

הפקולטה למדעי הטבע

השפעת משק המים על התפתחות

המערכת ההידראולית בגפן

חיבור זה מוגש כחלק מהדרישות לקבלת התואר "מוסמך" למדעים (M.Sc.)

התוכנית לתואר שני בכימיה ביולוגית וביולוגיה מולקולרית,

המסלול לביולוגיה מולקולרית

אוניברסיטת אריאל בשומרון

על ידי

שונמית וולברג

העבודה הוכנה בהדרכתם של המנחים: ד"ר ישי נצר וד"ר טובית רוזנצויג

תודות

למי שאמר והיה העולם על הבריאה המופלאה, שכל כמה שאנחנו חוקרים ומגלים, אנחנו מבינים עד כמה אנחנו לא מבינים. תודה על הזכות לחשוף עוד חלק קטן בפאזל המורכב והנשגב הזה.

תודה גדולה לד"ר ישי נצר על הסבלנות, על ההשקעה, על הפרגון ועל האמונה. תודה על ההכרות עם עולם המדע בצורה פשוטה ומסקרנת. תודה על נגישות וזמינות ללא גבול, על פתרון בעיות ועל שעות של חשיבה. תודה על הנחיה אנושית, מקצועית ומצמיחה.

תודה לד"ר טובית רוזנצוויג על העזרה והעצות הטובות, ועל הנכונות לסייע בכל שנדרש.

תודה מיוחדת לד"ר אילנה שטיין שהיא גם חוקרת מעולה וגם חברה טובה. תודה על חניכה אישית ומדויקת. על מקצועיות ללא פשרות, עם הרבה אהבה והבנה.

תודה לד"ר חנה אוחרימנקו על הדרכה לבבית, מקצועית ומפורטת בעבודה במיקרוסקופ, ועל זמינות וסיוע בפתרון בעיות.

תודה לצוות המעבדה המשולב ברחובות ובאריאל:
לשראל על ההדרכה ועל העזרה בכל עת בהכרות עם המתודות ועל פתיחת השער למחקר היפהפה שלך.
לדניאל על העזרה בחיתוך ובצביעה ועל ההדרכה בנבכי הסיגמא-פלוט.
למתניה על העזרה בחיתוך ובצביעה ממרחקים.
לבת חן על ההתגייסות בשמחה לסייע בחלק המולקולרי, על אף שהשתנה לבסוף.
למריה על העזרה וההכוונה במעבדה, ותמיד עם חיוך ובנעימות.
לפז על העזרה בחישובים מפרכים.
ולכל אלה שהיוו אוזן קשבת והיו שם בשלבים השונים...

תודה למשפחתי הנפלאה על ההתגייסות המלאה, על התמיכה ועל הפרגון במסע המיוחד הזה. בלעדיכם לא הייתי יכולה לצלוח אותו.
תודה להורי היקרים על ההתייצבות בכל עת שנדרש, על השותפות לאורך הדרך ועל האהבה הגדולה.
תודה על האמונה בכוחותי, על החינוך לעמל ולידע, ועל החיבור מינקות לאמא אדמה.
תודה לאחי האהובים שאין כמוהם בעולם, על אחווה פשוטה ועל עצם היותם.
תודה להורים של בעלי על הפרגון ועל התמיכה, על הארוח ללא גבול, ועל הנסיעות הארוכות כדי לסייע.

תודה לילדי האהובים הממלאים את עולמי: רעי שמואל, פדיה יוסף חיים, ישעיה וצהלי אחינעם. השמחה והאהבה שלכם שווים הכל.

ואחרון חביב, אסף, בעלי וידיד נפשי.
תודה על ימים ולילות, על דרבון והכלה, על נתינה ללא גבול ופרגון אמיתי ואוהב.
מודה להי על הזכות לצעוד לצידך יד ביד בנתיבי החיים.

תוכן העניינים

1	מבוא	1
1	1.1. רקע כללי	1
1	1.2. גפן היין בישראל כיום	1
1	1.3. ביולוגיה התפתחותית של הגפן	1
3	1.4. מאפייני הזן 'קברנה-סוביניון'	3
3	1.5. מערכת העצה בגפן היין	3
4	1.6. השפעת עקת מים על הפיסיולוגיה של הגפן	4
5	1.7. השפעת עקת מים על האנטומיה של הגפן	5
5	1.8. רכיבי דופן התא הצמחי	5
7	1.9. השפעת עקת מים על מרכיבי דופן התא	7
9	1.10. מטרות העבודה	9
10	2. שיטות המחקר	10
10	2.1. אתר המחקר	10
10	2.2. מבנה הניסוי	10
12	2.3. מדדים פיסיולוגיים	12
12	2.3.1. אינדקס שטח עלווה (LAI)	12
12	2.3.2. פוטנציאל מים בגזע (בצהרי היום)	12
12	2.3.3. חילוף גזים	12
12	2.3.4. השתנות רוחב הגזע	12
13	2.3.5. מעקב פיסיולוגי אחר השתנות מדדים יומיים	13
13	2.4. דיגום צמחי	13
13	2.5. חיתוך אנטומי	13
14	2.6. אנטומיה של העצה	14
14	2.6.1. צביעה	14
14	2.6.2. צילום וניתוח	14
15	2.7. מרכיבי דופן התא בפטורות	15
15	2.7.1. שיטת הדיגום	15
15	2.7.2. מורפולוגיה	15
15	2.7.3. חיתוך	15
16	2.7.4. צביעות היסטולוגיות	16
16	2.7.5. צילום וניתוח	16

17	אימונוהיסטוכימיה	2.8
17	צביעת נוגדנים	2.8.1
17	צילום	2.8.2
18	סטטיסטיקה	2.9
19	תוצאות	3
19	השפעת משק המים על מדדים פיסיוולוגיים של גפן היין בתנאי שדה	3.1
19	השפעת זמינות מים על אינדקס שטח העלווה (LAI)	3.1.1
20	השפעת זמינות מים על פוטנציאל מים בגזע (בצהרי היום)	3.1.2
22	השפעת זמינות מים על אנטומיה הידראולית	3.2
23	אנטומיה הידראולית של הגזע	3.2.1
24	אנטומיה הידראולית של הזמורות	3.2.2
25	השפעת זמינות מים על שינויים עונתיים בפטוטרות	3.3
25	השפעת זמינות מים על מדדים פיסיוולוגיים של גפן היין בתנאי שדה	3.3.1
27	השפעת זמינות מים על המורפולוגיה של הפטוטרות	3.3.2
29	השפעת זמינות מים על אגירת עמילן	3.3.3
30	השפעת זמינות מים על האנטומיה ההידראולית של הפטוטרות	3.3.4
35	השפעת זמינות מים על מרכיבי דופן התא בפטוטרות	3.3.5
52	דיון	4
52	בחינת השפעת משק המים על מדדים פיסיוולוגיים של גפן היין	4.1
53	בחינת השפעת משק המים על אנטומיה הידראולית	4.2
55	בחינת השפעת משק המים על שינויים עונתיים בפטוטרות	4.3
55	מורפולוגיה	4.3.1
56	אגירת עמילן	4.3.2
57	אנטומיה הידראולית	4.3.3
57	מרכיבי דופן התא	4.3.4
61	דיון מסכם	4.4
62	רשימת ספרות	5

רשימת איורים וטבלאות

2	איור מספר 1 חלקי הנצר של הגפן
2	איור מספר 2 שלבי התפתחות הגרגר
3	איור מספר 3 גפן 'קברנה סוביניון'
6	איור מספר 4 מבנה סכמטי של דופן התא
10	איור מספר 5 מפת הניסוי
11	איור מספר 6 נתוני האקלים ומנות המים 2018-2016
14	איור מספר 7 שיטות דיגום וניתוח אנטומי
20	איור מספר 8 אינדקס שטח העלווה 2018-2016
21	איור מספר 9 פוטנציאל המים בגזע בצהרי היום 2018-2016
22	איור מספר 10 היסטולוגיה של חלקי הנצר
26	איור מספר 11 מדדי חילוף גזים ומשק המים 2018
28	איור מספר 12 מדדים מורפולוגיים של הפטוטרות
29	איור מספר 13 צביעת עמילן בפטוטרות
30	איור מספר 14 אילוסטרציה פטוטרות
32	איור מספר 15 מדדי אנטומיה הידראולית בפטוטרות
34	איור מספר 16 התפלגות קוטר הטרכיאות בפטוטרות
35	איור מספר 17 צביעת ליגנין בפטוטרות
36	איור מספר 18 אילוסטרציה צביעות אימונוהיסטוכימיות בפטוטרות
37	איור מספר 19 צביעת נוגדן JIM5 דיגום מאי
38	איור מספר 20 צביעת נוגדן JIM5 דיגום מאי
39	איור מספר 21 צביעת נוגדן JIM5 דיגום יוני
40	איור מספר 22 צביעת נוגדן JIM5 דיגום יוני
42	איור מספר 23 צביעת נוגדן JIM7 דיגום מאי
43	איור מספר 24 צביעת נוגדן JIM7 דיגום מאי
44	איור מספר 25 צביעת נוגדן JIM7 דיגום יוני
45	איור מספר 26 צביעת נוגדן JIM7 דיגום יוני
47	איור מספר 27 צביעת נוגדן LM6 דיגום מאי
48	איור מספר 28 צביעת נוגדן LM6 דיגום מאי
49	איור מספר 29 צביעת נוגדן LM6 דיגום יוני
50	איור מספר 30 צביעת נוגדן LM6 דיגום יוני
23	טבלה מספר 1 מדדים אנטומיים של הגזע
24	טבלה מספר 2 מדדים אנטומיים של הזמורות
51	טבלה מספר 3 סיכום צביעות נוגדנים בפטוטרות

תקציר

מבוא: משק המים של הגפן הוא גורם המשפיע רבות על הצימוח הווגטיבי, על שינויים אנטומיים וכן על גובה היבולים ועל איכות הפרי והיין. על מנת לקבל יינות אדומים איכותיים, מקובל לגדל גפן יין בתנאי עקת יובש, עם זאת, עקת מים חריפה עלולה לפגוע בצמחים. משק המים של הצמח משפיע במידה רבה על אנטומיה של מערכת העצה, כאשר צינורות טרכיאה צרים (המוגדרים מתחת לקוטר של 100 מיקרון) מוליכים כמות מעטה של מים, אך במקביל בטוחים יותר מפני היווצרות קוויטציה ואמבוליזם. בנוסף, צינורות צרים חזקים יותר מבחינה מבנית, ומסייעים בייצוב הרקמה בייחוד בעקת יובש. לעומתם, צינורות טרכיאה רחבים אחראים על רוב רובה של המוליכות ההידראולית אולם המבנה שלהם חלש יותר והם בעלי סיכונים גבוה לחסימה ע"י בועות אוויר.

דופן התא המרכיבה את חוליות הטרכיאה מתווכת בין פנים התא ובין הסביבה החיצונית, ובשל כך חשיבותה בהקשר יחסי מים-צמח. תכולת מרכיבי הדופן משתנה כתלות בגנטיקה, בסוג התא ובתנאים הסביבתיים, ובכך מסייעת ביצירת התאמות לשינויים סביבתיים ולתנאי עקה.

המידע אודות השפעות עקת יובש על האנטומיה של העצה בגפן הגדלה בתנאי שדה הינו חלקי, וכן חסר ידע אודות השפעת עקת יובש על מרכיבי דופן התא. מחקר זה הינו חדשני בכך שהוא מדגים השפעות עקה רב שנתיות על עצים בוגרים בתנאי שדה, וכן ביישום שיטות אימונוהיסטוכימיות על רכיבי דופן התא בגפן.

מטרות המחקר: בחינת השפעות רב שנתיות של משק המים בגפן יין ('קברנה סוביניון') על האנטומיה של העצה בחלקי הנצר השונים: גזע, זמורות ופטוטרות. וכן, הבנת השפעות העקה המתמשכת במהלך העונה על שינויים מורפולוגיים ואנטומיים ועל השתנות מרכיבי דופן התא בפטוטרות כאבר המייצג את המצב הפיסיולוגי הנקודתי.

שיטות וחומרים: הניסוי נערך בכרם מסחרי של ענבי יין מהזן 'קברנה סוביניון' (*Vitis vinifera* cv. 'Cabernet Sauvignon') שנת נטיעה 2008. טיפולי ההשקיה החלו בעונת 2014, כאשר נבחנו שלושה טיפולי השקיה: 1. השקיה גרעונית שהחלה עם לבלוב הגפנים (Mild Stress). 2. השקיה גרעונית שהחלה כאשר ערכי פוטנציאל מים הגיעו לערך של -1.2 MPa (Severe Stress). 3. ביקורת - ללא עקת יובש כלל, גפנים שגדלו בליזמטרים עם השקיה שעתית לאורך כל העונה (Non-Stressed Control). לאורך עונת הגידול 2016-2018 נלקחו מדדים ווגטיביים ופיסיולוגיים שונים. בנוסף, נמדדו הפרמטרים האנטומיים של מערכת העצה בגזע (עונות 2016-2017) ובזמורות (עונת 2016). במהלך עונת 2018 נדגמו פטוטרות בשלושה מועדים, עליהן נערכו אנליזות במספר תחומים: מורפולוגיה, אנטומיה הידראולית ואימונוהיסטוכימיה (לבחינת רכיבים פקטיים של דופן התא).

תוצאות: בבחינת המדדים הווגטיביים והפיסיולוגיים, ערכי פוטנציאל המים וערכי אינדקס שטח העלווה בטיפול הביקורת נותרו יציבים וגבוהים ברוב שנות המחקר בהשוואה לטיפולים המועקים. מהניתוח האנטומי של הגזע ושל הזמורות עולה כי זמינות מים נמוכה וכן תנאי אקלים יובשניים, גרמו ליצירת מערכת הידראולית מצומצמת תוך הפחתת שטח העצה והפחתת קוטר הטרכיאות הגדולות. בבחינת ההתאמות הפנוטיפיות העונתיות של הפטוטרות כתגובה לזמינות המים, נמצא כי בטיפול עקת היובש החריפה כבר בתחילת העונה נצפו השינויים הבאים: פטוטרות קצרות, אגירת עמילן מוגברת ומערכת הידראולית מצומצמת, כמו כן נצפתה רמה גבוהה של רכיבי דופן המקנים יציבות (ליגנין, פקטינים בעלי רמת מתילציה גבוהה). עם זאת, ככל שהעונה התקדמה התאמות אלה התרחשו בכלל הטיפולים ללא קשר לזמינות המים.

מסקנות: הממצאים העיקריים מעידים על בניית מערכת הידראולית מוגבלת כתוצאה מעקת יובש רב שנתית בגזע ובזמורות. כמו כן, ההתאמות הפנוטיפיות בפטוטרות במהלך העונה מצביעות על כך כי בטיפול עקת היובש החריפה נמצאו התאמות מבניות ותפקודיות המתאימות למשק מים גרעוני כבר בתחילת העונה, על אף שהמדדים הפיסיולוגיים לא העידו על עקת יובש. עם זאת, עם התקדמות העונה התאמות אלו נצפו בכלל הטיפולים ללא קשר לזמינות המים, כנראה כתגובה לעקת חום. ניתן להסיק מכך שהשינויים האנטומיים במערכת ההידראולית של הגזע ושל הזמורות הנגרמים מזמינות מים נמוכה, מהווים זיכרון מבני של הגפן, ומשפיעים כבר בתחילת העונה על התאמת הפטוטרות לעקת יובש בכדי לאפשר יציבות מבנית, וכן במטרה לצמצם סיכוניות הידראולית של חסימת צינורות העצה. המשך שילוב המחקר היישומי והתיאורטי עשויים לשפוך אור על מאפייני ההתאמות לעקת יובש בגפן, ואף לסייע בפיתוח סמנים למצבי עקה בזמן אמת בכרם.

DOY= day of year

ET= evapotranspiration

HG= homogalacturonan

LAI= leaf area index

RG-I / RG-II= rhamnogalacturonan-I / II

1. מבוא

1.1. רקע כללי

גפן היין (*Vitis vinifera*) היא מטפס נשיר ממשפחת הגפניים (*Vitaceae*). הסוג העיקרי במשפחה זו הוא הסוג גפן (*Vitis*) אותו מקובל לחלק לשני תת-סוגים: מוסקדיניה (*Muscadinia*) ואאוויטיס (*Euvitis*) (Olien 1990). תת-הסוג אאוויטיס מתחלק לשלוש קבוצות: גפן אסיאתית, גפן אירופאית וגפן אמריקאית. רוב זני הגפן בעלי החשיבות החקלאית שייכים למין *Vitis vinifera* אשר מקורו בגפן האירופאית (This et al. 2006). המינים האמריקאים עמידים לכנימת הפילוקסרה, ועל כן משמשים ככנות נפוצות, לאחר שבמאה ה-19 ענף הגפן כמעט חוסל באירופה ובארץ ישראל בעקבות פגיעת הכנימה (Granett et al. 2001). מקובל לומר כי הגפן המתורבתת *Vitis vinifera* החלה להתפשט מאזור טורקיה-אירן לעבר המזרח התיכון ומרכז אירופה בהם תנאי האקלים מתאימים לגידול הגפן: קיץ חם וחורף קר ללא טמפי' קיצוניות (This et al. 2006).

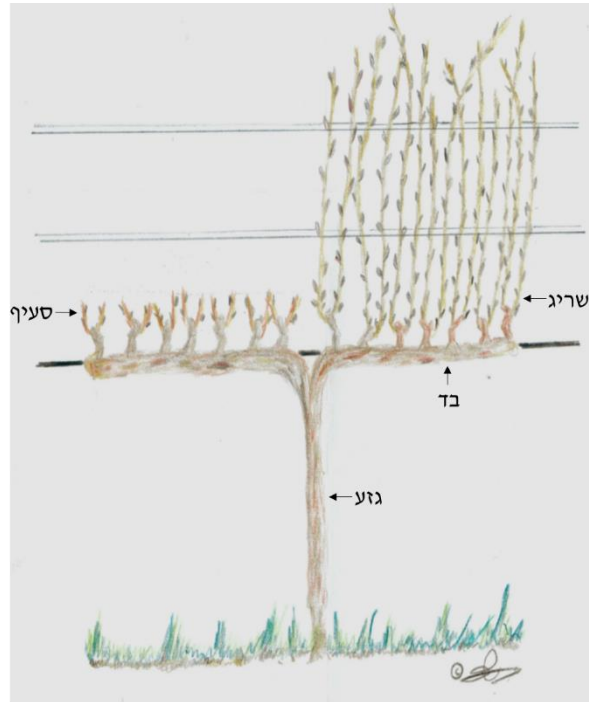
הגפן הינה גידול בעל חשיבות חקלאית, כלכלית ותרבותית עוד מימי קדם. שרידי גתות עתיקים המצויים בכל רחבי ארץ ישראל מעידים על מרכזיותה בתרבות החומרית (Ahlström 1978; עמר 2012). הגפן הינה אחד משבעת המינים אשר נשתבחה בהם ארץ ישראל והיא מסמלת את עם ישראל, תנובת הכרמים המתחדשת מעידה על הגאולה: "עוד אֶבְנֶנָּה וְנִבְנִית בְּתוֹלַת יִשְׂרָאֵל... עוד תִּטְעֵי כְּרָמִים בְּהָרֵי שְׁמֶרוֹן נְטַעוּ נְטָעִים וְחֻלְלוּ" (ירמיה ל"א ג'-ד').

1.2. גפן היין בישראל כיום

בארץ נטועים למעלה מ-55,000 דונם כרמי יין הפרושים מאזור הגליל ועד הנגב (רבן 2017). תנובת כרמי היין נמצאת בעלייה בשנים האחרונות, ובשנת 2017 עמד היבול על כ-65,000 טון ענבים (הרכבי 2017). בעשור האחרון ישנו גידול ניכר בשטחי כרמי היין, בדגש על זני יין אדומים איכותיים המהווים כ-60% מהענבים הנקלטים ביקבים (רבן 2017). צריכת היין בישראל עלתה אף היא בכ-7% בין השנים 2013-2015 (Wine Institute 2016).

1.3. ביולוגיה התפתחותית של הגפן

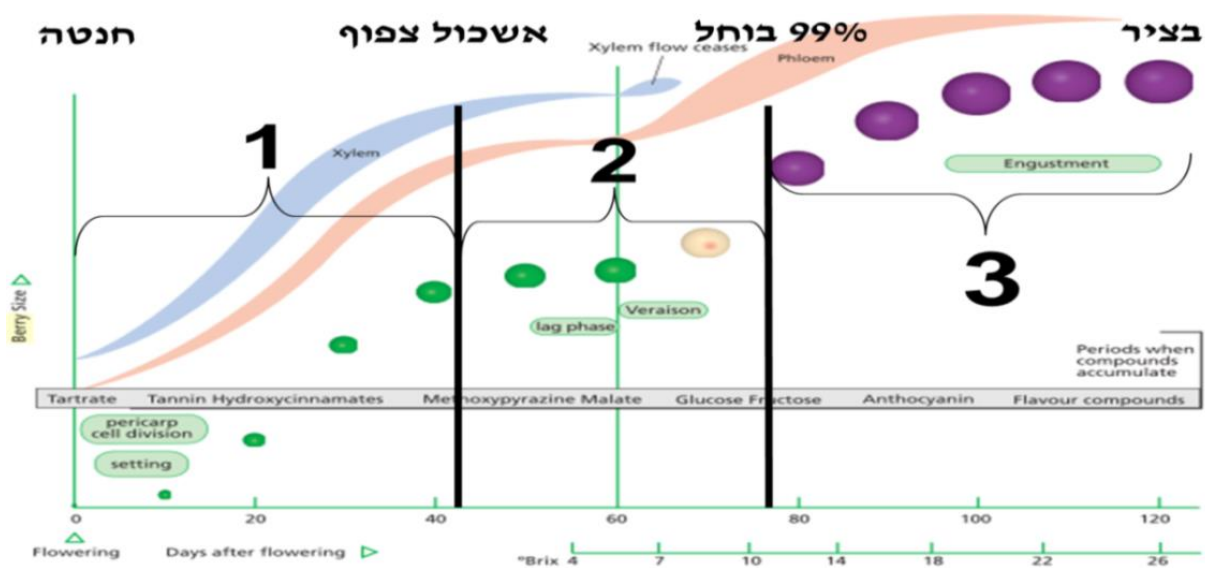
הגפן היא צמח נשיר הנכנס לתרדמת חורף ומתעורר באביב. בבלוב, מהניצנים הרדומים מתפתחים ענפים רכים הנקראים "שריגים" הנושאים עלווה, תפרחות וקנוקנות. במהלך הקיץ השריגים מתעצים ואז מכונים בשם "זמורות". לקראת הסתיו מועברים המוטמעים מהעלים אל הזמורות, הגזע והשורשים, העלווה מתחילה להצהיב ולנשור והגפן נכנסת לתרדמת החורף (Hellman 2003). מפאת פוריות הגפן וכדי לשמור על עיצובה, לקראת סוף תקופת התרדמה נהוג לזמור את הזמורות לסעיפים קצרים שמהם יפרצו השריגים של העונה הבאה (איור 1).



איור מס' 1: חלקי הנצר של הגפן לאחר זמירה ובלבוב. (איור: ד"ר ישי נצר)

התמיינות תפוחת הגפן מתרחשת באביב של השנה הקודמת, אולם גם תנאי האקלים והפיסיולוגיה בשנת הניבה משפיעים על היבול (Vasconcelos et al. 2009).

מקובל לחלק את התפתחות גרגר הענבים לשלושה שלבים עיקריים (Kennedy 2002): השלב הראשון מאופיין בגדילה ובחלוקת תאים מהירה עד למספרם הסופי בשלב זה. צבע הגרגר ירוק והוא מוצק וריכוז הסוכר בו נמוך. שלב זה נמשך כ-60 יום עד הצטופפות האשכול (מוניץ 2013). בשלב השני הגדילה מתעכבת וריכוז החומצה עולה. סוף שלב זה הוא בבוחל בו הגרגר משנה את צבעו ומתחיל להתרכך. השלב השלישי מאופיין בעלייה בנפח תאי הגרגר, בצבירת סוכר וחומרי צבע וארומה, וכן בירידה בתכולת החומצות עד להבשלה (איור 2).



איור מס' 2: שלבי התפתחות הגרגר (מעובד מתוך Kennedy 2002)

1.4. מאפייני הזן 'קברנה-סוביניון'

אחד מהזנים החשובים ביותר בתעשיית היין הינו הזן 'קברנה סוביניון' (Cabernet Sauvignon) שמקורו באזור בורדו שבצרפת (איור 3). 'קברנה סוביניון' הוא הכלאה של 'קברנה פרנק' ו'סוביניון בלאנק' (Bowers and Meredith 1997). הוא מאופיין בבלוב מאוחר ונמרץ ובגרורים קטנים המקובצים באשכולות חרוטיים. הזן 'קברנה-סוביניון' נחשב איזוהידרי אשר בעקת יובש סוגר יחסית מהר את הפיוניות כדי לשמור על מאזן מים יציב (Schultz 2003; היאט 2016). יין המופק מענבי קברנה סוביניון הינו פופולרי ומזוהה עם חומרי הטעם הייחודיים ותכולת הטאנינים הגבוהה. הזן קברנה סוביניון ניטע בכל רחבי העולם בתנאי אקלים משתנים, ובשנת 2015 היווה את הזן הנפוץ ביותר הפרוש על גבי כ-3.5 מיליון דונם (OIV 2017).



איור מס' 3: גפן קברנה סוביניון, כרם שילה, ערב בציר 2017

1.5. מערכת העצה בגפן היין

רקמות ההובלה בצמחים כוללות את רקמת העצה ואת רקמת השיפה. רקמת השיפה (Phloem) מובילה מוטמעים מהעלים כלפי מטה אל שאר חלקי הצמח. רקמת העצה (Xylem) היא רקמה המורכבת מתאים טרכיארים (חוליות טרכיאה וטרכאידיים), וכן מסיבים ומתאי פרנכימה. התפקיד העיקרי של העצה הוא הובלת המים ונוטריינטים מהשורשים לכל חלקי הצמח. הובלת המים הינה פסיבית, בניגוד לכח המשיכה, ומתרחשת באמצעות המתח הנוצר מהדיות (טרנספירציה) דרך הפיוניות, ובעזרת כוחות הקוהזיה בין מולקולות המים וכוחות האדהזיה בין מולקולות המים לדופן הטרכיאות בגלל מפל הלחצים בין הקרקע לאטמוספירה (Dixon 1895). הטרכיאות ברקמת העצה הינן תאים מתים בעלי דופן עם התעבות משנית מעוצה וקשיחה, כאשר רצף של טרכיאות מרכיב צינור הובלה. צינורות

הטרכיאה בגפן הם בעלי מימדים ייחודיים: ארוכים במיוחד ועשויים להגיע לאורך של כמטר ולרוחב של כ- $300\ \mu\text{m}$ (Ewers et al. 1990; Jacobsen et al. 2015). בדפנות הטרכיאות נוצרים גמצים, אשר הינם נקבים חסרי דופן שניונית המחברים שתי טרכיאות בצורה לטרלית.

הקמביום הוסקולרי הוא גליל של שכבת תאים המהווים מריסטמה משנית האחראית על התפתחות מערכות העצה והשיפה. תאי רקמת העצה מיוצרים כלפי הליבה (פנים), ותאי רקמת השיפה כלפי חוץ, כאשר תאי רקמת העצה רחבים יותר ומספרם גבוה יותר.

1.6. השפעת עקת מים על הפיסיולוגיה של הגפן

משק המים בגפן היין הוא גורם בעל השלכות משמעותיות בשלושה תחומים עיקריים: צימוח ווגטטיבי וקיימות הכרם, גובה היבול, איכות הפרי. אך בעוד הצימוח הוגטטיבי, קיימות הכרם וגובה היבול נמצאים בקורלציה חיובית למשק המים, איכות הפרי הינה בד"כ ביחס הפוך למשק המים. לקבלת יינות אדומים איכותיים, מקובל לגדל גפן יין בתנאי עקת יובש (Choné et al. 2001a; Medrano et al. 2003; Roby et al. 2004). כיון שעיקר חומרי הטעם והארומה של היינות האדומים מצויים בגרגר, עקת מים גורמת להקטנת הגרגר, ובכך מגדילה את היחס בין הקליפה לציפה (Skin to pulp ratio) ותורמת להגדלת חומרי האיכות העתידיים ביין (Roby et al. 2004). בנוסף, בספרות נמצא כי עקת המים עצמה מהווה סיגנל לביוסינתזה מוגברת של חומרי הטעם והארומה (Castellarin et al. 2008). יחד עם זאת, עקת מים חריפה גוררת הפחתה ביבול, וכן עלולה לפגוע בכרם ולגרום להתייבשויות עלים ולנוק רב שנתי לצימוח הגפן (Kennedy 2002). על כן, יש לדאוג ליישם עקה הדרגתית ומבוקרת אשר מחד תורמת לקבלת יבול איכותי, ומאידך מאפשרת לשמר את חיוניות הגפנים לאורך שנים (Munitz et al. 2017). לעקת מים ישנה השפעה רחבה על הפיסיולוגיה של הגפן בתחומים שונים. ככלל, התגובות הראשוניות של הצמח למחסור במים הן סגירת הפיוניות ועיכוב הצימוח הוגטטיבי, פעולות אלה מונעות איבוד מים נרחב. מוליכות הפיוניות נמצאת בקורלציה לקצב הפוטוסינתזה, ועל כן סגירת הפיוניות בכדי למנוע איבוד מים משפיעה במקביל על ירידה בקיבוע הפחמן (Medrano et al. 2003; Munitz et al. 2017). עיכוב צימוח העלווה מבוקר ע"י שינויים ברמת ה-pH, ומשפיע על הפסקת התרחבות דופן התאים (Chaves et al. 2003). פוטנציאל המים בגזע הוא המדד המקובל והאמין ביותר לקבלת תמונת מצב משק המים של הצמח, מכיוון שהגזע איננו מושפע משינויים סביבתיים רגועים. מדד זה מדויק ורגיש לשינויים קלים בין טיפולי השקיה שונים (Choné et al. 2001; Williams and Araujo 2002; Patakas et al. 2005). מתח המים השורר בעצת הגפן הולך וגדל במהלך עונת הגידול, כאשר ערך מתח של $-1.2\ \text{MPa}$ נחשב כעקת מים מתונה (Van Leeuwen et al. 2009). בזן 'קברנה סוביניון' ערכי פוטנציאל המים בגזע נעים בין -0.4 ל- $-2\ \text{MPa}$.

