

Influence de certaines variables climatiques sur la composition phénolique et aromatique de deux cépages rouges cultivés en Castille-La Mancha (Espagne)

Effect of certain climatic variables on the phenolic and aromatic composition of two red grape varieties (Merlot and Cabernet-Sauvignon) grown in the Mancha region (Spain)

Raquel ROMERO*, Jesús MARTINEZ, Esteban GARCÍA et Juan Luis CHACÓN

Instituto de la vid y el vino de Castilla, La Mancha (IVICAM), Ctra. de Albacete s/n,
13700 Tomelloso (Ciudad Real), Spain

*Corresponding author: Tel. 926 508060, Fax 926 512610. E-mail : raquel@ivicam.com

Abstract: Between 2002 and 2004 we studied the behaviour of two red grape varieties - Merlot and Cabernet Sauvignon – within the scope of an experimental protocol encompassing 14 plots, 7 of which had not been cultivated, situated in geographically distant locations representing different *terroirs* of Castilla-La Mancha.

A brief geopedological characterisation was performed of the different plots (geological stratum, topography, geomorphology, type of soil...). The agronomic characteristics of the plots were also determined (crop age, planting density, vegetation growth control, fertilisation...).

The most significant climatological variables for wine production, IS (Dryness Index), IH (Heliothermal Index) and IF (Cool Night Index), the dates of the four most representative phenological states in vines (shooting, semi-flowering, semi-veraison and ripening), the importance of plant cover (LAI: Leaf Area Index) and phenolic composition (phenolic ripening parameters) and aromatic composition (GC/MS: gas-phase chromatography combined with mass spectrometry) of ripe grapes were some of the parameters monitored in these years.

The results obtained show that the thermal regime during the vegetative cycle and ripening, as well as certain cropping practices (particularly those that influence vine architecture and fruit characteristics and weight), bear an important influence on the phenolic and aromatic composition of grapes during ripening, even in the semi-arid conditions of La Mancha.

Key words : Cabernet-Sauvignon, Merlot, climatological variables, aromas, phenols

Introduction

Nous étudions depuis 2002 le comportement de plusieurs cultures de vigne dans le cadre d'un projet pluridisciplinaire qui se déroule sur le territoire de Castilla-La Mancha. Différentes parcelles d'essai ont été choisies sur divers emplacements de la région (figure 1) et ont été contrôlées dès lors.

Étant donné l'étendue du territoire qui forme la région, on y trouve une grande diversité en ce qui concerne la distribution des facteurs écologiques, ce qui en fait une zone très hétérogène. L'immensité du territoire et l'étendue de la culture de la vigne constituent une entrave importante aux études de zonage viticole. De fait, les tentatives de délimitation et de classement territorial sont issues de secteurs autres que le secteur vitivinicole et sont encadrées dans des programmes ambitieux qui dépassent le domaine régional. Le classement biogéoclimatique de l'Espagne (ELENA *et al.*, 1997) en est un bon exemple.

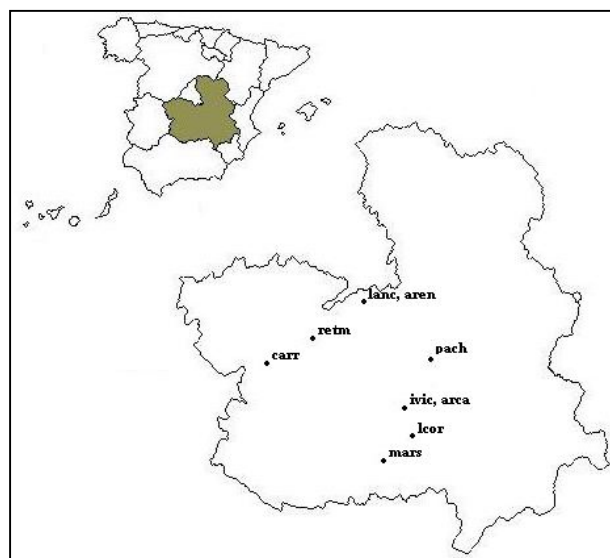


Figure 1 - Emplacements des parcelles.

