

Quelles cibles moléculaires pourraient expliquer l'effet du terroir sur la composition des baies en sucres et acides?

N. TERRIER, F.-X. SAUVAGE, A. AGEORGES, C. ROMIEU

Institut Supérieur de la Vigne et du Vin, INRA-IPV, Unité de Recherches de Biochimie Métabolique et Technologie
2, place Viala, 34060 Montpellier cedex 01.

INTRODUCTION

Le manque de connaissances concernant la physiologie de la maturation du raisin a longtemps interdit d'interpréter l'effet du terroir ou du millésime sur la qualité des vendanges en termes moléculaires. L'hypothèse selon laquelle c'est la perméabilité membranaire qui contrôlerait le sens comme l'intensité du stockage des acides est pourtant déjà ancienne (1). L'étude du transport des acides organiques et de son coût énergétique permet d'avancer certaines hypothèses concernant les sites potentiels de la régulation du contenu en sucres et acides du raisin sous l'effet de paramètres environnementaux.

ACCUMULATION DES ACIDES MALIQUE ET TARTRIQUE

Ce sont les transferts d'eau et d'acides organiques dans la vacuole du raisin qui provoquent le gonflement du fruit pendant la phase herbacée.

Cette entrée d'acides organiques dans la vacuole peut être reproduite *in vitro*, au laboratoire. Pour cela, des vésicules tonoplastiques sont extraites de fruit ou de culture de cellules de baie de raisin. L'utilisation de sondes fluorescentes (de type ACMA ou quinacrine) permet de suivre l'acidification des vésicules consécutivement à l'entrée des acides. Ces molécules fluorescentes sont des amines librement perméantes sous leur forme non protonée et qui se comportent comme des compteurs à protons. Leur entrée dans les vésicules provoque une diminution de fluorescence appelée quenching. Cette méthode nous a permis d'appréhender les principales caractéristiques de ce transport.

* L'énergie de l'ATP et du Ppi sont nécessaires au transport des acides organiques.

Dans le raisin, deux pompes à protons utilisent l'énergie chimique de l'ATP et du pyrophosphate pour créer un champ électrique positif vers l'intérieur de la vacuole (cf. figure 1). L'acidification des vésicules a été mesurée lorsque les membranes sont énergétisées par l'ATPase seule, la Ppiase seule ou par les deux pompes fonctionnant simultanément (cf. figure 2). L'ATPase ne provoque qu'une très faible acidification, de 9 fois inférieure à celle induite par la Ppiase. De plus l'acidification liée à l'énergétisation de la membrane par les deux pompes est supérieure à la somme des deux transports générés par les pompes fonctionnant seules. L'accumulation des acides dans la vacuole fait donc intervenir les deux pompes à protons vacuolaires qui agissent de façon synergique.

* Les acides tartriques et malique utiliseraient un même transporteur membranaire, saturable. Les vitesses d'accumulation du malate et du tartrate ne sont pas additives (cf. figure 3). Ces deux acides organiques seraient donc en compétition pour un même transporteur.

Ce mécanisme est certainement à la base des corrélations négatives observées entre malate et tartrate lorsque la disponibilité potassique augmente (2) et dont l'importance est considérable (problème de l'acidité des moûts).

ACCUMULATION DES SUCRES

L'importation des sucres dans les cellules de fruit augmente fortement pendant la maturation et devient alors responsable du gonflement du fruit. Les mécanismes régissant ce transport restent mal connus mais une des

voies possibles (dite apoplasmique) ferait intervenir des transporteurs de saccharose et d'hexose utilisant l'énergie fournie par l'ATPase plasmique (cf. figure 1). Ces transporteurs seraient en fait des symporteurs sucre/proton (3), et si on admet que l'ATPase plasmique a une stoechiométrie de 1 H⁺/ATP, l'importation d'une molécule de sucre nécessiterait l'énergie fournie par une molécule d'ATP.

Des extractions de membranes totales ont été effectuées au cours du développement du fruit. L'utilisation de différents inhibiteurs spécifiques ont permis de suivre l'évolution des différentes pompes à protons au cours du développement de la baie de raisin. (cf. figure 4). L'évolution de l'ATPase plasmique peut être reliée à celle des sucres dans la baie de raisin. A partir de la véraison, l'activité de l'ATPase plasmique atteint des valeurs supérieures à 20 $\mu\text{m}/\text{min.kg}$ de raisin mûr soit une vitesse identique à celle de l'accumulation de sucres au vignoble (22 $\mu\text{m}/\text{min.kg}$). On constate en même temps une augmentation de l'intensité des transcrits codant pour l'ATPase plasmique. Ces arguments plaident en faveur de l'intervention de la voie apoplasmique dans l'accumulation des sucres.