1.7. השפעת עקת מים על האנטומיה של הגפן

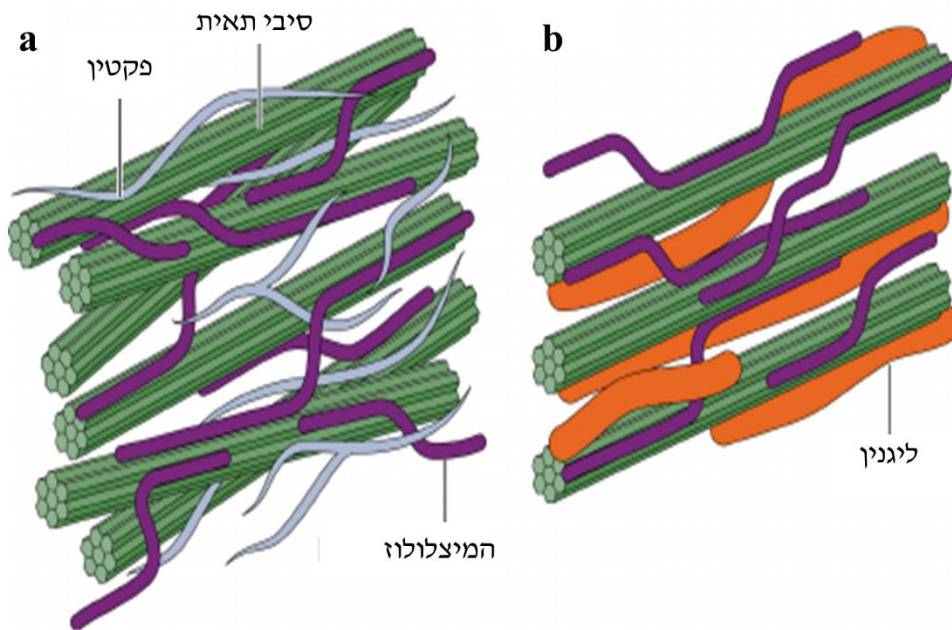
רציפות עמודת המים בטרכיאות הכרחית כדי להבטיח את המוליכות ההידראולית של הצמח. עקת יובש גורמת לעלייה במתח השורר במערכת העצה, ועשויה להוביל לחדירת אויר ולניתוק עמודת המים, כך שכל שטרכיאות רבות יותר אינן מובילות מים, המוליכות ההידראולית של הצמח נפגעת (Cochard et al. 2013). חדירה של בועית אויר לצינור הטרכיאה מכונה קוויטציה, בעוד ניתוק עמודת המים והשבתה של הולכת המים מכונה אמבוליזם (חסם, אמבוליה). הגדלת אורכם ורוחבם של צינורות הטרכיאה ומשק המים הייחודי של הגפן מגדילים את רגישותם לקוויטציות ולאמבוליזם (Gerzon et al. 2015), בייחוד באברים חד שנתיים (שריגים ופטטרות). היווצרות הקוויטציות בשריג, המקביל לגזע חד שנתי, מתרחשת בצינורות העצה הקרובים לליבה הפרנכימטית, והתפשטותן היא רדיאלית לכיוון האפידרמיס. הסיבה להיווצרות הקוויטציות באזור הליבה אינו ברור, אך הסברה היא כי כיוון שאזור העצה הפנימי הוא ותיק יותר, וכבר התרחשו בצינורות אלו מקרים של חדירת אויר, צינורות אלו נעשים רגישים יותר לקוויטציות (Brodersen et al. 2013). לקוטר צינורות הטרכיאה יש השפעה כפולה: מחד, ככל שקוטר הצינור רחב יותר כך המוליכות ההידראולית שלו גדלה (Tyree and Ewers 1991), ומאידך צינורות רחבים יותר הם בעלי הסתברות גבוהה יותר לגמצים גדולים ורחבים אשר עלולים לגרום לחדירת אויר, ובכך, עשויים להפחית משמעותית את המוליכות ההידראולית של הצמח (Lovisolo et al. 1998; Cai and Tyree 2010). בגפן, כבכל המטפסים, ישנה התפלגות בימודאלית של טרכיאות, כאשר הובלת המים אינה מתבססת על קבוצת גודל אחת בלבד (Shtein et al. 2017). ניתן להסביר תופעה זאת כדרך להקטנת הסיכון בעקבות אמבוליזם: הטרכאות הגדולות מוליכות את עיקר הספיקה ההידראולית אך גם עלולות להחשף לחדירת אויר, בעוד הטרכיאות הקטנות מספקות פחות מים, אך מהוות מעין "ביטוח" למצב של עקת מים חריפה (Hacke and Sperry 2001; Munitz et al. 2018). בנוסף, טרכיאות רחבות הן חלשות מבנית, ואילו הטרכיאות הצרות מספקות תמיכה מכאנית.

1.8. רכיבי דופן התא הצמחי

אחד המבנים החשובים והייחודיים בתא צמחי הוא דופן התא. הדופן קובעת את צורת התא, משפיעה על היצמדות תאים, מהווה מחסום בפני מזיקים ותורמת לייצוב ולחוזק המכאני (Cosgrove 2000). דופן התא מורכבת משתיים או שלוש שכבות: למלת הביניים אשר מהווה אזור חיבור בין דפנות של תאים סמוכים; דופן ראשונית אשר נוצרת במהלך חלוקת התאים, ולכן הינה גמישה יחסית בכדי לאפשר התרחבות התא; דופן משנית אשר מתפתחת בחלק מהצמחים לאחר הגעת התא לגודלו הסופי, דופן זו הינה קשיחה יותר. הרקמות הבסיסיות בצמח כוללות שלושה סוגי תאים עיקריים עם דפנות בעלות אופי שונה: פרנכימה, קולנכימה וסקלרנכימה. תאי פרנכימה הינם תאים חיים בעלי דופן ראשונית דקה המצויים בכל המערכות ומשמשים לאגירה, להתמיינות עתידית ועוד. תאי קולנכימה

הינם תאים חיים בעלי דופן ראשונית עבה מאוד אך גמישה ומספקים תמיכה מכנית בעיקר באזורים שאינם מעוצים בצמח. תאי סקלרנכימה הם בעלי דופן משנית קשיחה המסודרים לרוב כצורות המשמשים לתמיכה מכנית ולחיזוק (Albersheim et al. 2010).

המבנה הבסיסי של הדופן הראשונית מורכב מתאית (צלולוז), המיצלולוז, פקטין וחלבונים ייחודיים, בעוד בדופן משנית תכולת הפקטינים מזערית, וישנה התוספות של ליגנין המקנה קשיחות (איור 4). תכולת מרכיבי הדופן מבחינה כימית ומבנית משתנה כתלות בסוג הצמח, בסוג התא, בתנאים סביבתיים



איור מס' 4: מבנה סכמטי של דופן תא ראשונית (a) ושניונית (b) (מעובד מתוך Rytioja et al. 2014)

וכדו' (Rytioja et al. 2014; Shtein et al. 2018).

תאית (צלולוז): הומופולימר ליניארי של גלוקוז בעל קשרי β -(1-4). שרשראות התאית נקשרות זו לזו באמצעות קשרי מימן ליצירת מיקרופיברילות אשר אינן מסיסות במים ומקנות לדופן את קשיחותה. במיקרופיברילות ישנם אזורים גבישיים ואזורים אמורפיים כאשר היחס ביניהם משפיע על קשיחות הדופן, ומשתנה בדופן ראשונית ושניונית, וכן במיני צמחים שונים.

המיצלולוז: מולקולה פוליסכרידית אשר יחידת הסוכר הבסיסית וכן רמת ההסתעפות שלה משתנה, והיא עשויה להכיל שיירים צדדיים שונים. המיצלולוזות מהוות את הרכיב הרך ביותר בדופן התא, והן משמשות לחיבור סיבי התאית. קסילוגלוקאן הינה מולקולה חשובה ביותר בקבוצה זו בקרב צמחי היבשה (Shtein et al. 2018).

פקטין: פוליסכריד המכיל חומצה גלקטורונית ובד"כ טעון במטען שלילי. מולקולות פקטין נמצאות בתווך שבין סיבי התאית וההמיצלולוז, לרוב בלמלת הביניים ובדופן הראשונית.

הומוגלקטורונאן (HG): מולקולת הפקטין בעלת המבנה הפשוט ביותר הינה הומוגלקטורונאן (HG) הבנויה כפולימר ליניארי של חומצה גלקטורונית בעלת קשרי α -(1-4). קבוצת הקרבוקסיל במולקולה יכולה לקשור קבוצת מתיל בפחמן 6, או קבוצת אצטיל בחמצן 2 ו/או 3. הצטברות שיירי גלקטורונאן מאפשרות היווצרות גיל ע"י חיבור השיירים באמצעות יונים כגון סידן. קבוצות המתיל והאצטיל משפיעות על מאפייני הקרישה (Szymanski and Cosgrove 2009).

ארבינאן: מולקולה אשר הינה שרשרת צד הבנויה כפולימר מסועף של ארבינוז בעל קשרי α -(1-5), ומחוברת בד"כ לפקטין רהמוגלקטורונאן (RG-I). לארבינאן יש יכולת להיצמד לסיבי התאית, ובכך הוא מעגן את הפקטינים לשלד דופן התא, ומשפיע על הגמישות ועל הנקבוביות (Vincken 2003). הרכב הארבינאן משתנה ברקמות ובצמחים שונים לפי שלבי התפתחות התא (Ridley et al. 2001).

ליגנין: מולקולה פולימרית המורכבת מיחידות של פנולים (ליגנולים). ליגנין הוא הידרופובי והמבנה המרחבי המדויק שלו עוד לא מפוענח לגמרי. הליגנין נקשר להמיצלולוז באמצעות קשרים קוולנטים (Lawoko et al. 2006), והוא מצוי בעיקר בדופן המשנית של צמחים וסקולריים ומקנה לה קשיחות והידרופוביות. הליגנין הינו רכיב מרכזי בבניית תאי סיב קשיחים, וכן בבניית חוליות הטרקיא במערכת העצה. תכונותיו מאפשרות את זרימת המים בצינורות העצה מבלי שיתפשטו לתאים סמוכים, וכן מקנות לחוליות הטרקיא חוזק, כך שלא יקרסו בעקבות מתח המים הרב השורר בהן.

פנולים: בדופן התא מצויות תרכובות פנוליות הן כשיירי טירוזין בחלבוני דופן התא, והן כנגזרות של חומצות שונות. פנולים עשויים לעבור צימוד חימצוני בקלות, ובאופן זה לסייע בבקרה על התארכות התאים (Fry 1983). בנוסף, קשרים קוולנטיים של פנולים לפוליסכרידים בדופן מפחיתים רגישות להידרוליזה (Weber et al. 1995).

1.9. השפעת עקת מים על מרכיבי דופן התא

דופן התא הינה המתווכת בין פנים התא ותפקודו, ובין הסביבה החיצונית. ועל כן תגובת הדופן לשינויים סביבתיים ביוטיים ואביוטיים הינה מהירה וחיונית, ומקנה בין השאר, תכונות ביומכניות המאפשרות התאמה לסביבה המשתנה (Shtein et al. 2018). אחת התגובות הראשוניות של הצמח לעקת מים היא עיכוב הצימוח הווגטיבי, ובמצבים מסוימים אף עצירתו. ירידה בלחץ הטורגור כתוצאה מעקת מים, מפחיתה את הכח המכני המשפיע על הרחבת דופן התא ועוצר את גדילת התאים. כמו כן, הרכב הדופן משתנה במטרה לצמצם את נזקי העקה. בחיטה, בעקת מים נמצא כי היתה עלייה בשרשראות הצד של

רהמנוגלקטורונאן I ו-II, כנראה בכדי לאפשר יצירת גיל אשר מפחית את הפגיעה בתא (Tenhaken 2015). בעקת מים בתלתן (*Trifolium repens*), נמצא כי הפחתה בגדילת העלים התרחשה במקביל לעלייה בייצור הליגנין (Cristina et al. 2010). בצמח *Miscanthus capensis* תחת תנאי יובש נצפתה ירידה משמעותית בתכולת התאית, וכן עלייה נכרת בתכולת ההמיצלולוז (Van Der Weijde et al. 2017). בצמח מכלוא בין חיטה לשיפון (*Triticosecale* ×), בעקת יובש, נמצאה עלייה בתרכובות פנוליות הקשורות לסוכרי הדופן. הצטברות הפנולים מהווה שכבת הגנה למערכת הפוטוסינטטית וכן מסייעת בהפחתת איבוד מים (Hura et al. 2012).

1.10. מטרות העבודה

המחקר הנוכחי עוסק בהשפעה הרב שנתית של משק המים על היווצרות ותפקוד מערכת העצה של הגפן, בהתמקד במטרות הבאות:

1. בחינת השפעות רב שנתיות של משק המים בגפן יין ('קברנה סוביניון') על האנטומיה של העצה, בדגש על מיפוי המעלה ההידראולי של מערכת העצה בחלקי הנצר השונים: גזע, זמורות ופטוטרות.
2. הבנת השפעות העקה המתמשכת במהלך העונה על שינויים מבניים, וכן הערכת השתנות מרכיבי דופן התא בפטוטרות כאבר המייצג את המצב הפיסיולוגי הנקודתי. התמקדות בדפוס מיקום מרכיבי הדופן בדגש על פקטינים, ובאומדן התמורות ברכיבים ספציפיים כתגובה לעקת יובש.

השערות המחקר: זמינות מים נמוכה תגרום ליצירת מערכת הידראולית מצומצמת בחלקי הנצר השונים. כמו כן, במהלך עונת הגידול ההבדלים בין הטיפולים המועקים לטיפול הביקורת יגדלו, וניתן יהיה להבחין במאפיינים מבניים האופייניים לעקת יובש בפטוטרות.

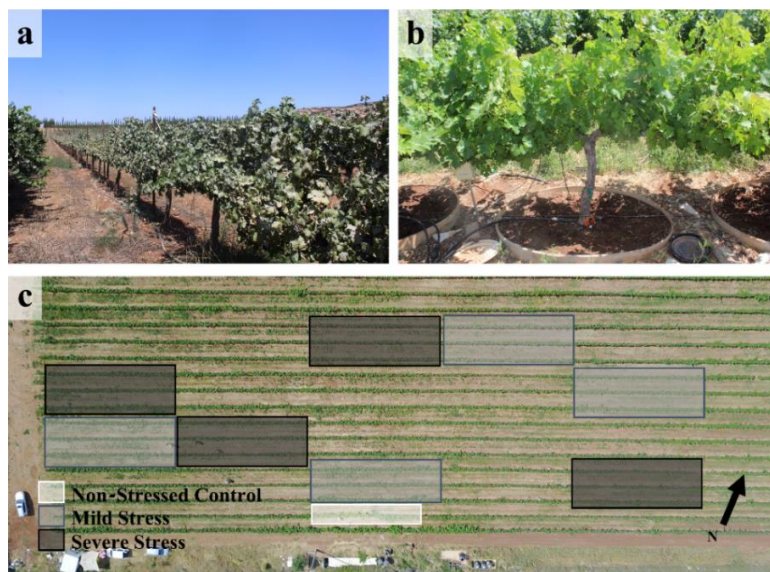
2. שיטות המחקר

2.1. אתר המחקר

כרם המחקר נמצא בגוש שילה סמוך ליישוב קידה בגובה של 710 מ', כחלק מכרם מסחרי של ענבי יין מהזן 'קברנה סוביניון' (*Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon), שנת נטיעה 2008. ניסוי ההשקיה בכרם החל בעונת 2014. מרווחי הנטיעה סטנדרטיים (3 מ' בין השורות, 1.5 מ' בין גפנים בתוך השורה). עיצוב הגפנים הוא כקורדון דו-בדי על מערכת הדליה של שילוב שריגים אנכי (VSP). חלקת המחקר עוצבה כחמישה טיפולים בארבע חזרות במתכונת של בלוקים באקראי (איור 5).

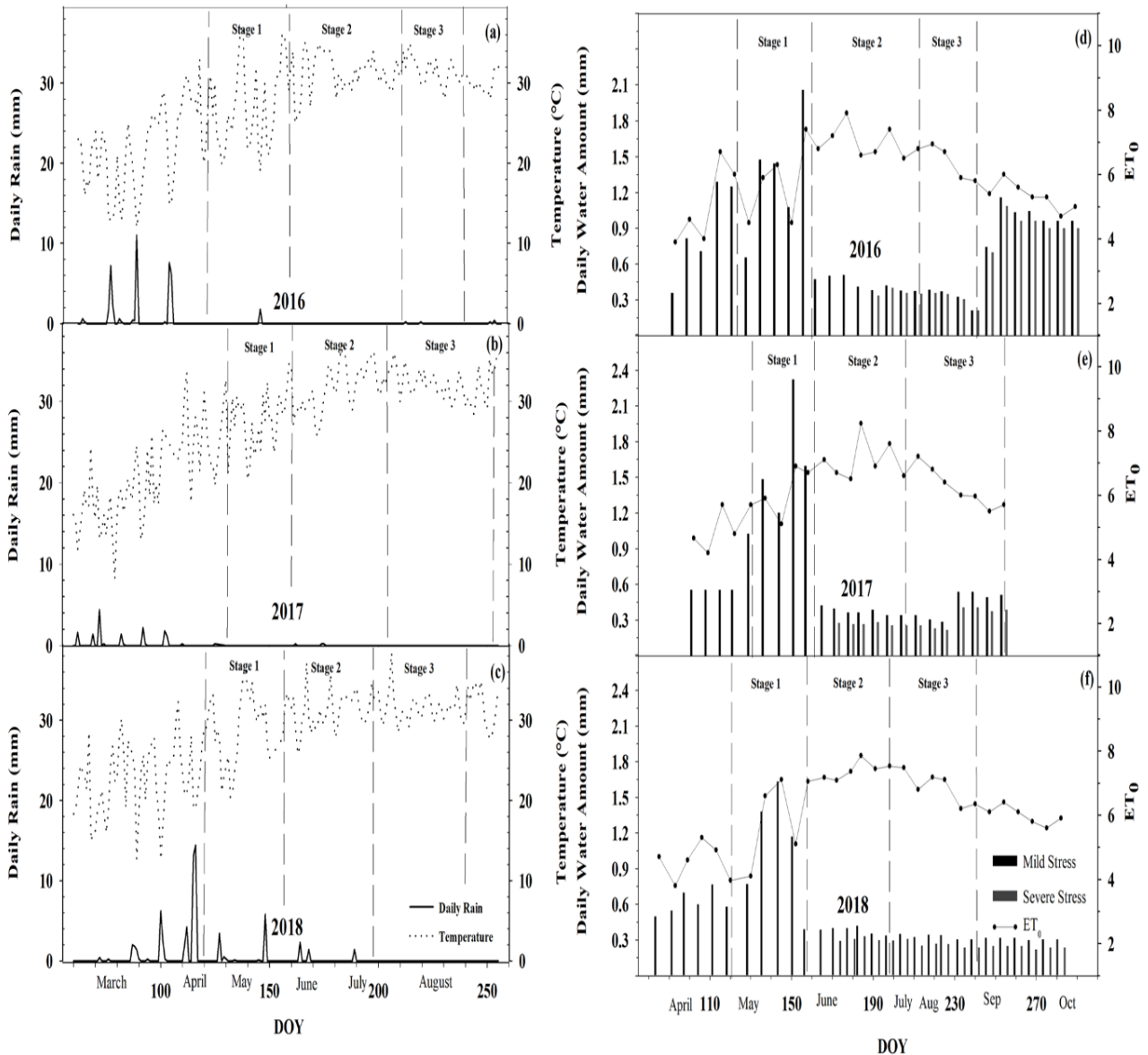
2.2. מבנה הניסוי

בכרם המחקרי נערך ע"י ישראל מוניץ ניסוי הכולל יישום של חמישה טיפולי השקיה שונים. מתוכם, שני טיפולי ההשקיה הקיצוניים נבדקו במחקר הנוכחי: בטיפול הראשון התחלת ההשקיה בבלבוב (Mild Stress). בטיפול השני התחלת ההשקיה כאשר עקת היובש הגיעה לערכים של פוטנציאל מים -1.2 MPa (Severe Stress), בסביבות סוף חודש יוני כתלות בתנאי האקלים. בכל חזרה נמדדו שלוש גפני מדידה (סה"כ 12 גפנים לטיפול) מתוך תשעה המוצבים לכל חזרה. חישוב מנות המים לקבלת צריכת המים הספציפית ET_c , נעשה באמצעות נתוני אינדקס שטח העלווה (LAI), באמצעות נתוני ההתאדות המחושבת ET_o ע"פ נוסחת Penman-Monteith, ובאמצעות מקדם הגידול K_c המחושב על בסיס נתוני גפני ליזימטרים (Munitz et al. 2016). בכדי להשרות עקת יובש מבוקרת כפי שמקובל בגידול ענבי יין, יושמו מקדמי השקיה שונים בשלבים פנולוגיים שונים כאשר בשלב I מקדם ההשקיה עמד על $0.4 ET_c$, בשלב II מקדם ההשקיה עמד על $0.2 ET_c$, ובשלב III מקדם ההשקיה הופחת ל- ET_c 0.1 (איור 6).



איור מס' 5: כרם הניסוי בקידה, ערב בציר 2017 (a). גפן השתולה בליזימטר עודפים. גפנים אלו שימשו כביקורת ללא עקת מים (b). מפה כללית של מיקום הטיפולים והחזרות במחקר (c).

ממועד תחילת ההשקיה הגפנים הושקו באופן סדיר אחת לשבוע באמצעות בקר השקיה אוטומטי (דריים 2, טלגיל, ישראל). לביקורת הניסוי שימשו שש גפני הליזימטרים (ליזימטרים של נקז), בהם יש אספקת מים עודפת והנקז מנוטר לצורך מדידת כמות המים המדויקת שצורכות הגפנים (Munitz et al. 2014) (איור 5). במערכת זו גורמים באופן מלאכותי למצב בו אין עקת מים כלל (השקיה שעתית בפולסים), וניתן להשוות את מצב הגפנים עם ובלי עקת יובש. הליזימטרים מותקנים בחלקת המחקר, והגפנים זהות בכלל הטיפולים במחקר (זן, כנה וגיל).



איור מס' 6: כמות המשקעים היומית (מ"מ) והטמפר' היומית המקסימלית (C°) במהלך שנות המחקר (a, b, c). נתוני מנות המים (מ"מ/יום) שיושמו בטיפולי ההשקיה המועקים (Mild Stress, Severe Stress), וכן נתוני ההתאדות המחושבת (ET₀) ע"פ נוסחת פנמן-מונטג'י במהלך שנות המחקר (d, e, f). נתוני האקלים התקבלו מהתחנה המטאורולוגית הממוקמת באתר הניסוי. כל נתון התאדות הוא ממוצע של שלושה ימי מדידה. כל עמודה של מנות המים מייצגת השקיה אחת, קברנה סובניון 2018-2016, כרם משק אחיה, קידה. מדידות בסיוע יחזקאל הראש, יוסי שטרן, אלון כץ, בן חזות, אלנתן גולן, דוד שמחי, גלעד גרשמן, אלון חורש, ידידיה סוויד, דניאל מינץ ויאיר היאט.

2.3. מדדים פיסיולוגיים

לאורך עונות הגידול 2016-2018 נמדדו מדדים פיסיולוגיים שונים בגפני המדידה מדי שבוע, לפני ההשקיה, בשלב בו עקת היובש השבועית היא המקסימלית. נמדדו 12 גפנים לכל טיפול (3 גפנים * 4 בלוקים), מלבד טיפול הליזומטרים בו נמדדו שש גפנים.

2.3.1. אינדקס שטח עלווה (LAI)

מדידה לא הרסנית של הצימוח הווגטיבי המאפשרת מעקב אחר התפתחות הנוף לאורך עונת הגידול. המדידה נעשתה באמצעות מכשיר Sunscan המאובזר במקל גלאים באורך מטר בעל 64 חיישני קרינה (Delta-T Devices, Cambridge UK) המדידה התבצעה בשמונה נקודות בניצב לשורת הגפנים באזור המוצל של גפן המדידה, סביב צהרי היום (Munitz et al. 2017) כאשר זווית השמש (זנית) מתחת 30° . ערך ה-LAI שהתקבל עבור הגפן חולק ב-2, כדי להכניס לחישוב את האזור המואר בין הגפנים (שווה ערך לעוד 8 מדידות שערכן 0).

2.3.2. פוטנציאל מים בגזע (בצהרי היום)

מדד עקת היובש של הצמח. עלה מדגמי בוגר ושלם מכל גפן הוכנס בשעה 9:00 לשקית פלסטיק כסופה ואטומה שבתוכה שקית פלסטיק שקופה, ע"מ למנוע פוטוסינתזה וטרנספירציה. בדרך זו פוטנציאל המים בעלה המכוסה משתווה לפוטנציאל המים בגזע. לאחר כשלוש שעות העלה נותק מהגפן ופוטנציאל המים נמדד באמצעות תא לחץ (ארימד 3000, MRC חולון) (Choné et al. 2001b). הלחץ הנגדי שהופעל על העלה עד להופעת "כיפה" של טיפת המים, שווה למתח השורר בעצת הגזע.

2.3.3. חילוף גזים

קצב קיבוע הפחמן ומוליכות הפיוניות נמדדו בשעות הבוקר-הצהרים באמצעות מערכת חילוף גזים (Li-cor 6400XT, USA) בעלים בוגרים וחשופים לשמש (Medrano et al. 2003). המדידה ארכה לפחות 45 שניות בכדי לאפשר לעלה להגיע לשיווי משקל עם התנאים בתא המדידה. פרוטוקול

המדידה היה: $T \text{ block} = 25^{\circ}\text{C}$, $\text{VPDL} = 3 \pm 1(\text{kPa})$, $\text{Flow rate} = 500 (\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$

$\text{PAR} = 1000 (\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$, $\text{Ref CO}_2 = 400 (\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$

2.3.4. השתנות רוחב הגזע

בשתי גפני מדידה לטיפול נמדדו קוטר הגזע באמצעות דנדרומטרים (פיטק, ראש העין, ישראל), החיישנים מאפשרים מדידת שינויים ברזולוציה של $4 \mu\text{m}$ (היאט 2016), וכן נמדדה תכולת המים בקרקע ע"י חיישני TDR.

2.3.5. מעקב פיסיולוגי אחר השתנות מדדים יומיים

בנוסף למדידות השבועיות, בסוף כל שלב פנולוגי נערך יום מרוכז של מדידות פוטנציאל מים וחילוף גזים בחמישה סבבים לאור יום המדידה באופן שמאפשר תיאור של המהלך היומי (Munitz et al. 2017).

2.4. דיגום צמחי

גזע: דיגום הגזע נערך בסוף עונת 2017 באמצעות מקדח גזע ייעודי (Increment Borer 5.15 mm Core) Haglof, Sweden, 8" (3-Thread) (איור 7). הדיגום התבצע על 12 גפני מדידה מטיפולי Mild Stress ו-Severe Stress (3 גפנים * 4 חזרות). הדיגום נעשה כ-50 ס"מ מהקרקע כאשר מכל גפן הוצאה קדוחה (Core) בקוטר 5 מ"מ לרוחב כל הגזע. הדגימות אוחסנו במבחנות 15 מ"ל עם אתנול 50%.

זמורות: דיגום הזמורות נערך בסוף עונת 2016. הדיגום התבצע על 12 גפני מדידה מטיפולי Mild Stress ו-Severe Stress (3 גפנים * 4 חזרות). בכל גפן נדגם הפרק הרביעי מבסיס הזמורה של שתי זמורות מייצגות, הדגימות אוחסנו במבחנות 50 מ"ל עם מים.

פטטרות: דיגום הפטטרות נערך בשלושה מועדים במהלך עונת 2018. הדיגום התבצע על 12 גפני מדידה מטיפולים Mild Stress ו-Severe Stress (3 גפנים * 4 חזרות), וכן על שש גפני הליזימטרים. נדגמה הפטטרת של העלה הפרוש הצעיר ביותר. הפטטרות נדגמו לתוך אתנול 70%, כמפורט בהמשך.

2.5. חיתוך אנטומי

נעשו חתכים בעוביים שונים כתלות בחלקי הנצר השונים, באמצעות מיקרוטום החלקה (GSL 1, Switzerland)

גזע: נעשו חתכים בעובי של כ-20-40 μm .

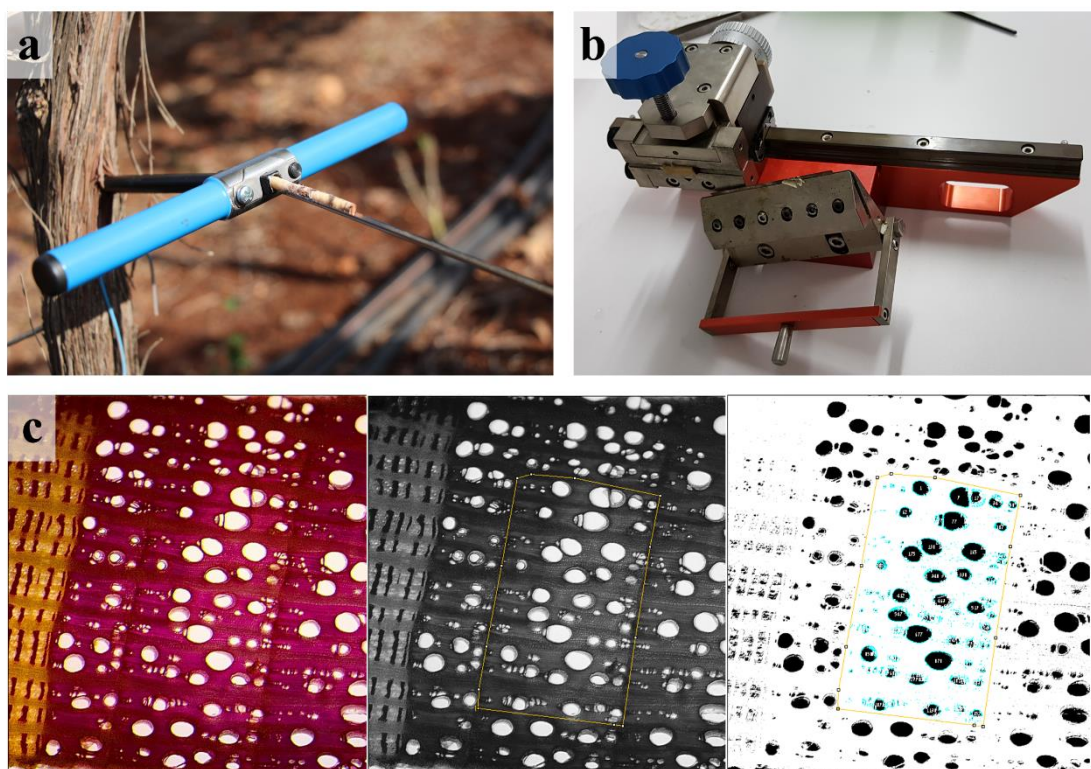
זמורות: מהחלק האמצעי של הפרק נעשו חתכים בעובי של כ-20-40 μm .

פטטרות: נלקחה פטטרת אחת לכל גפן, מהחלק האמצעי של הפטטרת בוצעו חתכים בעובי 80-100 μm .

2.6. אנטומיה של העצה

2.6.1. צביעה

צביעת החתכים למדידת חוליות הטרכיאה נעשתה באמצעות צבען Phloroglucinol (סיגמא) המומס בחומצת מימן כלורי HCl בריכוז 18%. Phloroglucinol הנו צבען ספציפי לליגנין, ומאפשר זיהוי וכימות של חוליות הטרכיאה המלוגננות. החתכים הודגרו למשך דקה בצלחת פטרי עם Phloroglucinol ולאחר מכן הועברו לייבוש על גבי נייר סופג (שטיין 2013).



איור מס' 7: דיגום גזע באמצעות מקדח גזע ייעודי (a). המחשה של חיתוך גזע באמצעות מיקרוטום החלקה (b). שלבי ניתוח ומדידת שטח הטרכיאות באמצעות תוכנת ImageJ (c).

2.6.2. צילום וניתוח

תצפיות וצילום החתכים נעשו באמצעות בינוקולר (Olympus szk-7 Tokyo, Japan) המצויד במצלמה דיגיטלית מובנית (Olympus u-tz 0.5 xc-3, Tokyo, Japan). ניתוח ומדידת החתכים נעשו באמצעות תוכנת מחשב ייעודית ImageJ (ImageJ, <http://imagej.net/Fiji>; USA) (איור 7). הפרמטרים שנמדדו בחתכים הינם: שטח החתך המנותח, רוחב הטבעת השנתית (בגזע), שטח הטבעת השנתית (בגזע), קוטר חוליות הטרכיאה וצפיפות חוליות הטרכיאה.