Construit à partir des informations existantes sur le milieu naturel, son but principal a été d'élaborer un modèle territorial à base écologique multifactoriel applicable à la gestion des ressources agraires. La définition de classes territoriales à transcendance écologique, l'élaboration d'une clé de classement, leur identification et représentation sur une cartographie ayant une résolution de 4 km² ont constitué les principaux jalons du processus.

Au préalable, lors d'une première étape dite d'écorégionalisation, sept grandes éco-régions ont été définies, ayant une signification géoclimatique et biogéographique. L'écorégion n° 6, dite « Manchega », est distribuée sur le centre de la Péninsule ibérique et comprend 27 classes de territoires (de la 601 à la 628) qui présentent une caractérisation climatique, lithologique et géographique différente.

En comparaison avec un autre type de mises en œuvre visant plutôt le côté viti-vinicole (GÓMEZ-MIGUEL et SOTÉS, 2000), il semble que le côté biogéoclimatique peut avoir une virtualité à petite échelle (macrozonage), permettant de caractériser de grandes unités environnementales. Cela peut être utile au moins pour l'établissement de réseaux de parcelles expérimentales qui soient représentatives de domaines territoriaux distincts et pouvant contribuer à expliquer des différences dans le comportement du vignoble. Ce n'est pas vainement qu'une bonne délimitation et une caractérisation de zones viticoles impliquent toujours une détermination supplémentaire des composants de la qualité du raisin et/ou du vin que l'on peut corrélérer avec les conditions du milieu ou avec les manières de mener la culture.

Matériels et méthodes

Réseau multi-local de parcelles expérimentales et matériel végétal

Un total de 14 parcelles expérimentales, cultivées avec les variétés objet d'étude, a été choisi sur différents emplacements représentatifs de différentes classes territoriales de l'éco-région « Manchega ». Le tableau 1 spécifie les localisations et identifie chaque couple variété-emplacement.

Une brève caractérisation des parcelles à partir d'un point de vue géo-pédologique est représentée au tableau 2, qui présente en outre certaines particularités de la culture.

D'autres caractéristiques qui peuvent être mentionnées sont :

- L'orientation nord-sud généralisée des rangs.
- La conduite en espalier vertical à double cordon et la taille à coursons ou à coursons et à long bois.
- Le maintien du terrain libre de mauvaises herbes, qui se fait à partir de passes de cultivateur.
- La fertilisation, qui est adaptée à la richesse de chaque sol, et les traitements phytosanitaires, qui ont lieu en fonction des avertissements agricoles.
- L'arrosage au goutte-à-goutte généralisé, effectué judicieusement pour l'obtention de récoltes de qualité.

Caractéristiques du millésime

Pour la caractérisation climatique de chacun des trois millésimes dans chaque emplacement, on a utilisé des équipements MicroIris, munis de capteurs de température, humidité relative, pluie et humidité du sol. Les indices climatiques calculés à partir des données fournies par les stations MicroIris concernent les éléments héliothermiques (IH, indice héliothermique de Huglin), nyctermique (IF, indice de fraîcheur des nuits) et hydrique (IS, indice de sécheresse). Ces indices sont établis en fonction du cycle végétatif de la vigne ou de diverses périodes de celui-ci, et ils sont étroitement liés au potentiel qualitatif de la production (TONIETTO et CARBONNEAU, 2000).

Expression végétative et production

Après le débourrement et avant la floraison, on a précisé la fertilité des variétés, en contrôlant le nombre et la position des bourgeons laissés lors de la taille de 10 pieds par variété, ainsi que le nombre de grappes formées sur chacune des pousses.

La superficie foliaire totale a été déterminée à l'aide de l'indice d'aire foliaire (LAI) par des mesures d'extinction de la lumière avec le LAI-2000 Plant Canopy Analyzer (LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA). On a utilisé un protocole strict de mesures sur un total de 10 pieds par parcelle (ROMERO *et al.*, 2005).

Municipalité Province	Variété - emplacement
Tomelloso-Argamasilla (Ciudad Real)	meivic csivic, csarca
Montiel (Ciudad Real)	memars csmars
Alhambra (Ciudad Real)	melcor cslcor
Retuerta del Bullaque (Ciudad Real)	mecarr cscarr
Ocaña (Toledo)	mearen cslanc
Monreal del Llano (Cuenca)	mepach cspach
Orgaz (Toledo)	meretm csretm

Tableau 1 - Localisation des emplacements.

