

CHARGEMENT EN SUCRE, BIOSYNTHESE DES PHENOLS ET DYNAMIQUE DE MATURATION DES BAIES DE SYRAH/R99
SUGAR LOADING AND PHENOLIC ACCUMULATION AS AFFECTED BY RIPENESS LEVEL OF SYRAH/R99 GRAPES

A. Deloire¹, E. Kraeva¹, M. Martin² et J.J. Hunter³

¹Agro Montpellier, UMR 1083 « sciences pour l'œnologie et la viticulture », 2 place Viala, 34060 Montpellier cedex 1, France.

²INRA, Unité expérimentale de Pech Rouge, 11430 Gruissan, France.

³ARC Infruitec-Nietvoorbij, Private Bag X5026, 7599 Stellenbosch, South Africa.
deloire@ensam.inra.fr; hunterk@infruit.agric.za

Remerciements: Les auteurs remercient le personnel de ARC Infruitec-Nietvoorbij (The Fruit, Vine and Wine Institute of the Agricultural Research Council ; Stellenbosch, Afrique du Sud) pour l'aide technique au vignoble et au laboratoire et Winetech pour le financement des recherches. Ils remercient également l'Agro Montpellier et l'UE expérimentale de Pech – Rouge (INRA Narbonne, France) pour l'aide technique et la mise à disposition de personnel.

Mots clefs: *Vitis vinifera*, baie, grappe, sucre, eau, microclimat, indicateur, fonctionnement de la vigne.

Key words: *Vitis vinifera*, bunch, sugar, microclimate, indicator, vine functioning.

Résumé

Le chargement et l'accumulation des sucres ainsi que la biosynthèse des phénols ont été étudiés sur la Syrah, dans le cadre d'un programme de recherche de paramètres qui permettraient de déterminer une ou plusieurs qualités de raisin en relation avec des styles de vins pour un terroir donné. La relation entre la dynamique d'accumulation des sucres et, en parallèle, la biosynthèse des phénols a été étudiée sur Syrah/99R plantée dans un vignoble situé sur la station expérimentale de ARC Infruitec-Nietvoorbij, Stellenbosch (Afrique du Sud). La cinétique des analyses a été réalisée depuis le stade post floraison (nouaison) jusqu'au stade sur-maturation. Les vignes sont conduites en Espalier (2,75m x 1,5m), les rangs sont orientés nord – sud, le vignoble est en pente orientée est. Une irrigation par micro aspersion est appliquée de la nouaison à la véraison. La hauteur de végétation est de 1,4 m, avec 3 hauteurs de fils de palissage. Les vignes sont ébourgeonnées, palissées et écimées. La dynamique d'accumulation des sucres par baie a été étudiée à l'aide d'un protocole développé par Deloire et al., 2004 (sous presse). La biosynthèse des phénols (tanins totaux et leur degré de polymérisation, proanthocyanidols et anthocyanes) a été étudiée par spectrophotométrie et HPLC pour les anthocyanes. Le sucre est utilisé comme indicateur des relations vigne – baie (relations source – puits).

Les tanins totaux (TT) de la baie sont synthétisés depuis l'anthèse jusqu'à la véraison. Leur concentration augmente durant la croissance herbacée des baies. Elle diminue en concentration de véraison à maturation, alors que durant cette période, la quantité de TT par baie est stable. Quand les sucres sont utilisés comme indicateur physiologique, il ressort clairement que la biosynthèse des anthocyanes évolue, par baie, jusqu'à ce que ces dernières atteignent un contenu en sucre de 20 – 21 °Brix. Après ce point, l'évolution des anthocyanes par baie est indépendante de l'évolution du contenu en sucre par baie, qui se fait alors essentiellement par concentration (perte d'eau de la baie). Le chargement actif des baies en sucre est dépendant de la photosynthèse des feuilles et la régulation du déchargement phloémien du sucre dans les baies semble en partie dépendante du microclimat des grappes et des baies elles mêmes. Le chargement actif en sucre de la baie n'est pas directement corrélé à son volume.