בנוסף, חישוב המוליכות ההידראולית הספציפית ($\text{Kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) והמוליכות ההידראולית עבור טבעת שנתית ($\text{Kg}\cdot\text{m}\cdot\text{MPa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) נעשה באמצעות נוסחת Hagen–Poiseuille:

$$Kn = (\pi \cdot p / 128 \cdot \eta) \cdot \Sigma(d^4)$$

כאשר: Kn - המוליכות ההידראולית, p - צפיפות החומר, η - צמיגות החומר, d - קוטר הצינור. מנוסחה זו עולה כי המוליכות ההידראולית הינה יחסית לקוטר הצינור, המועלה בחזקה רביעית (Tyree et al. 1991).

גזע: בכל חתך נותחו הטבעות השנתיות של השנתיים האחרונות 2016-2017.

זמורות: בכל חתך נותחו שתי קרני עצה מהחלק הרחב של הזמורה ושתי קרני עצה מהחלק הצר של הזמורה.

פטורות: בכל חתך נותח חצי סימטרי של החתך הכולל מחצית מהצרורות הגדולים ומחצית מהצרורות הקטנים.

2.7. מרכיבי דופן התא בפטורות

2.7.1. שיטת הדיגום

דיגום הפטורות נערך בשלושה מועדים בעונה 2018: פריחה, בוחל, לקראת בציר. הדיגום התבצע כמפורט בסעיף 2.5.3.

2.7.2. מורפולוגיה

הפטורות צולמו במצלמה, אורך ועובי הפטורות נמדדו לכל הטיפולים באמצעות תוכנת מחשב ייעודית ImageJ (ImageJ, <http://imagej.net/Fiji; USA>). בנוסף חושב יחס התמירות לכל פטורת (אורך/ עובי). מבחינה הנדסית, התמירות מבטאת את יציבות הגוף.

2.7.3. חיתוך

מכל פטורת שנבדקה נלקח הקטע האמצעי. חתיכה אחת נלקחה למיקרוטום, ונוספת הועברה ל-FAA לניסויי המשך. חתכי רוחב של הפטורות נעשו בעזרת מיקרוטום החלקה (GSL 1, Switzerland) לעובי של $100-80 \mu\text{m}$. החתכים קובעו בתמיסת FAA במבחנת סנטילציה, ולאחר 48 שעות הועברו לתמיסת אתנול בריכוז 70%.

2.7.4 צביעות היסטולוגיות

2.7.4.1 צביעה דיפרנציאלית

צביעה דיפרנציאלית של החתכים לזיהוי מבנה אנטומי נעשתה באמצעות הצבענים Safranin

ו-Alcian-blue ע"פ הפרוטוקול הבא :

1. שטיפה באלכוהול 50% למשך דקה.
2. צביעה ב-0.1% Safranin (Merck) מהול ב-5% אתנול למשך דקה.
3. צביעה ב-1% Alcian-blue (סיגמא) מהול ב-0.05% חומצה אצטית למשך דקה.
4. שתי שטיפות במים למשך דקה כל אחת.
5. שטיפה באלכוהול 50% למשך דקה.
6. שטיפה באלכוהול 70% למשך דקה, 3-4 פעמים, (עד שלא נצפה צבע הנשטף מהחתכים).
7. שטיפה במים.
8. כיסוי בזכוכית מכסה והסתכלות מיקרוסקופית.

2.7.4.2 צביעת עמילן

צביעה לזיהוי איכותני של צבירת עמילן נעשתה באמצעות צבען IKI (סיגמא) הספציפי לעמילן,

ומאפשר הערכה של רמת צבירת העמילן בחתכים. החתכים הודגרו ב-IKI למשך 5 דקות על

גבי זכוכית נושאת ולאחר מכן נשטפו במים.

2.7.5 צילום וניתוח

תצפיות וצילום החתכים נעשו באמצעות בינוקולר (Olympus szk-7 Tokyo, Japan) המצויד

במצלמה דיגיטלית מובנית (Olympus u-tz 0.5 xc-3, Tokyo, Japan).

2.8. אימונוהיסטוכימיה

2.8.1. צביעת נוגדנים

צביעת נוגדנים לזיהוי רכיבי דופן התא נעשתה על חתכים מדיגום מאי ומדיגום יוני, שלוש חזרות למועד. הצביעה נעשתה באמצעות הנוגדנים הראשוניים: JIM5 (PlantProbes) הנקשר ל-Un-methylesterified-homogalacturonan, JIM7 (PlantProbes) הנקשר ל-Methylesterified homogalacturonan (PlantProbes) LM6, הנקשר לארבינאן.

הצביעה נעשתה ע"פ הפרוטוקול הבא:

1. שטיפה במים למשך 5 דק', 3 פעמים
2. הדגרה ב-PBS/ Phosphate buffered saline (PBS) (סיגמא) Milk powder (MP) לחצי שעה
3. שטיפה ב-PBS למשך 5 דק'
4. הדגרה בנוגדן ראשוני מהול פי חמש למשך הלילה במקרר עם נייר מגבת לח
5. שטיפה ב-PBS למשך 5 דק', 3 פעמים
6. הדגרה עם נוגדן שניוני Anti-rat IgG FITC (סיגמא) מהול פי 100 למשך שעה בטמפ' החדר
7. שטיפה ב-PBS למשך 5 דק', 3 פעמים
8. הדגרה ב-Calcoflour (סיגמא) הנקשר לצלולוז, מהול פי 100 למשך 2 דק'
9. שטיפה ב-PBS למשך 5 דק', 3 פעמים
10. שטיפה ב-PBS עם שתי טיפות Citifluor (EMS)
11. כיסוי והסתכלות

2.8.2. צילום

תצפיות וצילום החתכים נעשו באמצעות מיקרוסקופ פלוארוסנטי (Zeiss LSM700, Germany) המצויד במצלמה דיגיטלית מובנית. בהסתכלות על צביעת קלקופלור נעשה שימוש בפילטר DAPI: אורך גל ערור 380-340 nm, אורך גל פליטה 485-435 nm, זמן חשיפה 20 ms. בהסתכלות על צביעת FITC נעשה שימוש בפילטר FITC: אורך גל ערור 495-465 nm, אורך גל פליטה 555-535 nm, זמן חשיפה 700 ms.

2.9. סטטיסטיקה

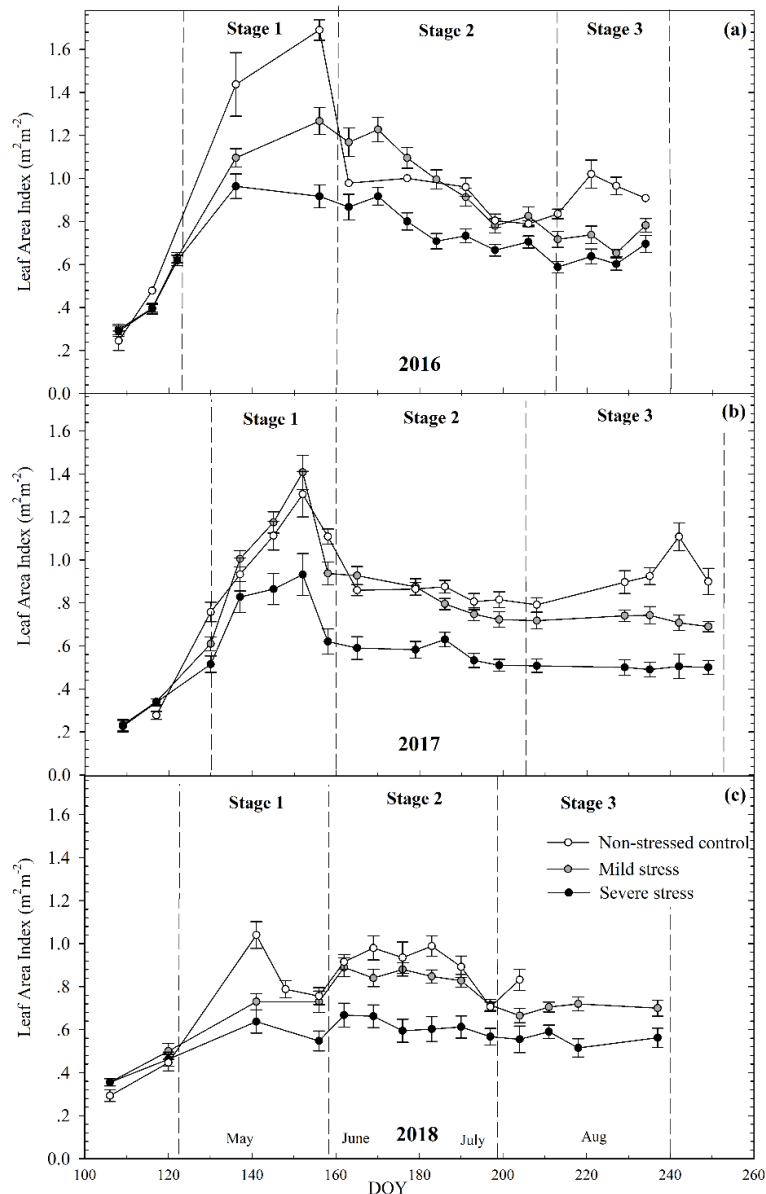
התוצאות נותחו באמצעות אנליזת ANOVA - Analysis of variance בתוכנת JMP (JMP statistical software; SAS institute inc., Cary, NC). בניתוח נתוני האנטומיה של הגזע ושל הזמורות נערך מבחן Student's-t בין הטיפולים. בנוסף, בנתוני האנטומיה של הגזע נערך מבחן דו גורמי (הטיפול והשנה). בעקבות שלילה של השפעת גומלין של הטיפולים והשנה על כל אחד מהמדדים האנטומיים, הוצגו הנתונים כהשפעה נפרדת של כל אחד מהגורמים על הפרמטר הנבדק. בניתוח כלל נתוני הפטוטרות נערך מבחן Tukey-Kramer בין הטיפולים. אותיות שונות באנגלית מציינות מובהקות סטטיסטית כאשר $p < 0.05$.

3.1. השפעת משק המים על מדדים פיסיוולוגיים של גפן היין בתנאי שדה

כדי לבחון את ההבדלים התפקודיים של גפנים אשר טופלו במשטרי השקיה שונים, נמדדו שינויים במדדים פיסיוולוגיים ווגטיביים לאורך עונת הגידול במהלך שנות המחקר 2016-2018.

3.1.1. השפעת זמינות מים על אינדקס שטח העלווה (LAI)

אינדקס שטח העלווה מהווה מדד אמין להתפתחות הווגטיבית של הגפנים. בתוצאות נראתה מגמה דומה בכל שנות המחקר, צמיחה מואצת בשלב I (איור 8), והתייצבות יחסית בשלבים II ו-III. בשנים 2016 (איור 8a) וכן 2018 (איור 8c) נראו הבדלים מובהקים בין הטיפולים השונים, בשנת 2016 נמדדה עלייה חדה בשטח העלווה שהגיע לערך של $1.6 \text{ m}^2\text{m}^{-2}$ בטיפול הביקורת, לעומת זאת בשנת 2018 העלייה היתה מתונה יותר והגיעה לערך של $1 \text{ m}^2\text{m}^{-2}$ בטיפול הביקורת. בשנת 2017 (איור 8b) לא נצפו הבדלים מובהקים בשטח העלווה בין טיפול הביקורת לטיפול העקה המתונה וערכי שטח העלווה נעו בין $1.3-1.4 \text{ m}^2\text{m}^{-2}$, בשלב III נצפה גל צימוח נוסף בצמחי הביקורת שגרם לפערים מובהקים בין הטיפולים. במעבר משלב I לשלב II היתה ירידה בשטח העלווה לכלל הטיפולים בכל שנות המחקר, ירידה זו נבעה מטיפולים אגרוטכניים כגון: שילוב חוטים וקיטום שריגים שהובילו לצמצום שטח העלווה. בשלב II נצפתה ירידה בשטח העלווה לכלל הטיפולים בשנים 2016-2017, כאשר בטיפול העקה החרפה שטח העלווה היה הנמוך ביותר בצורה מובהקת והגיע לערך ממוצע של $0.6 \text{ m}^2\text{m}^{-2}$, בעוד שטח העלווה בטיפול הביקורת ובטיפול העקה המתונה היה גבוה ב-30% והגיע לערך ממוצע של $0.8 \text{ m}^2\text{m}^{-2}$. בשנת 2018 בכלל הטיפולים היתה עלייה מתונה ובעקבותיה התייצבות של שטח העלווה, כאשר שטח העלווה בטיפול הביקורת היה הנמוך ביותר בצורה מובהקת והגיע לערך ממוצע של $0.5 \text{ m}^2\text{m}^{-2}$, בעוד שטח העלווה בטיפול הביקורת ובטיפול העקה המתונה היו גבוהים ב-60% והגיעו לערך ממוצע של $0.8 \text{ m}^2\text{m}^{-2}$. בשלב III בכלל השנים היו הבדלים מובהקים בשטח העלווה בין הטיפולים השונים, כאשר היתה מגמת עלייה קלה בשטח העלווה בטיפול הביקורת והוא עמד על ממוצע של $0.9 \text{ m}^2\text{m}^{-2}$, בעוד שטח העלווה בטיפולי העקות הדגמו מגמת התייצבות תוך שמירה על הבדלים מובהקים בין הטיפולים, כאשר בטיפול העקה המתונה ערכי שטח העלווה ירדו ב-25% והגיעו לערך ממוצע של $0.7 \text{ m}^2\text{m}^{-2}$, ובטיפול העקה החרפה ערכי שטח העלווה ירדו ב-80% מטיפול הביקורת, והגיעו לערך ממוצע של $0.5 \text{ m}^2\text{m}^{-2}$. מנתונים אלו ניתן להסיק כי זמינות מים נמוכה יחד עם טיפולי נוף, גרמה להפחתת שטח העלווה בעיקר החל מסוף שלב I ואילך, כך שככל שהעקה חריפה יותר, שטח העלווה היה מצומצם יותר כתוצאה מהתפתחות ווגטיבית מוגבלת.

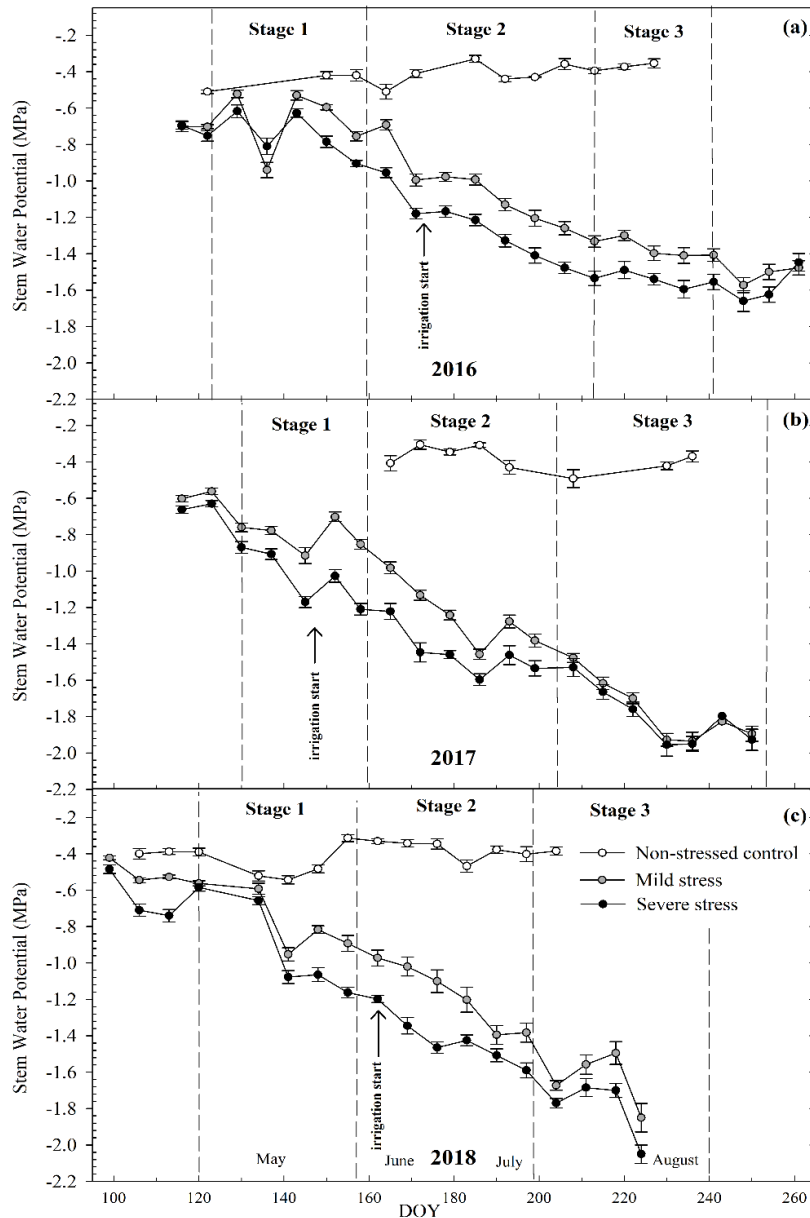


איור מס' 8: מהלך עונתי של אינדקס שטח העלווה בטיפולים השונים במהלך שנות המחקר 2016, 2017, 2018 (a, b, c בהתאמה). בטיפול הביקורת כל נקודה מייצגת ממוצע של 6 גפנים, בטיפולים המועקים כל נקודה מייצגת ממוצע של 12 גפנים. קווי השגיאה האנכיים מייצגים את שגיאת התקן (S.E.) של ממוצעי החזרות. קברנה סוביניון, כרם משק אחיה, קידה. מדידות בסיוע יחזקאל הראש, יוסי שטרן, אלון כץ, בן חזות, אלנתן גולן, דוד שמחי, גלעד גרשמן, אלון חורש, ידידיה סוויד, דניאל מינץ ויאיר היאט.

3.1.2 השפעת זמינות מים על פוטנציאל מים בגזע (בצהרי היום)

פוטנציאל המים בגזע בצהרי היום מהווה מדד רגיש לרמת עקת היובש של הצמח. מהתוצאות ניתן לראות במהלך כלל שנות המחקר (איור 9) כי פוטנציאל המים של טיפול הביקורת היה יציב יחסית לאורך כל העונה ועמד על ערך של -0.4 MPa, בעוד פוטנציאל המים של טיפול העקה המתונה וטיפול העקה החריפה הלכו ונעשו שליליים יותר ככל שהעונה התקדמה, כאשר ברוב העונה ערכי פוטנציאל המים של טיפול העקה המתונה היו גבוהים יותר ב-20%-30 מאשר ערכי פוטנציאל המים של טיפול העקה החריפה. בשנת 2017 (איור 9b) ניתן לראות כי הירידה בפוטנציאל המים של הטיפולים

המועקים היתה חדה יותר ומהירה יותר, ובעקבות ממצאים אלה החלה ההשקיה של טיפול העקה החריפה מוקדם יותר במהלך העונה (יום 145), לעומת שנת 2016 (יום 170) (איור 9a) ושנת 2018 (יום 160) (איור 9c). כהמשך למגמה זו, ניתן לראות כי לקראת שלב III ערכי פוטנציאל המים של טיפול העקה המתונה ושל טיפול העקה החריפה משתווים, ופוטנציאל המים של שני הטיפולים הגיעו לערך של -2 MPa, לעומת הבדלים של 15% בערכי פוטנציאל המים בסוף העונה בשנים 2016, ו-2018. נתונים אלו מצביעים על שנת 2017 כשנה שחונה במיוחד.

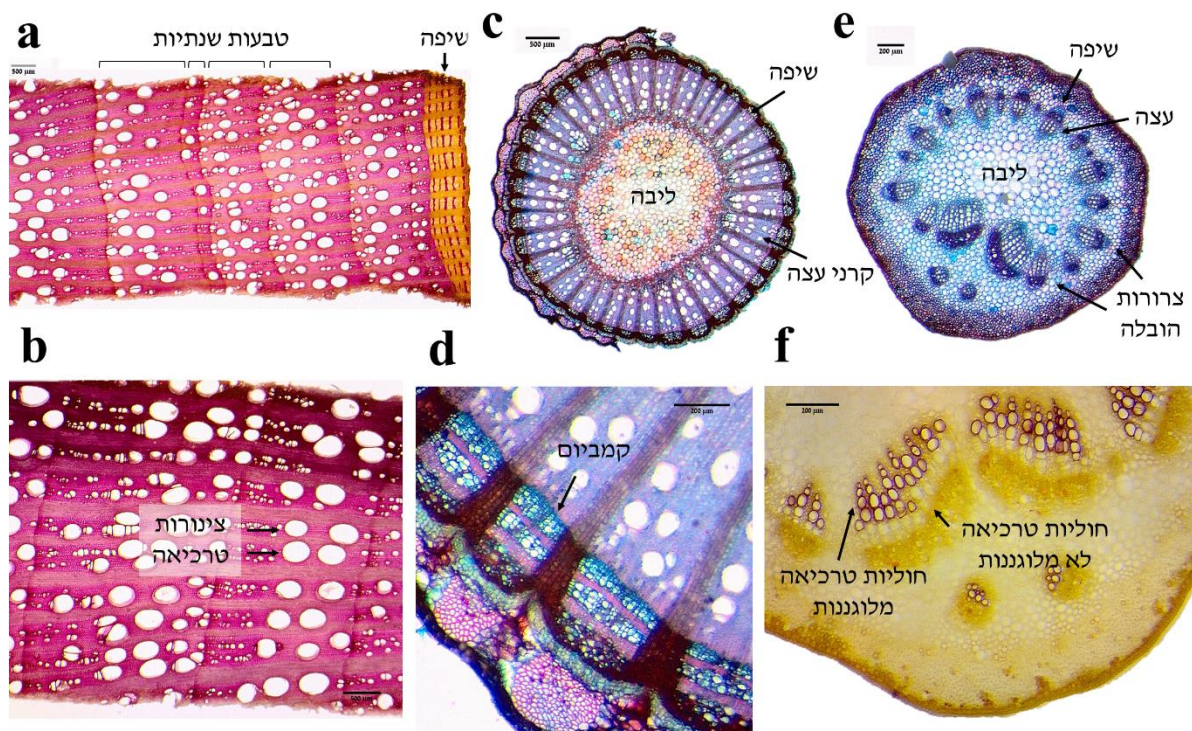


איור מס' 9: מהלך עונתי של פוטנציאל המים בגזע בצהרי היום בטיפולים השונים במהלך שנות המחקר 2016, 2017, 2018 (a, b, c בהתאמה). בטיפול הביקורת כל נקודה מייצגת ממוצע של 6 גפנים, בטיפולים המועקים כל נקודה מייצגת ממוצע של 12 גפנים. קווי השגיאה האנכיים מייצגים את שגיאת התקן (S.E.) של ממוצעי החזרות. קברנה סוביניון, כרם משק אחיה, קידה. מדידות בסיוע יחזקאל הראש, יוסי שטרן, אלון כץ, בן חזות, אלנתן גולן, דוד שמחי, גלעד גרשמן, אלון חורש, ידידיה סוויד, דניאל מינץ ויאיר היאט.

מנתונים אלו ניתן לראות את מצב עקת היובש של הגפנים במהלך שנות המחקר: פוטנציאל המים של טיפול הביקורת אכן נותר ללא שינוי, בעוד טיפולי העקות הדגימו ירידה עקבית לאורך העונה כאשר ככל שהעקה היתה חריפה יותר פוטנציאל המים היה שלילי יותר. בנוסף, ניתן לראות כי בשנת 2017 היתה ירידה תלולה בפוטנציאל המים בטיפולים המועקים כתוצאה מתנאי אקלים קיצוניים.

3.2. השפעת זמינות מים על אנטומיה הידראולית

במטרה להבין את הבסיס המבני של מערכת העצה בגפן היין, בדגש על השפעה רב שנתית של עקת יובש, נבחנו פרמטרים של המערכת ההידראולית בגזע ובזמורות. לצורך כך, בוצעו חתכי רוחב בגזע ובזמורות. החתכים נצבעו בצבען פלורוגלוצינול הספציפי לליגנין המרכיב את חוליות הטרכיאה, ולאחר מכן נותחו המאפיינים של מערכת העצה. לא נלקחו מדדים אנטומיים מטיפול הביקורת על מנת לא לפגוע במדידות צריכת המים הנעשות בגפני הליזמטרים המונות שש גפנים בלבד.



איור מס' 10: חתך רוחב של גזר מגזע בצביעת פלורוגלוצינול לזיהוי ליגנין (a). תקריב של חתך רוחב בגזע (b). חתך רוחב של זמורה בצביעה דיפרנציאלית של אלציאן בלו (כחול) וספרנין (אדום), לזיהוי תאית וליגנין (בהתאמה) (c). תקריב של חתך רוחב בזמורה בצביעה דיפרנציאלית (d). חתך רוחב של פטוטרט בצביעה דיפרנציאלית של אלציאן בלו וספרנין (e). תקריב חתך רוחב של פטוטרט צבועה בפלורוגלוצינול. חוליות הטרכיאה המלוגנות נצבעות בורוד, חוליות טרכיאה שאינן מלוגנות נשארות בהירות (f). קברנה סוביניון 2016-2018, כרם משק אחיה, קידה.

3.2.1. אנטומיה הידראולית של הגזע

מפאת השינויים הדרמטיים בתנאי האקלים בין השנים 2016-2017, נערך ניתוח סטטיסטי דו גורמי שבחן בנפרד את השפעת הטיפולים ואת השפעת עונת המחקר על מדדים אנטומיים. התוצאות מוצגות כהשפעת כל גורם בנפרד לאחר ששללנו השפעות גומלין בין הגורמים.

בהשוואה בין טיפול העקה המתונה ובין טיפול העקה החריפה ניתן לראות כי היו הבדלים מובהקים ברוחב הטבעת השנתית, וכן בשטח, כאשר בטיפול העקה המתונה שטח הטבעת השנתית היה גדול ב-40% מאשר בטיפול העקה החריפה (טבלה 1). צפיפות הטרכיאות הקטנות ($<100 \mu\text{m}$) נעה בין 27.1-28.6 טרכיאות לממ"ר, וצפיפות הטרכיאות הגדולות ($>100 \mu\text{m}$) נעה בין 5.4-5.7 טרכיאות לממ"ר, כאשר הצפיפות בטרכיאות הקטנות ובטרכיאות הגדולות היתה גבוהה יותר בטיפול העקה המתונה, אך הבדל זה לא היה מובהק סטטיסטית. הקוטר הממוצע של הטרכיאות הגדולות ($>100 \mu\text{m}$) היה גדול ב-20% בטיפול העקה המתונה מאשר בטיפול העקה החריפה ועמד על $196.3 \mu\text{m}$. ההבדל בין הקוטר הממוצע של הטרכיאות הקטנות ($<100 \mu\text{m}$) בטיפולים השונים לא היה מובהק. הולכת המים התיאורטית הכוללת לטבעת שנתית היתה גבוהה יותר פי 3 בטיפול העקה המתונה ועמדה על $0.092 \text{ kg}\cdot\text{m}^1\cdot\text{Mpa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. מנתונים אלו עולה כי זמינות מים נמוכה הנובעת

טבלה מס' 1: מדדים אנטומיים בטיפולי ההשקיה השונים. הנתונים מייצגים מדידות שבוצעו בחתכי רוחב בגזע עבור 12 גפנים. אותיות שונות באנגלית מציינות מובהקות סטטיסטית ע"פ מבחן Student's t ברמת מובהקות של $p < 0.05$. קברנה סוביניון 2016-2017, כרם משק אחיה, קידה.

טיפול/ שנה	רוחב טבעת שנתית (μm)	שטח טבעת שנתית (ממ"ר)	צפיפות טרכיאות קטנות ($<100 \mu\text{m}$) (מס'/ממ"ר)	צפיפות טרכיאות גדולות ($>100 \mu\text{m}$) (מס'/ממ"ר)	קוטר טרכיאות קטנות (μm)	קוטר טרכיאות גדולות (μm)	הולכת מים תיאורטית כוללת לטבעת שנתית ($\text{kg}\cdot\text{m}^1\cdot\text{Mpa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$)
Mild Stress	1697 A	282 A	28.6	5.7	32	196.3 A	0.092 A
Severe Stress	1267 B	201 B	27.1	5.4	34.9	164.8 B	0.033 B
p-Value	<0.0293	<0.0248	n.s.	n.s.	n.s.	<0.0012	<0.0021
2016	1998 A	320 A	29.8	5.9	32.5	179.1	0.083 A
2017	966 B	164 B	25.9	5.2	34.4	181.9	0.042 B
p-Value	<0.0002	<0.0006	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0.0174

מתחילת השקיה מאוחרת גרמה ליצירת מערכת הידראולית מוגבלת בגזע, הן בצמצום שטח הטבעת השנתית, והן בהקטנת קוטר הטרביאות הגדולות.

בהשוואה בין עונת 2016 לעונת 2017 ניתן לראות כי ממוצע רוחב ושטח הטבעת השנתית של שני הטיפולים יחד היה גדול פי 2 בשנת 2016 לעומת 2017, ושטח הטבעת השנתית עמד על 320 ממ"ר בשנת 2016 לעומת 164 ממ"ר בשנת 2017. צפיפות הטרביאות הקטנות ($100 \mu\text{m}$) נעה בין 29.8-25.9 טרכיאות לממ"ר, וצפיפות הטרביאות הגדולות ($100 \mu\text{m}$) נעה בין 5.9-5.2 טרכיאות לממ"ר, כאשר הצפיפות בטרביאות הקטנות ובטרביאות הגדולות היתה גבוהה יותר בשנת 2016, אך הבדל זה לא היה מובהק סטטיסטית. ההבדל בקוטר הממוצע של הטרביאות הגדולות ($100 \mu\text{m}$) בין השנים לא היה מובהק ונע בין 181.9 - $179.1 \mu\text{m}$, כמו כן, הקוטר הממוצע של הטרביאות הקטנות ($100 \mu\text{m}$) לא היה מובהק ונע בין 34.4 - $32.5 \mu\text{m}$. הולכת המים התיאורטית הכוללת לטבעת שנתית היתה גבוהה יותר פי 2 בשנת 2016 ועמדה על $0.083 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{Mpa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. מנתונים אלו עולה כי זמינות מים נמוכה הנובעת מתנאי אקלים קיצוניים גרמה ליצירת מערכת הידראולית מוגבלת בגזע בייחוד בצמצום שטח הטבעת השנתית, וכן נראתה מגמה של צפיפות טרכיאות נמוכה יותר, אך ללא מובהקות סטטיסטית.

3.2.2. אנטומיה הידראולית של הזמורות

מנתוני הזמורות עולה כי קוטר הזמורה בטיפול העקה המתונה היה גדול ב-10% מאשר בטיפול העקה החריפה ועמד על $7132 \mu\text{m}$ (טבלה 2). במקביל, לא היה הבדל מובהק בקוטר הליבה בין טיפול העקה החריפה ובין טיפול העקה המתונה והוא נע בין 2682 - $2623 \mu\text{m}$. בהתאמה לנתונים

טבלה מס' 2: מדדים אנטומיים בטיפולי ההשקיה השונים. הנתונים מייצגים מדידות שבוצעו בחתכי רוחב בזמורה עבור 12 גפנים. אותיות שונות באנגלית מציינות מובהקות סטטיסטית ע"פ מבחן Student's t ברמת מובהקות של $p < 0.05$. קברנה סוביניון 2016, כרם משק אחיה, קידה.