Enfin, on a estimé la productivité des cultures en considérant deux variables : le poids du bois de taille et la production de raisin. Une fois les sarments desséchés, et pendant le repos hivernal, on a taillé 10 pieds par parcelle en respectant les particularités de la taille de chaque endroit, et on a pesé le bois obtenu. D'autre part, la production moyenne par pied a été estimée à partir du total de production de chaque parcelle.

Parcelles et classe territoriale	Matériaux géologiques	Topographie, géomorphologie	Type de sol	Altitude, exposition	Age	Pieds par ha.
csvic*, csarca** C.T. 612	Matériel détritique carbonaté	Plan Eventail alluvial du Guadiana	Calcisol pétrique, croûte superficielle	660 -	18	1.275* 1.667**
csmars, memars C.T. 610	Sédiments limo-caillouteux ardoise/quartzite	Légère pente Piedemont de buttes paléozoïques	Cambisol calcarique-chromique	780 SO	18	1.667
cslicor, melcor C.T. 620	Carnioles et calcaires jurassiques	Pente modérée Campo Montiel	Leptosol rendzique rendzine cambique	870 SE	5	2.300
cspach, mepach C.T. 605	Plâtres, limons et argiles	Pente douce Bassin du Monreal	Cambisol calcique, sans croûte calcaire	720 SE	5	2.564
Cslanc C.T. 611	Calcaires consolidés	Plan Mesa d'Ocaña	Cambisol calcique, croûte profonde	740 -	12	2.016
mearen C.T. 611	Matériel détritique carbonaté	Légère pente Mesa d'Ocaña	Cambisol calcique, sans croûte calcaire	730 SO	12	2.016
cscarr*, mecarr** C.T. 613	Galets et sable de quartzite	Légère pente Broussailles du Carrizal	Cambisol gleyique, planosol	780 E-SE	16* 8**	1.667
csretm, meretm C.T. 612	Granite biotitique	Plan Superficie de Toledo	Cambisol dystrique	740 -	8	2.222

Tableau 2 - Caractérisation des parcelles du point de vue géo-pédologique.

Maturation et composition du raisin à la maturité

Entre la véraison et la maturité, on a réalisé un suivi de la maturation sur chacune des parcelles. La prise d'échantillons a eu lieu à intervalles réguliers en fonction de la durée du processus de maturation et de la variété. Un total de 3 kg de raisin pris sous forme de fragments de grappe de 5 à 10 grains de raisin, d'une manière entièrement aléatoire, a constitué chaque échantillon. Finalement, le nombre d'échantillons pris et analysés par parcelle a varié entre 3 et 6.

Les contrôles menés ont inclus des mesures du GAP, l'acidité totale, le pH et l'acide malique, en utilisant les méthodes officielles de l'Union Européenne. On a également déterminé les paramètres de la « maturité phénolique » (GLORIES, 2001): le potentiel d'anthocyanes totaux, les anthocyanes extractibles, l'indice de maturité cellulaire et la maturité des pépins. Enfin, les niveaux de polyphénols totaux (RIBÉREAU-GAYON, 1970), de catéchines (VIVAS *et al.*, 1998) et de tanins (PORTER *et al.*, 1986) ont été également appréciés dans les macérats à pH=1 obtenus selon la méthode de la maturité phénolique.

À la maturité, outre les paramètres conventionnels et de la maturité phénolique, on a déterminé la composition du raisin par l'analyse des composés volatiles minoritaires par GC-MS (CHACON *et al.*, 2002). On a également pressé 100 grains de raisin entre les doigts pour éliminer la pulpe. Les pellicules et les pépins obtenus ont été lavés trois fois à l'eau Milli-Q, séchés avec du papier-filtre, puis lyophilisés. Les échantillons lyophilisés, 2 g pour les pépins et 4 g pour les pellicules, ont été pilés pendant 2 minutes dans 100 ml d'un mélange de méthanol/eau/acide formique (50:48,5:1,5), puis centrifugés à 4 000 t/min pendant 10 minutes. Dans les extraits obtenus, on a déterminé les anthocyanes libres, les polyphénols totaux, les catéchines et les tanins par les méthodes mentionnées ci-dessus.

