

Relation entre les facteurs environnementaux du terroir et la composition en flavan-3-ols de la pellicule de la baie de raisin, au plateau herbacé et à la vendange

Influence des pratiques viticoles

Relation between the environmental factors of the terroir system and flavan-3-ol composition of grape berry seeds and skin at pre-veraison stage and harvest

Influence of dedicate viticultural management

Yves CADOT*, Nicolas BOTTOIS, Gérard BARBEAU, Étienne GOULET, Maria Teresa MIÑANA CASTELLO et Réjane CHAMPENOIS

Unité Vigne et Vin, Institut National de la Recherche Agronomique, Centre de recherches d'Angers, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucozé cedex, France, Tel. +33 241 225 660, Fax +33 241 225 660

*Corresponding author: cadot@angers.inra.fr

Abstract: Quantity and quality of flavonoids in grape berries are important parts of their global quality. Several studies had shown that tannins are responsible for some major flavour properties of red wines such as colour, bitterness and astringency. Nevertheless, their synthesis and properties are still misunderstood. Some studies had suggested that the tannic pool was set before veraison. Thus, the comprehension of the relations between environment and setting of this tannic pool, up to the harvest, is not sufficient.

This paper describes the relation between the environmental factors of the terroir system, in particular soil moisture, plant response in term of precocity and vigour, and the setting of tannic pool. We had also studied the effect of viticultural management, in interaction with milieu, in the setting of these compounds.

Study of the flavan-3-ols was done on Cabernet franc in 2004 and 2005 from a network of 14 experimental plots. In 2005, each plot was monitored twice, according to a standard viticultural management and a dedicate one, chosen by the viticulturist.

The berries were sampled at the pre-veraison stage and harvest. Soil moisture was described by a two-dimensional soil resistivity profile and by measurement of the soil water reservoir. The vine water status was determined through leaf water potentials until mid-veraison, and with DeltaC13 discrimination between veraison and maturity. Analysis of these flavonoids were performed on berry skin. The composition in procyanidins of skin and seeds were determined by HPLC reversed phase.

Results showed that the period before veraison was important to understand the harvest quality. The quantity and the quality of the condensed tannins were in relation with the vine water status, in interaction with precocity. The interest and limit of the soil description is discussed in the point of view of a terroir characterisation. The influence of the dedicate agricultural management is also pointed out. The relation with the biosynthesis of the procyanidins and berry development kinetics is considered and discussed.

Key words: flavan-3-ols, terroirs, precocity, water status, *Vitis vinifera*

Introduction

La maturité phénolique des raisins est une notion qui intéresse beaucoup les vignerons, les conseillers, les expérimentateurs et les scientifiques. Cette maturité phénolique prend en compte la teneur globale en substance de cette famille, mais aussi leur structure et leur aptitude à l'extraction qui permet le passage dans le vin au cours de la vinification (Glories, 2001). Ainsi, elle peut être définie comme permettant l'obtention simultanée d'un potentiel important et d'une bonne capacité de diffusion dans le vin.

De nombreux auteurs montrent l'importance de ces composés sur la qualité des produits, en particulier les vins rouges (astringence, amertume, couleur) (Cheynier, 1999; Singleton, 1992; Vidal *et al.*, 2004). Ces composés sont également dépendants des conditions de milieu (température, eau, azote) (Bergqvist *et al.*, 2001; Ojeda *et al.*, 2002).

Cependant, si les tanins sont des composés majeurs du raisin, leur synthèse, leurs propriétés et leur disponibilité restent mal connues. Les études réalisées sur *Vitis vinifera* var. Cabernet franc dans la moyenne Vallée de la Loire montrent qu'il existe des relations entre les terroirs et la composition polyphénolique des baies et des vins (Brossaud *et al.*, 1998). Concernant les teneurs relatives en flavan-3-ols (tanins) pour une origine donnée, l'évolution n'est pas visible dans le mois précédant la récolte, et ce, aussi bien pour les pellicules que pour les pépins (Brossaud *et al.*, 1999).

La biosynthèse des procyanidines étant active avant véraison (Boss *et al.*, 1996; Downey *et al.*, 2003b; Kennedy *et al.*, 2001), il apparaît important de prendre en compte cette période dans la caractérisation de la relation « milieu-produit ».

