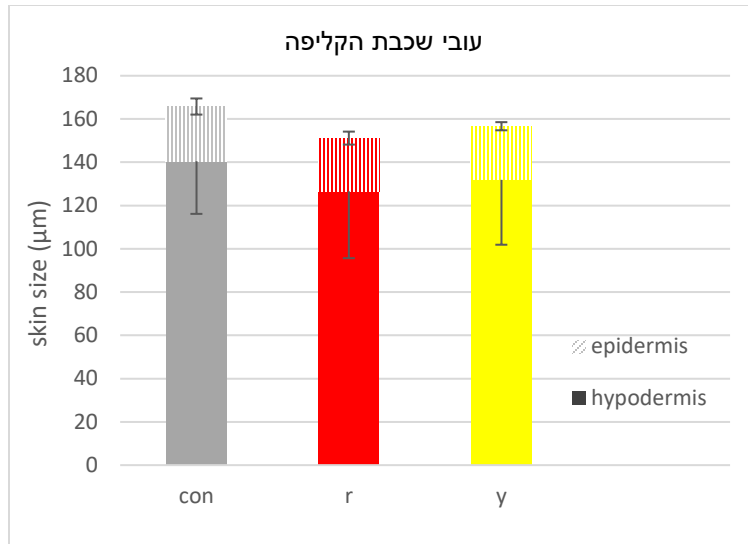


איור מס' 13: אחוז אשכולות נגועים לאחר אילוח במעבדה לשנת 2020 בשני התאריכים הנבדקים כפונקציה של אחוז הסוכר. ביקורת לא מחולנת (con), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (r אדום). מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).

5.2 הרכב ואנטומיה של הענב

5.2.1 מדידת עובי קליפת הענב:

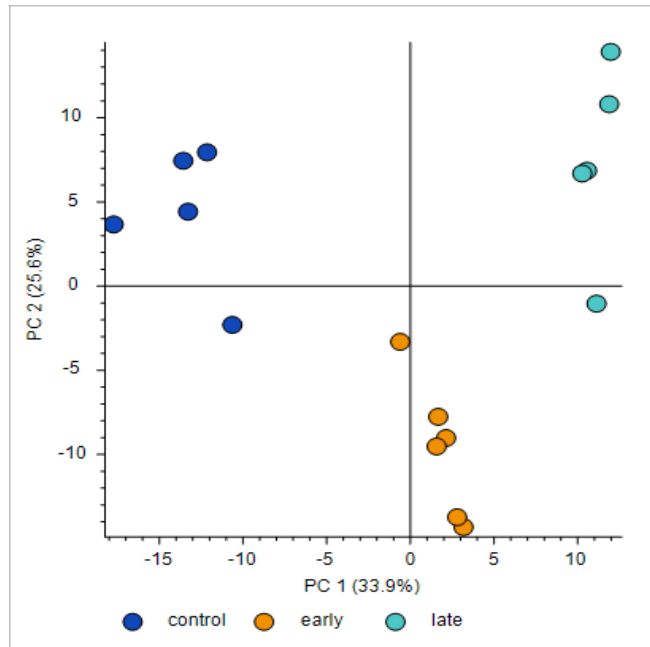
לאנטומיה של הגרגיר השפעה רבה על התפתחות רקבונות, ההנחה לפי דיווחים קודמים בספרות (37,40) כי טיפולי חילון גורמים לקליפה הגרגיר להתעבות, בקליפת הגרגיר ישנה הצטברות גדולה של חומרי תשמורת וכן קליפה עבה יותר עשויה ליצור חדירות נמוכה יותר של פתוגניים. לשם כך נבדק עובי קליפת הגרגירים מזן סובניון בלאן שמייצג את הזן הרגיש יותר, והראה שינוי מובהק בנגיעות בשטח בשנים 2018, 2019. עובי הקליפה נמדד במיקרוסקופ אור לאחר צביעת התאים וקיבוע הקליפה בפרפין. נמדדו 3 גרגירים מכל חזרה מענבי 2019, סה"כ 12 גרגירים לטיפול בארבע נקודות רנדומליות על הגרגיר (48 נקודות לכל טיפול). לא נמצא שינוי משמעותי בעובי הקליפה בין הטיפולים כפי שצפינו.



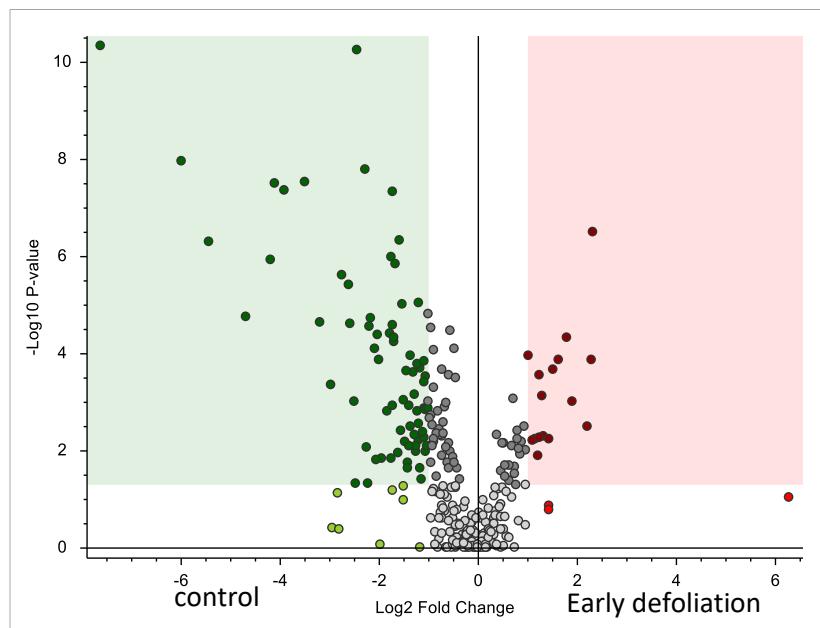
איור מס' 14: עובי ממוצע של קליפת גרגיר מהטיפולים השונים מזן סובניון בלאן 2019.
 ביקורת לא מחולנת (con), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום r). מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).

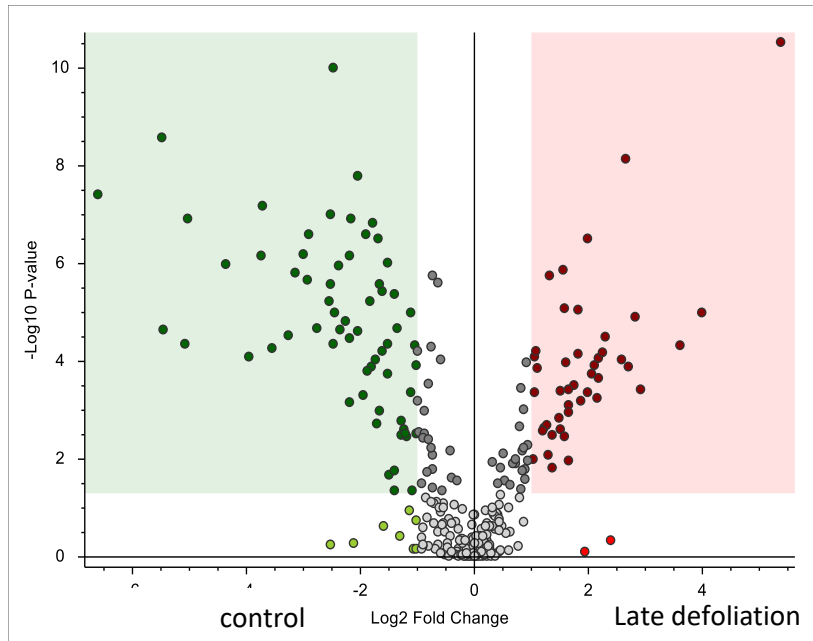
ניתן לראות כי לא נמצא שינוי משמעותי בעובי הקליפה בשתי שכבות התאים, אפידרמיס והיפודרמיס, המגמה מראה עובי קליפה גדול יותר בטיפול הביקורת אך התוצאות אינן מובהקות או בעלות הבדל משמעותי.

5.2.2 בדיקת הרכב הגרגירים במכשיר LCMS לענבים מטיפולים שונים:
 לצורך בדיקת השפעת טיפולי החילון על צבירת המטבוליטים בגרגיר עצמו, נבדקו חומרים ממיצוי שנעשה לקליפות הענבים שנלקחו בשתי עונות הניסוי. באיורים מס' 15, 16 ניתן לראות את תוצאות ריכוז החומרים שנמצאו במיצוי שנעשה מקליפות הענבים מזן סובניון בלאן בציר 2018 כפי שהתקבלה באנליזה במכשיר LCMS, לאחר שעברו טיפולי חילון מוקדם ומאוחר אל מול גפנים שלא חולנו כלל. **איור מס' 15** הוא איור PCA המראה את התפלגות הטיפולים אחד אל מול השני, ניתן לראות שיש הפרדה בין הטיפולים השונים: ביקורת (כחול כהה) חילון מוקדם (כתום) וחילון מאוחר (ירוק). **איור מס' 16** מראה את סך החומרים שנמצאו בהרצות והשינוי בריכוזם במיצויים מהטיפולים השונים. כל נקודה בגרף מראה חומר שנמצא בהרצה, החומרים המסומנים בצבע אדום הוגברו בצורה מובהקת ($PV > 0.05$) פי עשרה ומעלה בהתאם למצוין בגרף. ניתן לראות מגמה של התפלגות שונה של הטיפולים, והתפזרות שונה של החומרים בחלקם נמצאה הבדל מובהק.



איור מס' 15: PCA המראה את התפלגות הטיפולים על פי מיצוי קליפות גרגירים מזן סובניון בלאן 2018. כל נקודה מייצגת ממוצע של ארבע חזרות טכניות, נערך מבחן PCA בתכנת Compound Discover.





איור מס' 16: פיזור החומרים השונים שנמצאו בקליפות הענבים בזן סובניון בלאן 2018.

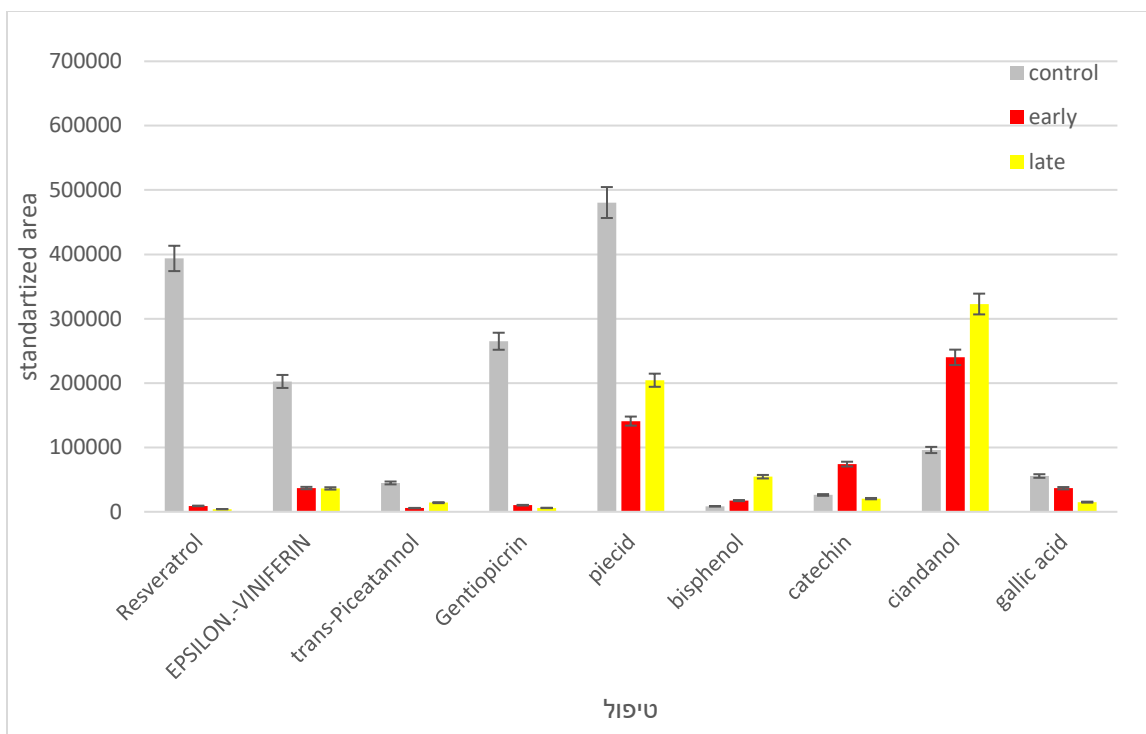
כל נקודה מייצגת חומר שנמצא בהרצה, נקודות אפורות מראות חומרים אשר לא נמצאה בהם עלייה/ ירידה ואילו נקודות הנמצאות בריבוע הצבוע מראות חומרים הנמצא בהם הבדל מובהק. סך הנקודות מראות את כלל החומרים שנמצאו בהרצות, לא כולם זוהו.