מוליכות הידראולית לזמורה ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{Mpa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$)	קוטר טרכיאות גדולות (μm)	קוטר טרכיאות קטנות (μm)	צפיפות טרכיאות גדולות ($>30 \mu\text{m}$) (מס'/ממ"ר)	צפיפות טרכיאות קטנות ($<30 \mu\text{m}$) (מס'/ממ"ר)	שטח עצה (ממ"ר)	קוטר ליבה (μm)	קוטר זמורה (μm)	טיפול
9.74E-04 A	66.02 A	9.08	84.5	32.3	34.4 A	2682	7132.5 A	Mild Stress
6.79E-04 B	61.54 B	8.79	79.1	30.7	27.4 B	2623	6447.3 B	Severe Stress
<0.0427	<0.0414	n.s.	n.s.	n.s.	<0.0362	n.s.	<0.0411	p- Value

אלה, ניתן לראות כי שטח העצה בטיפול העקה המתונה היה גדול ב-25% מאשר שטח העצה בטיפול העקה החריפה ועמד על 34.4 מ"ר.

צפיפות הטרכיאות הקטנות ($<30 \mu\text{m}$) נעה בין 79.1-84.5 טרכיאות לממ"ר, וצפיפות הטרכיאות הגדולות ($>30 \mu\text{m}$) נעה בין 30.7-32.3 טרכיאות לממ"ר, כאשר הצפיפות בטרכיאות הקטנות ובטרכיאות הגדולות היתה גבוהה יותר בטיפול העקה המתונה, אך הבדל זה לא היה מובהק סטטיסטית. הקוטר הממוצע של הטרכיאות הגדולות ($>30 \mu\text{m}$) היה גדול ב-7% בטיפול העקה המתונה מאשר בטיפול העקה החריפה ועמד על $66.02 \mu\text{m}$. ההבדל בין הקוטר הממוצע של הטרכיאות הקטנות ($<30 \mu\text{m}$) בטיפולים השונים לא היה מובהק. הולכת המים התיאורטית הכוללת לזמורה היתה גבוהה יותר ב-40% בטיפול העקה המתונה ועמדה על $9.74\text{E-}04 \text{ kg}\cdot\text{m}^1\cdot\text{Mpa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. ניתן להסיק מנתונים אלו כי הגורמים העיקריים שהשפיעו על הקטנת המוליכות ההידראולית לזמורה בעקת יובש חריפה הם צמצום שטח הטבעת השנתית והקטנת קוטר הטרכיאות הגדולות.

3.3. השפעת זמינות מים על שינויים עונתיים בפטוטרות

פטוטרות מהוות חלק מהעלים, והן נוצרות במהלך העונה ובשל כך רגישותן הגבוהה לשינויים סביבתיים ולמשק המים. בשל כך נערכו שלושה דיגומים בשלבים פנולוגיים שונים במהלך העונה (פריחה, בוחל, לקראת בציר), בכדי ללמוד מהן השפעות עקת היובש על שינויים מבניים וכן על שינויים במרכיבי הדופן בפטוטרות.

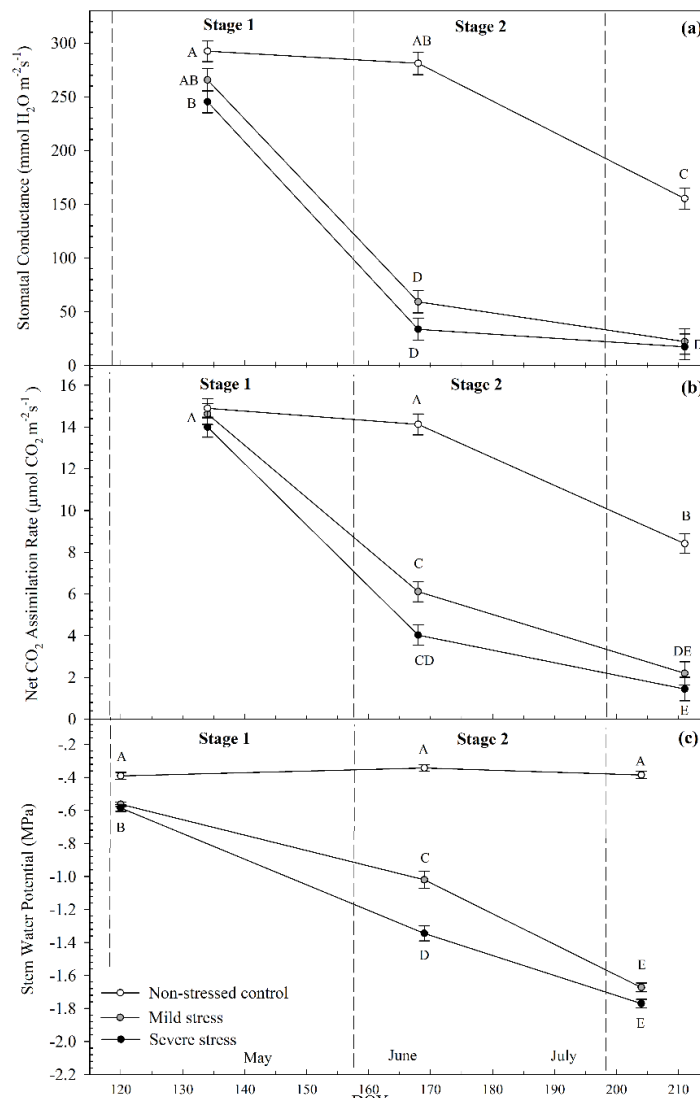
3.3.1. השפעת זמינות מים על מדדים פיסיוולוגיים של גפן היין בתנאי שדה

בכדי לתאר את השינויים התפקודיים של גפן היין מהזן 'קברנה סובינוו' ברמות השקיה שונות בשלבים שונים במהלך העונה, נמדדו שינויים פיסיוולוגיים לאורך עונת הגידול 2018. לשם כך, נמדדו קצב קיבוע הפחמן ומוליכות הפיוניות באמצעות מכשיר Li-cor 6400. כמו כן, במקביל נמדדו ערכי פוטנציאל המים בגזע בצהרי היום באמצעות תא לחץ.

3.3.1.1. השפעת זמינות מים על מוליכות הפיוניות

מהתוצאות עולה כי בשלב I קצב הדיות של הצמח הוא הגבוה ביותר כפי שהדבר בא לידי ביטוי בערכי מוליכות הפיוניות, כאשר הערכים נעו בין $300\text{-}240 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. בטיפול הביקורת מוליכות הפיוניות היתה הגבוהה ביותר בצורה מובהקת, וככל שהעקה היתה חריפה יותר המוליכות קטנה (איור 11a). בשלב II בטיפול העקה מוליכות הפיוניות היתה קטנה פי 5 ועמדה על ערך של $60\text{-}40 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, בעוד מוליכות הפיוניות בטיפול הביקורת ירדה

רק במעט ועמדה על ערך של $280 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. בשלב III מוליכות הפיוניות בטיפול העקה ירדה במעט, ובטיפול הביקורת ירדה פי 1.75 לערך של $160 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. מנתונים אלו עולה כי נראתה ירידה במוליכות הפיוניות במהלך עונת הגידול לכלל הטיפולים כחלק מההתפתחות הביולוגית של הגפן והזדקנות העלווה, יחד עם זאת כבר בתחילת העונה ניתן לראות כי ככל שהטיפול מועק יותר, כך מוליכות הפיוניות קטנה. כמו כן, ככל שהעונה מתקדמת וזמינות המים פוחתת, מוליכות הפיוניות קטנה לרמת ביצועים נמוכה מאוד המעידה על עקת יובש משמעותית.



איור מס' 11: תיאור מדדי חילוף גזים ומשק המים במהלך עונת 2018. מהלך עונתי של מוליכות הפיוניות בצהרי היום בטיפולי ההשקיה השונים (a). מהלך עונתי של קצב קיבוע הפחמן בצהרי היום בטיפולי ההשקיה השונים (b). מהלך עונתי של פוטנציאל המים בגזע בצהרי היום בטיפולי ההשקיה השונים (c). בטיפול הביקורת כל נקודה מייצגת ממוצע של 6 גפנים, בטיפולים המועקים כל נקודה מייצגת ממוצע של 12 גפנים. קווי השגיאה האנכיים מייצגים את שגיאת התקן (S.E.) של הממוצעים. נערך מבחן דו גורמי (טיפול X מועד) ונמצאה השפעת גומלין, בשל כך התוצאות מוצגות כך שאותיות שונות באנגלית מציינות מובהקות סטטיסטית עבור כל שילוב של טיפול ומועד בנפרד ע"פ מבחן Tukey-Kramer ברמת מובהקות של $p < 0.05$. קברנה סוביניון, כרם משק אחיה, קידה.

3.3.1.2 השפעת זמינות מים על קצב קיבוע הפחמן

ניתן לראות כי בשלב I היתה הרמה הגבוהה ביותר של קצב קיבוע הפחמן לכלל הטיפולים והערך עמד על $15 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (איור 11b). בשלב II קצב קיבוע הפחמן ירד משמעותית בטיפולי העקה: בטיפול העקה המתונה קצב קיבוע הפחמן קטן פי 2.5 מהערך ההתחלתי ועמד על ערך של $6 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, ובטיפול העקה החריפה קצב קיבוע הפחמן קטן פי 3.5 ועמד על ערך של $4 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, בעוד קצב קיבוע הפחמן בטיפול הביקורת נשאר באותה רמה. בשלב III היתה ירידה בקצב קיבוע הפחמן לכלל הטיפולים, כאשר קצב קיבוע הפחמן בטיפול הביקורת ירד פי 1.75 לערך של $8 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, ובטיפולי העקה ירד לערך של $2 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. מנתונים אלו עולה כי היתה ירידה בקצב קיבוע הפחמן לקראת סוף עונת הגידול לכלל הטיפולים כחלק מההתפתחות הביולוגית של הגפן, יחד עם זאת במהלך העונה ניתן לראות כי ככל שזמינות המים היתה נמוכה יותר, כך קצב קיבוע הפחמן ירד.

3.3.1.3 השפעת זמינות מים על פוטנציאל מים בגזע (בצהרי היום)

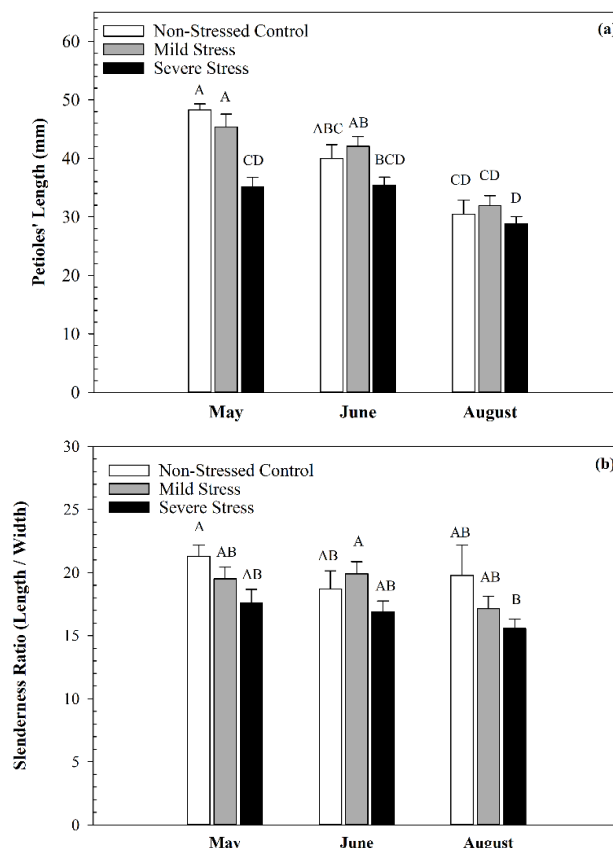
ניתן לראות כי פוטנציאל המים של טיפול הביקורת נשאר יציב לאורך כל העונה ועמד על ערך של -0.4 MPa (איור 11c). במקביל, כבר בשלב I נמדדו בטיפולי העקה ערכי פוטנציאל מים נמוכים יותר ב-50% ועמדו על ערך של -0.6 MPa . בשלב II ערכי פוטנציאל המים של טיפול העקה המתונה ירדו ב-70% ועמדו על ערך של -1 MPa , בעוד ערכי פוטנציאל המים של טיפול העקה החריפה ירדו פי 2 ועמדו על ערך של -1.3 MPa . בשלב III ערכי פוטנציאל המים של העקה המתונה והעקה החריפה ירדו ב-40% וב-80% בהתאמה, ועמדו על -1.8 MPa , כאשר ההבדלים בין ערכי פוטנציאל המים של הטיפולים המועקים הצטמצמו. באופן כללי ניתן לומר כי טיפול הביקורת הדגים פוטנציאל מים יציב לכל אורך העונה ללא כל אינדיקציה לעקת יובש כלשהי, בעוד בטיפולי העקות נצפתה ירידה בערכי פוטנציאל המים במהלך העונה, כאשר בשלב II נמדדו ערכי פוטנציאל מים נמוכים יותר לטיפול העקה החריפה.

3.3.2 השפעת זמינות מים על המורפולוגיה של הפטוטרות

על מנת לבחון את השפעת זמינות המים על המאפיינים המבניים של הפטוטרות, נדגמו פטוטרות בשלושה מועדים שונים במהלך העונה ונבחנו הפרמטרים המורפולוגיים שלהן. ניתן לראות כי כבר בדיגום בתחילת העונה בטיפול העקה החריפה אורך הפטוטרת היה קצר ב-30% ביחס לטיפול הביקורת ולטיפול העקה המתונה והוא עמד על 35 mm (איור 12a). בדיגום של אמצע העונה אורך הפטוטרת בטיפולי הביקורת ובטיפולי העקה המתונה ירד והוא נע בין $40-42 \text{ mm}$, אך עדין נשמר

הבדל של 15% לעומת אורך הפטוטרת בעקה החריפה שנוטר יציב באורך של 35 mm. בדיגום סוף העונה הצטמצמו ההבדלים באורך הפטוטרת בין הטיפולים השונים, והם נעו בין 28-32 mm. מנתונים אלו ניתן לראות כי בדיגום תחילת העונה ככל שהטיפול היה מועק יותר כך אורך הפטוטרת היה קצר יותר, אך ככל שהעונה התקדמה ההבדלים הצטמצמו והפטוטרות שנוצרו מאוחר יותר היו קצרות יותר ללא קשר מובהק לזמינות המים.

ניתן לראות כי בדיגום תחילת העונה יחס התמירות של טיפול העקה החריפה היה הנמוך ביותר ועמד על ערך של 18, כאשר ככל שעקת היובש פחתה, יחס התמירות היה גבוה יותר (איור 12b). בדיגום של אמצע העונה נמשכה המגמה של יחס התמירות בטיפול העקה החריפה והוא נשאר הנמוך ביותר ועמד על ערך של 17, כאשר בטיפול העקה המתונה וטיפול הביקורת ערכי יחס התמירות נעו בין 19-20. בדיגום סוף העונה יחס התמירות של העקה החריפה נשאר הנמוך ביותר ועמד על ערך של 15, וככל שהעקה פחתה יחס התמירות היה גבוה יותר וערכיו נעו בין 17-19 לטיפול העקה המתונה ולטיפול הביקורת בהתאמה, אולם ללא מובהקות סטטיסטית. מנתונים אלו ניתן לראות כי ככל שהטיפול היה פחות מועק כך יחס התמירות היה גדול יותר לאורך עונת הגידול.

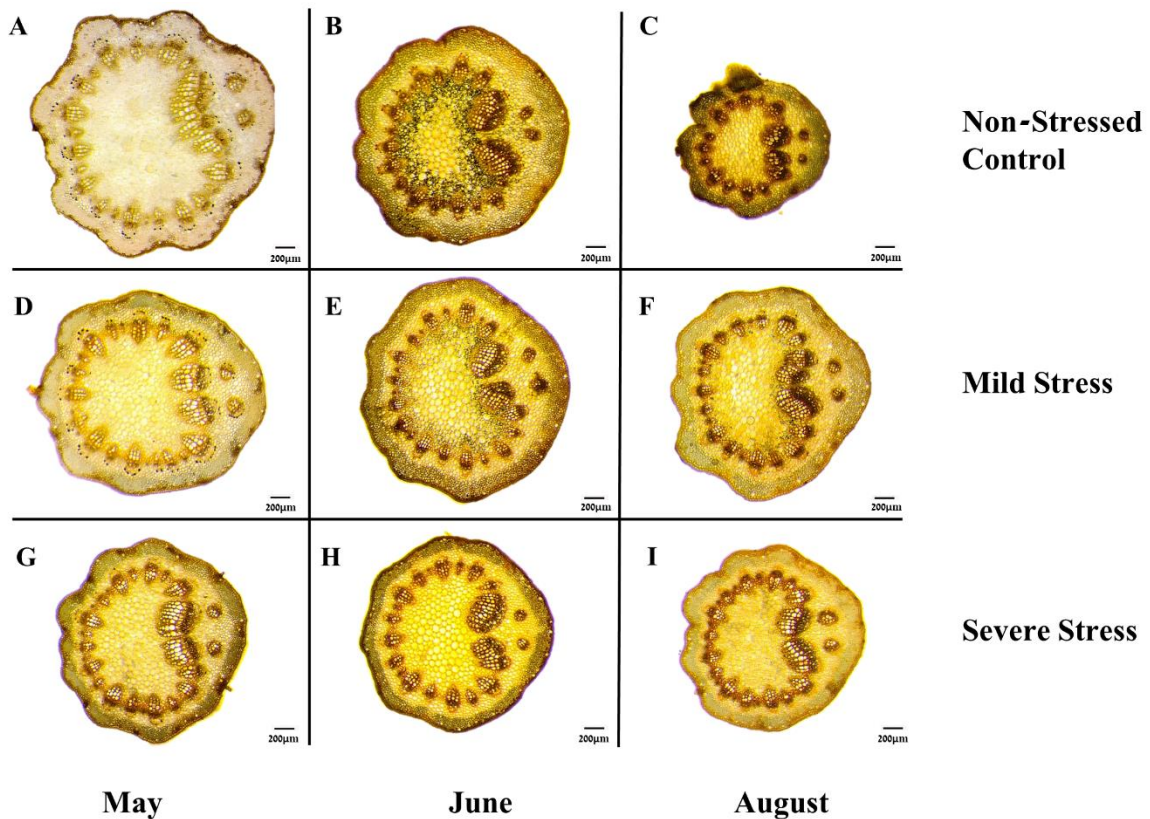


איור מס' 12: מדדים מורפולוגיים של הפטוטרות בטיפולים השונים במהלך עונת 2018. אורך הפטוטרת בטיפול ההשקיה השונים במהלך העונה (a). יחס התמירות של הפטוטרות בטיפול ההשקיה השונים במהלך העונה (b). כל עמודה מייצגת ממוצע של 5 פטוטרות, קווי השגיאה האנכיים מייצגים את שגיאת התקן (S.E.) של הממוצעים. אותיות שונות באנגלית מציינות מובהקות סטטיסטית ע"פ מבחן Tukey-Kramer ברמת מובהקות של $p < 0.05$. קברנה סוביניון, כרם משק אחיה, קידה.

3.3.3 השפעת זמינות מים על אגירת עמילן

בכדי להבין את המהלך העונתי של צבירת העמילן בפטוטרות כתלות בזמינות המים, נעשו חתכי רוחב שנצבעו בצבען IKI הספציפי לעמילן.

מהתוצאות ניתן לראות כי בתחילת העונה נוצר גרדיינט של רמת הצביעה בהתאם לטיפול ההשקיה (איור 13A,D,G), כאשר בטיפול העקה החרیפה צביעת העמילן היתה החזקה ביותר, בטיפול העקה המתונה צביעת העמילן היתה חלשה יותר, ובטיפול הביקורת צביעת העמילן היתה חלשה ביותר. באמצע העונה ניתן לראות כי רמת הצביעה עלתה בכלל הטיפולים (איור 13B,E,H), כאשר בטיפול העקה החריפה רמת צביעת העמילן התחזקה אך במעט, בטיפול העקה המתונה רמת הצביעה עלתה במידה בינונית, ובטיפול הביקורת רמת צביעת העמילן עלתה בצורה דרמטית וניתן להבחין בהצטברות עמילנית באזור הליבה. בסוף העונה ניתן להבחין בירידה קלה ברמת צביעת העמילן בחלק החיצוני של פרנכימת הליבה בכלל הטיפולים (איור 13C,F,I), כאשר בטיפול הביקורת רמת צביעת העמילן נותרה החזקה ביותר, ובטיפולים המועקים רמת צביעת העמילן חלשה במעט. מהתוצאות עולה כי בתחילת העונה בטיפול העקה החריפה נצפתה צבירת עמילן מוגברת, וככל שהעונה התקדמה צבירת העמילן עלתה בכלל הטיפולים. בנוסף, באמצע העונה זמינות מים בלתי מוגבלת גרמה לעלייה משמעותית בצבירת העמילן ביחס לתחילת העונה.



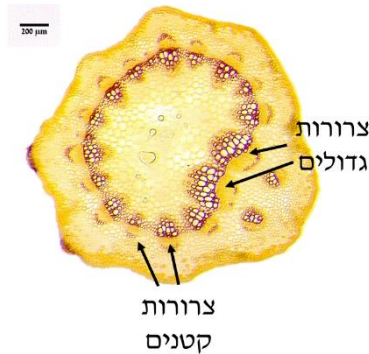
איור מס' 13: חתכי רוחב של פטוטרות בצביעת IKI הספציפי לעמילן, בטיפולים השונים בשלושה מועדי דיגום 2018. קברנה סוביניון, כרם משק אחיה, קידה.

3.3.4 השפעת זמינות מים על האנטומיה ההידראולית של הפטוטרות

במטרה להבין את ההשתנות העונתית של מערכת העצה בפטוטרות גפן היין, בדגש על השפעת עקת יובש, נבחנו פרמטרים של המערכת ההידראולית בפטוטרות. לצורך כך, נעשו חתכי רוחב אשר נצבעו בצבען פלורוגלוצינול הספציפי לליגנין, ולאחר מכן נותחו המאפיינים של מערכת העצה.

3.3.4.1 מספר טרכיאות לצרור גדול

בהיקף הפטוטרות ישנם 3-5 צרורות הובלה גדולים בעלי המוליכות ההידראולית המשמעותית



איור מס' 14: חתך רוחב של פטוטרות בצביעת פלורוגלוצינול. קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.

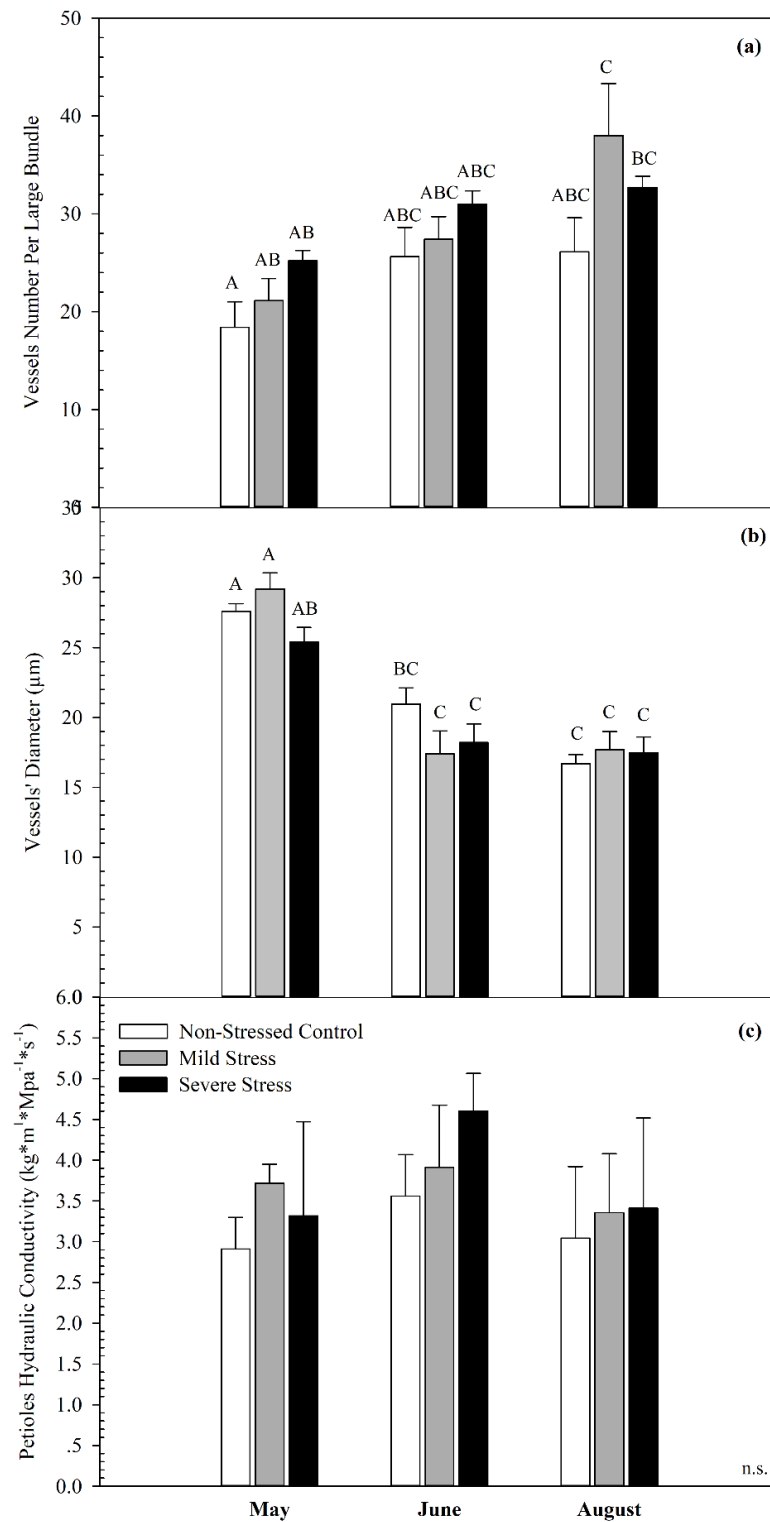
ביותר, וכן כ-20 צרורות קטנים (איור 14). בכל חתך רוחב נמדדו מס' הטרכיאות בצרור הגדול. מהתוצאות עולה כי בתחילת העונה מס' הטרכיאות בצרור בטיפול הביקורת היה הנמוך ביותר ועמד על 18 (איור 15a), בעוד מס' הטרכיאות בצרור בטיפול העקה המתונה היה גדול ב-20% ועמד על 22, ובטיפול העקה החריפה היה גדול ב-40% ועמד על 25. באמצע העונה בכלל הטיפולים גדל מס' הטרכיאות בצרור תוך שמירה על המגמה מתחילת העונה, אך בצורה שאינה מובהקת סטטיסטית. מס' הטרכיאות בצרור בטיפול הביקורת היה הנמוך ביותר ועמד על 26, בעוד מס' הטרכיאות בצרור בטיפול העקה המתונה היה גבוה במעט ועמד על 27, ומס' הטרכיאות בצרור בטיפול העקה החריפה עמד על 31. בסוף העונה, מס' הטרכיאות בצרור בטיפול הביקורת נשאר הנמוך ביותר ועמד על 26, כאשר מס' הטרכיאות בצרור בטיפול העקה החריפה היה גבוה ב-20% ועמד על 32, ומס' הטרכיאות בצרור בעקה המתונה היה גבוה ב-45% ועמד על 38. מכלל הנתונים עולה כי לאורך העונה זמינות מים גבוהה השפיעה על מס' נמוך של טרכיאות בצרור הגדול, וככל שעקת היובש החריפה מס' הטרכיאות בצרור הגדול עלה.

3.3.4.2. קוטר טרכיאות

בכל חתך רוחב נמדד קוטר הטרכיאות הממוצע. ניתן לראות כי בתחילת העונה קוטר הטרכיאות בטיפול העקה החריפה היה הנמוך ביותר ועמד על ערך של $25 \mu\text{m}$ (איור 15b), בעוד קוטר הטרכיאות בטיפול העקה המתונה ובטיפול הביקורת היה גבוה ב-15% ונע בין $28-29 \mu\text{m}$. באמצע העונה נצפתה מגמה של ירידה בקוטר הטרכיאות בכלל הטיפולים, כאשר ככל שהעקה חריפה יותר כך שיעור הירידה חד יותר. קוטר הטרכיאות בטיפול הביקורת ירד ב-30% ועמד על $21 \mu\text{m}$, אך נשאר ברמת מובהקות גבוהה יותר מאשר הטיפולים המועקים. בעוד קוטר הטרכיאות בטיפול העקה המתונה ירד ב-40% ועמד על $18 \mu\text{m}$, ובטיפול העקה החריפה ירד קוטר הטרכיאות ב-60% ועמד אף הוא על $18 \mu\text{m}$. בסוף העונה ההבדלים הצטמצמו וקוטר הטרכיאות בכלל הטיפולים נעו בין $17-19 \mu\text{m}$ באותה רמת מובהקות סטטיסטית. מכלל הנתונים עולה כי בתחילת העונה בטיפול העקה החריפה נצפה קוטר טרכיאות נמוך, וככל שהעונה התקדמה, קוטר הטרכיאות נהיה צר בכלל הטיפולים ללא קשר לזמינות המים.

3.3.4.3. מוליכות הידראולית של הפטוטרות

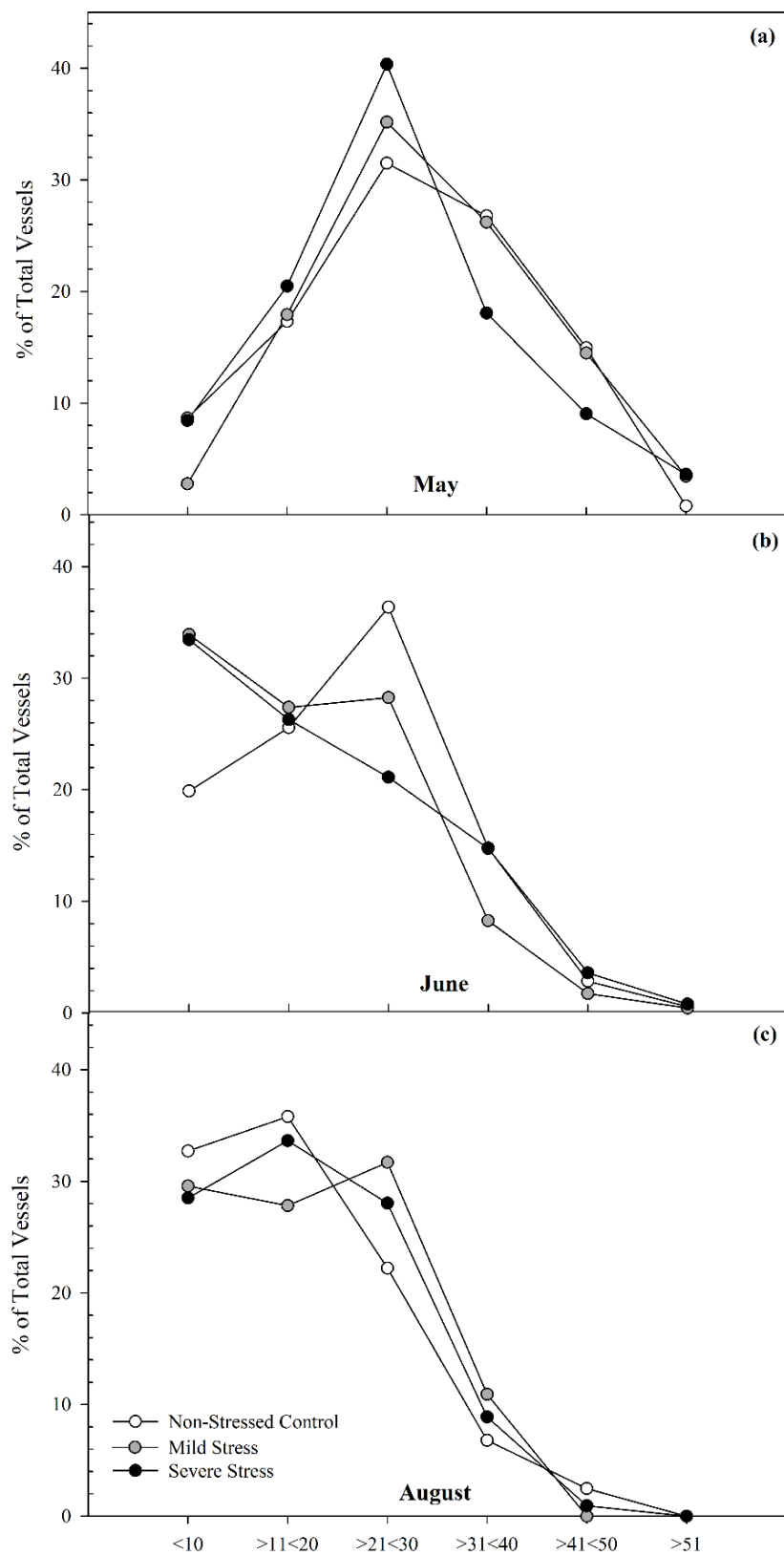
בכל חתך חושבה המוליכות ההידראולית התאורטית לפטוטרות (איור 15c). ניתן לראות כי סטיות התקן היו גדולות, ולא היתה מובהקות סטטיסטית של המוליכות ההידראולית כתגובה לזמינות המים בפטוטרות ולמועד הדיגום.