L'objet de l'étude est de mieux comprendre les relations qui existent entre le milieu et la composition des baies en procyanidines. Le milieu étant étudié par la réponse de la vigne, en particulier la vigueur et la précocité, en interaction avec l'alimentation hydrique.

Enfin, la notion de terroir pouvant être élargie aux acteurs et prendre en compte en particulier les pratiques, il semblait judicieux de confronter les résultats obtenus à partir d'un réseau mené de manière homogène avec ceux obtenus à partir des mêmes parcelles mais menées selon des itinéraires « dédiés », c'est-à-dire choisis - par les vignerons selon leurs propres contraintes et intérêts.

Matériels et méthodes

Réseau expérimental. L'étude a été conduite sur un réseau de 14 parcelles situées sur la moyenne vallée de la Loire. Le cépage était *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet franc clone 210, sur porte-greffe 3309C. Cinq types de sol étaient représentés, craie du turonien moyen (TM), sénonien sableux (SS), sénonien argileux (SA), alluvions anciennes de la Loire (AL), alluvions anciennes de la Vienne (AV). Chaque type de sol est répété trois fois à l'exception de AV, deux fois.

Chaque parcelle était constituée de deux entités : la première du groupe « INRA », représentée par 100 ceps conduits avec un itinéraire agroviticole identique pour les 14 parcelles, et la deuxième, du groupe « Vignerons » constituée de 50 ceps conduits avec un itinéraire dédié. Pour chaque entité, 30 souches servaient de référence pour les différentes observations. Les principales caractéristiques et leurs codages sont présentés dans le tableau I.

Fonctionnement de la plante :

Précocité. Elle a été mesurée pour quatre stades, débournement, floraison, véraison et maturité. Le débournement correspondait au taux de bourgeons par cep au stade « pointe verte » tandis que la floraison et la véraison consistaient en une estimation visuelle du taux d'évolution du cep. Les mesures étaient réalisées trois fois par semaine. Le point 50% a été pris comme référence. La maturité a été appréciée par le calcul d'une date « stade sucre 230 g/1 000 baies » correspondant à la date théorique d'atteinte de cette concentration en sucre. Cette date a été évaluée à partir des résultats des contrôles de maturité réalisés hebdomadairement.

Expression végétative. La mesure du poids des bois de taille (PBT) a été réalisée sur les 30 souches de référence. Les 5 ceps les plus proches de la moyenne ont été étuvés (72 heures à 105 °C) pour mesurer le poids sec d'un rameau par mètre linéaire. La vigueur (PBT/nombre de rameaux) et la surface externe du couvert végétal (SECV) ont finalement été prises en compte.

État hydrique. Des mesures de potentiel foliaire de base ont été réalisées grâce à une chambre à pression de Scholander. Les mesures ont été réalisées à mi-floraison + 19 jours et mi-floraison + 61 jours, après au minimum dix jours sans pluie significative. Un prélèvement de 200 baies a été effectué sur l'ensemble des parcelles lors de la première journée de vendange. Le rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ des sucres a été mesuré sur le moût autoclavé.

Prélèvements pour analyses biochimiques. Deux personnes ont prélevé 200 baies au stade « plateau herbacé » et à la vendange. Ces 200 baies ont été séparées en deux lots de 100 baies par tirage aléatoire, un lot servant à des mesures classiques, l'autre servant aux analyses fines des tanins (procyanidines). Les dosages des procyanidines ont été réalisés après extraction méthanolique et acétonique des broyats de pellicules. Les séparations et dosages ont été effectués par RP-LC-UV, sur une chaîne KONTRON® 400, selon les conditions décrites par Cadot (Cadot *et al.*, 2006). Chaque résultat est la moyenne de quatre extractions.

Traitements statistiques. Réalisés avec le logiciel Statistica® 7.