באיור 16 ניתן לראות את פיזור סך החומרים שנמצאו במיצוי מקליפות הענבים בזן סובניון בלאן מבציר 2018. ניתן לראות את פיזור החומרים בטיפול הביקורת מול טיפול חילון המוקדם, ואת טיפול הביקורת מול טיפול החילון המאוחר בשני האיורים.

באיור 17 ניתן לראות החומרים הספציפיים שזוהו, ונמצא בהם הבדל מובהק ומשמעותי במיצוי מקליפות הענבים מזן סובניון בלאן מבציר 2018. סטילבנים הראו מגמת ירידה בטיפולים המחולנים אל מול הביקורת הלא מחולנת ואילו פלבנואידים הראו מגמת עלייה.

(סטילבנים - Resevertrol Epsilon, viniferin, trans piceatannol, piceid,

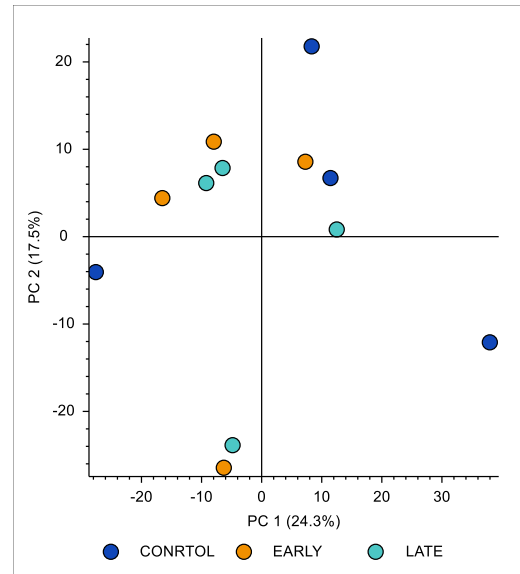
פלבנואידים- catechin, quercetin, bisphenol)



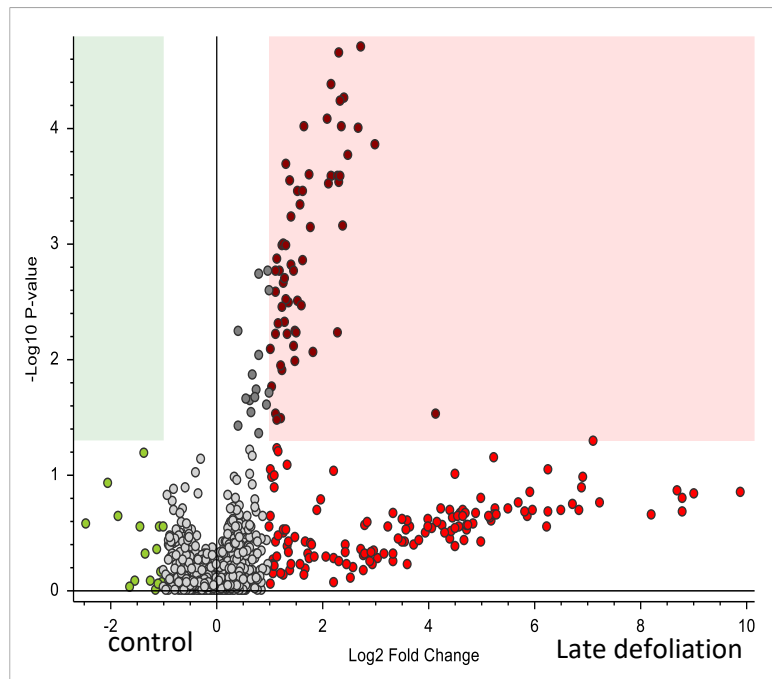
איור מס' 17 : השפעת טיפולי חילון על הרכב חומרים בקליפות הענבים בזן סובניון בלאן 2018 לפי זיהוי במכשיר ה-LC-MS.

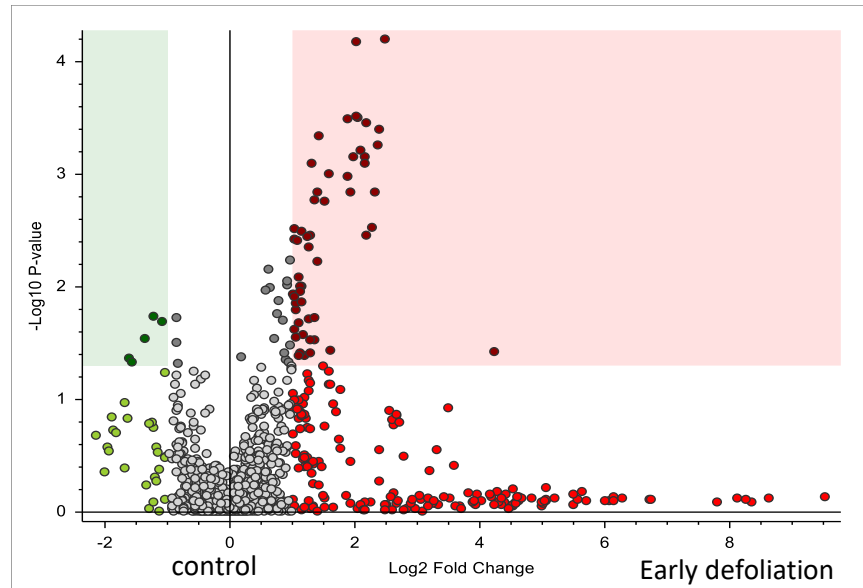
חומרים אשר הראו שינוי מובהק ($P < 0.05$), באיור מוצג השטח היחסי של כל חומר, לפי הטיפולים השונים. עמודות אפורות: טיפול ביקורת לא מחולק עמודות אדומות: טיפול חילון בתחילת פריחה. עמודות צהובות: טיפול חילון בין פריחה לבוחל.

על פי איורים 15-17 אנחנו רואים כי בעונת 2018 נמצאו חומרים שונים שהראו שינוי מובהק ($p < 0.05$) בין טיפול הביקורת לטיפול החילון המוקדם. בגרף ה-PCA (איור מס' 15) ניתן לראות התפלגות שונה והפרדה ברורה בין הטיפולים שנבדקו, ובאיור מס' 16 ניתן לראות כי נמצאו חומרים רבים שנמצא בהם שינוי מובהק ביו טיפול הביקורת לטיפול החילון, נצפתה דווקא עלייה בריכוז החומרים שנמצאו בטיפול הביקורת. בין החומרים נמצאו פנולים ממשפחת הסטילבנים והפלבנואידים. סטילבנים נמצאו בריכוז גבוה יותר בטיפול הביקורת בענבים מעונת 2018, כלומר טיפול החילון גרם לריכוז תרכובות אלו להיות נמוך יותר בעונה זו, ואילו פלבנואידים עלו בטיפול החילון בעונת 2018.



איור מס' 18: PCA המראה את התפלגות הטיפולים על פי מיצוי קליפות גרגירים מזן סובניון בלאן 2019. כל נקודה מייצגת ממוצע של ארבע חזרות טכניות, נערך מבחן PCA בתכנת Compound Discover





איור מס' 19: פיזור החומרים השונים שנמצאו בקליפות הענבים בזן סוביניון בלאן 2019.

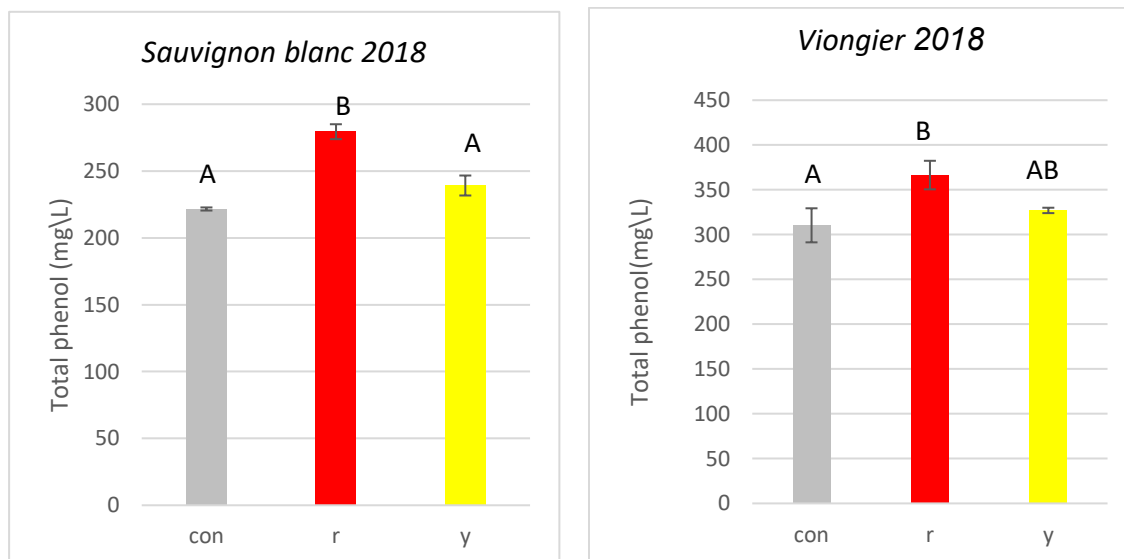
כל נקודה מייצגת חומר שנמצא בהרצה, נקודות אפורות מראות חומרים אשר לא נמצאה בהם עלייה/ ירידה ואילו נקודות הנמצאות בריבוע הצבוע מראות חומרים הנמצא בהם הבדל מובהק. סך הנקודות מראות את כלל החומרים שנמצאו בהרצות, לא כולם זוהו.

לעומת זאת בשנת 2019 לא נמצא הבדל מובהק בריכוז החומרים עקב שונות גדולה בתוך הטיפולים שיכלה להיגרם ממגוון סיבות, מהבשלה לא אחידה של הענבים או ממזג אוויר שונה בין עונות הניסוי. ניתן לראות באיורים מס' 18, בגרף ה-PCA ניתן לראות חוסר הפרדה בין הטיפולים. באיור 19 רואים כי נמצאו חומרים שריכוזם עלה בשני טיפולי החילון שנבחנו, אך אלו לא זוהו.