Résultats

Pour éviter une surcharge de chiffres, nous avons omis les tableaux comprenant les données particulières obtenues des variables climatiques et agronomiques mesurées sur les parcelles, ainsi que des paramètres chimiques et physicochimiques mesurés dans le raisin. Le tableau 3 présente le rapport existant entre certains des deux types de mesures, avec indication du coefficient de corrélation d'échantillon. On indique les cas où les tests de contraste de l'hypothèse nulle ($H_0: \rho = 0$), utilisés pour déduire les rapports à niveau population, ont fourni des corrélations significatives ($< 0,05$) et hautement significatives ($< 0,01$). Comme on peut constater, les calculs ont été faits séparément pour chacune des deux variétés et l'on a inclus comme variables indépendantes certains des paramètres physicochimiques du raisin : dimension (= poids moyen), pourcentage (%) en poids représenté par les pellicules et pourcentage (%) en poids représenté par les pépins. Les analyses de la variation des régressions linéaires effectuées dans chaque cas où la corrélation était significative à des niveaux $< 0,05$ ont déterminé que les régressions étaient également significatives pour des niveaux de signification $< 0,05$.

Discussion

En analysant les données du tableau, l'attention est attirée en premier lieu sur les similitudes, mais également sur les différences importantes entre les deux variétés. Les phénols et les composés volatiles minoritaires ne répondent pas dans la même mesure, dans les deux variétés, aux changements dans les variables prédictives. Des variations dans la concentration d'anthocyanes présents dans le raisin (VIVAS *et al.*, 2001) se produisent en réponse aux températures nocturnes pendant la période de maturation. Cette concentration augmente au fur et à mesure que les nuits sont plus fraîches (IF bas), ceci étant plus évident pour le cas des anthocyanes extractibles du raisin Merlot. On pourrait en dire à peu près autant des terpènes libres, en particulier du nérol, dont la concentration dans le raisin Merlot augmente de manière importante lors des nuits fraîches. Le raisin Cabernet-Sauvignon est également sensible à l'IF, bien que, dans le cas des anthocyanes et des terpènes, les corrélations sont moins significatives.

Un autre paramètre du potentiel phénolique du raisin, la maturité des pépins (Mp), est également concerné par les nuits fraîches, de manière que la maturité augmente (Mp moindre) au fur et à mesure que l'IF diminue, et ce dans les deux variétés.

Il faut attribuer une signification semblable à l'IH, l'indice qui fixe les possibilités héliothermiques du milieu pendant le cycle végétatif annuel. Cela fait entendre que dans des régions au climat chaud, comme Castilla-La Mancha, un cycle déroulé dans des conditions fraîches, surtout à partir de la véraison, stimule la synthèse et/ou l'accumulation d'anthocyanes et de terpènes dans les peaux.

L'interprétation du rôle de l'IS est cependant plus difficile. Cela n'est pas étrange, puisque, pour son calcul, on ne prend pas en compte l'incidence de l'arrosage et rappelons que, même de manière modérée, dans le cas qui nous occupe toutes les parcelles ont été arrosées. Malgré tout, cet indice a présenté une corrélation hautement significative avec les phénols totaux et les catéchines obtenus dans les extraits de pépins de raisin C. Sauvignon, de manière qu'à moindre sécheresse plus de stimulation de la synthèse (ou plus grande facilité d'extraction) de ces composés. Pour la variété Merlot, c'est la synthèse d'alcools aromatiques (benzylique et 2-phényléthanol) qui a semblé être inhibée avec la sécheresse.

Concernant la couverture végétale (exprimée ici comme LAI), il faut signaler la manière dont elle a conditionné certains paramètres phénoliques dans le raisin Merlot (IPTs et maturité cellulaire), alors qu'elle laissait sans effet de ce type celles de C. Sauvignon. Toutefois, l'effet de la végétation a été général sur la concentration d'aldéhydes volatiles C-6. Des données apportées il semble découler qu'une couverture végétale généreuse atténue la synthèse et l'accumulation de ces composés et de leurs précurseurs dans les peaux.