Résultats et discussion

Procyanidines totales. Exprimés en grammes par kilo de matière fraîche, la quantité de tanins a diminué significativement entre la période précédant la véraison et la vendange (tableau 2 et figure 1). Si cela est en accord avec de précédentes études (Downey *et al.*, 2003; Kennedy *et al.*, 2001), cela est dû au grossissement des baies important pendant la maturation. La quantité mesurée au plateau herbacé était corrélée au rendement à la vendange. Exprimée en mg par baies, la quantité a augmenté malgré tout durant cette même période de manière hautement significative. L'effet « pratiques » n'a pas été significatif. Il existait néanmoins des différences importantes selon les milieux, et notamment les alluvions de la Vienne (AV), dont les teneurs étaient stables entre les deux stades pour le groupe « INRA », au contraire des alluvions de la Loire (AL). Dans le cas du groupe « Vigneron », les comportements ont été opposés (figure 2). Il n'est pas apparu de manière globale de relation entre alimentation hydrique et quantité de procyanidines. Cependant, il est notable que les deux parcelles pour lesquelles les contraintes étaient les plus fortes avaient une quantité de procyanidines par baies les plus importantes, et que les baies disposant des baies les plus grosses étaient les moins concentrées. Cette relation volume-concentration est à relier avec la modification du ratio pellicules/pépins/pulpe qu'entraîne un moindre grossissement des baies durant la maturation.

Structure des procyanidines. Les degrés de polymérisation ont augmenté au cours de la maturation quelles que soient les parcelles (figure 3). Il existait de fortes variations selon les parcelles, mais l'effet « milieu » n'a été que peu significatif (figure 4). L'effet des pratiques était également peu explicatif. Les taux de galloylation n'ont pas évolué de manière significative (figure 3) bien que cela ait été précédemment observé par Kennedy (Kennedy *et al.*, 2001). Il existait des différences significatives pour les parcelles du Turonien moyen (tableau 2) à la fois en termes de proportion de formes galloylées, plus importantes, et de taux de prodéphinidines, plus faibles. D'autre part, pour l'ensemble des parcelles du groupe « INRA », il existait une relation inverse entre ses deux taux, au stade herbacé comme à la vendange. D'autre part, le taux de galloylation était corrélé à la précocité de la floraison.

L'augmentation de la concentration en procyanidines en mg/baie n'est pas en accord avec d'autres études (Downey *et al.*, 2003; Kennedy *et al.*, 2001). Kennedy a observé durant la maturation une diminution des flavanols plus importantes pour les monomères que pour les procyanidines, ce que l'augmentation du DPM dans notre étude pourrait montrer. Par contre, Downey observe une diminution du DPM durant la maturation. Dans notre cas, le fractionnement préalable à l'analyse a éliminé les monomères et dimères de l'analyse (Cadot *et al.*, 2006). Leur concentration présumée élevée avant véraison n'a donc pas pu être mise en évidence. La relation entre date de mi-floraison et taux de galloylation pourrait s'expliquer par le fait les unités épicatechine-gallate ne sont présentes que dans les unités terminales.

La quantification et la caractérisation de la structure des procyanidines pourraient ne pas être suffisantes dans la compréhension des modifications gustatives de la baie, perçues empiriquement (Cadot *et al.*, 2006). D'autre part, dans une perspective œnologique, en plus de la simple analyse de la composition en procyanidines, il convient de considérer également la taille de la baie et le taux de pépins (Roby *et al.*, 2004; Walker *et al.*, 2005). Enfin, les mesures réalisées dans le cadre de l'étude correspondaient à des prélèvements « moyens », et la diversité au sein de chaque parcelle n'était pas prise en compte. Un comportement très hétérogène sur une parcelle pourrait n'être pas mesurable en termes de composition polyphénolique, mais avoir des répercussions sur la qualité finale.

Conclusion

L'étude a montré l'intérêt de prendre en compte la phase pré-véraison dans une étude visant à caractériser le « lien au terroir ». S'il existe des différences entre milieux, elles ne sont pas directement liées à la caractérisation du sol. Certains éléments de caractérisation des sols devront être revus (réserve utile par exemple). D'autre part, l'effet des pratiques n'est que peu significatif sur la caractérisation en flavanols des baies. Une élucidation des relations entre les parois cellulaires et ces composés permettrait une interprétation plus puissante de la maturation, en lien avec le milieu. Le produit final n'étant pas le raisin quand il s'agit de mettre en évidence la typicité, il conviendra de vérifier sur les vins si les compositions en flavanols peuvent être explicatives d'une part, et si les pratiques sont significatives d'autre part.

Acknowledgments : Les auteurs souhaitent remercier les vigneron propriétaires des parcelles expérimentales pour la mise à disposition du réseau et des informations s'y afférant ; Mesdames Ramillon et Roger pour leur appui technique dans le suivi agro-viticole ; Mesdames Bouvet et Mège pour la prise en charge des prélèvements et analyses. Enfin, les auteurs tiennent à remercier Interloire, L'ONIVins et le Conseil Régional des Pays de Loire pour l'appui financier apporté durant les quatre années de l'expérimentation.