5.3 הרכב ואיכות היין-

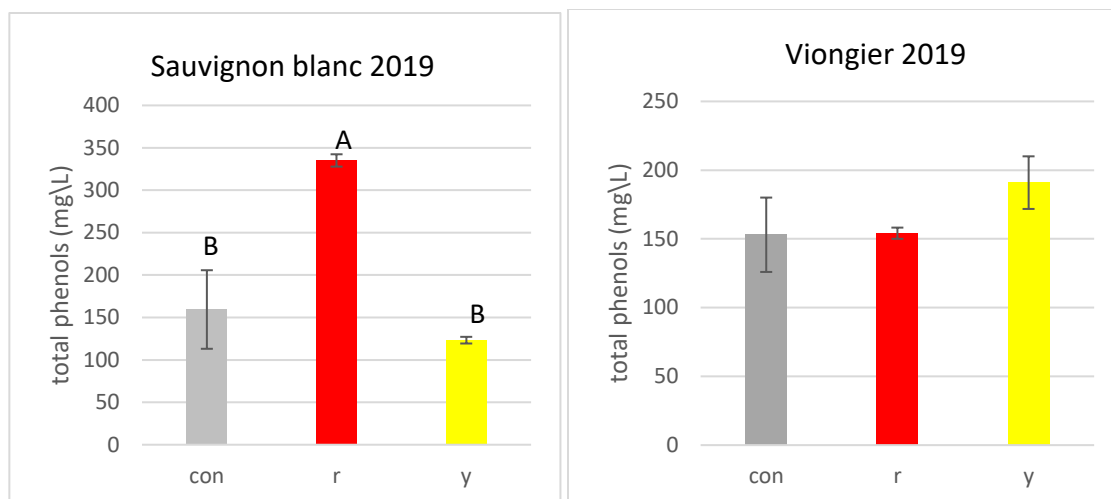
5.3.1 ריכוז פנולים כללי:

בשלב הראשון נבדקה השפעת החילון על ריכוז פנולים כללי ביינות שהוכנו מעונות 2018 ו-2019. באיור מס' 19 ניתן לראות את תוצאות ריכוזי הפנולים ביינות 2018 מזנים סובניון בלאן ו-ויונייה שעברו טיפולי חילון שונים, ובאיור מספר 20 את תוצאות ריכוזי הפנולים ביינות 2019. בשנת 2018 התקימה מגמה זהה בשני הזנים, כאשר ריכוז הפנולים הגבוה ביותר נמצא בטיפול החילון המוקדם (המסומן באדום), ונבדל בצורה מובהקת מטיפול הביקורת הלא מחולן (אפור). בשנת 2019 התוצאה התקיימה שוב ביינות סובניון בלאן שם נצפתה עלייה מובהקת בריכוז הפנולים ביינות מטיפול החילון המוקדם (אדום) ואילו בויונייה התוצאות לא הראו עלייה מובהקת בזן זה, גם בגלל שונות גדולה בתוך הטיפול.



איור מס' 20: ריכוז כלל התרכובות הפנוליות ביינות מזנים סובניון בלאן (b) ו-ויונייה (a) בטיפול חילון שונים, בציר 2018.

ביקורת לא מחולנת (con), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום r) מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).



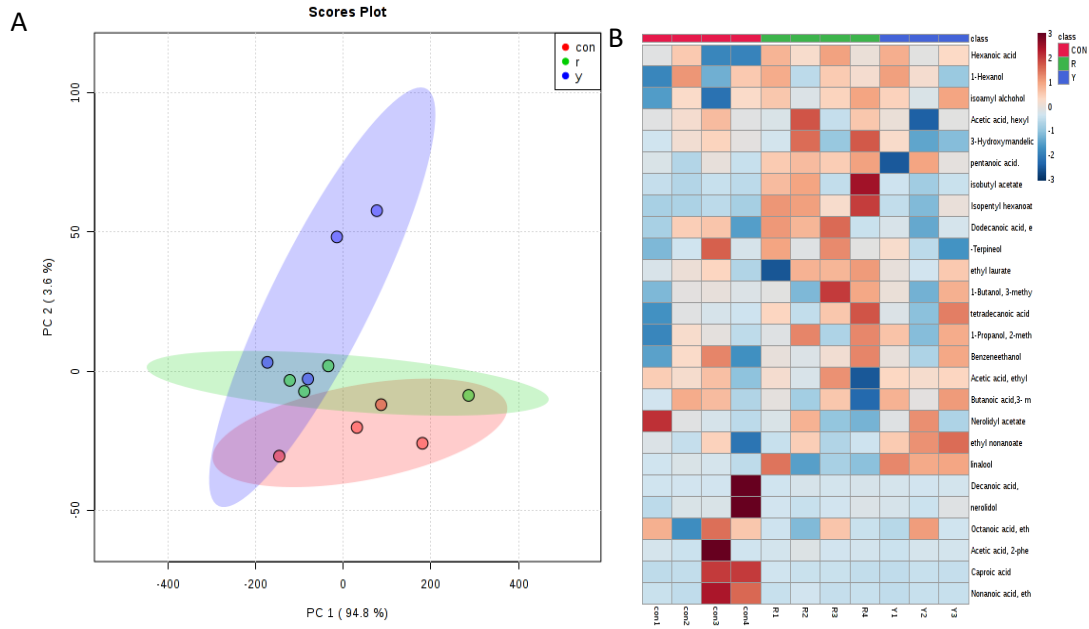
איור מס' 21: ריכוז כלל התרכובות הפנוליות ביינות מזנים סובניון בלאן (b) ו-ויונייה (a) בטיפולי חילון שונים, בציר 2019.

ביקורת לא מחולנת (con), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום r) מובהקות סטטיסטית נקבעה ע"פ מבחן ANOVA בתכנת SPSS, אותיות מסמנות מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).

5.3.2 אנליזה ליינות במכשיר ה-GCMS לבדיקת השפעת חילון על הרכב חומרים ארומטיים ביון:

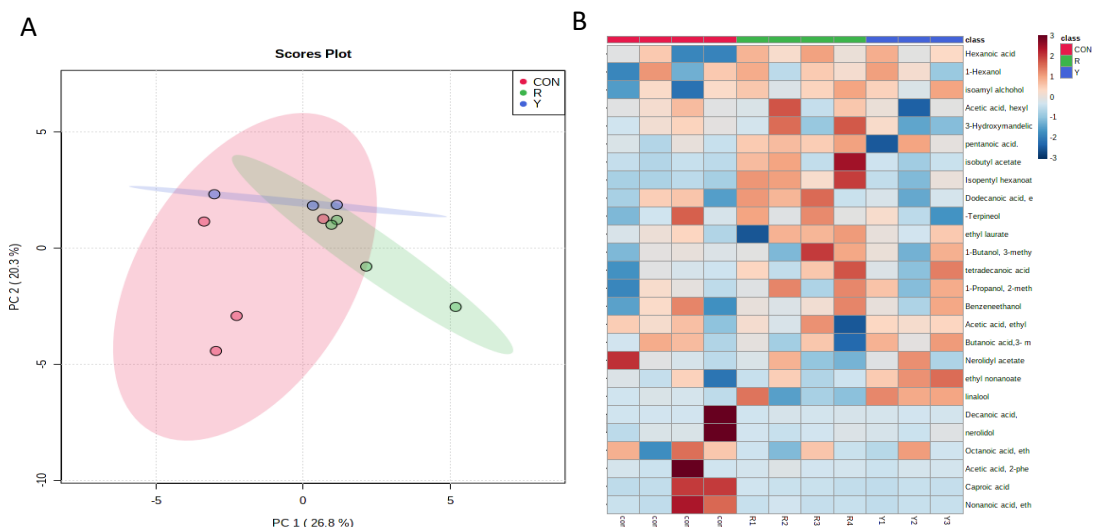
על מנת לבדוק האם קיימים הבדלים בחומרים נדיפים ארומטיים ביינות בוצעה אנליזה במכשיר ה-GCMS בשיטת ה-HS-SPME, שיטה זו היא אידיאלית למציאת מס' החומרים הגבוה ביותר. נבדקו יינות מהזנים סובניון בלאן ו-ויונייה מטיפולי החילון השונים משלושה בצירים עוקבים, 2017-2018-2019. ניתן לראות באיורים מס' 22-24 את החומרים שאותרו ביינות מזן סובניון בלאן, ובאיורים מס' 25-26 את החומרים שאותרו ביינות מזן ויונייה. מוצגות אנליזת PCA של תוצאות ה-GCMS ואנליזת heatmap שמסכמת את החומרים שזוהו בהרצות ואת ריכוזם אחד אל מול השני, ביינות השונים אותרו בין 20-30 מטבוליטים מחמש קבוצות ביוכימיות: חומצות (8) אסטריות (3) כהלים (4) טרפנים (6) ואחרים (14). ניתוח השונות בין הפרופילים של היינות נעשתה ע"י אנליזה סטטיסטית מסוג Principal component analysis (PCA), אנליזה זו הראתה שהיינות שהוכנו מטיפולי החילון השונים בזן סובניון בלאן היו סמוכים זה לזה מלבד בציר 2019 בזן סובניון בלאן בו טיפול החילון המוקדם נפרד מטיפולי החילון המאוחר והביקורת (A20), ביינות מבציר זה נמצאו 2 חומרים שהראו עלייה בטיפול החילון המוקדם, מקבוצת האסטריות שמקושרים לניחוח פירותי. (decanoic acid, isoamyl acetate) לא נמצאו הבדלים מובהקים בריכוז החומרים בין הטיפולים השונים בכרם בשני הבצירים מלבד 2019.

באיור מס' 25-26 ניתן לראות אנליזת PCA של תוצאות GCMS ואנליזת heatmap שמסכמת את החומרים שזוהו בהרצות ואת ריכוזם אחד אל מול השני משתי עונות הניסוי בוויניה. ניתן לראות באנליזת heatmap בשנת 2019 כי קיימים הבדלים בתוך הטיפולים, ולכן ניתן לראות גם באנליזת PCA כי הטיפולים לא נפרדים זה מזה כלל.



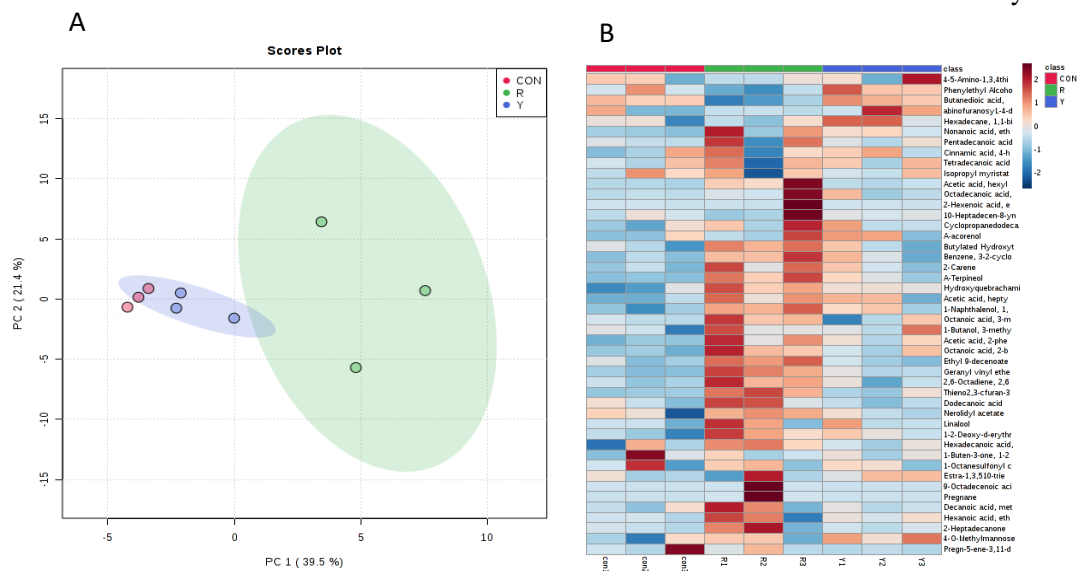
איור 22: שינויים בפרופיל המטבולי בין יינות מטיפולי חילון שונים מהזן סובניון בלאן בציר 2017.

(A) ניתוח גורמים ראשיים (PCA) ע"פ הפרופיל המטבולי הכללי של הענבים. Heatmap (B) של הפרופיל המטבולי שהתגלה ע"י ה-GCMS. המידע המוצג מציג שלוש חזרות לפחות מכל סוג טיפול. בשתי התמונות: CON (לבן)- ענבים מגפנים שלא עברו חילון; r- (אדום)- טיפול חילון מוקדם; Y (צהוב) טיפול חילון מאוחר- אנליזות נעשו בעזרת האתר www.metaboanalyst.ca.