איור מס' 15: מדדי אנטומיה הידראולית בפטוטרת בטיפולי ההשקיה השונים במהלך עונת 2018. כל עמודה מייצגת ממוצע של 5 פטוטרות, קווי השגיאה האנכיים מייצגים את שגיאת התקן (S.E.) של הממוצעים. אותיות שונות באנגלית מציינות מובהקות סטטיסטית ע"פ מבחן Tukey-Kramer ברמת מובהקות של $p < 0.05$. מספר טרכיאות ממוצע בצרור הגדול בפטוטרת (a). קוטר טרכיאות ממוצע של צרור גדול + צרור קטן בפטוטרת (b). מוליכות הידראולית לפטוטרת (c). קברנה סוביניון, כרם משק אחיה, קידה.

3.3.4.4 התפלגות גודל הטרכיאות בפטורות

במטרה להבין את השפעת זמינות המים חושבה התפלגות הטרכיאות בקבוצות הגודל השונות. מהתוצאות עולה כי בתחילת העונה היתה מגמה דומה של עקומת פעמון לכלל טיפולי ההשקיה (איור 16a), כאשר קבוצת הגודל הבינונית של הטרכיאות $21\text{--}30\ \mu\text{m}$ היתה המשמעותית ביותר והיא היוותה 30-40% מכלל הטרכיאות. בטיפול העקה החריפה נראית מגמה של הטיה מסוימת לכיוון הטרכיאות מקבוצות הגודל הקטנות מאשר בטיפול העקה המתונה ובטיפול הביקורת. בטיפול העקה החריפה הטרכיאות מקבוצות הגודל הגדולות $41\text{--}50\ \mu\text{m}$ וכן $31\text{--}40\ \mu\text{m}$ היו נמוכות ב-40% מאשר בטיפול העקה המתונה ובטיפול הביקורת. באמצע העונה, בכלל הטיפולים החלה מגמה של הטיה משמעותית לכיוון הטרכיאות מקבוצות הגודל הקטנות (איור 16b), עם זאת, טיפול הביקורת הדגים מצב ביניים בין הטיה לטרכיאות מקבוצות הגודל הבינוניות לקטנות. בטיפול העקה המתונה ובטיפול העקה החריפה הטרכיאות מקבוצות הגודל הקטנה ביותר $10\ \mu\text{m}$ < היתה השכיחה ביותר, והיוותה 35% מכלל הטרכיאות, בעוד בטיפול הביקורת הטרכיאות מקבוצת גודל זו היתה קטנה ב-70% ועמדה על 20% מכלל הטרכיאות. באופן דומה, הטרכיאות בקבוצת הגודל הבינונית $21\text{--}30\ \mu\text{m}$ היוו 20-30% מכלל הטרכיאות בטיפולים המועקים, אך בטיפול הביקורת קבוצה זו היתה גדולה ב-50% והיוותה 38% מכלל הטרכיאות. כמו כן, בכלל הטיפולים הטרכיאות של קבוצת הגודל $41\text{--}50\ \mu\text{m}$ ירדה פי 3 מתחילת העונה והיוותה 5% בלבד מכלל הטרכיאות. בסוף העונה בכלל הטיפולים התחדדה המגמה של הטיה לטרכיאות מקבוצות הגודל הקטנות (איור 16c), כאשר רק 10% מכלל הטרכיאות היו בקבוצות הגודל הגדולות מ- $30\ \mu\text{m}$. בטיפול הביקורת ובטיפול העקה החריפה, הטרכיאות מקבוצת הגודל $11\text{--}20\ \mu\text{m}$ היוו את הקבוצה השכיחה ביותר בערך של 35% מכלל הטרכיאות, בעוד שבטיפול העקה המתונה הטרכיאות מקבוצת הגודל $21\text{--}30\ \mu\text{m}$ היוותה את הקבוצה השכיחה ביותר בערך של 30% מכלל הטרכיאות. מנתונים אלו ניתן לראות כי ככל שעונת הגידול התקדמה, כך עלתה שכיחות הטרכיאות הקטנות ללא קשר לזמינות המים, יחד עם זאת, זמינות מים בלתי מוגבלת גרמה לעיכוב במגמה זו.



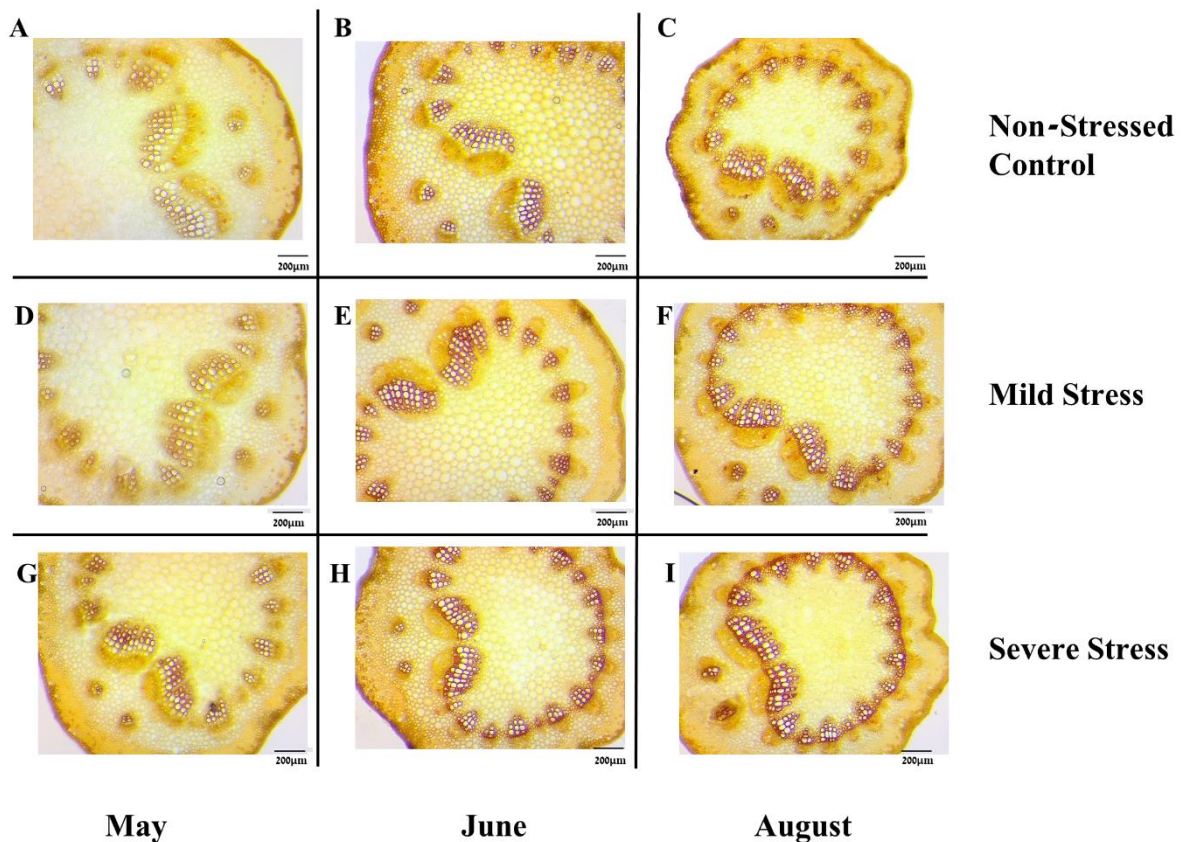
איור מס' 16: התפלגות קוטר הטרביאות בפטוטרות לקבוצות גודל שונות, בטיפולי ההשקיה השונים בחודש מאי (a), בחודש יוני (b), ובחודש אוגוסט (c) במהלך עונת 2018. בסה"כ נמדדו למעלה מ-1,700 טרכיאות בכלל הטיפולים בשלושת המועדים. קברנה סוביניון, כרם משק אחיה, קידה.

3.3.5 השפעת זמינות מים על מרכיבי דופן התא בפטוטרות

במטרה להעריך את השתנות מרכיבי דופן התא בפטוטרות כתגובה נקודתית לעקת יובש במהלך העונה, נעשו צביעות היסטולוגיות לזיהוי ליגנין, וכן צביעות אימונוהיסטוכימיות למיקום ולזיהוי פקטינים בדופן התא.

3.3.5.1 השפעת זמינות מים על התעבות משנית של חוליות הטרכיאה

בכדי לבחון את השפעת זמינות המים על ההתעבות המשנית של דופן התא בחוליות הטרכיאה במהלך העונה, נצבעו החתכים בפלורוגלוצינול הספציפי לליגנין. ניתן לראות כי בתחילת העונה היתה צביעה חלשה יחסית של חוליות הטרכיאה בכלל הטיפולים (איור 17A,D,G), יחד עם זאת, חוליות הטרכיאה של טיפול העקה החריפה נצבעו חזק יותר מאשר חוליות הטרכיאה בטיפול העקה המתונה ובטיפול הביקורת. באמצע העונה (איור 17B,E,H) ובסוף העונה (איור 17C,F,I) נראתה מגמה דומה של עלייה ברמת הצביעה של חוליות הטרכיאה בכלל הטיפולים ללא קשר לזמינות המים. מהתוצאות עולה כי בתחילת העונה בטיפול העקה החריפה נצפתה רמה גבוהה של ליגנין בחוליות הטרכיאה, כאשר בהמשך העונה רמת הליגנין בחוליות הטרכיאה עלתה ללא תלות בזמינות המים.

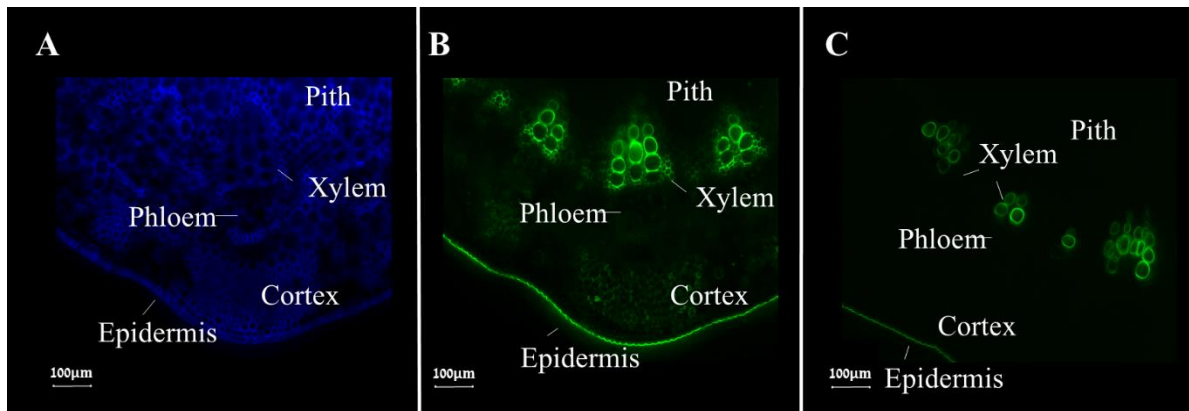


איור מס' 17: חתכי רוחב של פטוטרות בצביעת פלורוגלוצינול בטיפולים השונים בשלושה מועדי דיגום 2018. קברנה סוביניון, כרם משק אחיה, קידה.

3.3.5.2. צביעות אימונוהיסטוכימיות לזיהוי ולמיקום מרכיבי דופן ספציפיים כתגובה

לעקות יובש

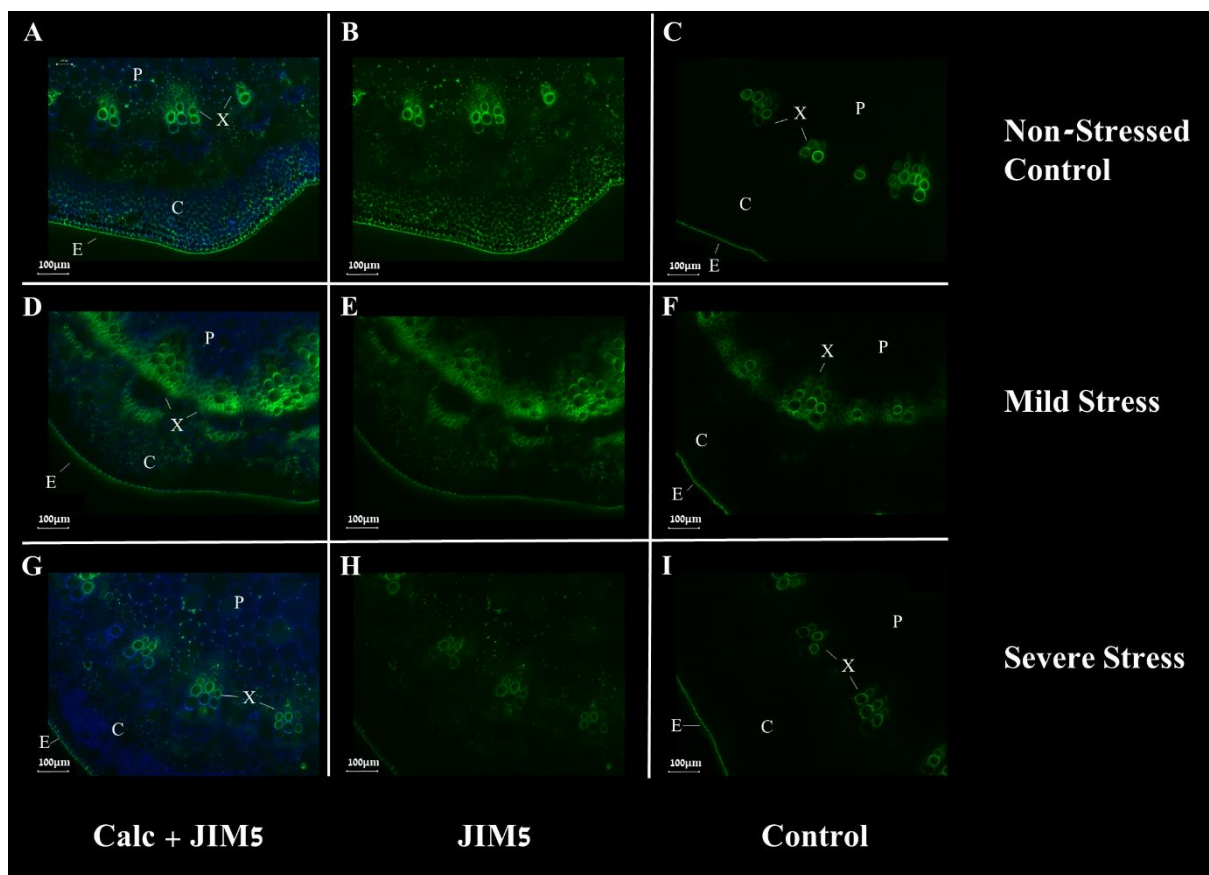
במטרה לבחון את השפעת זמינות המים במהלך העונה על הרכב הדופן בפטורות, נעשו צביעות נוגדנים הספציפיים לרכיבי פקטין על מנת להעריך את השתנותם ולאפיין את מיקומם. פקטין הוא מרכיב דומיננטי בדופן וחשוב לתפקודיה השונים הן בספיחת מים, והן בהשפעה על קשיחותה וייצובה. הרכיבים שנבדקו הינם הומוגלקטורונאן (HG) בעל דרגת מתילציה שונה, וכן שרשרת הצד ארבינאן. הצביעות נעשו בחתכי רוחב של פטורות מדיגום מאי ומדיגום יוני.



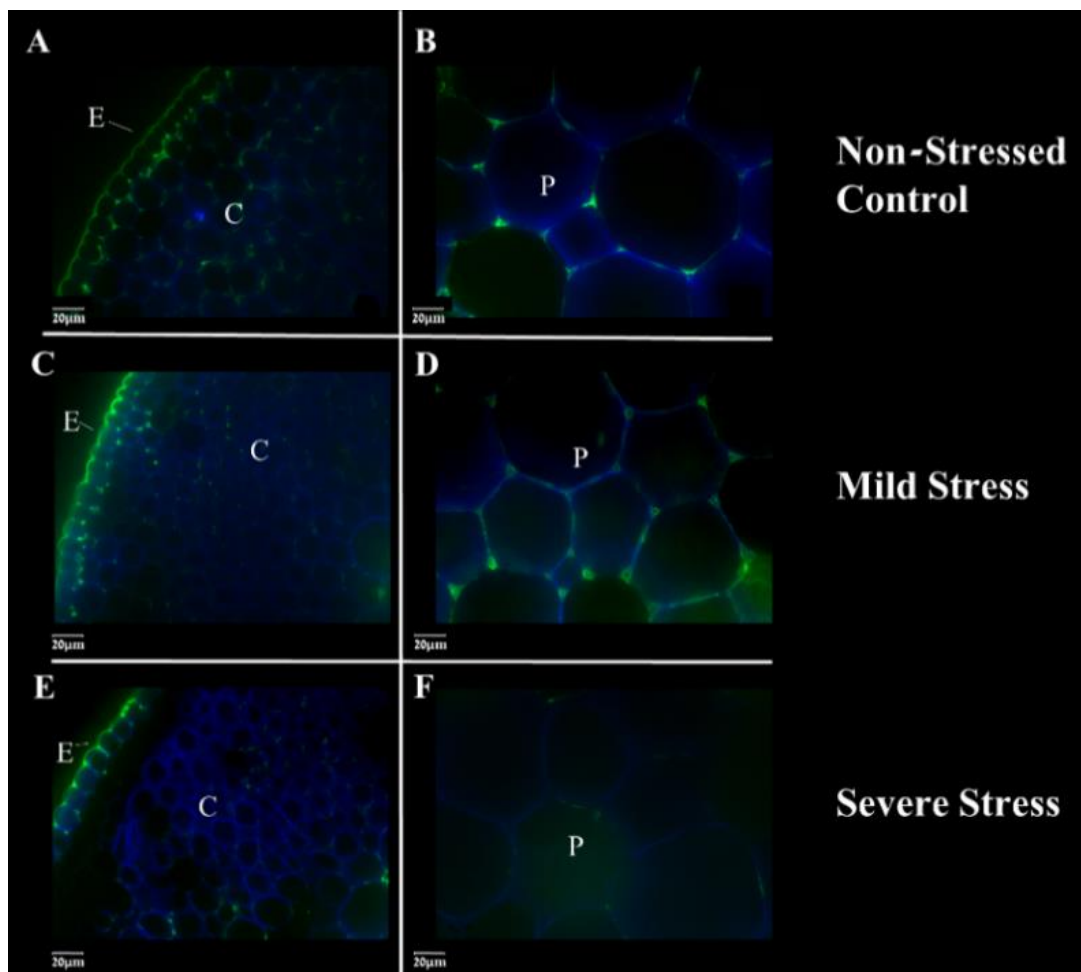
איור מס' 18: המחשה של צביעות אימונוהיסטוכימיה בחתכי רוחב של פטורות במהלך עונת 2018 בטיפולי ההשקיה השונים. ניתן להבחין בחלקי הפטורת השונים: אפידרמיס, קורטקס, עצה, שיפה וליבה. צביעת קלקופלור הספציפי לצלולוז וצובע דופן כללית (A). צביעת נוגדן הספציפי לרכיבים פקטיניים בדופן. אזורי צביעת הנוגדן בהם התמקדנו הם הקורטקס, השיפה והליבה (B). ביקורת ללא צביעת נוגדן. ההארה באזורי האפידרמיס והעצה נובעת מאוטופלואורסנציה טבעית (C).

3.3.5.2.1. צביעת נוגדן JIM5 לזיהוי Un-methylesterified HG

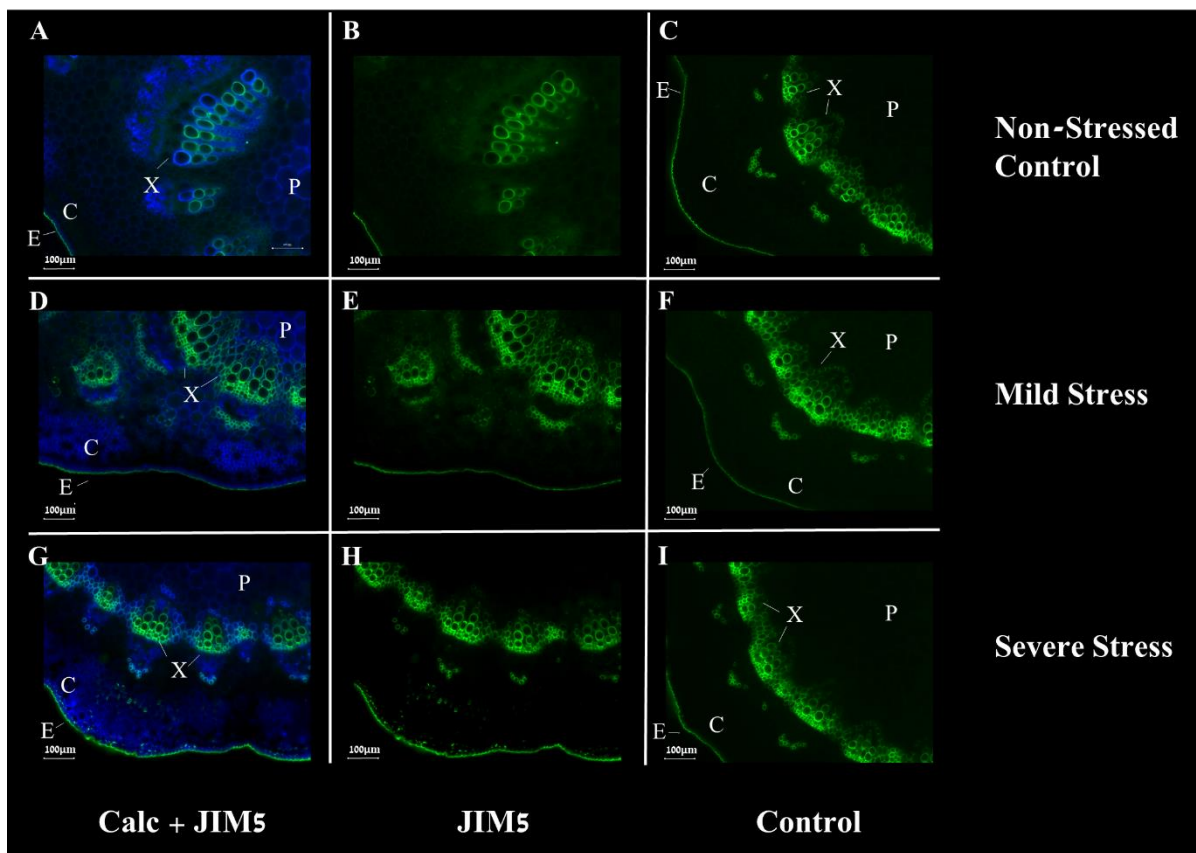
במטרה לאמוד את השינויים החלים ברכיב הפקטיני Un-methylesterified HG ולאפיין את מיקומו כתגובה לזמינות מים במהלך העונה נעשה שימוש בצביעת נוגדן JIM5. מתוצאות הדיגום שבוצע בחודש מאי ניתן לראות כי עיקר הפקטינים Un-methylesterified HG נצפו בפינות התאים בקורטקס ובליבה (איורים 19-20). הצביעה החזקה ביותר נצפתה בטיפול הביקורת, צביעה בינונית נצפתה בטיפול העקה המתונה, וצביעה חלשה נצפתה בטיפול העקה החריפה. מתוצאות הדיגום שבוצע בחודש יוני ניתן לראות כי עוצמת הצביעה של הנוגדן JIM5 נחלשה מאוד בכלל הטיפולים הן בקורטקס והן בליבה, והצביעה היתה חלשה-עמומה (איורים 21-22). מנתונים אלו עולה כי בתחילת העונה זמינות מים גבוהה הגבירה את נוכחות פקטיני Un-methylesterified HG בדופן התאים בקורטקס ובליבה. בהמשך העונה, הרכיב Un-methylesterified HG נחלש ביותר ללא קשר לזמינות המים.



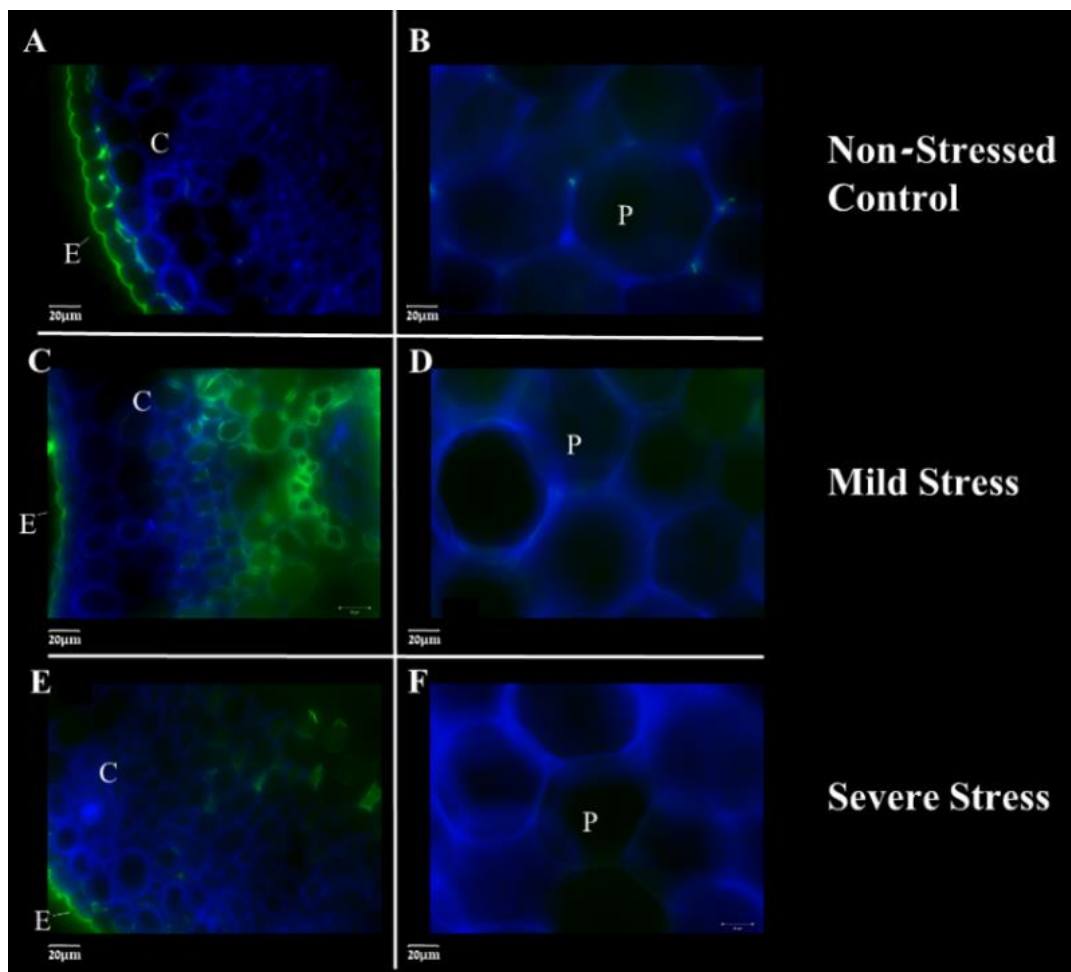
איור מס' 19: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן JIM5 הנקשר ל-Un-methylesterified HG בחתכי רוחב של פטוטרת מדיגום מאי בטיפולי ההשקיה השונים. ניתן להבחין באזורי הפטוטרת השונים: אפידרמיס (E), קורטקס (C), עצה (X) וליבה (P). צביעת קלקופלור (כחול) + צביעת נוגדן JIM5 (ירוק) (A,D,G). צביעת נוגדן JIM5 (B,E,H). ביקורת ללא צביעה. ההארה נובעת מאוטופלואורוסנציה טבעית (C,F,I). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.



איור מס' 20: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן JIM5 הנקשר ל-Un-methylesterified HG בחתכי רוחב של פטוטרות מדיגום מאי בטיפולי ההשקיה השונים. צביעת קלקופלור לזיהוי דופן כללית (כחול) + צביעת נוגדן JIM5 לזיהוי Un-methylesterified HG (ירוק). צביעה של אזורי הקורטקס (A,C,E) והליבה (B,D,F). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.