La dimension du fruit et les proportions que représentent les pellicules et les pépins sont reconnues comme des facteurs ayant un grand intérêt pour la vigne à des niveaux qualitatifs (ROMERO *et al.*, 2004). Outre le propre caractère génétique variétal, d'autres particularités les conditionnent, entre autres les caractéristiques du milieu et la pratique viticole mise en œuvre par le viticulteur.

Dans le cv. Merlot, le contenu en composés phénoliques extraits des pépins a démontré une relation étroite avec le type de grain : il a augmenté au fur et à mesure que leur poids diminuait et augmentaient les pourcentages de pellicules et pépins. Il en a été de même avec la vanilline et la 3-OH-b-damascone, des composés plus représentatifs respectivement de phénols volatils et norisoprénoides.

Dans le C. Sauvignon, au contraire, ce sont les anthocyanes, les IPTs et les flavonoïdes, détectés selon la méthode de la maturité phénolique, qui ont répondu au type de grain, ainsi que l'indice de polymérisation en tant que rapport entre les catéchines et les tanins présents dans les macérats à pH=1.

Tableau 3 - Coefficients de corrélation de Pearson entre les paramètres climatiques et agronomiques mesurés et la composition des productions (*signification à < 0,05 ; **signification à < 0,01).

¹mg malvidine/kg raisin ; ²UA à 280 nm ; ³mg acide galique/kg raisin ; ⁴mg catéchine/kg raisin ; ⁵mg/kg raisin ; ⁶µg/kg raisin ; ⁷anthocyanes (pH =1)/tanins (pH =1);

	IF [11,1 / 19,0 °C]		IH [2.003 / 3.080]		IS [-99 / -266 mm]		Indice LAI [0,31/3,97m ² / m ²]		% dans le poids des pellicules [4,61 / 9,45 %]		% dans le poids des pépins [4,61 / 9,45 %]		Poids du grain [0,51 / 1,20 g]	
	ME [n=19]	CS [n=21]	ME [n=19]	CS [n=21]	ME [n=19]	CS [n=21]	ME [n=19]	CS [n=21]	ME [n=19]	CS [n=21]	ME [n=19]	CS [n=21]	ME [n=19]	CS [n=21]
Anthocyanes extractibles [452-1215] ¹	-0,661**	-0,449*	-0,553*	-0,553*						0,483*				
Anthocyanes totaux [515-2120] ¹	-0,486*	-0,495*	-0,566*				-0,508*			0,667**		0,626**		-0,487*
IPT(pH =1)[43,2-127,3] ²							-0,648**			0,594**	0,470*	0,716**		-0,725**
IPT(pH =3,2) [42,1-84,1] ²							-0,580**		0,693**				-0,618**	
Flavonoïdes (pH =1) [575-1745] ³							-0,697**				0,350*	0,520*		-0,731**
Maturité cellulaire [12,2-62,4]							-0,735**							
Maturité des pépins [22,9-77,3]	0,731**	0,618**							0,470*	-0,513*	0,518*		-0,510*	
I. de polymérisation [80,2-617,0] ⁸	0,512*											0,608**		-0,549**
Polyphénols des pépins [1196-5707] ³						0,584**			0,572*	0,440*	0,473*		-0,500*	
Catéchines des pépins [925-4222] ⁴						0,568**		0,444*	0,594**		0,480*		-0,515*	
Tanins des pépins [2073-15923] ⁵			-0,494*					0,471*	0,673**	0,555**	0,590**	0,550**	-0,569*	
Aldéhydes C-6 [2,64-36,34] ⁵						0,445*	-0,594**	-0,644**						
Terpènes (somme) [7,41-32,27] ⁶	-0,594**	-0,489*	-0,480*	-0,601**	0,574*									
Nérol [0,25-10,93] ⁵	-0,725**	-0,467*	-0,675**	-0,616**										
2-phényléthanol + benzylique [0,11-2,26] ⁵	-0,538*				0,579*			-0,482*						
Vanilline [17,5-195,9] ⁶									0,588**		0,580**	0,442*	-0,531*	
3-OH-b-Damascone [0,24-19,0] ⁶											0,725**		-0,472	

⁸catéchines (pH =1)/tanins (pH =1)].