La consommation d'énergie correspondant à l'importation des sucres est susceptible de saturer la capacité de production par la respiration. Sur un panel de cépages ont été mesurées des activités productrice (ATPase mitochondriale) et consommatrice (ATPase plasmique) d'ATP. Il s'avère que ces deux pompes ont des valeurs d'activité comparables. La demande de l'ATPase plasmique peut même potentiellement saturer la production d'ATP par les mitochondries pour certains cépages (tabl. 1). Le coût énergétique du transport des sucres est donc considérable et pourrait se répercuter sur la capacité de stockage des acides organiques.

MODELISATION DE L'INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LE STOCKAGE DES SUCRES ET DES ACIDES

La baie de raisin doit donc gérer la compétition entre les besoins énergétiques du stockage des sucres et celui des acides. Comme le coût du transport des sucres est considérable, on conçoit que l'induction de la maturation et l'entrée massive des sucres résultent en une diminution du stockage des acides, d'où la relation sucres/acides bien connue.

La température affecte différemment les activités des pompes situées sur des membranes distinctes. En effet, la fluidité des membranes module l'activité des pompes solubilisées dans les phospholipides et cette fluidité est conditionnée par leur composition respective et la température.

La représentation d'Arrhénius permet de calculer des énergies d'activation (cf. figure 5). On constate des variations entre cépages et des transitions spécifiques, probablement dues à des modulations dans le comportement des différentes membranes (cf. tabl. 2). La température influence donc les activités des différentes pompes à protons et donc les vitesses relatives des transports de sucres et d'acides.

Sur deux cépages (un cépage précoce, le chasselas apyrène et un cépage tardif, le gros vert) ont été calculé les énergies d'activation de toutes les pompes à protons, permettant ainsi de modéliser l'influence de la température sur le déficit énergétique des baies et donc sur le potentiel d'accumulation d'acides ou de sucres, responsables du gonflement (fig. 6). Ainsi, dans les deux cas, le bilan énergétique en ATP est relativement stable et proche de zéro pour des températures inférieures à 30°C. Cependant, quand la température s'élève, seul le bilan énergétique du chasselas apyrène devient largement positif, alors que celui du gros vert diminue. Ces observations pourraient être reliées avec le caractère précoce ou non des cépages étudiés.

CONCLUSION

Ces études préliminaires permettraient d'entrevoir des cibles potentielles de l'effet terroir. En effet, si elles ne prétendent pas tout expliquer actuellement, ces recherches ouvrent la voie pour caractériser le degré d'adaptation d'un cépage à des conditions pédoclimatiques données. Chacun des cépages semble posséder une signature particulière concernant les cibles étudiées pompes à protons, moteurs de l'accumulation des acides organiques et des sucres. Ceci reste en grande partie à valider par une étude systématique avant de pouvoir être utilisé comme aide à la décision en ce qui concerne le criblage en vue de la création variétale.

REFERENCES

- (1) RUFFNER H.P., 1982, *vitis* 21, 346-358
- (2) HALE C.R., 1977, *Vitis* 16, 9-19
- (3) KOMOR E., 1973, *FEBS Lett.* 38, 16-18