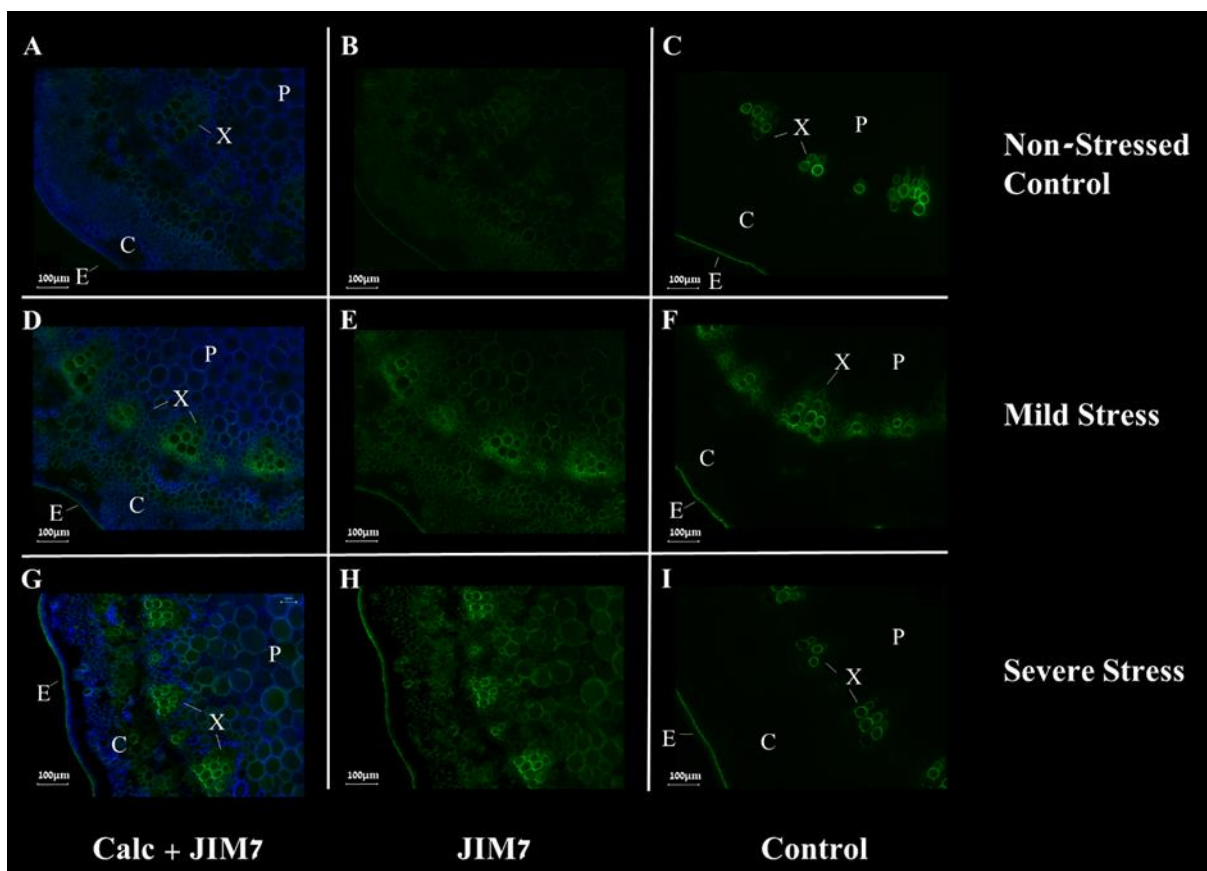
איור מס' 21: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן JIM5 הנקשר ל-HG Un-methylesterified בחתכי רוחב של פטוטרות מדיגום יוני בטיפולי ההשקיה השונים. ניתן להבחין באזורי הפטוטרות השונים: אפידרמיס (E), קורטקס (C), עצה (X) וליבה (P). צביעת קלקופלור (כחול) + צביעת נוגדן JIM5 (ירוק) (A,D,G). צביעת נוגדן JIM5 (B,E,H). ביקורת ללא צביעה. ההארה נובעת מאוטופלואורוסנציה טבעית (C,F,I). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.



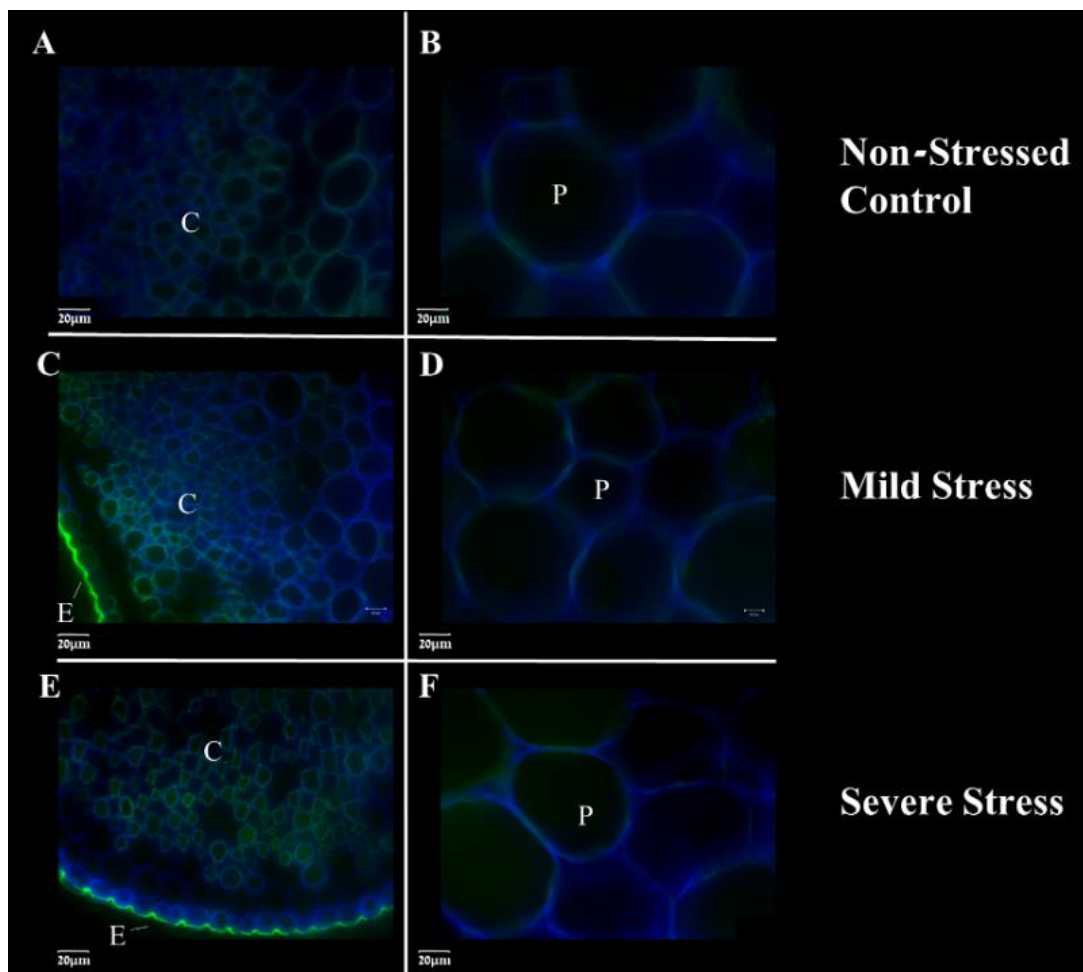
איור מס' 22: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן JIM5 הנקשר ל-Un-methylesterified HG בחתכי רוחב של פטוטרות מדיגום יוני בטיפולי ההשקיה השונים. צביעת קלקופלור לזיהוי דופן כללית (כחול) + צביעת נוגדן JIM5 לזיהוי Un-methylesterified HG (ירוק). צביעה של אזורי הקורטקס (A,C,E) והליבה (B,D,F). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.

3.3.5.2.2. צביעת נוגדן JIM7 לזיהוי Methyl-esterified HG

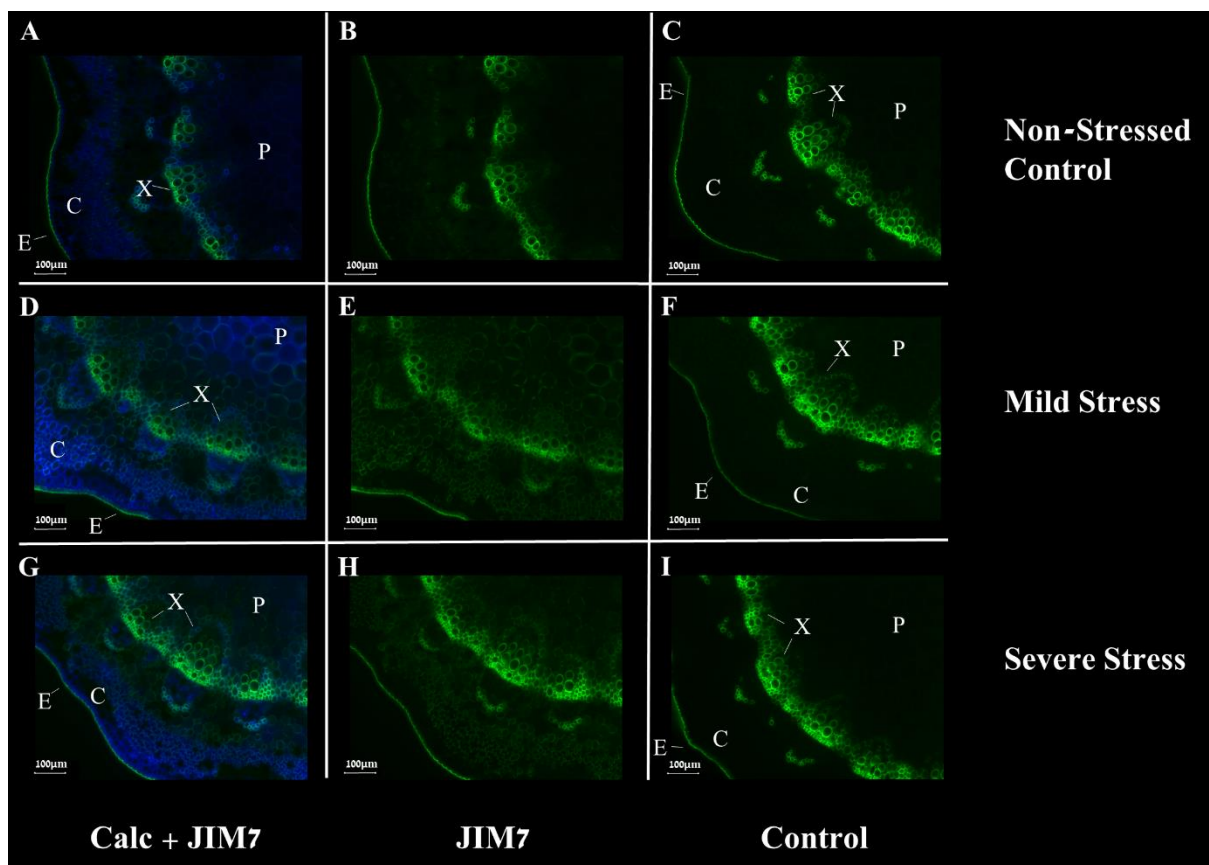
במטרה לאמוד את השינויים החלים ברכיב הפקטיני Methyl-esterified HG ולאפיין את מיקומו כתגובה לזמינות מים במהלך העונה נעשה שימוש בצביעת נוגדן JIM7. מהתוצאות שהתקבלו בדיגום חודש מאי ניתן לראות כי מיקום פקטיני Methyl-esterified HG היה בדופן התאים של הקורטקס ושל הליבה, ולא בלמלת הביניים (איורים 23-24). בטיפול הביקורת נצפתה עוצמה חלשה של צביעה באזור הקורטקס ועוצמה בינונית באזור הליבה, בעוד בטיפול העקה המתונה ובטיפול העקה החריפה נצפתה עוצמה בינונית של צביעה הן באזור הקורטקס והן באזור הליבה. מהתוצאות של דיגום חודש יוני ניתן לראות כי עוצמת הצביעה של הנוגדן JIM7 באזור הליבה היתה חלשה בכלל הטיפולים (איורים 25-26), בעוד שבאזור הקורטקס עוצמת הצביעה היתה חזקה בטיפול העקה החריפה, צביעה בינונית בטיפול העקה המתונה, ובטיפול הביקורת נצפתה עוצמת צביעה חלשה של הנוגדן JIM7. מכלל התוצאות עולה כי זמינות מים נמוכה הגבירה את נוכחות פקטיני Methyl-esterified HG בדופן התאים בקורטקס.



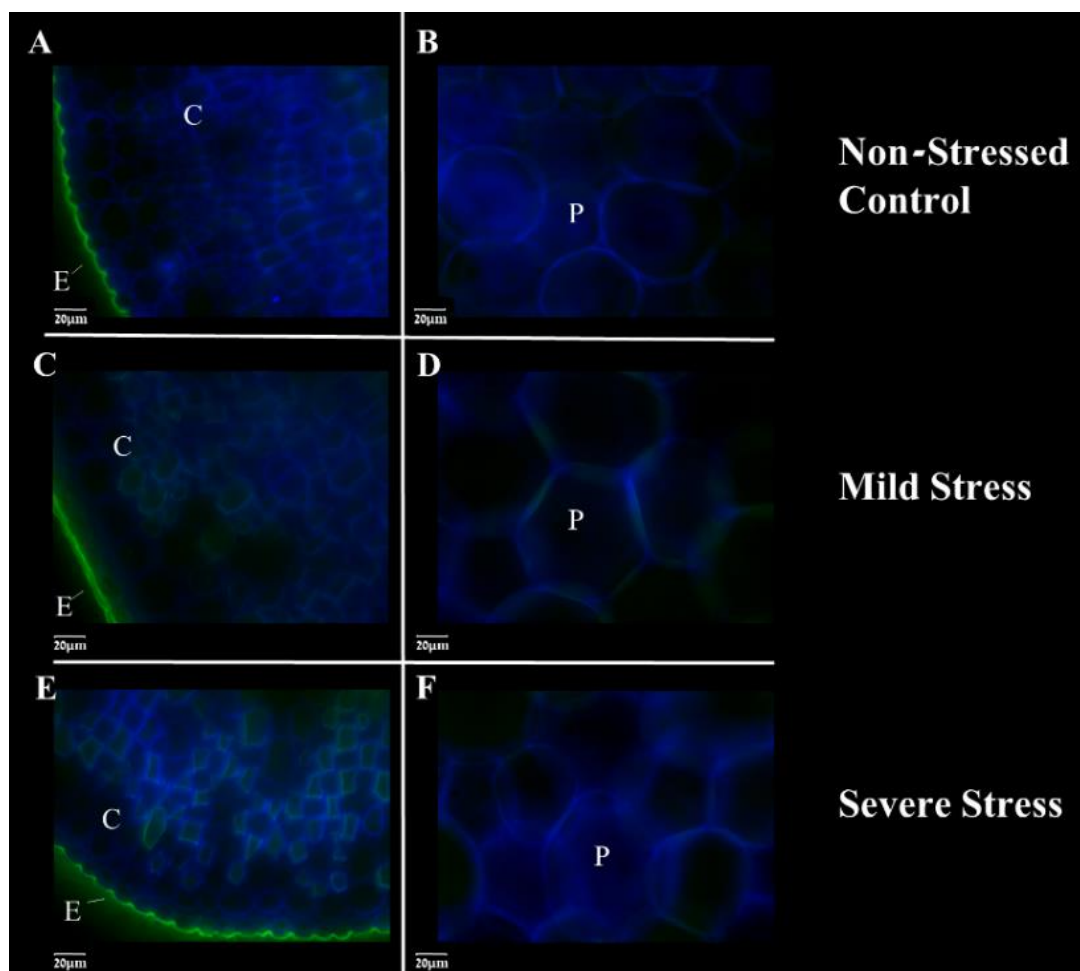
איור מס' 23: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן JIM7 הנקשר ל-Methyl-esterified HG בחתכי רוחב של פטוטרת מדיגום מאי בטיפולי ההשקיה השונים. ניתן להבחין באזורי הפטוטרת השונים: אפידרמיס (E), קורטקס (C), עצה (X) וליבה (P). צביעת קלקופלור (כחול) + צביעת נוגדן JIM7 (ירוק) (A,D,G). צביעת נוגדן JIM7 (B,E,H). ביקורת ללא צביעה. ההארה נובעת מאוטופלואורוסנציה טבעית (C,F,I). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.



איור מס' 24: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן JIM7 הנקשר ל-Methyl-esterified HG בחתכי רוחב של פטוטרות מדיגום מאי בטיפולי ההשקיה השונים. צביעת קלקופלור לזיהוי דופן כללית (כחול) + צביעת נוגדן JIM7 לזיהוי Methyl-esterified HG (ירוק). צביעה של אזורי הקורטקס (A,C,E) והליבה (B,D,F). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.



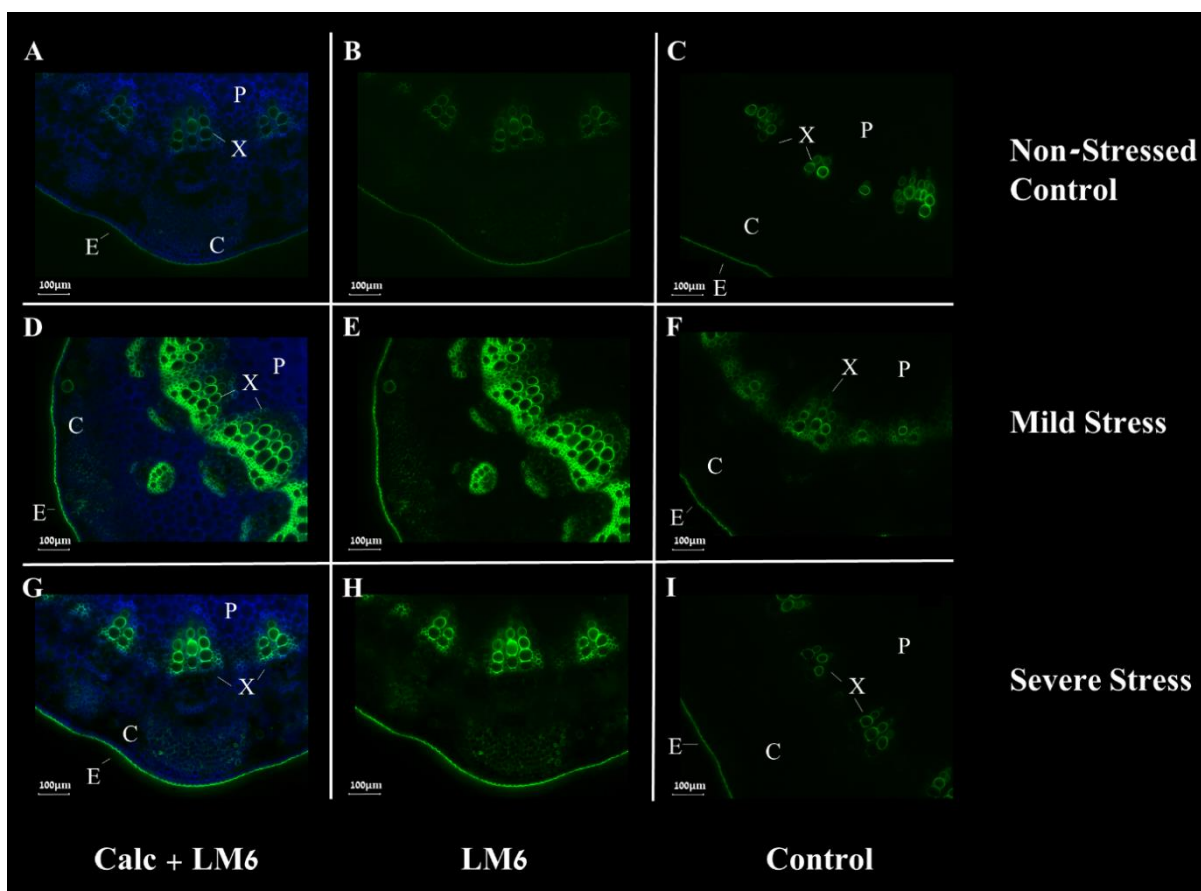
איור מס' 25: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן JIM7 הנקשר ל-Methyl-esterified HG בחתכי רוחב של פטוטרות מדיגום יוני בטיפולי ההשקיה השונים. ניתן להבחין באזורי הפטוטרות השונים: אפידרמיס (E), קורטקס (C), עצה (X) וליבה (P). צביעת קלקופלור (כחול) + צביעת נוגדן JIM7 (ירוק) (A,D,G). צביעת נוגדן JIM7 (B,E,H). ביקורת ללא צביעה. ההארה נובעת מאוטופלואורוסנציה טבעית (C,F,I). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.



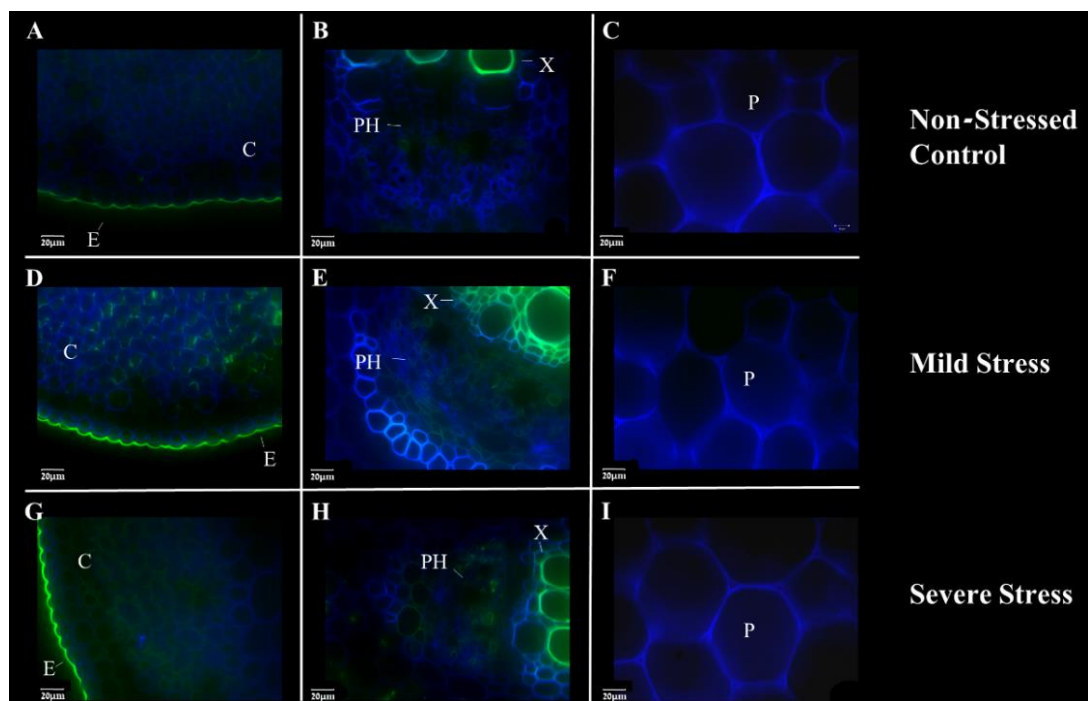
איור מס' 26: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן JIM7 הנקשר ל-Methyl-esterified HG בחתכי רוחב של פטוטרות מדיגום יוני בטיפולי ההשקיה השונים. צביעת קלקופלור לזיהוי דופן כללית (כחול) + צביעת נוגדן JIM7 לזיהוי Methyl-esterified HG (ירוק). צביעה של אזורי הקורטקס (A,C,E) והליבה (B,D,F). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.

3.3.5.2.3 צביעת נוגדן LM6 לזיהוי ארבינאן

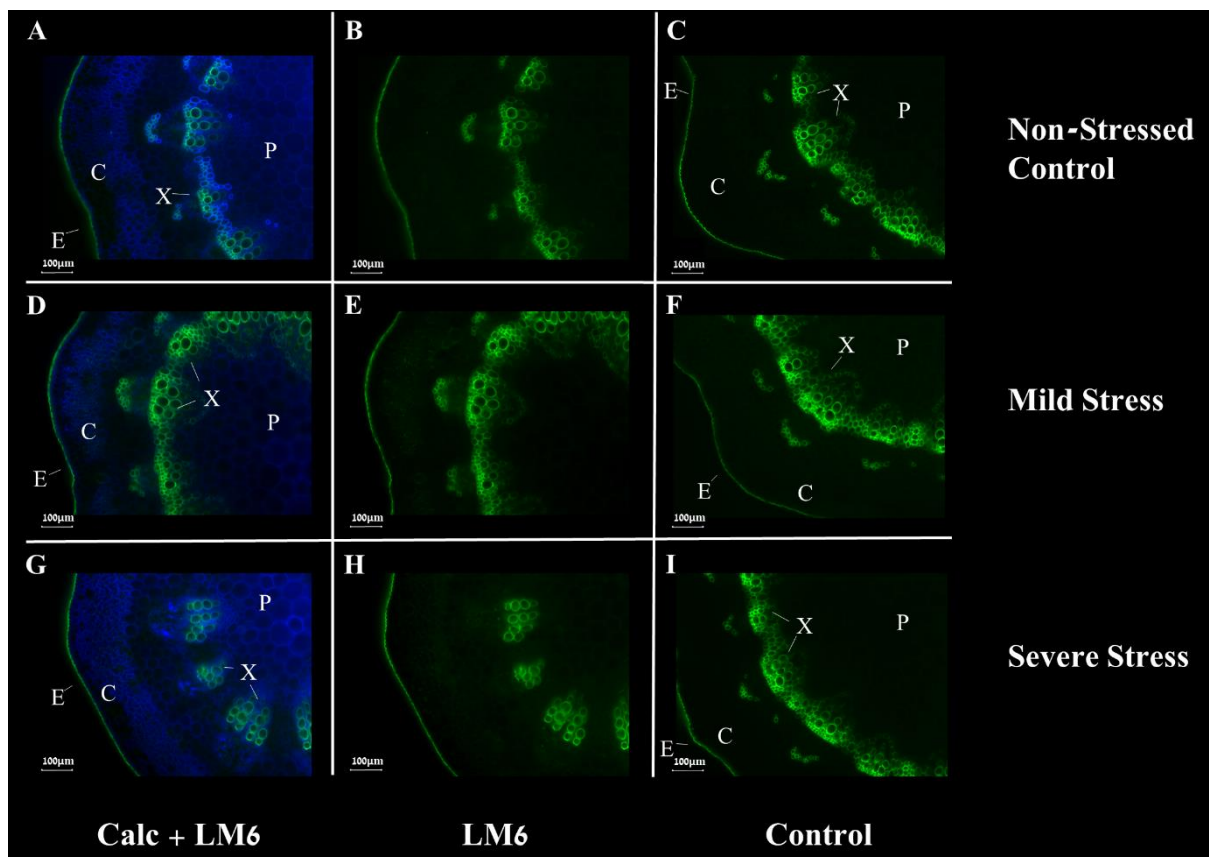
במטרה לאמוד את השינויים החלים בשרשרת הצד הפקטינית ארבינאן ולאפיין את מיקומה כתגובה לזמינות מים במהלך העונה נעשה שימוש בצביעת נוגדן LM6. מהתוצאות של דיגום חודש מאי ניתן לראות כי מיקום שרשרת הצד הפקטינית ארבינאן היה בהיקף התאים בעיקר בקורטקס ובשיפה (איורים 27-28). בטיפול העקה המתונה ובטיפול העקה החריפה נצפתה צביעה בינונית של הנוגדן LM6 בקורטקס, בעוד שבטיפול הביקורת נצפתה עוצמת צביעה חלשה. באזור השיפה נראתה צביעה בעוצמה חלשה-בינונית בטיפול העקה החריפה ובטיפול העקה המתונה (בהתאמה), בעוד בטיפול הביקורת נראתה צביעה עמומה בלבד. בטיפול העקה המתונה בלבד נצפתה צביעה חלשה גם בליבה. מהתוצאות של דיגום חודש יוני ניתן לראות כי היתה מגמה כללית של ירידה בעוצמת הצביעה של הנוגדן LM6 בכלל הטיפולים (איורים 29-30). בטיפולים המועקים עוצמת הצביעה בקורטקס ובשיפה היתה חלשה, בעוד שבטיפול הביקורת באזורים אלו עוצמת הצביעה היתה עמומה בלבד. בליבה נראתה צביעה חלשה בטיפול הביקורת, וצביעה עמומה בלבד בטיפולים המועקים. מתוצאות אלו עולה כי בתחילת העונה זמינות מים גבוהה הפחיתה את נוכחות השרשרת הפקטינית ארבינאן בדופן התאים בקורטקס ובשיפה. בהמשך העונה, נוכחות השרשרת הפקטינית ארבינאן נחלשת ביותר ללא קשר לזמינות המים.



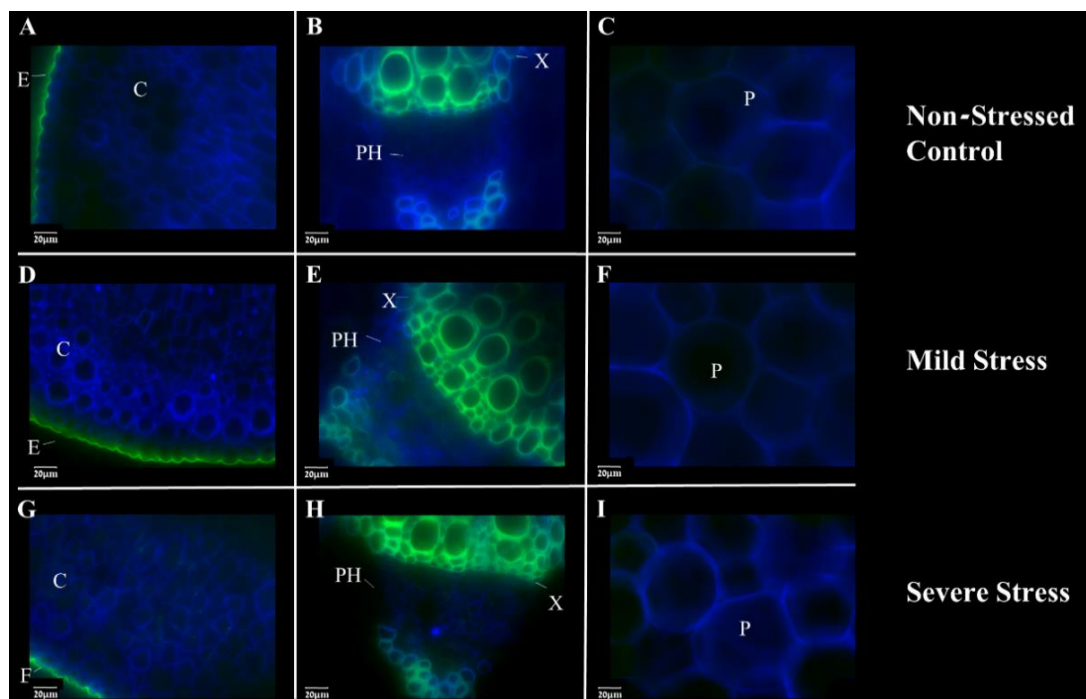
איור מס' 27: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן LM6 הנקשר לארבינאן בחתכי רוחב של פטוטרת מדיגום מאי בטיפולי ההשקיה השונים. ניתן להבחין באזורי הפטוטרת השונים: אפידרמיס (E), קורטקס (C), עצה (X) וליבה (P). צביעת קלקופלור (כחול) + צביעת נוגדן LM6 (ירוק) (A,D,G). צביעת נוגדן LM6 (B,E,H). ביקורת ללא צביעה. ההארה נובעת מאוטופלואורוסנציה טבעית (C,F,I). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.



איור מס' 28: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן LM6 הנקשר לארבינאן בחתכי רוחב של פטוטרות מדיגום מאי בטיפולי ההשקיה השונים. צביעת קלקופלור לזיהוי דופן כללית (כחול) + צביעת נוגדן LM6 לזיהוי ארבינאן (ירוק). צביעה של אזורי הקורטקס (A,D,G), השיפה (B,E,H), והליבה (C,F,I). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.



איור מס' 29: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן LM6 הנקשר לארבינאן בחתכי רוחב של פטוטרות מדיגום יוני בטיפול ההשקיה השונים. ניתן להבחין באזורי הפטוטרות השונים: אפידרמיס (E), קורטקס (C), עצה (X) וליבה (P). צביעת קלקופלור (כחול) + צביעת נוגדן LM6 (ירוק) (A,D,G). צביעת נוגדן LM6 (B,E,H). ביקורת ללא צביעה. ההארה נובעת מאוטופלואורוסנציה טבעית (C,F,I). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.



איור מס' 30: צביעות אימונוהיסטוכימיה של הנוגדן LM6 הנקשר לארבינאן בחתכי רוחב של פטוטרות מדיגום יוני בטיפולי ההשקיה השונים. צביעת קלקופלור לזיהוי דופן כללית (כחול) + צביעת נוגדן LM6 לזיהוי ארבינאן (ירוק). צביעה של אזורי הקורטקס (A,D,G), השיפה (B,E,H), והליבה (C,F,I). קברנה סוביניון 2018, כרם משק אחיה, קידה.