Conclusion

Les trois ans d'études menées mettent en évidence des pistes intéressantes pour la gestion du vignoble sous climat aride, sur lesquelles il faudrait approfondir. Avec les facteurs, qui déterminent le comportement de la culture et ne peuvent pas être contrôlés (accidents météorologiques, climat du millésime, etc.), il en existe d'autres qui peuvent être modulés selon la convenance et les objectifs de production poursuivis.

Si l'on recherche des productions intéressantes du point de vue qualitatif, il faut tenir en compte la biochimie du raisin, c'est-à-dire, les métabolites spécifiques qui donnent au vin leur originalité, comme les composés phénoliques et les arômes. En contrepartie, il faut distinguer les facteurs du milieu et les pratiques viticoles qui les conditionnent, de manière à pouvoir les manipuler dans le but d'en maximiser la synthèse et l'accumulation. En ce sens, il faut accorder le rôle qui correspond au régime de températures de l'année et à la fraîcheur des nuits lors de la maturation, ainsi qu'à la nature de la couverture végétale et au traitement de la culture (utilisation de l'arrosage, contrôle de la production, etc.) qui détermine les dimensions du raisin et la proportion de pellicules et de pépins. **Remerciements:** Ce travail a bénéficié du soutien financier de la Consejería de Ciencia y Tecnología de la JCCM (Projet PCC-02-003) et de la collaboration des entreprises propriétaires des parcelles. Raquel Romero remercie la bourse de recherche donnée par IVICAM.

Références bibliographiques

- CHACON J.L., GARCIA E., MARTINEZ J. e IZQUIERDO P.M., 2002. Los compuestos volátiles en las uvas de las variedades Cencibel, Cabernet Sauvignon y Garnachas cultivadas en la región de La Mancha Central durante la maduración. *Viticultura/Enología Profesional*, n° 80, 45-58.
- ELENA, R.; CASTEJON, M.; SANCHEZ, F.; TELLA, G. (1997). Clasificación biogeoclimática de España peninsular y balear. Ed. Instituto de investigación y tecnología agraria y alimentaria (MAPA).
- GLORIES Y., 2001. Caractérisation du potentiel phénolique: Adaptation de la vinification. *Prog. Agric. Vitic.*, **118**, 347-350.
- GOMEZ-MIGUEL V. y SOTES V., 2000. Utilización de los estudios detallados y muy detallados de suelos en la microzonificación vitícola. *Actas 3^{er} Simposio Internacional de Zonificación Vitivinícola*. Puerto de la Cruz. Tenerife.
- PORTER L.J., HRSTICH L.N. and CHAN B.G., 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyaniding and delphynidin. *Phytochemistry*, **25**, 223-230.
- RIBERAU-GAYON P et STONESTREET E., 1965. Le dosage des anthocyanes dans les vins rouges. *Bull. Soc. Chim.* **9**, 2.649-2.652.
- RIBERAU-GAYON P., 1970. Dosage des composés phénoliques totaux des vins rouges. *Chim. Anal.*, **52**, 627-631.
- TONIETTO J. et CARBONNEAU A., 2000. Système de Clasificación Climatique Multicritères (CCM) Géovitique. *Actas 3^{er} Simposio Internacional de Zonificación Vitivinícola*. Puerto de la Cruz. Tenerife.
- UNION EUROPEA (1990). *Reglamento por el que se determinan los métodos de análisis comunitarios aplicables al sector del vino (2676/90)*, Bruselas.
- VIVAS N., GLORIES Y., LAGUNE L., SAUCIER C. et AUGUSTIN M., 1994. Estimation du degré de polymérisation des procyanidines du raisin et du vin par la méthode au p-dimethylaminocinnamaldéhyde. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **28**, n°4, 319-336.
- VIVAS N., NONIER M.F., GUERRA C. et VIVAS N., 2001. Anthocyanin in grape skins during maturation of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon and Merlot noir from different Bordeaux Terroirs. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **35**, 149-156.