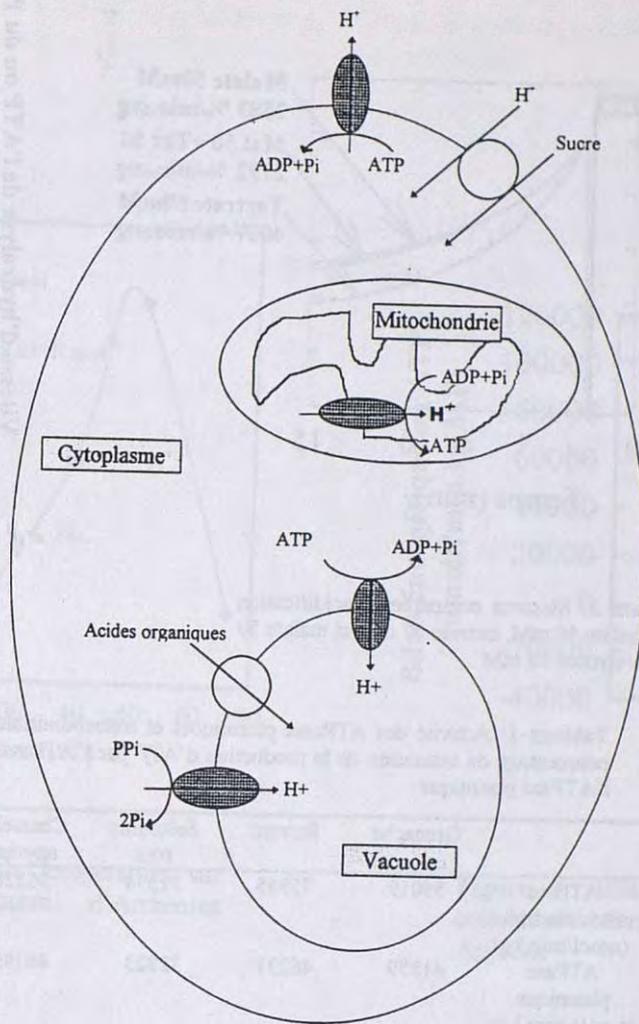


Figure 1: Représentation schématique d'une cellule

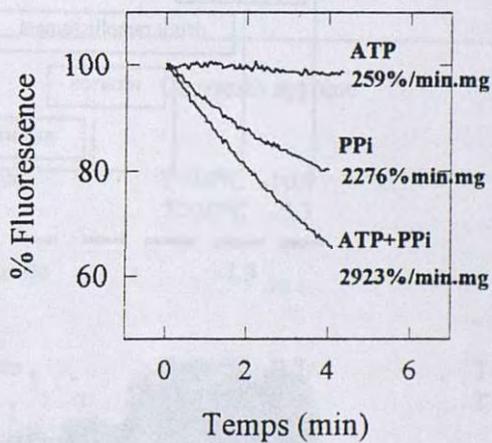


Figure 2: Mesures d'acidification de vésicules tonoplastiques en présence de 100 mM de tartrate de potassium lorsque les vésicules sont énergisées par l'ATPase, la Ppiase ou les deux pompes

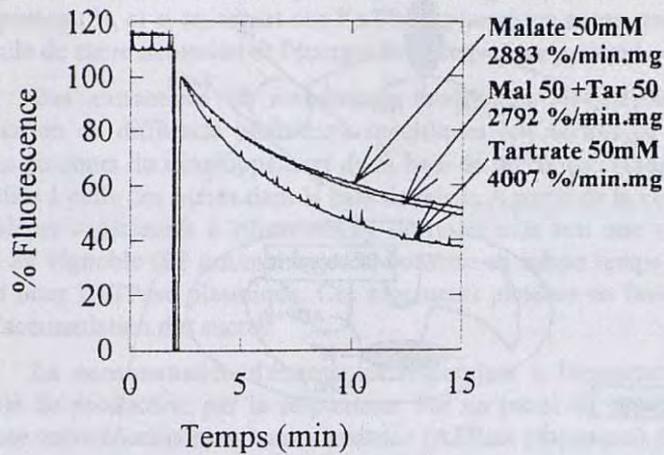


Figure 3: Mesures comparées d'acidification en malate 50 mM, tartrate 50 mM et malate 50 mM+tartrate 50 mM

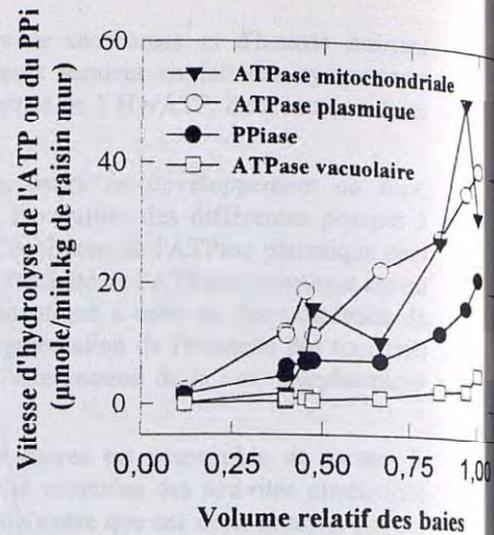
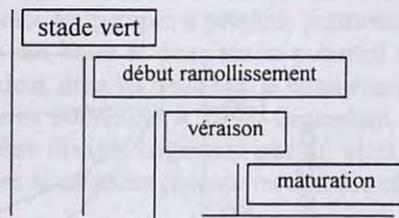