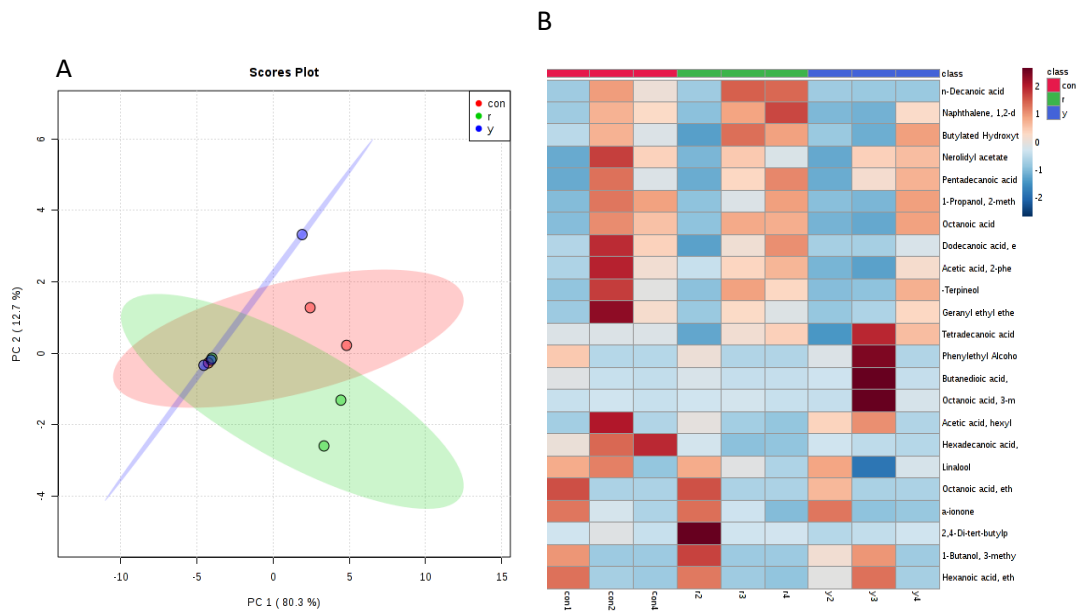
איור 23: שינויים בפרופיל המטבולי בין יינות מטיפולי חילון שונים מהזן סובניון בלאן בציר 2018.

(A) ניתוח גורמים ראשיים (PCA) ע"פ הפרופיל המטבולי הכללי של הענבים. Heatmap (B) של הפרופיל המטבולי שהתגלה ע"י GCMS. המידע המוצג מציג שלוש חזרות לפחות מכל סוג טיפול. בשתי התמונות: CON (לבן)- ענבים מגפנים שלא עברו חילון; r- (אדום)- טיפול חילון מוקדם; Y (צהוב) טיפול חילון מאוחר- אנליזות נעשו בעזרת האתר www.metaboanalyst.ca.



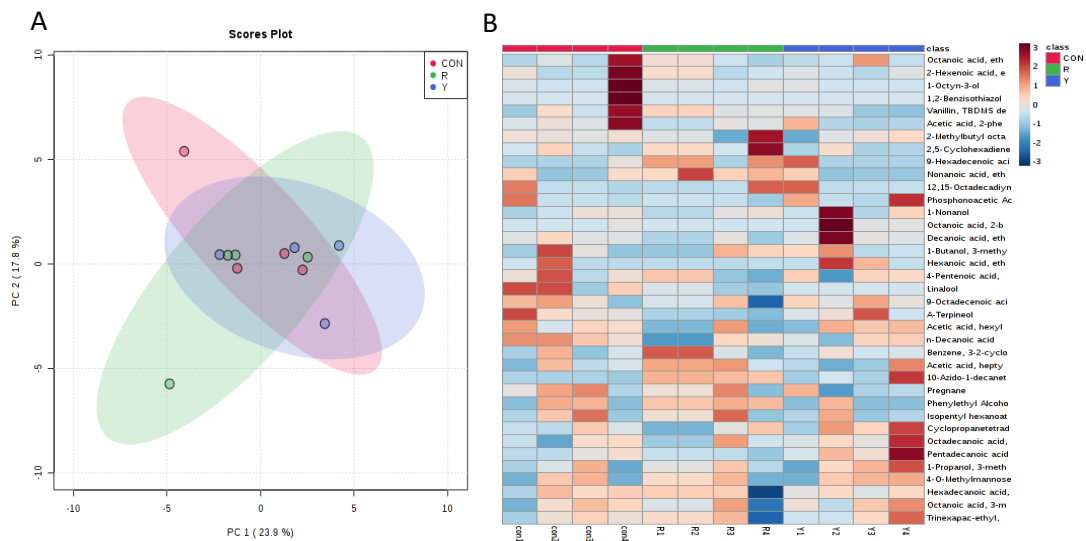
איור 24: שינויים בפרופיל המטבולי בין יינות מטיפולי חילון שונים מהזן סובניון בלאן בציר 2019.

(A) ניתוח גורמים ראשיים (PCA) ע"פ הפרופיל המטבולי הכללי של הענבים. Heatmap (B) של הפרופיל המטבולי שהתגלה ע"י GCMS. המידע המוצג מציג שלוש חזרות לפחות מכל סוג טיפול. בשתי התמונות: CON (לבן)- ענבים מגפנים שלא עברו חילון; r- (אדום)- טיפול חילון מוקדם; Y (צהוב) טיפול חילון מאוחר- אנליזות נעשו בעזרת האתר www.metaboanalyst.ca.



איור 25 : שינויים בפרופיל המטבולי בין יינות מטיפולי חילון שונים מהזן ווינוניה בציר 2018.

(A) ניתוח גורמים ראשיים (PCA) ע"פ הפרופיל המטבולי הכללי של הענבים. Heatmap (B) של הפרופיל המטבולי שהתגלה ע"י ה-GCMS. המידע המוצג מציג שלוש חזרות לפחות מכל סוג טיפול. בשתי התמונות: CON(לבן)- ענבים מגפנים שלא עברו חילון; r-(אדום)- טיפול חילון מוקדם; Y (צהוב) טיפול חילון מאוחר- אנליזות נעשו בעזרת האתר www.metaboanalyst.ca.



איור 26: שינויים בפרופיל המטבולי בין יינות מטיפולי חילון שונים מהזן ווינוניה בציר 2019.

(A) ניתוח גורמים ראשיים (PCA) ע"פ הפרופיל המטבולי הכללי של הענבים. Heatmap (B) של הפרופיל המטבולי שהתגלה ע"י ה-GCMS. המידע המוצג מציג שלוש חזרות לפחות מכל סוג טיפול. בשתי התמונות: CON(לבן)- ענבים מגפנים שלא עברו חילון; r-(אדום)- טיפול חילון מוקדם; Y (צהוב) טיפול חילון מאוחר- אנליזות נעשו בעזרת האתר www.metaboanalyst.ca.

מהסתכלות כוללת על הפרופיל הארומטי של חומרים נדיפים ביינות שנבחנו במחקר, ניתן לזהות חוסר עקביות בין השנים בצבירת המטבוליטים השניוניים וחוסר הבדל מובהק לאורך השנים בין הטיפולים ובתוך הטיפול. ניתן לומר בסובניון בלאן כי חומרים ארומטיים נדיפים עלו בטיפולי החילון, בעיקר בטיפול החילון המוקדם, אך אי אפשר להצביע על חומר או קבוצת חומרים שהראתה שינוי מובהק וזאת עקב שונות גדולה בצבירת המטבוליטים שנמצאו בתוך הטיפול. תרכובות טרפניות הראו עליה בטיפול החילון המוקדם אל מול טיפול הביקורת ביינות מבציר 2019 אך במבחן Anova תוצאה זו אינה נמצאה משמעותית. ביינות מזן ויוניה ניתן לראות גם לפי מבחן PCA וגם לפי heatmap כי לא נצפה הבדל כללי בפרופיל הארומטי של היינות במשך עונות הניסוי. ניתן להסיק מכך כי לחילון אין השפעה עקבית וחד משמעית על הפרופיל הארומטי של היינות בזנים אלו.

איור 27 מציג טבלה המסכמת את המטבוליטים שנמצאו ביינות שנבחנו במחקר, מבחינת סף החישה שלהם (OAV) וכן את תיאור הניחוח המשויך להם.

compound	molar mass (g mol ⁻¹)	threshold (µg L ⁻¹)	aroma descriptor
Acids			
3 hydroxymandelic acid	168.15		
decanoic acid	172.26		fruity
octanoic acid	144.21		burns, mild
cinnamic acid	148.16		
caproic acid	116.1583		goat like
nonanoic acid	158.23		rancid, unpleasant
acetic acid	60	0.48	vinegar
hexanoic acid	116	420	sweat
Alcohols			
phenylethyl alcohol	122.16		soft, rose
1 butanol 3 methyl	88.148		banana
isoamyl alcohol	88	30000	whisky, burnt
1 hexanol	102	8000	resin, green
esters			
isoamyl acetate	130	30	banana
isobutyl acetate	116	56	fruity
pentanoic acid	102.136		unpleasant
Terpens			
linalool	170	4-10	flower, wood
α-ionone	192.3		rose
α-terpinol	154.23		flower
α-acorenenol	222.37		
neroldiol	223.35		jasmin, lavender
carene	136.23		sweet, pungent
other			
isopentyl acetate	130.19		
dodecanoic acid	200.317		
ethyl laurate	228.37		apple, apricot, guava
tetradecanoic acid	228.376		coconut
1 propanol 2 methyl	74.12		sweet, musty
butanoic acid	88.11		unpleasant, vomit
neroldiol acetate	264.4		pleasant
ethyl nonanoate	186.29		alcoholic
isopentyl hexanoate	186.31		alcoholic
ethyl 9 decanoate	198.3		
geranyl vinyl	180.151		
butylated hydroxy	220.356		slight
vanillin	152		Vanilla, sweet, balsamic
ethyl butyrate	116	20	apple
ethyl hexanoate	144	14	apple, peel

איור 27: טבלה המציגה את החומרים שנמצאו בנינות בהרצות במכשיר ה-GCMS.

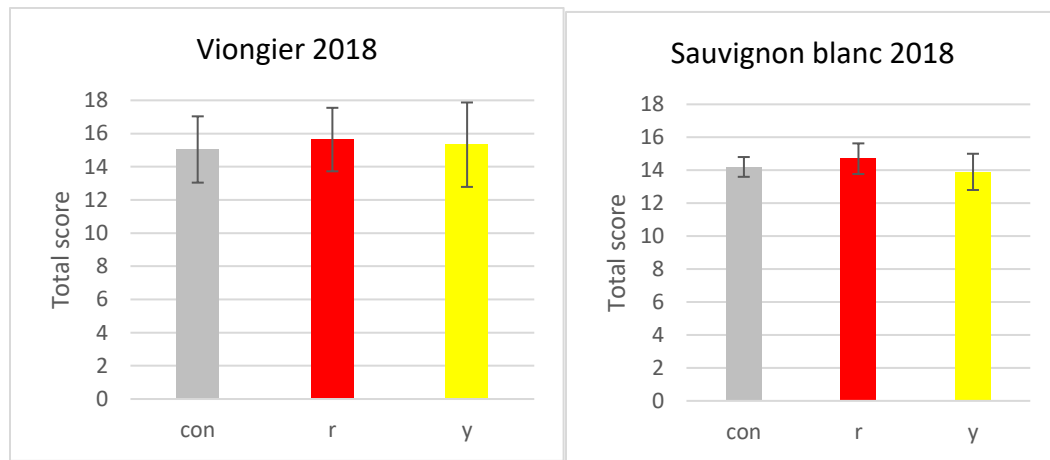
החומרים מסודרים לפי משפחות ומתוארת הארומה האופיינית לתרכובת וסף החישה שלה על פי איסוף מעבודות קודמות.