Tableau I - Principales caractéristiques du réseau expérimental.

Code	INRA	Vigneron
Identification	[1a - 14a]	[1b - 14b]
Sol [code parcelle]	CTM [1-3], SS [4-6], SA [7-9], AL [10-12], AV [13-14]	idem
Cépage	Cabernet franc clone 210	idem
Porte-greffe	3309 Couderc	idem
Age moyen [min-max]	[17 - 22]	idem
Surface (m ²) [min-max]	[190 - 240]	[95 - 120]
Densité (pieds/Ha) [min-max]	[4762 - 5263]	idem
Palissage	vertical	idem
Taille	guyot simple	idem
Entretien du sol	désherbage total [4a - 14a] enherbement dans le rang [1a - 3a]	désherbage total [5b, 7b, 10b] enherbement dans le rang [reste des parcelles]
Conduite viticole	identique depuis 2002 sur toutes	dédié selon libre choix du vigneron

Tableau 2 - Teneurs en procyanidines et éléments explicatifs de leur structure.

Type milieu	Code parcelle	Procyani- dines Stade herbacé (g/kg matière fraîche)	Procyani- dines Stade vendanges (g/kg matière fraîche)	Procyani- dines Stade herbacé (g/1000 baies)	Procyani- dines Stade vendanges (g/1000 baies)	Degré de polyméri- sation moyen Stade herbacé	Degré de polyméri- sation moyen Stade vendanges	Taux prodelphi- nidines stade herbacé	Taux galloylation Stade herbacé	Taux prodelphi- nidines stade vendanges	Taux galloylation Stade vendanges
TM	1a	1,25	1,011	1,078	1,599	23,1	27,0	40,7%	3,3%	40,1%	3,4%
	1b	1,39	0,982	1,021	1,617	22,6	26,0	40,7%	3,6%	43,2%	3,6%
	2a	1,42	1,306	1,247	1,887	18,0	27,6	32,5%	3,8%	42,0%	3,2%
	2b	1,93	1,524	1,425	2,032	23,5	31,0	40,1%	3,7%	42,7%	3,5%
	3a	1,79	0,947	1,415	1,407	24,3	25,7	43,3%	3,1%	42,4%	3,4%
	3b	1,81	1,108	1,349	1,653	25,4	26,5	40,9%	3,8%	43,5%	3,7%
SS	4a	1,11	1,020	0,958	1,686	20,9	24,3	43,1%	2,7%	40,5%	2,7%
	4b	1,22	1,244	1,052	2,000	18,1	27,5	41,8%	2,9%	43,8%	3,2%
	5a	1,37	1,199	1,146	1,715	22,0	29,7	42,4%	3,1%	44,3%	3,0%
	5b	1,25	1,306	1,067	1,830	18,1	31,0	44,5%	2,6%	45,1%	3,0%
	6a	1,29	1,006	1,224	1,436	19,6	30,2	41,4%	3,1%	43,9%	3,1%
	6b	1,48	1,039	0,973	1,289	20,2	30,9	43,4%	3,0%	43,8%	3,3%
SA	7a	1,78	1,367	1,058	1,617	30,6	39,2	45,7%	3,2%	46,9%	3,3%
	7b	1,72	1,201	1,072	1,464	28,0	34,7	42,6%	3,8%	44,3%	3,6%
	8a	1,19	1,151	0,923	1,650	21,9	32,5	39,2%	3,2%	44,2%	3,4%
	8b	1,66	1,175	1,240	1,655	24,2	32,6	43,2%	3,4%	41,9%	3,7%
	9a	1,58	1,429	1,081	1,811	18,4	23,9	36,5%	3,5%	36,0%	3,2%
	9b	2,01	1,675	1,100	1,836	21,8	24,4	35,6%	3,7%	40,0%	3,3%
AL	10a	1,64	0,854	1,172	1,206	24,2	31,9	49,9%	2,5%	50,1%	2,4%
	10b	1,61	1,291	1,220	1,657	26,1	29,9	47,0%	2,9%	50,9%	2,6%
	11a	1,25	1,148	1,077	1,490	17,8	22,7	40,9%	3,2%	43,3%	2,6%
	11b	1,47	1,670	1,164	2,128	23,1	24,2	41,2%	3,2%	48,4%	2,2%
	12a	2,06	1,075	1,405	1,470	23,9	24,3	42,5%	3,3%	40,5%	2,7%
	12b	1,55	1,093	0,988	1,162	24,9	29,8	41,9%	3,5%	45,8%	3,4%
AV	13a	1,13	1,211	0,885	1,547	20,8	30,9	42,7%	2,7%	45,1%	2,7%
	13b	1,63	1,187	1,207	1,511	21,6	28,5	43,9%	2,8%	45,9%	2,5%
	14a	1,21	1,353	1,048	2,288	19,7	27,5	47,0%	2,4%	44,9%	3,0%
	14b	1,41	0,767	1,276	1,302	19,8	24,9	43,7%	2,7%	43,9%	2,9%