טבלה מס' 3: סיכום התרשמות איכותית של צביעות נוגדנים בחתכי רוחב של פטוטרות מדיגום מאי ומדיגום יוני בטיפולי ההשקיה השונים. כל משבצת מסכמת ממוצע של 3 פטוטרות. קברנה סוביינון 2018, כרם משק אחיה, קידה.

mAb		Non-stressed control					
		May			June		
		Cortex	Phloem	Pith	Cortex	Phloem	Pith
HG un-esterified	JIM5	+++ ^{1,2,3}	-	+++ ¹	+ ³	-	+ ¹
HG methyl-esterified	JIM7	+ ⁴	-	++	+	-	+
Arabinan	LM6	+	+/-	-	+/-	+/-	+
mAb		Mild stress					
		May			June		
		Cortex	Phloem	Pith	Cortex	Phloem	Pith
HG un-esterified	JIM5	++ ^{2,3}	-	++ ¹	+ ³	-	+/-
HG methyl-esterified	JIM7	++ ⁴	-	++	++	-	+
Arabinan	LM6	++	++	+	+	+	+/-
mAb		Severe stress					
		May			June		
		Cortex	Phloem	Pith	Cortex	Phloem	Pith
HG un-esterified	JIM5	+ ³	-	+ ¹	+ ³	-	+/-
HG methyl-esterified	JIM7	++ ⁴	-	++	+++	+/-	+
Arabinan	LM6	++	+	-	+	+	+/-

-None, +/- Trace, + Weak,
++ Intermediate, +++ Strong

¹Cell corners (three-way-junctions)

²Especially the collenchyma

³Also the hypodermis

⁴Especially the parenchyma

במחקר הנוכחי נבחנה ההשפעה הרב שנתית של זמינות המים המשתנה על מאפייני המערכת ההידראולית בגפן. בטיפול הביקורת נמדדו בגפני הליזימטרים פרמטרים המעידים על צמחים שאינם חווים עקת יובש כלשהי; בטיפולים האחרים נראות דרגות שונות של התפתחות עקת יובש במהלך עונת הגידול. מבנה הניסוי ייחודי בכך שהוא מחד מייצג את מצב הגפנים בתנאי שדה בהשפעת טיפולי השקיה רב שנתיים החל משנת 2014, ומאידך מציג מצב שאינו בנמצא בכרמי השדה של מחסור מוחלט בעקת יובש. בשל כך, ניתן לבחון בצורה אמינה את השפעת משק המים של גפנים בתנאי שדה על האנטומיה של העצה בחלקי הנצר השונים, וכן על השתנות מרכיבי הדופן בתגובה לעקת יובש.

4.1. בחינת השפעת משק המים על מדדים פיסיוולוגיים של גפן היין

המדדים הפיסיוולוגיים שנמדדו במחקר זה ממחישים את השפעת זמינות המים על תפקוד הגפנים. באופן כללי ניתן לראות הבדלים גדולים בין הטיפולים, כאשר הביקורת מראה ערכים משופרים וקבועים יחסית, ואילו טיפול העקה החריפה מראה את הערכים השליליים ביותר. ערכי אינדקס שטח העלווה שנמדדו בניסוי היו מתאימים לערכים שנמדדו במחקרים קודמים בתנאי אקלים דומים (Munitz et al. 2014; Shtein et al. 2017). מהלך התפתחות העלווה התאפיין במגמה זהה במשך כל שנות המחקר (איור 8). כאשר בשלב I היתה עלייה בשטח העלווה, ולקראת שלב II היתה ירידה קלה והתייצבות. בסוף שלב I ניתן להבחין בטיפולים אגרוטכניים של שילוב חוטים וקיטומים שגרמו לירידה חדה בשטח העלווה. יחד עם זאת, למרות שטיפולי הנוף נעשו בצורה אחידה בכלל הטיפולים, היו הבדלים מובהקים בין הטיפולים השונים, כאשר בטיפול העקה החריפה נמדדה עלווה מצומצמת יותר מאשר בטיפול העקה המתונה ובטיפול הביקורת לאורך כל שנות המחקר בכל שלבי העונה. בנוסף, ברוב שנות המחקר עוצמת הצימוח של טיפול הביקורת היתה הגבוהה ביותר בהשוואה לטיפולים המועקים. ניתן לראות קשר ישיר בין עוצמת הצימוח הווגטטיבי ובין משק מים משופר של הגפן, ולהפך. בהמשך לכך, העדר ההשקיה בטיפול העקה החריפה הוא בעיקרו בשלב I בו מתרחשת עיקר הפעילות הקמביאלית (Bernstein and Fahn 1960), ועל כן עקת יובש בשלב זה משפיעה על בניית המערכת ההידראולית ועל עוצמת הצימוח באופן ישיר. יתר על כן, כיון שניסוי זה הינו רב שנתי וטיפולי ההשקיה החלו בשנת 2014, סביר כי השפעת משק המים איננה רק נקודתית לאותה עונה, אלא ארוכת טווח ומשפיעה על בניית המערכת ההידראולית לטווח ארוך (הנושא יידון בהמשך בפירוט). המגמות שהסתמנו בערכי פוטנציאל המים של הטיפולים השונים במהלך שנות המחקר היו דומות. ערכי פוטנציאל המים בטיפול הביקורת נותרו יציבים וגבוהים (פחות שליליים) בכל שנות המחקר ובכל שלבי העונה, בעוד ערכי פוטנציאל המים של טיפול העקה המתונה ושל טיפול העקה החריפה הדגימו ירידה מתמדת במהלך העונה, כאשר ברוב שלבי המחקר פוטנציאל המים של טיפול העקה החריפה היה נמוך

יותר (שלילי יותר) בצורה מובהקת מאשר פוטנציאל המים של טיפול העקה המתונה. הסיבה לכך שערכי פוטנציאל המים נעשים שליליים יותר לאורך עונת הגידול היא מכיוון שבהשקיה גרעונית המיושמת בכרמי יין, זמינות המים בקרקע הולכת ופוחתת במהלך העונה (Olivo et al. 2009; Williams et al. 2012), ובמקביל שטח העלווה המאדה הולך וגדל, וכך האוווטרנספירציה הפוטנציאלית הולכת וגדלה לפחות עד מחצית חודש יולי. בשנת 2017 ערכי פוטנציאל המים של הטיפולים המועקים היו שליליים יותר בשלב מוקדם יותר של העונה, כתוצאה מתנאי אקלים קיצוניים (איורים 6b, 9b), ולקראת סוף העונה ערכי פוטנציאל המים של טיפול העקה המתונה ושל טיפול העקה החריפה הגיעו ל-2 MPa, כאשר ערך הסף לעקה חריפה נחשב 1.4 MPa (Van Leeuwen et al. 2009).

המהלך העונתי של קצב קיבוע הפחמן ושל מוליכות הפיוניות היה דומה, והתאפיין בירידה לאורך עונת הגידול, כאשר בטיפולים המועקים נראתה ירידה חדה בקצב קיבוע הפחמן ובמוליכות הפיוניות כבר בשלב II, בעוד טיפול הביקורת הפגין ירידה מתונה רק בשלב III (איור 11b-c). ירידה בקצב קיבוע הפחמן ובקצב מוליכות הפיוניות לאורך העונה מתרחשת בעקבות שני גורמים: הזדקנות העלווה (Kriedemann et al. 1970), וזמינות מים נמוכה (Medrano et al. 2003; Williams et al. 2012). סיבות אלה מומחשות היטב בתוצאות; בטיפול הביקורת ישנה ירידה בקיבוע הפחמן ובמוליכות הפיוניות בעקבות הזדקנות העלווה ללא קשר לזמינות המים, ובטיפולים המועקים ניתן לראות ירידה חדה יותר ומוקדמת יותר הנובעת מהשפעתה הנוספת של עקת היובש. כמו כן, מנתוני מוליכות הפיוניות ניתן לראות כי כשהעקה מחריפה ומגיעה לסף מסוים (איור 11a), מוליכות הפיוניות פוחתת לרמה מינימלית במטרה להפחית את איבוד המים ולמנוע מצב של אמבוליזם (Hochberg et al. 2017). דבר זה מאפיין את הזן 'קברנה סוביניון' הנחשב איזוהידרי (Schultz 2003). בזנים המכונים 'איזוהידרים' סגירת הפיוניות מתבצעת בצורה דרמטית יותר מאשר בזנים המכונים 'אנאיזוהידרים', המאפשרים פתיחת פיוניות רבה יותר, צמיחה מואצת יותר, אך במקביל חשופים לסיכוני פריצת אוויר לצינורות העצה וקריסה הידראולית של הצמח.

4.2. בחינת השפעת משק המים על אנטומיה הידראולית

המערכת ההידראולית בגזע מהווה את התשתית הבסיסית והמרכזית של הובלת המים מהשורשים אל שאר חלקי הגפן, כאשר בכל אביב מריסטמת הקמביום הווסקולרי מייצרת טבעת שנתית חדשה של רקמת העצה (ובמקביל גם שיפה חדשה) המתווספת אל הרקמה הקיימת, דבר המאפיין עצים בעלי נקבוביות טבעתית (ring porous) הטבעת החדשה פעילה עד ארבע שנים (Tibbetts and Ewers 2000). בספרות נמצא כי רוחב הטבעת השנתית ושטחה מושפעים ממצב משק המים בעונה הנוכחית, וכך ממצב אגירת המוטמעים בעונה הקודמת (Bernstein and Fahn 1960). בנוסף, קוטר הטרכיאות ברקמת העצה

מושפע אף הוא ממצב משק המים (Munitz et al. 2018). על כן, מאפייני רקמת העצה בגזע המושפעים ממשק המים ומגורמים סביבתיים נוספים, משפיעים על ספיקת המים בצמח כולו.

רוב המחקרים העוסקים באנטומיה ובהידראוליקה של הגפן מתבצעים על גזע חד שנתי המקביל במבנהו לזמורה (Schultz and Matthews 1993; Lovisolo and Schubert 1998; Brodersen et al. 2011), בעוד שמבנה מערכת העצה והמאפיינים ההידראוליים של גזע רב שנתי הם די שונים. בגזע רב שנתי אורך וקוטר הטרכיאות גדול יותר (Jacobsen et al. 2015), ובנוסף היחס בין שטח הליבה לשטח העצה קטן ככל שהגזע מתבגר (Sun et al. 2006). המחקר הנוכחי בוחן גפנים בוגרות (שנת נטיעה 2008), כמו כן, ניסויי ההשקיה במחקר זה אף הם רב שנתיים (החל משנת 2014). על כן, ניסוי זה משקף נאמנה את ההתאמות האנטומיות של מערכת העצה בגזע למצבי עקת יובש.

מהניתוח האנטומי של הגזע עולה כי ישנם שני פרמטרים אשר השפיעו במקביל על זמינות המים ובכך השפיעו גם על האנטומיה של העצה: טיפול משק המים, ושנת יצירת הטבעת. תנאי האקלים ידועים כמשפיעים על מבנה הטבעת, כאשר בשנת 2017 היו תנאי אקלים קיצוניים ויובשניים יותר מאשר בשנת 2016 (איור 6). בשני הפרמטרים בגזע נצפו מגמות דומות כאשר זמינות מים נמוכה ו/או תנאי האקלים, גרמו ליצירת מערכת הידראולית מצומצמת בעלת שטח טבעת שנתי קטן יחסית (טבלה 1). בנוסף, בהשוואה בין טיפולי ההשקיה נראה כי קוטר הטרכיאות הגדולות היה קטן יותר, דבר שהוביל למוליכות הידראולית מחושבת קטנה פי שלושה. יצירת טרכיאות צרות בצמח היא התאמה לעקת יובש הן כדי להפחית את הסיכון לאמבוליזם בעקבות חדירת בועית אויר (Lovisolo and Schubert 1998; Shtein et al. 2014; Munitz et al. 2011; et al. 2018). בהתייחס לפרמטרים של צפיפות הטרכיאות לא נצפו הבדלים מובהקים בין הטיפולים או בין השנים, אך בכל ההשוואות נשמרה המגמה של זמינות מים גבוהה אשר השפיעה על צפיפות טרכיאות גבוהה יותר, דבר המעיד על יצירת מערכת הידראולית מפותחת יותר (Munitz et al. 2018).

זמורה הינה איבר הנוצר במהלך העונה, כאשר משך ההשפעה של משק המים על התפתחות טבעת שנתי ועל זמורה הוא ארוך יותר ביחס למשך ההשפעה על התפתחות הפטוטרות. הניתוח האנטומי של הזמורות נערך על חתכים מהפרק הרביעי הסמוך לבסיס הזמורה, ומייצג את השפעות משק המים בתחילת העונה. מהפרמטרים האנטומיים שנמדדו בזמורות ניתן לראות כי המגמה, באופן לא מפתיע, היתה דומה לגזע. זמינות מים נמוכה גרמה ליצירת מערכת הידראולית מצומצמת תוך הפחתה של שטח העצה, והפחתה של קוטר הטרכיאות הגדולות. מתוצאות אלה ניתן לראות כי כבר בתחילת העונה נפערים הבדלים ביצירת רקמת העצה בזמורה, כתוצאה מהספיקה ההידראולית המגיעה מהגזע, וכן כהתאמה למשק המים המתמשך, מכיוון שהמערכת ההידראולית בגזע מהווה צוואר בקבוק המשפיע על כל האיברים במעלה הזרם. בנוסף לכך יש לציין כי בזמורות ישנה שונות גדולה יותר מאשר בגזע, בין

היתר גם בגלל המבנה המרחבי של הצמח השלם, ועל אף הניסיון לדגום זמורות ממוצעות, עדין יש שונות גבוהה בין זמורות בתוך גפן ובין גפנים בתוך הטיפול, מה שמשפיע על המובהקות הסטטיסטית.

4.3. בחינת השפעת משק המים על שינויים עונתיים בפטוטרות

העלים, והפטוטרות כחלק מהם, הינם איברים הנוצרים במהלך העונה, ורגישים לשינויים סביבתיים נקודתיים (Xu et al. 2009). בנוסף, פטוטרת העלה הינה איבר בעל שני תפקידים: תפקיד הידראולי של הובלת מים ומומסים, ותפקיד מכאני בתמיכה של טרף העלה. במחקר זה בחנו את הפלסטיות הפנוטיפית (phenotypic plasticity) של הפטוטרת כתגובה להשפעות העונתיות הדינאמיות של זמינות המים, בדגש על שינויים במערכת ההידראולית, וכן ברכיבי דופן התא ובמבנה הכללי.

4.3.1. מורפולוגיה

מבחינה מורפולוגית ניתן לראות כי כבר בתחילת העונה הפטוטרות של טיפול העקה החריפה היו קצרות יותר (איור 12a), כנראה כתוצאה מהשפעת עקת היובש המתמשכת, ומהמערכת ההידראולית המוגבלת הן בגזע והן בזמורות אשר השפיעו על ספיקת המים המצומצמת כבר בתחילת העונה. יחד עם זאת, ככל שהעונה התקדמה הפטוטרות של כלל הטיפולים התקצרו ללא קשר לזמינות המים. אם כן, נראה כי ישנה השפעה עונתית שאיננה תלויה ישירות במשק המים. בכדי לספק יציבות וכושר נשיאה, וכן בכדי לאפשר עמידה אל מול כוחות חיכוניים כגון רוח וכדו', הפטוטרות מתאימות עצמן בין השאר מבחינה ביו-מכאנית. יחס התמירות הוא פרמטר המבטא את החוזק המכני של הפטוטרת. ככל שהפטוטרת גמישה ודקה יותר, יחס התמירות גבוה יותר, ואילו איבר קצר ורחב בעל יציבות מבנית גבוהה יוגדר כבעל יחס תמירות נמוך. מנתוני יחס התמירות ניתן לראות כי על אף השינויים באורך הפטוטרות, יחס התמירות של כלל הטיפולים נשמר על ידי שינוי מקביל של קוטר הפטוטרות (איור 12b). ככל שזמינות המים היתה קטנה יותר, יחס התמירות היה נמוך יותר, על מנת לייצב ולחזק את הפטוטרות הנושאות את טרפי העלה. בספרות נמצא כי צפיפות עלווה גורמת לרוב ליצירת גבעולים דקים וארוכים יותר, מכיוון שקיימת תמיכה מכאנית של העלווה הצפופה, ובכך פוחתים הכוחות החיצוניים הפועלים על העלווה, ואין צורך לייצר גבעולים קשיחים (Anten et al. 2005). במחקר הנוכחי, בטיפול הביקורת שטח העלווה הנמדד לאורך הניסוי היה צפוף יותר (איור 8c), ובהתאמה ניתן לראות שגם יחס התמירות של הפטוטרות היה גבוה יותר. ממחקרים נוספים נראה כי אורך הפטוטרת נמצא בקורלציה ישרה לשטח העלה, כך ככל שהעלה גדולה יותר הפטוטרת ארוכה יותר (Xu et al. 2008). בתחילת העונה אכן ניתן לראות את המגמה הזו, בעוד שבהמשך העונה התוצאות אינן עולות בקנה אחד עם הסבר זה. יש לציין כי מחקרים אלו עוסקים בהשוואה נקודתית ולא במהלך עונתי, וכן ללא קשר למשק המים, ולכן יתכן שהם אינם משקפים את המגמה העונתית שהתקבלה בניסוי זה. במחקר נוסף נמדד מודול

האלסטיות (Elastic modulus, Young's modulus) של פטוטרות בצמח קלדיום (*Caladium bicolor*). מודול האלסטיות הוא ערך המבטא את הגמישות של החומר עצמו, ואינו תלוי בפרמטרים הגיאומטריים. מודול האלסטיות של הפטוטרות במחקר ירד בהשפעת עקת יובש, דבר זה מעיד על שינוי ברכיבי הפטוטרות, ולא במורפולוגיה. החוקרים הראו כי השינוי נובע משינויי טורגור בתאי הפארנכימה והקולנכימה של הפטוטרות (Caliaro et al. 2013). שינוי כזה עשוי להיות קשור לעיכוב גדילה המתרחש לעיתים בעקת יובש, ובהחלט קשור לעתים בירידת מודול האלסטיות בתאים.

4.3.2. אגירת עמילן

המהלך העונתי של אגירת העמילן בפטוטרות היה מורכב ונראו בו מספר מגמות (איור 13). בתחילת העונה זמינות מים נמוכה השפיעה על אגירת עמילן מוגברת, אך בהמשך העונה אגירת העמילן עלתה בכלל הטיפולים ללא קשר לזמינות המים. כמו כן, אופי אגירת העמילן של טיפול הביקורת התהפך במהלך העונה, כאשר בהתחלה לא נצפתה אגירת עמילן משמעותית, ובהמשך העונה אגירת העמילן היתה אינטנסיבית ביותר. מניתוח מקביל של נתוני שטח העלווה ונתוני קיבוע הפחמן יחד עם הערכת אגירת העמילן בפטוטרות (איור 8c, 11), ניתן להסיק כי בטיפול עקת היובש החריפה בתחילת העונה לא היתה השפעה של זמינות המים על עיכוב הפוטוסינתזה. במקביל ניתן לראות כי שטח העלווה היה קטן משמעותית, וכן מבחינה מבנית הפטוטרות היו קצרות יותר. אם כן, יתכן כי אגירת העמילן היא תוצאה של קיבוע פחמן בעודף ביחס לצימוח מוגבל. בטיפול הביקורת ניתן לראות את המגמה ההפוכה: שימוש בסוכרים הזמינים לצימוח וגטיבי נמרץ. באותו אופן ניתן להסביר את צבירת העמילן המוגברת בטיפול הביקורת בהמשך העונה: צימוח עלווה מוגבר המשפיע על קצב קיבוע פחמן מהיר, וכתוצאה מכך אגירת עמילן משמעותית. לקראת סוף העונה אגירת העמילן משתווה בכלל הטיפולים, כנראה כחלק מההתפתחות הטבעית והעברת המוטמעים לגרגרים לקראת ההבשלה. בכדי להשלים את התמונה אודות מצב אגירת המוטמעים בפטוטרות במחקר עתידי, יש לבחון בנוסף לעמילן את מצב הסוכרים המסיסים. אגירת מוטמעים כתגובה לעקת יובש מוסברת בכמה אופנים בספרות, כאשר המגמות ההפוכות לעיתים בדפוסי אגירת העמילן מחדדות את התפקידים הרבים שיש לו (Santelia and Thalmann 2017). בחלק מן הצמחים ידוע כי עלייה בריכוז המוטמעים בעלים גורמת לירידה של הפוטנציאל האוסמוטי בתאים, וכך נשמר לחץ הטורגור על אף המחסור במים. דבר זה מאפשר המשך תהליכים התלויים בלחץ טורגור כגון: גדילת תאים ופתיחת פיוניות (Levitt 1980). כמו כן ישנן עדויות לכך שאגירת מוטמעים גורמת למשוב שלילי בתהליך הפוטוסינתזה ולעצירתו (Nafziger and Koller 1976). בצמח הלוביה (*Vigna unguiculata*), עקת יובש גרמה להתפרקות עמילן וליצירה של סוכרים מסיסים בעלים, כנראה במטרה לספק סוכר זמין לתאי הצמח (Souza et al. 2004). בתורמוס

(*Lupinus albus*) נצפו מגמות הפוכות בעלים למול הפטוטורות כאשר עקת יובש גרמה לירידה ברמת הסוכרים הזמינים בעלים, אך במקביל גרמה לעלייתם בפטוטורות (Pinheiro et al. 2004).

4.3.3. אנטומיה הידראולית

במהלך העונתי בפטוטורות ניתן לראות כי ישנה השפעה רב שנתית של זמינות המים על האנטומיה של מערכת העצה. בתחילת העונה זמינות מים נמוכה גרמה ליצירת מספר רב יותר של תרכיאות אשר קוטרן נמוך יותר (איור 15a-b). השפעה זו מעניינת במיוחד מכיוון שעל אף שטרם התפתחה עקת יובש משמעותית בטיפול העקה החריפה, כבר בשלב מוקדם זה ניתן לראות השפעות אנטומיות בפטוטורות כתוצאה מהמערכת ההידראולית המוגבלת שנוצרה בגזע ובזמורות. יצירת תרכיאות צרות בעקת יובש נקשרת בספרות כהגנה מפני קוויטציות (Lovisollo et al. 1998b; Chouzouri and Schultz 2005) בהמשך העונה נמשכת המגמה של השפעת זמינות מים נמוכה על מספר תרכיאות גבוה, כנראה כהתאמה המבטיחה את אספקת המים גם במקרה של סתימת חלק מן הצינורות (Carlquist and Hoekman 1985). במקביל לכך, ניתן לראות כי בכלל הטיפולים ככל שהעונה מתקדמת כך מתפתחות תרכיאות צרות יותר, וכן שכיחות התרכיאות הקטנות עולה (איור 16) ללא תלות בזמינות המים, דבר המעיד על השפעה התפתחותית או על גורם סביבתי אחר. יחד עם זאת, זמינות מים בלתי מוגבלת גרמה לעיכוב בעליית שכיחות התרכיאות הקטנות, ודבר זה התרחש מאוחר יותר במהלך העונה. הקטנת קוטר התרכיאות מתוארת בספרות לא רק כתגובה לעקת יובש, אלא במינים מסויימים גם כתגובה לחום. באקליפטוס (*Eucalyptus camaldulensis*) וכן בדודנאה (*Dodonaea*) נמצא מתאם שלילי בין הטמפרטורה לבין קוטר התרכיאות (שטיין 2013; Thomas et al. 2004). מבחינת נתוני המוליכות ההידראולית בפטוטורות ניתן לראות כי לא נצפו הבדלים מובהקים בין הטיפולים (איור 15c). ככל הנראה הסיבה לכך היא השונות הגדולה של הפטוטורות באותו צמח עצמו. בדיעבד, ניתן היה להתגבר על השונות בלקיחת מדגם גדול יותר מכל צמח, כך שהמגמות תתקבלנה בצורה מקיפה יותר.

4.3.4. מרכיבי דופן התא

הליגנין (lignin) הינו מרכיב עיקרי בדופן התא המשנית והוא מקנה לצמח קשיחות ויציבות, ובנוסף הינו בלתי חדיר למים, ועל כן מסייע בהפחתת איבוד המים. במהלך העונתי של התלגנות דופן חוליות התרכיאה ניתן לראות כי בתחילת העונה היתה עלייה ברמת הליגנין כתגובה לזמינות מים נמוכה בטיפול העקה החריפה. ככל שעונת הגידול התקדמה, מגמה זו נצפתה בכלל הטיפולים ללא קשר לזמינות המים (איור 17). בספרות מצוטטים מחקרים שבחנו את ההתאמה של הצמחים לעקות בכלל ולעקת יובש בפרט, באמצעות עלייה ברמת הליגנין. בזני תירס העמידים לעקת יובש נמצאה תכולה גבוהה יותר של ליגנין מאשר בזנים הרגישים ליובש, וכן נמדדה רמת ביטוי גבוהה

יותר של גנים הקשורים לביוסיתזה של ליגנין (Hu et al. 2009), כנראה במטרה למנוע איבוד מים. במחקר נוסף, כתוצאה מעקת חום בעלי קפה (*Coffea arabica L.*), נמדדה עלייה בתכולת מונו-ליגנול המהווה את רכיב הבסיס לבניית ליגנין (FultonLima et al. 2013). ככל הנראה, כתוצאה מעקת חום נוצרים רדיקלים חופשיים המהווים חלק מתהליך הפולימריזציה של מונו-ליגנול. בקאלוס של גפן, נצפתה עלייה של 36% ברמת הליגנין כתוצאה מעקת חנקן (Fernandes et al. 2013), במטרה להקנות לדופן קשיחות. יחד עם זאת, ישנן גם עדויות על ירידה ברמת הליגנין כתגובה לעקת יובש במיני צמחים מסויימים ובחלקי הצמח השונים כגון בשורשים או באזורי ההתארכות, והנושא עדין איננו מבורר כל צורכו (Moura et al. 2010; Moura-Sobczak et al. 2011).

פקטינים (pectins), המצויים בעיקר בדופן הראשונית ובלמלת הביניים, מהווים רכיבים אשר משפיעים הן על התכונות הפיזיקליות, והן על התהליכים הפיזיולוגיים של הצמח. הרכיב הפקטיני הומוגלקטורונאן (homogalacturonan, HG) הינו הפקטין הנפוץ ביותר בדופן. HG משפיע על מגוון תכונות הקשורות לתהליכים רבים וחיוניים כגון: גדילת התאים, מנגנוני הגנה, היצמדות תאים (intercellular adhesion) וכדוי (Willats et al. 2001). HG יכול לעבור מודיפקציות כימיות שונות. באופן רגיל HG מסונתז בציטופלסמה במצב של מתיל אסטרפיקציה (methyl-esterified), אך ישנם אנזימים ייעודיים המשנים מודיפקציה זו. האנזימים ממוקמים באזורים שונים בדופן התא לקבלת רמת מתילציה שונה בדופן. HG ללא מתיל-אסטרפיקציה יכול להקשר ליונים של סידן, ובצורה זו נוצרת תבנית קשיחה יחסית של גיל (Domozych et al. 2014). מנגנון זה חשוב ומשפיע על מאפיינים רבים בדופן התא: נקבוביות, ספיחת מים, גמישות, והיצמדות התאים. למעשה, רמת הקרישה של HG תלויה במידת המתילציה הנקבעת ע"י פעילות אנזימטית, ועל כן מבוקרת היטב באמצעות מנגנוני העברת אותות ותנאים אנזימטיים שונים כגון רמת ה-pH (Willats et al. 2001; Domozych et al. 2014). ישנן עדויות שונות בספרות בנוגע להשפעת Un-methylesterified HG על גמישות התאים. בעוד ישנם מחקרים המצביעים על ירידה ברמת המתילציה של HG כגורם המשפיע על חוזק ויציבות (Wolf and Greiner 2012), ישנם מחקרים אחרים המצביעים על ירידה ברמת המתילציה של HG כגורם לעלייה בגמישות הדופן (Peaucelle et al. 2011). במחקר הנוכחי, הנוגדן JIM5 המזהה Un-methylesterified HG נצפה בעיקר בפינות התאים (three-way-junctions) (איור 19-20), כאשר מיקום זה מאופיין כאזור ההיצמדות של התאים. דפוס זה נחשב קלאסי לנוגדן זה ונצפה בעבר במיני צמחים שונים כגון טבק (*Nicotiana tabacum L.*) (Marcus et al. 2008). ניתן להבין תוצאות אלה בכך שתכונות הקרישה הגבוהות של Un-methylesterified HG מאפשרות הדבקה של התאים. בניגוד לרכיב זה, דפוס

הנוכחות של הנוגדן JIM7 הנקשר לרכיב הפקטיני Methylesterified HG היה שונה. ניתן לראות כי מיקום הרכיב HG בעל רמת מתילציה גבוהה ממוקם בדופן התאים של הקורטקס ושל הליבה, ולא בלמלת הביניים (איור 23-24), כך שניתן לראות את הרווח בין הדפנות. דפוס הנוכחות מתאים לממצאים בספרות הגורסים כי HG יוצא מהציטופלסמה לדופן בדרגת מתילציה גבוהה, כאשר אנזימים ספציפיים מורידים את קבוצות המתיל במיקומים מסויימים (Domozych et al. 2014). מהתוצאות של צביעות JIM5 ו-JIM7 נראה כי באזור למלת הביניים בפניות התאים ממוקמים האנזימים המסירים את המתילציה, ולכן יש שם נוכחות גבוהה של הרכיב Un-methylesterified HG, בעוד בהיקף הדופן אין פעילות אנזימטית להורדת המתילציה ונצפית רמה גבוהה של הרכיב Methylesterified HG. בנוסף, בספרות נמצא קשר בין גודל החלל שבפניות התאים בו נצפה הסמן של Un-methylesterified HG לבין לחץ הטורגור של התאים: ככל שלחץ הטורגור בתוך התא גדול יותר, כך החלל בין התאים מתרחב (Willats et al. 2001). יתכן כי משק מים משופר המשפיע על גודל המרחב בין התאים, גורם במקביל לעלייה בנוכחות של הרכיב Un-methylesterified HG. בהסתכלות על המהלך העונתי של רמת המתילציה של HG ניתן לראות כי בתחילת העונה כתגובה לזמינות מים גבוהה נצפתה רמת צביעה חזקה יותר של Un-methylesterified HG, ובמקביל נצפתה רמת צביעה חלשה יותר של Methylesterified HG. יתכן כי רמת מתילציה נמוכה המשפיעה על יצירת גיל מעניקה גמישות לדפנות התאים בפטוטרות בהן ישנה גדילה מואצת (איור 12). במקביל רמת מתילציה גבוהה מעניקה יציבות לדפנות התאים בפטוטרות בהן יש עקת יובש. בהמשך העונה, נוכחות הרכיב Un-methylesterified HG נחלשה מאוד בכלל הטיפולים ללא קשר לזמינות המים. דפוס דומה נצפה בתוצאות המורפולוגיות של הפטוטרות, כאשר ככל שהעונה התקדמה הפטוטרות התקצרו ללא קשר לזמינות המים (איור 12). תוצאות אלה מחזקות את ההשערה כי הרכיב Un-methylesterified HG משפיע על גמישות והתארכות הפטוטרות. במקביל, בהמשך העונה נוכחות הרכיב Methylesterified HG עלתה כתגובה לעקת מים חריפה יותר, כנראה בכדי להעניק יציבות. באופן כללי אנו רואים עלייה ברמת המתילציה של HG לאורך העונה, ובהתאמה אנו רואים מגמה של יצירת פטוטרות קצרות יותר לאורך העונה. בספרות, נמצא כי ישנו מתאם שלילי בין רמת המתילציה של HG, לבין מודול האלסטיות של הפקטינים. ככל שרמת המתילציה עולה, האלסטיות יורדת, ובכך מנגנון זה מסייע בשמירה על יציבות ביו-מכאנית (Willats et al. 2001). יחד עם זאת, השפעת רמת המתילציה של HG כתגובה לעקת איננה ברורה ומוחלטת כל צורכה. בזני גפן בעלי עמידויות שונות לפתוגן *Xylella fastidiosa* נצפו שינויים ברכיבי הדופן באזורי הגמצים, כאשר בזנים העמידים תכולת Methylesterified HG עלתה (Sun et al. 2011). רמה גבוהה של מתילציה ככל הנראה מסייעת בעיכוב האנזימים של הבקטריה

מלפרק את הקסילוגלוקאן בדופן התא, ובכך מגנה על הצמח מהידבקות. בעלים של קפה (*Coffea arabica*), תכולת הפקטינים הכוללת ירדה ב-50% כתוצאה מעקת חום, כנראה במטרה להעניק קשיחות ויציבות. כמו כן, יתכן כי ירידה בתכולת הפקטינים כתוצאה מעקת חום מגדילה את הנקבוביות של הדופן, ומסייעת בשחרור חום כתוצאה מטרנספירציה מוגברת (FultonLima et al. 2013). בארבידופסיס (*Arabidopsis thaliana*), עקת חום גרמה להפעלה של אנזימים הגורמים לדה-מתילציה של HG בדופן תאי הפיוניות, ובכך גרמו לסגירתן (Wu et al. 2017). מחקר נוסף הראה כי בעלי גפן קשרי הסיידן בין הפקטינים מהווים גורם משמעותי במרכיבי הדופן לעומת שכחותם במיצי מעלי טבק (*Nicotiana tabacum*) (Moore et al. 2014). בניסוי אחר, נבחנו שני זני חיטה (*Triticum durum*) בעלי עמידות שונה ליובש, נמצא כי אחוז HG עלה בקודקודי השורש בעקת יובש. כאשר בזן העמיד ליובש HG עלה פי ארבעה, בעוד בזן הרגיש ליובש HG עלה רק פי שניים.