5.3.3 טעימת יינות:

העדפת הצרכן ליינות מסוימים עשויה להיות סובייקטיבית. בעולם היין כאשר מדרגים יין ישנם פרמטרים ספציפיים לבחינת איכותו, ולכן על הטועמים להכיר מושגים אלו, נערכה טעימת יינות ע"י פאנל טועמים מאומן בן 28 אנשים שלמדו והכירו את המושגים בקורס שערכנו עבורם במכללת תל חי. הטועמים אומנו לטעימת יינות מהזנים הנבדקים, הפרמטרים שנבדקו הם: צבע, ניחוח, חמיצות, מתיקות, עפיצות, גוף ואיכות כללית. תחילה נערך "מבחן משולש" המחפש האם יש יין נבדל מבין הטיפולים ולאחר מכן דירגו הטועמים את היינות. בשני הזנים לא נמצאה העדפה ברורה (או דחיה ברורה) של אחד הטיפולים. עם זאת נראה, בהתייחס לתוצאות כי היינות מטיפול החילון המוקדם קיבלו את הציון הגבוה ביותר ולאחר יינות מטיפול הביקורת, בשני הזנים המגמה זהה.

חילון מוקדם- ביקורת	מוקדם- מאוחר	חילון מוקדם- ביקורת	
לא נבדל	לא נבדל	נבדל	
0.05	0.05	0.01	רמת מובהקות

טבלה מס' 2: סיכום תוצאות מבחני הטעימה במבחן דואו- טריו ליינות מזן סובניון בלאן 2018. נערך "מבחן משולש" ל-28 הטועמים בו נאלצו לבדוק האם יש יין נבדל מבין היינות השונים בטיפולים הלבן (טיפול הביקורת הלא מחולן) הצהוב (טיפול החילון המאוחר) והאדום (טיפול החילון המוקדם). כל טועם טעם 16 יינות- 4 חזרות מכל טיפול ונאלץ לסמן מה הוא היין ה"נבדל" מבין שלושה יינות כאשר שניים הם זהים. המבחן הסטטיסטי שנערך הוא לפי מבחן "דואו-טריו"



איור 28: ניקוד היינות מהזנים סובניון בלאן (b) ו-וינוניה (a) בציר 2018 מטעימות הנערכו במכללה.

טעימת היינות נערכה ל-28 טועמים מאומנים אשר דירגו את היינות על פי מבחן DAVIS, שוקללו ונורמלו. ביקורת לא מחולנת (con), חילון מאוחר אחר חנטה עד שני עלים מעל האשכול (y צהוב), חילון מוקדם אחר פריחה (אדום r). אותיות שונות מעל העמודות מייצגות שונות מובהקות סטטיסטית במבחן אנובה כולל post hoc פריחה (SPSS, כאשר P value= 0.05).

6. דיון

הנושא של דילול עלים בגפן יין הוא נושא הנחקר רבות לאורך השנים והשפעות עשויות להשתנות בהתאם לגורמים כגון מיקום הכרם, זן הענב או האקלים. עבודת מחקר זו התחלקה לשני נושאים עיקריים: השפעת החילון על רקבונות המתפתחים בשטח, לצורך בדיקות אלו פטריית הבוטריטיס שימשה כפטריית מודל בשני זנים לבנים המייצגים זנים רגישים יותר ופחות לרקבונות. נושא שני שנחקר בעבודה זו הוא השפעת החילון על איכות והרכב היין, הן במבחנים כימיים אנליטיים והן במבחני טעימה על ידי צוות טועמים מאומן על ידנו.

המטרה המרכזית של מחקר זה הייתה לאסוף מידע על השפעת טיפולי החילון בכרמים מקומיים בישראל מבחינת שני נושאים אלו, ומציאת טיפול כדאי ומשתלם עבור מגדלי ענבים וייננים באקלים זה.

6.1 השפעת החילון על נגיעות בפטריית הבוטריטיס-

מחלת העובש האפור נגרמת מהפטרייה הפתוגנית *Botrytis cinerea* ומהווה איום על ענף גפן היין בעולם בעיקר באזורי גידול קרים ולחים (16). למרות שקיימים קוטלי פטריות, הפטרייה מפתחת גמישות גנטית ותכשירים אלו עשויים להיות לא אפקטיביים, לכן טיפולים אגרוטכניים בשטח העשויים לשנות את המיקרו-אקלים באזור האשכולות החלו להוות פתרון אולטימטיבי בשנים האחרונות (3,4,36). עד כה מחקרים אשר עסקו בהשפעתה השלילית של הפטרייה התמקדו בטיפולי חילון העשויים להשפיע על המיקרו-אקלים ובכך להפחית את שכיחות הרקבונות (7). מחקר זה התבסס על הידיעה כי חילון מפחית את שכיחות המחלה הן מעבודות קודמות שבוצעו והן מפרקטיקה בשטח. מסיבה זו נבחנו בנפרד ההיבטים השונים העשויים להשפיע על רגישות הגפן לפטרייה על מנת לבחון מהי הגורם או הגורמים העיקריים.

במחקר הנוכחי, נבדקה ונמצאה השפעה של טיפולי חילון שונים (חילון בתקופת הפריחה, בין חנטה לבוחל לעומת טיפול ביקורת ללא חילון) על התבטאות סימני המחלה והגורמים לה בעקבות שינוי מיקרו-אקלימי. המחקר נערך בשני זני ענבי יין לבנים, סובניון בלאן המייצג בעבודה זו זן רגיש יותר לרקבונות ו-ווינוניה שהינו פחות רגיש.

6.1.1 תצפיות בכרם:

פעולת החילון משפיעה על המיקרו-אקלים בסביבת האשכולות ועל הארכיטקטורה שלהם, וכתוצאה מכך על הרכב הגרגיר ולכן על התפתחות הרקבונות הנגרמים מבוטריטיס (43). עבודות רבות עסקו בנושא של עמידות לרקבונות בעקבות חילון במשך השנים באזורים שונים בעולם, ומצאו כי הסרת עלים באזור האשכול

מפחיתה באופן ניכר שיעור רקבונות, עשויה להעלות יבול ואת איכות הפרי (50,46,48) בעבודה שנעשתה בקליפורניה נמצא כי טיפולי חילון מוקדם מיד לאחר פריחה הפחיתה באופן ניכר את שיעור הרקבונות בזנים שנין בלאן וזינפנדל (15), בעבודה שנעשתה באיטליה בזן סובניון בלאן גם נמצא כי טיפולי חילון מפחיתים את שיעור הרקבונות בכרם ואף אינם פוגעים באיכות או ביבול (25), בעבודה שנעשתה בניו יורק בזן שרדונה נמצא כי הסרת עלים בשלב מוקדם לאחר פריחה הפחיתה משמעותית רקבונות מסוג בוטריטיס והן של מחלת הקימחון, ואילו להסרת עלים בשלב מאוחר לאחר חנטה לא הייתה השפעה משמעותית (63). המחקרים הרבים בנושא מצביעים על מגמה שחוזרת על עצמה, אך מעט מאד מחקרים עסקו בסיבות שעשוי השינוי במיקרו אקלים להשפיע על הענב ובכך לגרום לעמידות. אחת המטרות המרכזיות של מחקר זה היא להבין מה היא הסיבה הממשית לכך שגפנים מחולנות מפתחות עמידות כלפי רקבונות, ולכן נבדקו כל ההיבטים העשויים להשפיע על התפתחות הרקבונות וגדילת הפטרייה.

במהלך שלוש עונות עוקבות נבחנה עמידות הגפנים בשטח, בחלקת המחקר ב"כרם הרוח" במרום גולן. על מנת לאשש את ההנחה שטיפולי חילון גורמים לעמידות הגפן לרקבונות נבחנו שכיחות וחומרת הנגיעות בשטח. באיור מספר 6,7 מוצגים אחוזי וחומרת הנגיעות שנצפו בשטח בעונות הניסוי בשני הזנים. ניתן לראות כי בזן סובניון בלאן (איור 6) קיימת נגיעות וחומרה גבוהה יותר בטיפול הביקורת הלא מחולן ונבדל מטיפולי החילון המוקדם בצורה מובהקת שהראה את הנגיעות הנמוכה ביותר בכל עונות הניסוי מלבד אחוז הנגיעות בשנת 2018. כצפוי, אחוזי וחומרת הנגיעות שנצפו בזן ויוניה היו נמוכים משנצפו בסובניון בלאן (איור 7), בהתאם לזן אך המגמה הייתה דומה ברוב המקרים. ראוי לציין, כי בשנת 2018 בזן סובניון בלאן חומרת הנגיעות הייתה נמוכה יותר יחסית לזן ויוניה אך לא באופן מובהק. מתוצאות אלה ניתן להבחין בשני פרמטרים בשלבי ההדבקה של הבוטריטיס: הדבקה ראשונה באה לידי ביטוי בשכיחות הנגיעות, והתפשטות הפטרייה באשכול הבאה לידי ביטוי בחומרת הנגיעות. ההבדל בין טיפולי החילון ובין הזנים מאשש את ההשערה כי הזן רגיש יותר להידבקות בבוטריטיס (7) ובנוסף כי טיפולי חילון במועדים שונים גורמים לעמידות גבוהה יותר בענבים לרקבונות הנגרמים מפטריית הבוטריטיס.

6.1.2 בחינת פרמטרים נוספים במעבדה:

הגורמים השונים המשפיעים על התפתחות הפטרייה, נבחנו בנפרד בתנאי מעבדה ושטח. קרינה נמדדה בשטח בתקופה שלפני הבציר, באיור 4 ניתן לראות את תוצאות הקרינה שנמדדה בעונות 2018 ו-2019. קרינה חזקה יותר על האשכולות בגפנים שעברו טיפולי חילון לעומת גפנים שלא עברו טיפולי חילון בצורה מובהקת.

אחד הפרמטרים שנבחנו במחקר זה, ויכול להיות סיבה להבדלים ברגישות לפטרייה בין הטיפולים הוא המורפולוגיה של האשכול, עבודות הראו כי טיפולי חילון עשויים לגרום ליצירת אשכולות מאווררים יותר

וצפופים פחות מאשכולות שלא עברו טיפולי חילון (7), ירידה בצפיפות האשכולות משפיעה על המיקרו-אקלים של האשכולות ועוזרת לחשוף את הענבים לזרימת אויר טובה יותר לחדירה גבוה יותר של קרני שמש וכתוצאה מכך לעמידות גבוהה יותר לפתוגניים (15), ידוע שיש מתאם ישיר בין רמת הלחות באשכול למידת הרקבונות בשטח, בעבודתם של Vail & Marios נבדק הקשר בין צפיפות האשכולות לעמידותם לרקבונות בוטריטיס, ונמצא שככל שהאשכול מאוורר יותר כך עמידותו גדלה (48). בעבודה זו פרמטר זה נבחן על ידי מדידת קצב ההתייבשות של האשכולות בתנאי מעבדה זהים, באוורים מס' 8,9 מוצגים אחוזי המים שנותרו באשכול לאחר טבילתו במים כתלות בזמן, אחוזי המים הנשאר מעיד על קצב אידיאלי האשכול ועל צפיפות האשכול ובאופן ישיר גם על התפתחות פתוגניים. כפי שניתן לראות באיור 8, אחוזי המים שנשארו באשכולות בטיפולי החילון המוקדם והמאוחר בשני הזנים שנבדקו, יצאו דומים מאוד בכל הזמנים שנמדדו, ויצאו נמוכים יותר באופן מובהק מטיפול הביקורת, בדומה לעבודה שנעשתה בצרפת שם נמדדה פעילות המים החופשית AW (37). בזן ויוניה, טיפול החילון המאוחר בזמן הבוחל גרם לקצב הייבוש הגבוה ביותר באופן מובהק ואילו בזן סוביניון בלאן, טיפול החילון המוקדם בזמן הפריחה גרם לקצב הייבוש הכי מהיר באופן מובהק. תוצאות אלו נמצאות בהתאמה לתוצאות שהתקבלו מרמת וחומרת הנגיעות בכרם בשנת 2019, שככל שהאשכול צפוף יותר כן עולה בו רמת הלחות וכן מידת הרגישות לפטריית הבוטריטיס. בנוסף, כאשר משווים בין קצבי ההתייבשות של אשכולות הביקורת נראה כי האשכולות של הזן ויוניה הינם פחות צפופים מהאשכולות של הזן סוביניון בלאן באופן טבעי (איבוד לחות בשיעור של 60% לעומת 45% בנקודת המדידה הראשונה, בהתאמה) מה שתואם את רגישותם הטבעית של הזנים. תוצאה זו יכולה לרמז על כך שצפיפות האשכול משפיעה על הרגישות להדבקה הראשונית ולכן בזן ויוניה בו האשכולות פחות צפופים מהזן סוביניון בלאן, שכיחות הנגיעות בכרם נמוכה יותר. ניתן להסיק כי טיפולי החילון גרמו לאשכולות להיות פחות צפופים ולכן יאגרו פחות לחות, מה שיגרום לסביבה פחות מועדפת על פטריית הבוטריטיס (48,49).