Abstract

Sugar loading and phenolic accumulation in Syrah grapes were investigated as part of an elaborate study to determine parameters that would indicate high grape quality and different grape and wine styles on a particular terroir. The relationship between the dynamics of sugar loading and phenolic accumulation in the berries of a Syrah/R99 vineyard, situated at the ARC Infruitec-Nietvoorbij, in the Stellenbosch region (South Africa), was investigated from pea size stage (green berry) to late maturity. Vines were vertically trained and spaced 2.75 x 1.5 m in north-south orientated rows on a terroir with Glenrosa soil and a west-facing slope. Microsprinkler-irrigation was applied at pea berry size and at véraison stages. The 1.4 m high canopies were suckered, shoot-positioned and topped and accommodated by means of three sets of double wires. The dynamics of berry sugar loading were studied by a method from Deloire et al, 2004 (under publication), the berry phenolic composition (total tannins and polymerisation, proanthocyanidins, anthocyanins) was analysed by spectrophotometry and anthocyanins by HPLC. Sugar was used as physiological indicator of the plant-berry (source-sink) relationship and as bunch microclimatic indicator.

The total tannin (TT) component in the berry was synthesised from anthesis to véraison. The TT concentration increased during the green berry growth stages and decreased during ripening as the berry increased in volume. The TT per berry also increased during the green berry growth stages, but kept stable during ripening. When sugar content per berry is used as physiological indicator, it is clear that anthocyanin biosynthesis occurred until a specific berry sugar content, i.e. 20 – 21 °Brix, is reached. After this point, anthocyanin evolution per berry seemed independent of berry sugar evolution, which is at that time mainly due to concentration (berry water loss) than to loading. Thus, although berry sugar loading is dependent on photosynthetic activity of the leaves, the regulation of sugar phloem unloading in the berry sink seemed to be, in part, affected by the microclimate that the berry experienced. Berry sugar loading was not directly correlated with berry volume.

Introduction

Pour connaître le fonctionnement de la vigne il est nécessaire de réaliser des analyses physiologiques, biochimiques voir moléculaires. Cette recherche amont peut déboucher sur la mise au point d'indicateurs de fonctionnement de la plante. L'intérêt de ces indicateurs est de pouvoir réaliser des mesures rapides, et souvent simples à mettre en œuvre, afin de disposer d'informations fiables sur le fonctionnement de la plante, des raisins, et des relations « vigne-raisin ». Ces indicateurs sont issus d'analyses de nombreux paramètres qui ont permis d'établir les relations ou corrélations nécessaires à leurs élaboration. Ceux sont donc des outils intégrés d'analyse. Ils permettent de comparer différentes situations entre elles (systèmes de conduite, cépages, associations cépage - porte-greffe, parcelles, terroirs, itinéraires culturaux) de façon fiable, accessible et souvent simple à mettre en œuvre.

Les indicateurs du fonctionnement de la vigne : Parmi les indicateurs de fonctionnement de la plante entière, validés et opérationnels, citons :

- la Surface Foliaire Exposée (SFE) et le rapport SFE / Production (SFE/P, m² / Kg) (Carbonneau, 1995; Murisier, 1996),
- la mesure de l'état hydrique de la vigne par les potentiels hydriques foliaires (Carbonneau, 1998; Choné *et al.*, 1991; Willians & Araujo, 2002; Carbonneau *et al.*, 2003).
- la mesure de la vigueur (poids d'un sarment à la taille), et de l'expression végétative (poids de l'ensemble des sarments d'une souche à la taille),
- la modélisation de la relation SFE et puissance (P (Kg/ha) = 0,5 x poids des bois de taille + 0,2 poids de la récoltes) (Carbonneau, 2002),

Les indicateurs « potentiels » du fonctionnement des relations « vigne-raisin » : En relation avec ces indicateurs du fonctionnement de la plante entière dans son contexte il est nécessaire de disposer d'indicateurs des relations « vigne-raisin ». A ce titre de nombreux travaux ont permis d'établir des relations entre le fonctionnement de la vigne, notamment son état hydrique (éléments clefs du fonctionnement de l'association « vigne-terroir »), et la biochimie du raisin (*i.e.* la qualité de la baie) et partant la style de vin (Seguin, 1983; Morlat, 1996; Hunter, 1998; Riou, 1998; Ojeda *et al.*, 2002; Ollat *et al.*, 2002; Deloire *et al.*, 2002, 2004).