Figure 4: Evolution des activités des différentes pompes à protons au cours du développement des baies de cépage Danuta

Tableau 1: Activité des ATPases plasmiques et mitochondriales de différents cépages en stade mûr et pourcentage de saturation de la production d'ATP par l'ATPase mitochondriale par la consommation de l'ATPase plasmique

	Grenache	Servant	Sultanine rose	Chasselas apyrène	Pinot noir	Gros vert	Alphonse Lavallée
ATPase mitochondriale (nmol/min.kg)	59019	75945	31594	56528	22875	23131	27376
ATPase plasmique (nmole/min.kg)	41859	46231	32823	46195	28675	24215	29706
Saturation (%)	71	61	104	82	125	105	109



Photographie 1: Hybridation d'ARN extraits de différents stades de développement de baie de Danuta avec la sonde PMA1 codant pour l'ATPase plasmique de levure

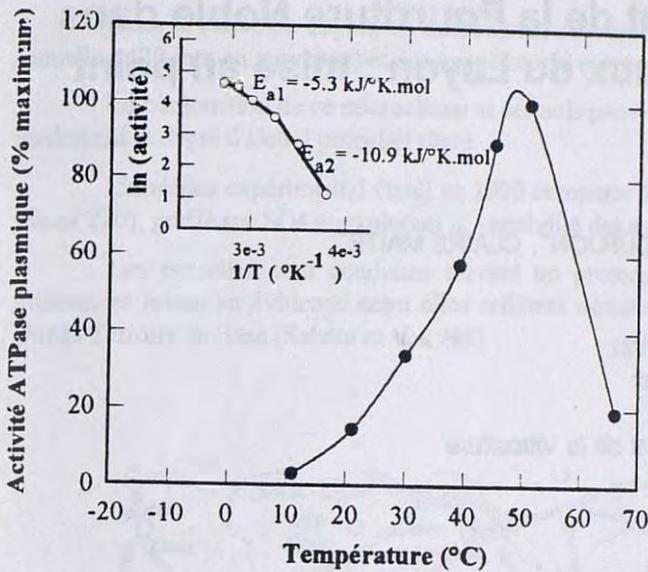


Figure 5: Influence de la température sur l'activité et représentation d'Arrhénius correspondante

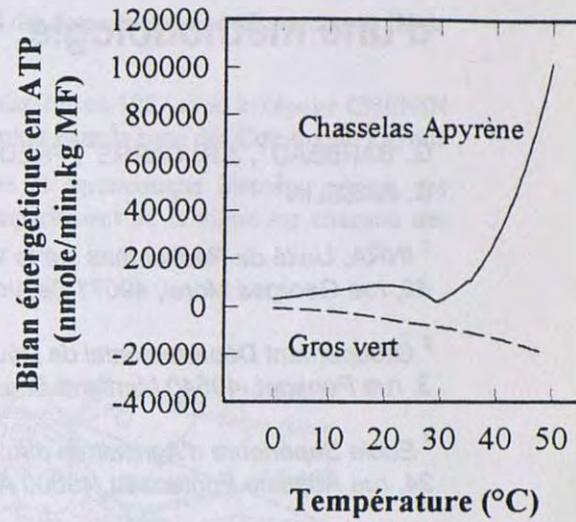


Figure 6: Bilan énergétique en ATP d cellules de baies de Gros Vert et Chasselas Apyrène

Tableau 2: Energies d'activation des différentes pompes à protons du Chasselas apyrène et du gros vert (kJ/°K.mol)

	Chasselas apyrène	Gros vert
ATPase plasmique	T<30°C -10.9 T>30°C -5.3	-6.2
ATPase mitochondriale	-7.3	-6.0
ATPase vacuolaire	T<30°C -8.7 T>30°C -1.8	T<27°C -7.1 T>27°C -3.0
PPiase	T<30°C -11.4 T>30°C -4.2	T<30°C -9.5 T>30°C -4.0