אילוץ בפטרייה נבדק בתנאי מעבדה זהים על מנת לבדוד בין הגורמים בשטח המשפיעים ישירות על התפתחות הפטרייה ובין אלה שהשפיעו על המבנה או ההרכב הכימי של האשכולות וכל על יכולת ההתפתחות של הפטרייה. לצורך זה נבדקה במעבדה ההידבקות של אשכולות שלמים. בכל עונות הניסוי במספר תאריכים עוקבים לפני עונת הבציר, בשנת 2019 התוצאות במעבדה הראו מגמה דומה לנמצא בשטח אך לא מובהקת של אחוזי רקבונות גבוה יותר בטיפול הביקורת, מלבד תאריך אחד בו התוצאות נמצאו מובהקות סטטיסטית, תוצאות אלו יכולות לרמז על כך שמעבר לתנאים הקיימים בשטח קיימת השפעה נוספת על האשכולות והגרגירים אליהם התייחסנו בהמשך.

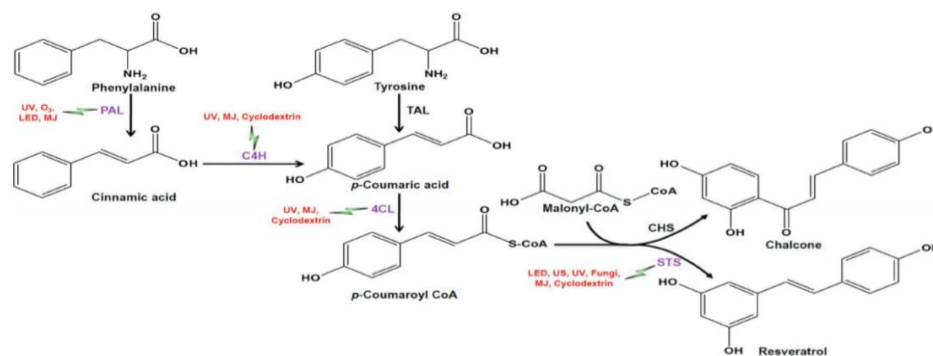
מבחינה אנטומית העשויה להשפיע על התפתחות הפטרייה נעשתה מדידה של עובי קליפת הגרגירים על מנת לבדוק האם קיים שוני בקליפה העשויה להשפיע על חדירות הפטרייה לקליפה, למרות ההנחה כי טיפולי חילון

גורמים להקשייה בעובי הקליפה (37,40) לא נמצא הבדל בין הטיפולים ולא נמצא כי גרגירים מטיפולי חילון גרמו ליצירת קליפה עבה יותר.

6.1.3 מטבוליטים בענב:

צמחים מאותגרים מתנודות סביבתיות כל הזמן, ובתגובה הם מפתחים מגוון רחב של התאמות במסלולים ביוכימיים כדי להתמודד עם הלחצים הא-ביוטיים. כאשר הגפן חשופה לקרינת UV נגרמת סינתזה של אנזימים ומטבוליטים שניוניים כחלק ממנגנון ההגנה. הצטברות של מטבוליטים שניוניים המשמשים גם כפיטואלקסינים כגון: סטילבנים, פלבנואידים וקרטנואידים תלויים בחשיפה לקרינת UV (58,59) ויכולים להיות מוגברים באמצעות חשיפה לשמש (59). בעבודתנו, נבחן הפרופיל המטבולי של הגרגירים במטרה לבחון האם קיימים בענבים חומרים המדווחים בספרות כמקושרים לעמידות הגפן לפתוגניים או ככלל האם יש שינוי בפרופיל המטבולי בין הגפנים מטיפולי החילון השונים. הצטברות סטילבנים בגרגיר עשויה להיות מקושרת לשלב ההתפתחותי של הפטרייה, ישנן עבודות שמראות כי סטילבנים נמצאו בריכוז גבוה יותר לאחר יומיים של הדבקה וריכוזם החל לרדת לאחר חמישה ימים (56, 57) וישנן עבודות שמצאו כי ריכוזם עלה מיד לאחר הדבקה ואילו בעבודה אחרת נמצא כי ריכוזם ירד. מנעד התוצאות עשוי להצביע על כך שהצטברות מטבוליטים בגפן מושפעת מאד מצורת ומיקום הגידול, הגנטיקה של הגפן, הזן והקלון של הענבים, וכן מהעונה שבה גדלו. באיור מס' 17 ניתן לראות פנולים משתי תת משפחות, סטילבנים ופלבנואידים שזוהו במיצוי מקליפות הענבים סובניון בלאן 2018, ניתן לראות כי תרכובות סטילבניות דווקא ירדו בעקבות טיפולי חילון ואילו פלבנואידים עלו. תופעה זו עשויה להיות מוסברת במסלול המטבולי כפי שניתן לראות במאמרם של Hasan & Bae (60), שמראה כי עקות שונות מגבירות את פעילות האנזים (stilbene synthase) STS המשפעל ייצור סטילבנים ומוריד ייצור פלבנואידים וניתן לקשר זאת לכך שהגפן מנסה להגן על עצמה מפתוגנים בשלבי ההדבקה הראשוניים, וזאת על אף שהגפנים מטיפולי החילון חשופות לשמש. סטילבנים נמצאים בכל חלקי הצמח, נמצא כי רזברטרול מעורב באופן ישיר במנגנון ההגנה של הגפן כנגד מזיקים, ביניהם הפטרייה הפתוגנית בוטריטיס (60). בנוסף נמצא, שהצטברות רזברטרול יורדת ככל שהפגיעה בגפן מבוטריטיס מתמשכת, והצטברות הסטילבנים עשויה לסייע בהגבלת ההתפשטות, כלומר תרכובות פיטואלקסניות מוגברות רק לאחר ההכרה של הצמח על ידי הפתוגן ולא לאחר ההתפשטות, וזה יכול להיות בשלב ההדבקה הראשוני אינו נראה לעין.

ראוי לציין כי בענבים משנת 2019 לא נמצאו חומרים ממשפחות אלו בענבים, ולא נצפתה בהם שונות. זה יכול להיות מוסבר עקב שינויים קשים במזג אוויר, וחוסר הבשלה אחידה בעונה זו בזן סובניון בלאן כפי שהוסבר לעיל.



איור 29: המסלול הביוכימי של סטילבנים (רזברטרול) ושל פלבנואידים (צ'לקונים) בתגובה לעקות שונות.

Hasan, M. M., & Bae, H. (2017). An overview of stress-induced resveratrol synthesis in grapes: Perspectives for resveratrol-enriched grape products. *Molecules*, 22(2).

6.2 משבולטים בין-

בעבודות לאורך השנים נצפתה תופעה של ריכוז פנולים גבוה יותר בגפנים החשופות לקרינת שמש גבוהה יותר (3,51), בעבודות שונות נבחנו סטילבנים, פלבנואידים, פלבנולים ונצפתה מגמת עלייה עקב חשיפה לשמש. באיור 19-20 מוצגי ריכוזי הפנולים ביננות שהוכנו מהגפנים שעברו טיפולי חילון שונים, נמצא שבזן סובניון בלאן ריכוז הפנולים בטיפול החילון המוקדם היה הגבוה ביותר באופן מובהק בשנת 2018-2019, ואילו ריכוז הפנולים בטיפול החילון המאוחר היה נמוך ממנו וזהה לטיפול הביקורת. בזן וויניה ריכוז הפנולים הגבוה ביותר היה בטיפול החילון המוקדם רק בשנת 2018, ואילו בשנת 2019 המגמה לא הייתה זהה אך התוצאות אינן מובהקות עקב שונות גדולה שנצפתה בתוך הטיפול. ריכוז הפנולים ביין יכול לשמש כמדד לריכוז הפנולים הכללי בענבים, ולא רק בקליפה, מכיוון שבעת התסיסה מתבצע מיצוי של כלל התרכובות הפנוליות מהענבים כפי שכתב (Burns et Al, 2001)

6.2.1 איכות היין: תרכובות ארומה נדיפות הן בין הגורמים החשובים ביותר המשפיעים לא רק על הטעם של הענבים אלא תורמים לאופיו האורגנולפטי של היין, תרכובות אלו בענב מושפעות באופן ישיר מתנאי הגידול, וחשיפתם לשמש משפיעה על ריכוז חומרי הארומה וכתוצאה מכך באופן ישיר על היין ואיכותו. הגפן היא מוצר חקלאי רגיש והרכבה הכימי משתנה בהתאם לזן, לתנאי הגידול ולאקלים ולכן יש לבחון כל מקרה לגופו. עבודות שונות התעסקו בחומרים נדיפים ובהרכב הכימי של היין בתגובה לטיפולי חילון וחשיפה לשמש, רוב העבודות מראות עלייה בריכוזי טרפנים (24,28) בעקבות חשיפה לשמש הנותנים ניחוחות פרחוניים ועם זאת ירידה במתוקסיפירזנים המקושרים לניחוחות עשבוניים (2,32). בעבודה זו נעשו אנליזות

על מנת לראות את פרופיל החומרים הנדיפים מיינות שעברו טיפולי חילון שונים בזנים סובניון בלאן ווינויה. באנליזות השונות נמצאו תרכובות ביין ממשפחות ביוכימיות שונות המקושרות לניחוחות מסוימים, בין השאר טרפנים (ריחות פירותיים, ורד, פרחוני), אסטרים (בננה, אגס, אננס), כהלים וחומצות. בעבודה זו לא נמצא הבדל בריכוז החומרים או עלייה בעקבות טיפולי חילון, אף על שנעשו עבודות בנושא שמצאו כי השיפה ישירה לשמש עשויה לשנות את ריכוז החומרים הנדיפים, קשה לסכם ולהוציא מסקנות חד משמעיות מעבודה זו מכיוון שגורמים נוספים עשויים להשפיע על הפרופיל הארומטי של היין וזה תלוי בזן הענב, הרכב חומצות האמינו, אזור הגידול וזן השמר המשמש בתסיסת התירוש והפיכתו ליין (54).

גם במבחני הטעימה שנערכו ליינות מבציר 2018 לא נמצאו הבדלים משמעותיים או לא נמצא יין מועדף. הטעימות שנערכו נעשו תוך שימת דגש על מדדים מוכרים מעולם היין. הפרמטרים שנבדקו הם: צבע, ניחוח, חמיצות, מתיקות, עפיצות, גוף ואיכות כללית. בשני הזנים לא נמצאה העדפה ברורה (או דחיה ברורה) של אחד הטיפולים. עם זאת נראה, בהתייחסות לטיפולי החילון שבסובניון יש נטייה לטובת הטיפולים החשופים בעוד בווינויה אין מגמה עקבית. מבחינת הטעימה, בשני הזנים טיפול הביקורת הלא מחולן משתלב בין הטיפולים החשופים.