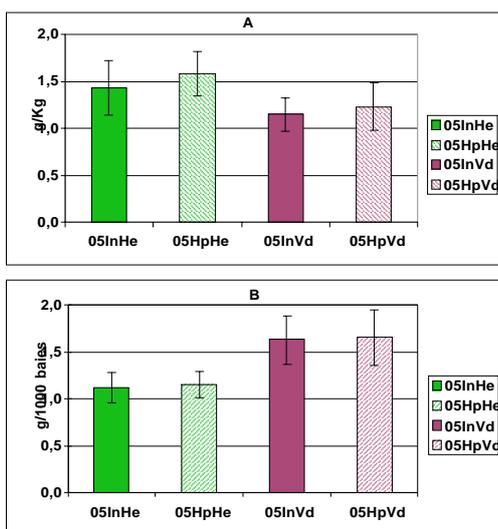


Figure 1 - Quantité de procyanidines aux stades « plateau herbacé » et maturité.

InHe : parcelles « INRA », stade herbacé. HpHe : parcelles « vigneron » stade herbacé.
 InVd : parcelles « INRA », stade vendanges.
 HpVd : parcelles « vigneron », stade vendanges.
 A : Quantité en g/kg
 B : Quantité en g/1 000 baies
 Résultats exprimés en équivalent épicatechine

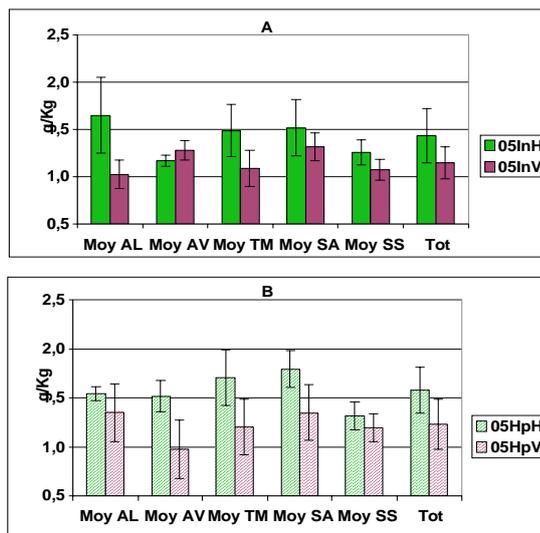
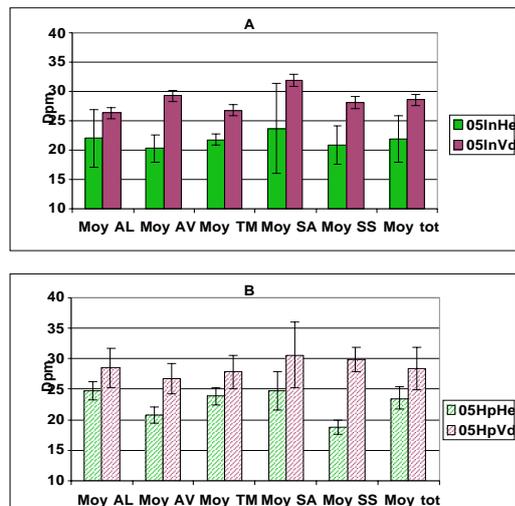
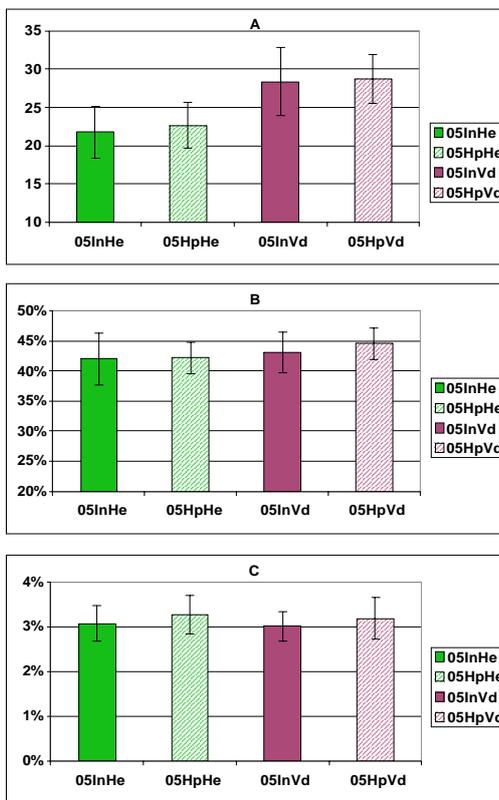