ארבינאן (arabinan) מהווה שרשרת צד נייטרלית הנקשרת ל-RG-I אשר אחד מתפקידיו הוא לחבר בין המיקרופיברילות של הצלולוז, לבין הרשת הפקטינית, וכן ליצור קשרים חלשים בתווך הפקטיני המאפשרים גמישות (Domozych et al. 2014). המולקולה ארבינאן, אבן הבניין של השרשרת הפקטינית ארבינאן, מאופיינת כמובילית במיוחד, וכן כבעלת יכולת ספיחת מים גבוהה. אשר על כן, ארבינאן מקנה התאמה למצבי עקה (Moore 2006; Sasidharan et al. 2011). במחקר הנוכחי מיקום הארבינאן היה בקורטקס ובשיפה (איור 27-28). נוכחות ארבינאן בשיפה נבחנה בעבר במחקר שנעשה על דגימות גזע של צפצפה (*Populus deltoids*) (Liu et al. 2017). נמצא כי בכל שלבי ההתפתחות של השיפה נצפתה נוכחות של ארבינאן אשר ככל הנראה מספק תמיכה מבנית לרקמה. מבחינת המהלך העונתי, בתחילת העונה זמינות מים גבוהה הפחיתה את נוכחות הארבינאן בדופן התאים של הפטוטרוט, ובהמשך העונה נוכחות רכיב זה נחלשה ללא קשר לזמינות המים. יתכן כי בעקת יובש נוכחות הארבינאן מעניקה אפשרות לספיחת מים, בעוד שבהמשך העונה מצטרפות עקות נוספות כגון עקת חום, הגורמת לירידה ברכיב זה ללא קשר לזמינות המים. בכדי לאשש רעיון זה יש לבצע ניסויי המשך להעמקה. בספרות מתוארות מגמות שונות בנוגע לתכונות הארבינאן. בדומה למחקר הנוכחי, בחיטה (*Triticum durum*) מזן העמיד ליובש, בזמינות מים נמוכה נצפתה עלייה ברכיבים ארבינאן וגלקטאן. יתכן שרכיבים אלה מסייעים בשמירה על הידרציה של הצמח (Leucci et al. 2008). בצמח התחייה *Myrothamnus flabellifolius* אשר מתאפיין ביכולת לשוב לצמוח לאחר התייבשות, נצפו רמות גבוהות של ארבינאן, כנראה בכדי להקנות לצמח גמישות והתאמה מיטבית למחזורים של יובש והידרציה (Gall et al. 2015). בקאלוס של גפן נצפתה ירידה ברמת המתילציה של HG כתגובה לעקת חנקן, בנוסף נצפתה ירידה ברמת

הארבינאן (Fernandes et al. 2013). ככל הנראה שינויים אלה מאפשרים יצירת גיל ומעניקים יציבות לרקמה.

4.4. דיון מסכם

בניסוי בחנו את ההשפעה הרב שנתית של משק המים בגפנים מזן 'קברנה סוביניון' על האנטומיה של רקמת העצה בחלקי הנצר השונים, וכן על ההשתנות העונתית של מרכיבי הדופן והמבנה בפטוטרות. הממצאים העיקריים מעידים על בניית מערכת הידראולית מוגבלת כתוצאה מעקת יובש בגזע ובזמורות. כמו כן, בבחינת ההתאמות הפנוטיפיות העונתיות בפטוטרות כתגובה לזמינות המים, נמצא כי עקת יובש חריפה מובילה להתאמות מבניות ותפקודיות כבר בתחילת העונה: הפטוטרות היו קצרות, אגירת העמילן היתה מוגברת, המערכת ההידראולית מצומצמת, וכן נצפתה רמה גבוהה של רכיבי דופן המקנים יציבות (ליגנין, פקטינים בעלי רמת מתילציה גבוהה). ככל שהעונה התקדמה התאמות אלה התרחשו בכלל הטיפולים ללא קשר לזמינות המים, כנראה כתגובה לעקת חום, או כתוצאה מהזדקנות העלווה. ניתן להסיק מכך שהשינויים האנטומיים במערכת ההידראולית של הגזע ושל הזמורות הנגרמים מזמינות מים נמוכה, מהווים זיכרון מבני של הגפן, ומשפיעים כבר בתחילת העונה על התאמת הפטוטרות לעקת יובש בכדי לאפשר יציבות מבנית, וכן במטרה לצמצם סיכונים הידראולית של חסימת אמבולוזים וקוויטציה. מחקר זה הינו חדשני בכך שהוא מדגים השפעות עקה רב שנתיות על עצים בוגרים בתנאי שדה, וכן ביישום שיטות אימונה היסטוכימיות על רכיבי דופן התא בגפן. המשך שילוב המחקר היישומי והתיאורטי עשויים לשפוך אור על מאפייני ההתאמות לעקת יובש בגפן, ואף לסייע בפיתוח סמנים למצבי עקה בזמן אמת בכרם.

- היאט י (2016) השפעת עקות יובש על הפיסיולוגיה, אנטומיית העצה ומדדי איכות יין. עבודת גמר. הרכבי ע (2017) כרם יין: תמונת מצב 2017. עלון הנוטע 24–25. מוניץ ש (2013) פיתוח מודל השקיה לכרמי ענבי יין המבוסס על גודל הנוף ועל מדדים מטאורולוגיים. עבודת גמר. עמר ז (2012) גתות מחורבת חבלתא שבנוה צוף (חלמיש): עדות אפשרית לייצור יין מתוק. במעבה ההר, הוצאת בית אל, מדרשת הרי גופנא ומו"פ אזורי השומרון ובקעת הירדן 135–141. רבן א (2017) ענף הגפן: תמונת מצב 2017. עלון הנוטע 16–17. שטיין א (2013) גורמים אנטומיים ופיזיולוגיים המשפיעים על מאזן המים בענפי קטיפי של דודנאה "דנה" במהלך השנה. עבודת גמר.
- Ahlström GW (1978) Wine Presses and Cup-Marks of the Jenin-Megiddo Survey. *Bull Am Sch Orient Res* 231: 19–49. doi: 10.2307/1356744
- Albersheim P, Darvill A, Roberts K, Sederoff R, Staehelin A (2010) *Plant Cell Walls*. Garland Science.
- Anten NPR, Casado-Garcia R, Nagashima H (2005) Effects of Mechanical Stress and Plant Density on Mechanical Characteristics, Growth, and Lifetime Reproduction of Tobacco Plants. *Am Nat* 166: 650–660. doi: 10.1086/497442
- Bernstein Z, Fahn A (1960) The Effect of Annual and Bi-annual Pruning on the Seasonal Changes in Xylem Formation in the Grapevine. *Ann Bot* 24: 159–171.
- Bowers JE, Meredith CP (1997) The Parentage of a Classic Wine Grape, Cabernet Sauvignon. *Nat Genet* 16: 84–87. doi: 10.1038/ng0597-84
- Brodersen CR, Lee EF, Choat B, Jansen S, Phillips RJ, Shackel KA, McElrone AJ, Matthews MA (2011) Automated Analysis of Three-Dimensional Xylem Networks Using High-Resolution Computed Tomography. *New Phytol* 191: 1168–1179. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03754.x
- Brodersen CR, McElrone AJ, Choat B, Lee EF, Shackel KA, Matthews MA (2013) In Vivo Visualizations of Drought-Induced Embolism Spread in *Vitis vinifera*. *Plant Physiol* 161: 1820–1829. doi: 10.1104/pp.112.212712
- Cai J, Tyree MT (2010) The Impact of Vessel Size on Vulnerability Curves: Data and models for Within-Species Variability in Saplings of Aspen, *Populus tremuloides* Michx. *Plant, Cell Environ* 33: 1059–1069. doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02127.x
- Carlquist S, Hoekman DA (1985) Ecological Wood Anatomy of the Woody Southern Californian flora. *Iawa J* 6: 319–34. doi: 10.1002/polb.21794
- Castellarin SD, Matthews MA, Di G, Gregory G (2007) Water Deficits Accelerate Ripening and Induce Changes in Gene Expression Regulating Flavonoid Biosynthesis in Grape Berries. *Planta* 227: 101–112. doi: 10.1007/s00425-007-0598-8
- Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS (2003) Understanding Plant Responses to Drought - From Genes to the Whole Plant. *Funct. Plant Biol.* 30: 239–264.

- Choné X, van Leeuwen C, Chéry P, Ribéreau-Gayon P (2001a) Terroir Influence on Water Status and Nitrogen Status of non-Irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*). Vegetative Development, Must and Wine Composition (Example of a Medoc Top Estate Vineyard, Saint Julien Area, Bordeaux, 1997). *South African J Enol Vitic* 22: 8–15. doi: 10.21548/22-1-2159
- Choné X, Van Leeuwen C, Dubourdieu D, Gaudillère JP (2001b) Stem Water Potential is a Sensitive Indicator of Grapevine Water Status. *Ann Bot* 87: 477–483. doi: 10.1006/anbo.2000.1361
- Chouzouri A, Schultz HR (2005) Hydraulic Anatomy, Cavitation Susceptibility and Gas-Exchange of Several Grapevine Cultivars of Different Geographic Origin. *Acta Horti* 689: 325–332. doi: 10.17660/ActaHort.2005.689.38
- Cochard H, Badel E, Herbette S, Delzon S, Choat B, Jansen S (2013) Methods for Measuring Plant Vulnerability to Cavitation: A Critical Review. *J Exp Bot* 64: 4779–4791. doi: 10.1093/jxb/ert193
- Cosgrove DJ (2000) Loosening of Plant Cell Walls by Expansins. *Nature* 407: 321–326. doi: 10.1038/35030000
- Domozych DS, Sorensen I, Popper ZA, Ochs J, Andreas A, Fangel JU, Pielach A, Sacks C, Brechka H, Ruisi-Besares P, Willats WGT, Rose JKC (2014) Pectin Metabolism and Assembly in the Cell Wall of the Charophyte Green Alga *Penium margaritaceum*. *Plant Physiol* 165: 105–118. doi: 10.1104/pp.114.236257
- Ewers FW, Fisher JB, Chiu ST (1990) A Survey of Vessel Dimensions in Stems of Tropical Lianas and Other Growth Forms. *Oecologia* 84: 544–552. doi: 10.1007/BF00328172
- Fernandes JC, García-Angulo P, Goulao LF, et al (2013) Mineral Stress Affects the Cell Wall Composition of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Callus. *Plant Sci* 205–206: 111–120. doi: 10.1016/j.plantsci.2013.01.013
- Fry SC (1983) Feruloylated Pectins from the Primary Cell Wall: their Structure and Possible Functions. *Planta* 157: 111–123. doi: 10.1007/BF00393644
- FultonLima RB, dos Santos TB, Vieira LGE, et al (2013) Heat Stress Causes Alterations in the Cell-Wall Polymers and Anatomy of Coffee Leaves (*Coffea arabica* L.). *Carbohydr Polym* 93: 135–143.
- Gall H, Philippe F, Domon J-M, et al (2015) Cell Wall Metabolism in Response to Abiotic Stress. *Plants* 4: 112–166. doi: 10.3390/plants4010112
- Gerzon E, Biton I, Yaniv Y, et al (2015) Grapevine Anatomy as a Possible Determinant of Isohydic or Anisohydic Behavior. *Am J Enol Vitic* 66: 340–347. doi: 10.5344/ajev.2015.14090
- Granett J, Walker MA, Kocsis L, Omer AD (2001) Biology and Management of Grape Phylloxera. *Annu Rev Entomol* 46: 387–412. doi: 10.1146/annurev.ento.46.1.387
- Hacke UG, Sperry JS (2001) Functional and Ecological Wood Anatomy. *Perspect plant Ecol Evol Syst* 4: 97–115. doi: 10.2307/4109913

- Hellman EW (2003) Grapevine Structure and Function. *Oregon Vitic* 5–19. doi: 10.1016/B978-0-12-381468-5.00003-8
- Henry H. Dixon JJ (1895) On the Ascent of Sap. *Philos Trans R Soc London* 186: 563–576.
- Hochberg U, Windt CW, Ponomarenko A, et al (2017) Stomatal Closure, Basal Leaf Embolism and Shedding Protect the Hydraulic Integrity of Grape Stems. *Plant Physiol* pp.01816.2016. doi: 10.1104/pp.16.01816
- Hu Y, Li WC, Xu YQ, et al (2009) Differential Expression of Candidate Genes for Lignin Biosynthesis under Drought Stress in Maize Leaves. *J Appl Genet* 50: 213–223. doi: 10.1007/BF03195675
- Hura T, Hura K, Dziurka K, et al (2012) An Increase in the Content of Cell Wall-Bound Phenolics Correlates with the Productivity of Triticale under Soil Drought. *J Plant Physiol* 169: 1728–1736. doi: 10.1016/j.jplph.2012.07.012
- Jacobsen AL, Rodriguez-Zaccaro, Daniela Lee TF, Valdovinos J, et al (2015) Grapevine Xylem Development, Architecture, and Function. *Functional and ecological xylem anatomy* 133–162.
- Kennedy JA (2002) Understanding Grape Berry Development. *Pract Winer Vineyard* 1–5. doi: 10.1111/j.1755-0238.2000.tb00171.x
- Kriedemann PE, Kliever WM, Harris JM (1970) Leaf Age and Photosynthesis in *Vitis vinifera* L. *Vitis* 9: 97-104.
- Lawoko M, Henriksson G, Gellerstedt G (2006) Characterisation of Lignin-Carbohydrate Complexes (LCCs) of Spruce Wood (*Picea abies* L.) Isolated with Two Methods. *Holzforschung* 60: 156–161. doi: 10.1515/HF.2006.025
- Leucci MR, Lenucci M, Piro G, Dalessandro G (2008) Changes in Cell Wall Polysaccharides during Water Stress in Wheat Genotypes Varying in Drought Tolerance. *Options Méditerranéennes* 81: 223–225.
- Levitt J (1980) Responses of Plants to Environmental Stresses. Water, Radiation, Salt and Other Stresses. Academic Press, New York
- Liu J, Hou J, Chen H, et al (2017) Dynamic Changes of Pectin Epitopes in Cell Walls during the Development of the Procambium–Cambium Continuum in Poplar. *Int J Mol Sci*. doi: 10.3390/ijms18081716
- Lovisollo C, Schubert A (1998) Effects of Water Stress on Vessel Size and Xylem Hydraulic Conductivity in *Vitis vinifera* L. *J Exp Bot* 49: 693–700. doi: 10.1093/jxb/49.321.693
- Marcus SE, Verhertbruggen Y, Hervé C, et al (2008) Pectic Homogalacturonan Masks Abundant Sets of Xyloglucan Epitopes in Plant Cell Walls. *BMC Plant Biol* 8: 1–12. doi: 10.1186/1471-2229-8-60
- Medrano H, Escalona JM, Cifre J, et al (2003) A Ten-year Study on the Physiology of Two Spanish grapevine cultivars under field conditions: Effects of water availability from leaf Photosynthesis to Grape Yield and quality. *Funct Plant Biol* 30: 607–619. doi: 10.1071/FP02110

- Moore JP (2006) Response of the Leaf Cell Wall to Desiccation in the Resurrection Plant *Myrothamnus flabellifolius*. *Plant Physiol* 141: 651–662. doi: 10.1104/pp.106.077701
- Moore JP, Nguema-Ona E, Fangel JU, et al (2014) Profiling the Main Cell Wall Polysaccharides of Grapevine Leaves Using High-throughput and Fractionation Methods. *Carbohydr Polym* 99: 190–198. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.08.013
- Moura-Sobczak J, Souza U, Mazzafera P (2011) Drought Stress and Changes in the Lignin Content and Composition in *Eucalyptus*. *BMC Proc* 5: 103. doi: 10.1186/1753-6561-5-S7-P103
- Moura JCMS, Bonine CAV, de Oliveira Fernandes Viana J, et al (2010) Abiotic and Biotic Stresses and Changes in the Lignin Content and Composition in Plants. *J Integr Plant Biol* 52: 360–376. doi: 10.1111/j.1744-7909.2010.00892.x
- Munitz S, Netzer Y, Schwartz A (2017) Sustained and Regulated Deficit Irrigation of Field-grown Merlot Grapevines. *Aust J of Grape Wine Res* 23: 87–94. doi: 10.1111/ajgw.12241
- Munitz S, Netzer Y, Shtein I, Schwartz A (2018) Water Availability Dynamics have Long-term Effects on Mature Stem Structure in *Vitis vinifera*. *Am J Bot* 105: 1443–1452. doi: 10.1002/ajb2.1148
- Munitz S, Schwartz A, Netzer Y (2014) Evaluation of Seasonal Water Use and Crop Coefficients for “Cabernet Sauvignon” Grapevines as the Base for Skilled Regulated Deficit Irrigation. *Acta Hort* 1115: 33–39. doi: 10.17660/ActaHortic.2016.1115.6
- Nafziger ED, Koller HR (1976) Influence of Leaf Starch Concentration on CO₂ Assimilation in Soybean. *Plant Physiol* 57: 560–563. doi: 10.1104/pp.57.4.560
- OIV (2017) Distribution of the World’s Grapevine Varieties.
- Olien W (1990) The Muscadine Grape: Botany, Viticulture, History, and Current Industry. *Hortic Sci* 25: 732–739.
- Olivo N, Girona J, Marsal J (2009) Seasonal Sensitivity of Stem Water Potential to Vapour Pressure Deficit in Grapevine. *Irrig Sci* 27: 175–182. doi: 10.1007/s00271-008-0134-z
- Patakas A, Noitsakis B, Chouzouri A (2005) Optimization of Irrigation Water Use in Grapevines Using the Relationship between Transpiration and Plant Water Status. *Agric Ecosyst Environ* 106: 253–259. doi: 10.1016/j.agee.2004.10.013
- Peaucelle A, Braybrook SA, Le Guillou L, et al (2011) Pectin-induced Changes in Cell Wall Mechanics underlie Organ Initiation in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 21: 1720–1726. doi: 10.1016/j.cub.2011.08.057
- Pinheiro C, Passarinho JA, Ricardo CP (2004) Effect of Drought and Rewatering on the Metabolism of *Lupinus albus* Organs. *J Plant Physiol* 161: 1203–1210. doi: 10.1016/j.jplph.2004.01.016
- Ridley BL, Neill MAO, Mohnen D (2001) Pectins: Structure, Biosynthesis, and Oligogalacturonide-related Signaling. *Phytochemistry* 57: 929–967. doi: 10.1016/S0031-9422(01)00113-3

- Roby G, Harbertson JF, Adams DA, Matthews MA (2004) Berry Size and Vine Water Deficits as Factors in Winegrape Composition : Anthocyanins and Tannins. *Aust J Grape Wine Res* 10: 100–107.
- Rytioja J, Hildén K, Yuzon J, et al (2014) Plant-Polysaccharide-Degrading Enzymes from Basidiomycetes. *Microbiol Mol Biol Rev* 78: 614–649. doi: 10.1128/MMBR.00035-14
- Santelia D, Thalmann M (2017) Starch as a Determinant of Plant Fitness under Abiotic Stress. *New Phytol* 943–951. doi: 10.1111/nph.14491
- Sasidharan R, Voeselek LACJ, Pierik R (2011) Cell Wall Modifying Proteins Mediate Plant Acclimatization to Biotic and Abiotic Stresses. *CRC Crit Rev Plant Sci* 30: 548–562. doi: 10.1080/07352689.2011.615706
- Schultz HR (2003) Differences in Hydraulic Architecture Account for Near- isohydric and Anisohydric Behaviour of Two Eld-grown. *Plant, Cell Environ* 26: 1393–1406. doi: 10.1046/j.1365-3040.2003.01064.x
- Schultz HR, Matthews MA (1993) Xylem Development and Hydraulic Conductance in Sun and Shade Shoots of Grapevine (*Vitis vinifera* L.): Evidence that Low Light Uncouples Water Transport Capacity from Leaf Area. *Planta* 190: 406–393 .
- Shtein I, Bar-On B, Popper ZA (2018) Plant and Algal Structure: from Cell Walls to Biomechanical Function. *Physiol Plant* 164: 56–66. doi: 10.1111/ppl.12727
- Shtein I, Hayat Y, Munitz S, et al (2017) From Structural Constraints to Hydraulic Function in Three *Vitis* Rootstocks. *Trees - Struct Funct* 31: 851–861. doi: 10.1007/s00468-016-1510-6
- Shtein I, Meir S, Riov J, Philosoph-Hadas S (2011) Interconnection of Seasonal Temperature, Vascular Traits, Leaf Anatomy and Hydraulic Performance in Cut *Dodonaea* “Dana” Branches. *Postharvest Biol Technol* 61: 184–192. doi: 10.1016/j.postharvbio.2011.03.004
- Souza RP, Machado EC, Silva JAB, et al (2004) Photosynthetic Gas Exchange, Chlorophyll Fluorescence and Some Associated Metabolic Changes in Cowpea (*Vigna unguiculata*) during Water Stress and Recovery. *Environ Exp Bot* 51: 45–56. doi: 10.1016/S0098-8472(03)00059-5
- Sun Q, Greve LC, Labavitch JM (2011) Polysaccharide Compositions of Intervessel Pit Membranes Contribute to Pierce’s Disease Resistance of Grapevines. *Plant Physiol* 155: 1976–1987. doi: 10.1104/pp.110.168807
- Sun Q, Rost TL, Matthews MA (2006) Pruning-induced Tylose Development in Stems of Current-Year Shoots of *Vitis vinifera* (Vitaceae). *Am J Bot* 93: 1567–1576. doi: 10.3732/ajb.93.11.1567
- Szymanski DB, Cosgrove DJ (2009) Dynamic Coordination of Cytoskeletal and Cell Wall Systems during Plant Cell Morphogenesis. *Curr Biol* 19: R800–R811. doi: 10.1016/j.cub.2009.07.056
- Tenhaken R (2015) Cell Wall Remodeling under Abiotic Stress. *Front Plant Sci* 5: 1–9. doi: 10.3389/fpls.2014.00771

- This P, Lacombe T, Thomas MR (2006) Historical Origins and Genetic Diversity of Wine Grapes. *Trends Genet* 22: 511–519. doi: 10.1016/j.tig.2006.07.008
- Thomas DS, Montagu KD, Conroy JP (2004) Changes in Wood Density of *Eucalyptus camaldulensis* due to Temperature - The Physiological Link between Water Viscosity and Wood Anatomy. *For Ecol Manage* 193: 157–165. doi: 10.1016/j.foreco.2004.01.028
- Tibbetts TJ, Ewers FW (2000) Root Pressure and Specific Conductivity in Temperate Lianas: Exotic *Celastrus orbiculatus* (Celastraceae) vs. native *Vitis riparia* (Vitaceae). *Am J Bot* 87: 1272–1278. doi: 10.2307/2656720
- Tyree MT, Ewers FW (1991) The Hydraulic Architecture of Trees and Other Woody Plants. *New Phytol* 119: 345–360.
- Van Der Weijde T, Huxley LM, Hawkins S, et al (2017) Impact of Drought Stress on Growth and quality of *Miscanthus* for Biofuel Production. *GCB Bioenergy* 9: 770–782. doi: 10.1111/gcbb.12382
- Van Leeuwen C, Tregoat O, Chone X, et al (2009) Vine Water Status Is a Key Factor in Grape Ripening and Vintage Quality for Red Bordeaux Wine. How Can It Be Assessed for Vineyard Management Purposes? *J Int Des Sci La Vigne Du Vin* 43: 121–134.
- Vasconcelos MC, Greven M, Winefield CS, et al (2009) The Flowering Process of *Vitis vinifera*: A Review. *Am J Enol Vitic* 60: 411–434. doi: 10.1104/pp.002428.68
- Vincken J-P (2003) If Homogalacturonan Were a Side Chain of Rhamnogalacturonan I. Implications for Cell Wall Architecture. *Plant Physiol* 132: 1781–1789. doi: 10.1104/pp.103.022350
- Weber B, Hoesch L, Rast DM (1995) Protocatechualdehyde and Other Phenols as Cell Wall Components of Grapevine Leaves. *Phytochemistry* 40: 433–437. doi: 10.1016/0031-9422(95)00314-W
- Willats WGT, Orfila C, Limberg G, et al (2001) Modulation of the Degree and Pattern of Methyl-Esterification of Pectic Homogalacturonan in Plant Cell Walls: Implications for Pectin Methyl Esterase Action, Matrix Properties, and Cell Adhesion. *J Biol Chem* 276: 19404–19413. doi: 10.1074/jbc.M011242200
- Williams LE, Araujo FJ (2002) Correlations among Predawn Leaf, Midday Leaf, and Midday Stem Water Potential and their Correlations with other Measures of Soil and Plant Water Status in *Vitis vinifera*. *J Am Soc Hortic Sci* 127: 448–454. doi: 10.1016/j.yqres.2009.07.010
- Williams LE, Baeza P, Vaughn P (2012) Midday Measurements of Leaf Water Potential and Stomatal Conductance are Highly Correlated with Daily Water Use of Thompson Seedless Grapevines. *Irrig Sci* 30: 201–212. doi: 10.1007/s00271-011-0276-2
- Wine Institute (2016) World Wine Consumption by Country 2015. *Wine Inst.* 39–40.
- Wolf S, Greiner S (2012) Growth Control by Cell Wall Pectins. *Protoplasma* 249: 169–175. doi: 10.1007/s00709-011-0371-5

- Wu HC, Huang YC, Stracovsky L, Jinn TL (2017) Pectin Methylesterase is Required for Guard Cell Function in response to Heat. *Plant Signal Behav* 12: 1–5. doi: 10.1080/15592324.2017.1338227
- Xu F, Guo W, Xu W, et al (2009) Leaf Morphology Correlates with Water and Light Availability: What Consequences for Simple and Compound Leaves. *Prog Nat Sci* 19: 1789–1798. doi: 10.1016/j.pnsc.2009.10.001
- Xu F, Guo W, Xu W, Wang R (2008) Habitat Effects on Leaf Morphological Plasticity. *Acta Biol Cracoviensia Ser Bot* 50: 19–26.

An analysis of the hydraulic anatomy of the stem and the shoots showed that low water availability led to the formation of a limited hydraulic system with a reduced xylem area and reduced vessel diameter. When examining the morphological changes, under severe stress at the beginning of the season, petioles were short, starch accumulation has increased, the hydraulic system was reduced, and a high level of components contributing to the stability of the cell wall (lignin, pectins with high methyl-esterification) was observed. However, as the season progressed, these adjustments occurred in all treatments regardless of water availability.

Conclusions: It can be concluded that the anatomical changes in the hydraulic system of the stem and shoots caused by low water availability, constitute a structural memory of the vine. This in turn, influences (already at the beginning of the season) the petioles structure in the severe stress treatment. Later in the season, water availability does not govern the petiole structure, but rather other factors, such as temperature. The continued integration of applied and theoretical research may shed light on the characteristics of adaptations to the dryness of the vine, and may also help to develop markers for real-time stresses in the vineyard.

Abstract

Introduction: The grapevine (*Vitis vinifera*) water status has fundamental implications on growth, yield and wine quality. Moderate water stress is needed in order to achieve premium wine quality, however, high stress is harmful and may cause perennial damage to the plants. The plant water status affects the hydraulic anatomy. Narrow vessels conduct less water, but are more resistant to embolism and are structurally stronger. In contrast, wide vessels account for most of the hydraulic conductivity, but their structure is weaker. Another structurally important features are the cell walls- their architecture and composition influences the cells adhesion, water adsorption and biomechanical strength. Cell wall composition varies according to genetics, cell type and environmental conditions, thus helping to create adjustments to stress.

Aims: There is a lack of knowledge on the structure of mature field-grown grapevines, on the effects of drought stress on anatomy and cell wall composition. The primary goal of this research was to investigate the perennial influence of water management in wine grapes (*Vitis vinifera* ‘Cabernet Sauvignon’) on the hydraulic anatomy in stems, shoots and petioles. The secondary objective was to explore the effects of the intra-seasonal drought stress on morphological and anatomical changes on the variability of cell wall components in petiole as representing a dynamic physiological state.

M&M: The research was conducted in a commercial vineyard planted in 2008. In 2014, three different irrigation treatments were commenced: 1. Non-stressed control- vines grown in lysimeters with hourly irrigation. 2. Mild stress treatment -Deficient irrigation initiated at the beginning of bud break. 3. Severe stress treatment -Deficient irrigation implemented only when the stem water potential reached 1.2 -MPa. Throughout the growing seasons of 2016-2018, different vegetative and physiological parameters were measured. In addition, the parameters of the xylem anatomy were measured on stems (2016-2017) and shoots (2016). During the 2018 growing season, petioles were sampled on three separate dates, and were analyzed for: morphology, hydraulic anatomy and cell wall composition.

Results: The vegetative and physiological parameters obtained indicated that the non-stressed control treatment maintained an improved water status and vigorous canopy throughout the study, contrary to the mild and severe stress treatments.

Faculty of Natural Sciences

The Effect of Water Management on Development of the Hydraulic System in Grapevines

A thesis submitted as Partial Fulfillment of the Requirements for the
degree Master of Science (M.Sc.)

In Biological Chemistry and Molecular Biology,
Molecular Biology Program
Ariel University

By

Shunamit Wolberg

This work was carried out under the supervision of
Dr. Yishai Netzer and Dr. Tovit Rosenzweig

February 2019