7. מסקנות

מטרתו המרכזית של מחקר זה היא לאסוף מידע על השינויים המתרחשים ביינות ובענבי יין לבנים בעקבות טיפולי דילול והסרת עלים בשלבים שונים. מטרה זו נובעת מהחשיבות הכלכלית הגדולה של תעשיית היין ומהעובדה כי גידולי היין הם מהגידולים הנפוצים בעולם. עבודת תזה זו מתחלקת לשני חלקים עיקריים. בחלקה הראשון של העבודה נבדקה השפעת החילון על עמידות הגפנים לפטרית הבוטריטיס וההרכב הכימי של הענבים, נמצא שגפנים מושפעות מטיפולי החילון ומשינוי המיקרו אקלים בכרם, וככל שהגפן חשופה יותר לשמש כך היא עמידה יותר לרקבונות. על כך התבססה השערת המחקר, והרקבונות נבדקו הן בכרם והן בתנאי מעבדה. בנוסף נבחנו בנפרד הגורמים העשויים להשפיע, הרכב כימי, צפיפות אשכול, ועובי קליפת הענב. ההרכב הכימי נבדק במכשיר ה LCMS באמצעות טכנולוגיית LC MSMS-ORBITRAP הצלחנו לזהות בוודאות גבוהה מטבוליטים שונים בדוגמאות הענבים אך ההבדל בין הטיפולים השונים לא היה עקבי לאורך השנים, מלבד צפיפות האשכול לא נמצא גורם אשר השפיע באופן עקבי לאורך שלוש עונות הניסוי. המסקנה המרכזית היא כי טיפולי חילון ובעיקר טיפול חילון בתקופת פריחת האשכול הוא חיובי ועשוי להשפיע ולצמצם נזקי רקבונות אך לא הצלחנו להכריע האם קיים גורם מרכזי המשפיע מלבד תנאי השטח, מחקרים רבים מדווחים על הפחתה ברקבונות בעקבות טיפולי חילון ואנו רצינו לשים את האצבע על הגורם המרכזי העולה מכך.

חלקו השני של המחקר התמקד בהשפעת טיפולים אלו על איכות היין, על ריכוז הפנולים, הפרופיל הארומטי ואיכות היין, לא היה הבדל חד משמעי ומשמעותי לאורך עונות הניסוי הן מבחינת הפרופיל הארומטי של היינות והן מבחינת מדד האיכות אשר נקבע על פינו על ידי טעימת יינות מקצועית. בבחינת כל הפרמטרים והתוצאות בעבודתנו ובעבודות דומות שנעשו בעולם, יש לציין שגורמים נוספים ורבים עשויים להשפיע על הגפן, אזור הגידול, מזג האוויר החל מתקופת הבלבול של הגפן, תת הזן ולכן יש לבחון כל מקרה לגופו.

1. Alessandrini, M., Battista, F., Panighel, A., Flamini, R., & Tomasi, D. (2018). Effect of pre-bloom leaf removal on grape aroma composition and wine sensory profile of Semillon cultivar. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(5), 1674–1684.
2. Young, P., Eyeghe-Bickong, H. A., du Plessis, K., Alexandersson, E., Jacobson, D. A., Coetzee, Z. A., ... Vivier, M. A. (2015). Grapevine plasticity in response to an altered microclimate: Sauvignon Blanc modulates specific metabolites in response to increased berry exposure. *Plant Physiology*, 170(3), 1235–1254.
3. Goetz, G., Fkyerat, A., Métais, N., Kunz, M., Tabacchi, R., Pezet, R., & Pont, V. (1999). Resistance factors to grey mould in grape berries: Identification of some phenolics inhibitors of *Botrytis cinerea* stilbene oxidase. *Phytochemistry*, 52(5), 759–767.
4. Palliotti, A., Tombesi, S., Silvestroni, O., Lanari, V., Gatti, M., & Poni, S. (2014). Changes in vineyard establishment and canopy management urged by earlier climate-related grape ripening: A review. *Scientia Horticulturae*, 178, 43–54.
5. Zoecklein, B. W., Wolf, T. K., Riesling, M. W., Duncan, N. W., Words, K. E. Y., Judge, J. M., & Cook, M. K. (1992). (*Vitis vinifera*, 43(2), 139–148.
6. Austin, C.N., Grove, G.G., Meyers, J.M., Wilcox, W.F., 2011. Powdery Mildew Severity as a Function of Canopy Density: Associated Impacts on Sunlight Penetration and Spray Coverage. *Am. J. Enol. Vitic.* 62, 23–31
7. Molitor, D., Behr, M., Hoffmann, L., & Evers, D. (2011). Timing of cluster-zone leaf removal and its impact on canopy morphology, cluster structure and bunch rot susceptibility of grapes. <https://doi.org/10.20870/oenone.2011.45.3.1495>

8. Mosetti, D., Herrera, J. C., Sabbatini, P., Green, A., Alberti, G., Peterlunger, E., ... Castellarin, S. D. (2016). Impact of leaf removal after berry set on fruit composition and bunch rot in “Sauvignon blanc.” *Vitis - Journal of Grapevine Research*.
9. Zahavi, T., Reuveni, M., Scheglov, D., & Lavee, S. (2001). Effect of grapevine training systems on development of powdery mildew. *European Journal of Plant Pathology*, 107(5), 495–501.
10. Gregan, S. M., Wargent, J. J., Liu, L., Shinkle, J., Hofmann, R., Winefield, C., ... Jordan, B. (2012). Effects of solar ultraviolet radiation and canopy manipulation on the biochemical composition of Sauvignon Blanc grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18(2), 227–238.
11. Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., & Delen, N. (2007). Botrytis spp. and diseases they cause in agricultural systems - An introduction. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, i, 1–8.
12. Baumes, R., Wirth, J., Bureau, S., Gunata, Y., & Razungles, A. (2002). Biogenesis of C13-norisoprenoid compounds: Experiments supportive for an apo-carotenoid pathway in grapevines. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 3–14.
13. Caspari, H. W., Lang, A., & Alspach, P. (1998). Effects of girdling and leaf removal on fruit set and vegetative growth in grape. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(4), 359–366.
14. Smart, R., & Robinson, M. (1991). *Sunlight into wine: a handbook for winegrape canopy management*. Underdale, SA: Winetitles.
15. English, J. T. (1989). Microclimates of Grapevine Canopies Associated with Leaf Removal and Control of Botrytis Bunch Rot. *Phytopathology*, 79(4), 395.

16. Romanazzi, G., Smilanick, J. L., Feliziani, E., & Droby, S. (2016). Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. *Postharvest Biology and Technology*, 113, 69–76.
17. BLEDSOE, A., KLIEWER, W., & MAROIS, J. (1988). Effects of timing and severity of leaf removal on yield and fruit composition of Sauvignon blanc grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39(1), 49–54.
18. Evers, D., Molitor, D., Rothmeier, M., Behr, M., Fischer, S., & Hoffmann, L. (2010). Efficiency of Different Strategies for the Control of Grey Mold on Grapes Including Gibberellic Acid (Gibb3), Leaf Removal and/or Botrycide Treatments. *Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin*, 44(3), 151–159.
19. Keller, M., Viret, O., & Cole, F. M. (2003). Botrytis cinerea infection in grape flowers: Defense reaction, latency, and disease expression. *Phytopathology*, 93(3), 316–322.
20. English, J. T., Bledsoe, A. M., & Marois, J. J. (1990). Influence of leaf removal from the fruit cluster zone on the components of evaporative potential within grapevine canopies. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 31(1), 49–61.
21. Holz, G., Coertze, S., & Williamson, B. (2007). The ecology of botrytis on plant surfaces. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, 9–27.
22. González-Barreiro, C., Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2015). Wine Aroma Compounds in Grapes: A Critical Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(2), 202–218. doi:10.1080/10408398.2011.650336
23. Reynolds, A. G., Wardle, D. A., Cliff, M. A., & King, M. (2004). Impact of training system and vine spacing on vine performance, berry composition, and wine sensory attributes of riesling. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55(1), 96–103.

24. Peña, R. M., Barciela, J., Herrero, C., & García-Martín, S. (2005). Optimization of solid-phase microextraction methods for GC-MS determination of terpenes in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(7), 1227–1234.
25. Mosetti, D., Herrera, J. C., Sabbatini, P., Green, A., Alberti, G., Peterlunger, E., ... Castellarin, S. D. (2016). Impact of leaf removal after berry set on fruit composition and bunch rot in “Sauvignon blanc.” *Vitis - Journal of Grapevine Research*. <http://doi.org/10.5073/vitis.2016.55.57-64>
26. Siebert, T. E., Barter, S. R., de Barros Lopes, M. A., Herderich, M. J., & Francis, I. L. (2018). Investigation of “stone fruit” aroma in Chardonnay, Viognier and botrytis Semillon wines. *Food Chemistry*, 256(October 2017), 286–296.
27. Libbey, L. M., & Walradt, J. P. (1968). 3,5-di-Tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) as an artifact from diethyl ether. *Lipids*, 3(6), 561. doi:10.1007/BF02530903
28. Black, C. A., Parker, M., Siebert, T. E., Capone, D. L., & Francis, I. L. (2015). Terpenoids and their role in wine flavour: Recent advances. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21, 582–600
29. Acimovic, D., Tozzini, L., Green, A., Sivilotti, P., & Sabbatini, P. (2016). Identification of a defoliation severity threshold for changing fruitset, bunch morphology and fruit composition in Pinot Noir. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 22(3), 399–408.
30. Intrieri, C., Filippetti, I., Allegro, G., Centinari, M., & Poni, S. (2008). Early defoliation (hand vs mechanical) for improved crop control and grape composition in Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14(1), 25–32.
31. Hed, B., & Centinari, M. (2018). Hand and Mechanical Fruit-zone Leaf Removal at Prebloom and Fruit-set Was More Effective in Reducing Crop Yield than Reducing Bunch Rot in “Riesling” Grapevines. *HortTechnology*, 28(3), 296–303.

32. Gregan, S. M., & Jordan, B. (2016). Methoxypyrazine Accumulation and O-Methyltransferase Gene Expression in Sauvignon blanc Grapes: The Role of Leaf Removal, Light Exposure, and Berry Development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(11), 2200–2208
33. Tardaguila, J., de Toda, F. M., Poni, S., & Diago, M. P. (2010). Impact of early leaf removal on yield and fruit and wine composition of *Vitis vinifera* L. Graciano and Carignan. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(3), 372–381.
34. Mendes-Pinto, M. M. (2009). Carotenoid breakdown products the-norisoprenoids-in wine aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 483(2), 236–245.
35. Kwasniewski, M. T., Vanden Heuvel, J. E., Pan, B. S., & Sacks, G. L. (2010). Timing of cluster light environment manipulation during grape development affects C13 norisoprenoid and carotenoid concentrations in riesling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(11), 6841–6849.
36. Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Van Kan, J. A. L. (2007). Botrytis cinerea: The cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*.
37. Deytieux-Belleau, C., Geny, L., Roudet, J., Mayet, V., Donèche, B., & Fermaud, M. (2009). Grape berry skin features related to ontogenic resistance to Botrytis cinerea. *European Journal of Plant Pathology*, 125(4), 551–563.
38. Villamor, R. R., & Ross, C. F. (2013). Wine Matrix Compounds Affect Perception of Wine Aromas. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4(1), 1–20.
39. Gabler, F. M., Smilanick, J. L., Mansour, M., Ramming, D. W., & Mackey, B. E. (2003). Correlations of Morphological, Anatomical, and Chemical Features of Grape Berries with Resistance to Botrytis cinerea. *Phytopathology*, 93(10),
40. Kreiter, S. (1989). Integrated pest control in viticulture. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 26(2), 148–150.