Figure 2 - Quantité de procyanidines aux stades « plateau herbacé » et maturité.

Moyenne par type de milieu.
 InHe : parcelles « INRA », stade herbacé.
 HpHe : parcelles « vigneron » stade herbacé.
 InVd : parcelles « INRA », stade vendanges.
 HpVd : parcelles « vigneron », stade vendanges.
 A : Groupe « INRA »
 B : Groupe « vigneron »



Références bibliographiques

- BERGQVIST J., N. DOKOOZLIAN and N. EBISUDA., 2001. Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the Central San Joaquin Valley of California. *American Journal of Enology and Viticulture*, **52**, 1-7.
- BOSS P.K., C. DAVIES, and S.P. ROBINSON., 1996. Expression of anthocyanin biosynthesis pathway genes in red and white grapes. *Plant Molecular Biology*, **32**, 565-569.
- BROSSAUD F., V. CHEYNIER, C. ASSELIN and M. MOUTOUNET, 1998. Influence of « terroir » on flavonoid composition of berries and Cabernet franc wines in Val de Loire. Influence on the sensory typology of the wines, *Bulletin de l'OIV*, **71**, 757-771.
- BROSSAUD F., V. CHEYNIER, C. ASSELIN and M. MOUTOUNET, 1999. Flavonoid compositional differences of grapes among site test plantings of Cabernet franc. *American Journal of Enology and Viticulture*, **50**, 277-284.
- CADOT Y., M.T. MINANA CASTELLO and M. CHEVALIER, S 2006. Flavan-3-ol compositional changes in grape berries (*Vitis vinifera* L. cv Cabernet Franc) before veraison, using two complementary analytical approaches, HPLC reversed phase and histochemistry. *Analytica Chimica Acta*, **563**, 65-75.
- CHEYNIER V., 1999. Tannins in grape and grape products, *In Tannins in livestock and human nutrition*. Proceedings of an International Workshop, Adelaide, Australia, J. D. Brooker, ed., Adelaide, 90-94.
- DOWNEY M.O., J.S. HARVEY and S.P. ROBINSON, 2003. Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **9**, 15-27.

- GLORIES Y., 2001. Caractérisation du potentiel phénolique : adaptation de la vinification. *Progrès agricole et viticole*, **118**, 347-350.
- KENNEDY J.A., Y. HAYASAKA, S. VIDAL, E.J. WATERS and G.P. JONES, 2001. Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 5348-5355.
- OJEDA H., C. ANDARY, E. KRAEVA, A. CARBONNEAU and A. DELOIRE, 2002. Influence of pre- and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture*, **53**, 261-267.
- ROBY G., J.F. HARBERTSON, D.A. ADAMS and M.A. MATTHEWS, 2004. Berry size and vine water deficits as factors in winegrape composition: anthocyanins and tannins. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **10**, 100-107.
- SINGLETON V.L., 1992. Tannins and qualities of wines., In P. Press, ed. *Plant polyphenols Synthesis, Properties, Significance*. R.W. Hemingway and P.E.Laks, New York.
- VIDAL S., L. FRANCIS, A. NOBLE, M. KWIATKOWSKI, V. CHEYNIER and E. WATERS, 2004. Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine, *Analytica Chimica Acta*, **513**, 57-65.
- WALKER R.R., D.H. BLACKMORE, P.R. CLINGELEFFER, G.H. KERRIDGE, E.H. RUHL and P.R. NICHOLAS, 2005. Shiraz berry size in relation to seed number and implications for juice and wine composition, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **11**, 2-8.