41. Sarig, P., Zutkhi, Y., Lisker, N., Shkelerman, Y., & Ben-Arie, R. (1998). Natural and induced resistance of table grapes to bunch rots. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 464, 65–70.
42. Matus, J. T. (2016). Transcriptomic and metabolomic networks in the grape berry illustrate that it takes more than flavonoids to fight against ultraviolet radiation. *Frontiers in Plant Science*, 7(AUG2016), 1–8.
43. Würz, D. A., Rufato, L., Bogo, A., Allebrandt, R., Pereira de Bem, B., Marcon Filho, J. L., Brighenti, A. F., & Bonin, B. F. (2020). Effects of leaf removal on grape cluster architecture and control of *Botrytis* bunch rot in Sauvignon Blanc grapevines in Southern Brazil. *Crop Protection*, 131(August 2019).
44. Viret, O., Spring, J. L., & Gindro, K. (2018). Stilbenes: Biomarkers of grapevine resistance to fungal diseases. *Oeno One*, 52(3).
45. Liswidowati, Melchior, F., Hohmann, F., Schwer, B., & Kindl, H. (1991). Induction of stilbene synthase by *Botrytis cinerea* in cultured grapevine cells. *Planta*, 183(2), 307–314.
46. Poni, S., Casalini, L., Bernizzoni, F., Civardi, S., Intrieri, C., 2006. Effects of Early Defoliation on Shoot Photosynthesis, Yield Components, and Grape Composition. *Am. J. Enol. Vitic.* 57, 397–407.
47. Sabbatini, P., Howell, G.S., 2010. Effects of Early Defoliation on Yield, Fruit Composition, and Harvest Season Cluster Rot Complex of Grapevines. *HortScience* 45, 1804–1808
48. Vail, M. E., and J. J. Marois. "Grape cluster architecture and the susceptibility of berries to *Botrytis cinerea*." *Phytopathology* 81.2 (1991): 188-191.

49. Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., & Delen, N. (2007). Botrytis: Biology, pathology and control. In *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (Issue October).
50. Smith, M. S., & Centinari, M. (2019). Impacts of early leaf removal and cluster thinning on grüner veltliner production, fruit composition, and vine health. *American Journal of Enology and Viticulture*, 70(3), 308–317.
51. Revilla, E., & Ryan, J. M. (2000). Analysis of several phenolic compounds with potential antioxidant properties in grape extracts and wines by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection without sample preparation. *Journal of Chromatography A*, 881(1–2), 461–469.
52. Savoi, S., Wong, D. C. J., Arapitsas, P., Miculan, M., Bucchetti, B., Peterlunger, E., Fait, A., Mattivi, F., & Castellarin, S. D. (2016). Transcriptome and metabolite profiling reveals that prolonged drought modulates the phenylpropanoid and terpenoid pathway in white grapes (*Vitis vinifera* L.). *BMC Plant Biology*, 16(1), 1–17
53. Romanazzi, G., Feliziani, E., 2014. Chapter 4 - Botrytis cinerea (Gray Mold), in: Bautista-Baños, S. (Ed.), *Postharvest Decay*. Academic Press, San Diego, pp. 131–146.
54. Molina, A. M., Swiegers, J. H., Varela, C., Pretorius, I. S., & Agosin, E. (2007). Influence of wine fermentation temperature on the synthesis of yeast-derived volatile aroma compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(3), 675–687.
55. Roldán, A.; Palacios, V.; Caro, I.; Peñáz, L. Resveratrol content of Palomino fino grapes: Influence of vintage and fungal infection. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 1464–1468.
56. Paul, B.; Chereyathmanjiyil, A.; Masih, I.; Chapuis, L.; Benoît, A. Biological control of Botrytis cinerea causing gray mould disease of grapevine and elicitation of

stilbene phytoalexin (resveratrol) by a soil bacterium. *FEMS Microbiol. Lett.* 1998, 165, 65–70. [CrossRef]

57. Montero, C.; Cristescu, S.M.; Jiménez, J.B.; Orea, J.M.; Lintel Hekkert, S.T.; Harren, F.J.M.; González Ure ´n, A. Trans-resveratrol and grape disease resistance. A dynamical study by high-resolution laser-based techniques. *Plant Physiol.* 2003, 131, 129–138
58. Downey, M.O.; Harvey, J.S.; Robinson, S.P. The effect of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation in Shiraz grapes. *Aust. J. Grape Wine Res.* 2004, 10, 55–73. [CrossRef]
59. Johkan, M.; Shoji, K.; Goto, F.; Hashida, S.; Yoshihara, T. Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. *Hortic. Sci.* 2010, 45, 1809–1814.
60. Hasan, M. M., & Bae, H. (2017). An overview of stress-induced resveratrol synthesis in grapes: Perspectives for resveratrol-enriched grape products. *Molecules*, 22(2)
61. Zahavi, T., Cohen, L., Weiss, B., Schena, L., Daus, A., Kaplunov, T., Zutkhi, J., Ben- Arie, R., Droby, S., 2000. Biological control of Botrytis, Aspergillus and Rhizopus rots on table and wine grapes in Israel. *Postharvest Biol. Technol.* 20, 115–124.
62. Zahavi, T., Reuveni, M., 2012. Effect of grapevine training systems on susceptibility of berries to infection by *Erysiphe necator*. *Eur. J. Plant Pathol.* 133, 511–515.
63. Effects of Fruit-Zone Leaf Removal, Training Systems, and Irrigation on the Development of Grapevine Powdery Mildew _ *American Journal of Enology and Viticulture.* (n.d.).
64. Black, C. A., Parker, M., Siebert, T. E., Capone, D. L., & Francis, I. L. (2015). Terpenoids and their role in wine flavour: Recent advances. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21, 582–600. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12186>

DAVIS 20 POINT SYSTEM

F	E	D	C	B	A						
CLARITY (2 POINTS)											
Brilliant, near-sparkly, clear with no haze or particulates						2.0					
Bright, some sparkle, clear with no haze or particulates						1.5					
Dull, mostly clear, perhaps a hint of haze or particulates						1.0					
Cloudy, unclear with a distinct haze or particulates						0.5					
COLOR (2 POINTS)											
Appropriate color for varietal/type and age						2.0					
Nearly correct color for varietal/type and age						1.5					
Slightly off color for varietal/type and age						1.0					
Flawed color for varietal/type and age						0.5					
BOUQUET (4 POINTS)											
Distinct varietal characteristics, balanced bouquet						4.0					
Simply fruity characteristics, some bouquet						3.0					
Little varietal character, simple bouquet						2.0					
Underdeveloped nose, closed, non-apparent						1.0					
Defective nose, off odors						0.0					
TOTAL ACIDITY (1 POINT)											
Proper balance, appropriate for varietal/type						1.0					
Slightly out-of-balance, high/low acidity						0.5					
Well out-of-balance, tart/flabby						0.0					
SWEETNESS (1 POINT)											
Appropriate sweetness, well enhanced/well balanced						1.0					
Slightly off, either too sweet or too dry for type						0.5					
Well off, cloying, out-of-balance for type						0.0					
BODY/TEXTURE (2 POINTS)											
Appropriate body for varietal/type and age						2.0					
Nearly correct body for varietal/type and age						1.5					
Slightly heavy/slightly thin for varietal/type and age						1.0					
Too heavy (clumsy)/too thin (vapid) for varietal/type and age						0.5					
FLAVOR/TASTE (2 POINTS)											
Complex flavors, appropriate for varietal/type and age						2.0					
Simple flavors, appropriate for varietal/type and age						1.5					
Agreeable flavors, appropriate for varietal/type and age						1.0					
Non-descript flavors, in-appropriate for varietal/type and age						0.5					
ACESCENCY (BITTERNESS) (1 POINT)											
Well balanced, no perceptible bitterness						1.0					
Slightly bitter, but still in balance						0.5					
Overly bitter, un-balanced						0.0					
ASTRINGENCY (1 POINT)											
Appropriate levels of tannin for the varietal/type and age						1.0					
Somewhat high/low levels of tannin for the varietal/type and age						0.5					
Overly tannic/overly flaccid for the varietal/type and age						0.0					
OVERALL QUALITY (4 POINTS)											
Wines of "noble" quality with distinct and distinguishing character						4.0					
Wines that are "charming" with some special character						3.0					
Wines that are typical of the varietal/type and age						2.0					
Wines with no exceptional characteristics, but not flawed						1.0					
Wines with no exceptional characteristics, and possess flaws						0.0					
TOTAL SCORE											

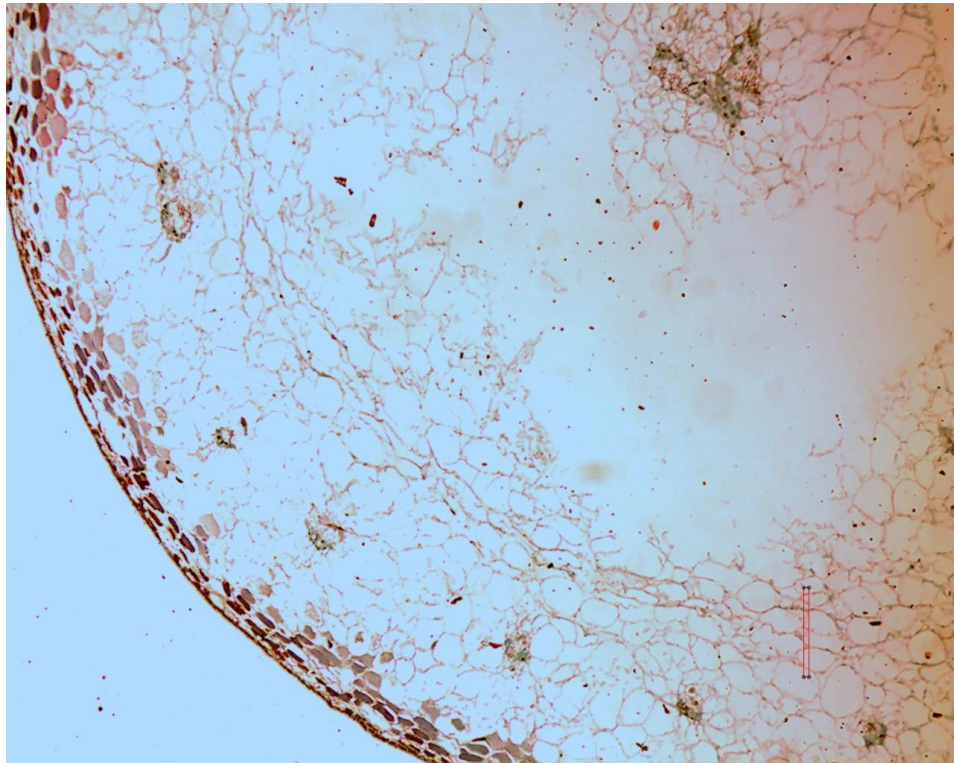
© 2006 by Paul J. Malagrifa

All rights reserved. No part of this newsletter may be reproduced or utilized in any form or by any means electronic or mechanical without permission of the author.

(נספח א'- מבחן דייוויס המשמש לטעימות היין)

יין לבן			
הערות	בדיקות	פעולות	יום
לשים ב 15 מעלות לילה	PH, בריקס, TA, משקל סגולי	פרס	יום 1 בציר
לשים ב 19 מעלות (יקב אדום)	הוספת שמרים	שפייה	2
	לראות שמתחילה תסיסה	העברה ליקב לבן	3-4
		לעקוב אחר משקל סגולי	שלושה שבועות
	סוכר	בדיקת סוכר	התייבבות משקל סגולי
			הצללה
			שפייה
			בקבוק

(נספח ב'- פרוטוקול הכנת יין לבן)



(נספח ג'- חתך של גרגיר בהסתכלות מיקרוסקופית על מנת לראות את עובי הקליפה.)