Certains travaux ont permis de montrer que les anthocyanes, les tanins et les flavonols sont des indicateurs possibles du fonctionnement de la baie en relation avec le microclimat des grappes et la plante entière (Hunter *et al.*, 1995; Price *et al.*, 1995; Deloire *et al.*, 2001; Ojeda *et al.*, 2002; Deloire *et al.*, 2004). Ces indicateurs sont intéressants et renseignent sur un élément important de la qualité des raisins et du vin que sont les composés phénoliques. Leur mise en œuvre nécessite néanmoins un équipement approprié et un savoir faire analytique.

Les résultats concernant les phénols de la baie des expérimentations réalisées à ARC Infruitec-Nietvoorbij dans la région de Stellenbosch (Afrique du Sud) sont présentés partiellement sur le poster. Il ne seront pas traités dans cet article et feront l'objet d'une publication ultérieure.

L'indicateur chargement en sucre de la baie : Nous proposons comme indicateur du fonctionnement des relations « vigne – raisin » et du microclimat des grappes, le suivi en cinétique du chargement en sucre de la baie. Les sucres sont un élément important de la composition du raisin et du vin (y compris au plan réglementaire). Leur biosynthèse issue de la photosynthèse est directement en relation avec le fonctionnement dynamique des feuilles et de la plante entière dans son environnement (Peterlunger *et al.*, 2000; Gaudillère *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2003a, b). La photosynthèse est dépendante de trois paramètres de l'environnement : la lumière, la température et l'eau. Ces paramètres sont des éléments clefs des terroirs (sol x climat) à l'échelle du macro et du méso-climat. A l'échelle de la plante entière, il faudra prendre en compte le microclimat de la végétation et des grappes. L'architecture de la végétation (*i.e.* le système de conduite et le palissage) et partant l'interception du rayonnement (SFE, Sft) vont influencer sur le fonctionnement de la plante entière et sur la dynamique de chargement en sucre de la baie.

A ce titre, l'indicateur chargement en sucre de la baie proposé est dépendant des indicateurs de fonctionnement de la vigne cités précédemment, notamment SFE/P, Sft/P et le potentiel hydrique foliaire, ce qui valide sa pertinence. Dans le cadre des relations source-puits, il y a une régulation du chargement en sucre par la source mais il semble qu'il y ait une régulation par la baie elle-même. Des expérimentations sur le microclimat des grappes et le chargement en sucre des fruits vont confirmer cette hypothèse (Flexas *et al.*, 1999; Hunter, 2000; Wang *et al.*, 2003b).

Materiel et Methodes

Des plants adultes de Syrah/R99 conduits en Espalier (2.75 x 1,5 m.) et orientés nord – sud ont été utilisés pour étudier le microclimat des grappes. Ces essais ont été réalisés dans le vignoble expérimental de ARC Infruitec-Nietvoorbij dans la région de Stellenbosch (Afrique du Sud). Une irrigation au goutte à goutte est pratiquée de nouaison à véraison. La végétation est palissée (3 hauteurs de fil) et écimée pour avoir une hauteur de feuillage de 1,4 m. Les vignes sont soumises à une contrainte hydrique modérée durant la maturation ($phfb \cong -4$ bars). Deux populations de grappes sont étudiées, des grappes sur exposées (à l'extérieur de la canopée) et des grappes à l'ombre (à l'intérieur de la canopée). Toutes les autres conditions sont égales par ailleurs. La température est mesurée à l'intérieur des baies, entre la pulpe et la pellicule à l'aide de capteurs thermiques reliés à une centrale automatique d'acquisition des données. Pour les grappes sur exposées, des mesures sont effectuées faces est et ouest.

Resultats et Discussion

L'évolution de la température nous montre un différentiel important au cours de la journée entre les baies des grappes sur exposées et les baies des grappes à l'ombre (Fig. 1).

Les dynamiques de chargement en sucre des baies sur exposées et des baies à l'ombre sont différentes, voir opposées (Fig. 2). Les grappes étudiées étant situées sur la même plante, le fonctionnement de la source (eau et carbone) est le même. C'est donc bien le puits baie qui ici est capable de se réguler en fonction de son microclimat. Les travaux récents, notamment en biologie moléculaire, montrent clairement que la baie est capable de réguler sa maturation (Dreier *et al.*, 1998; Fillon *et al.*, 1999; Robinson et Davies, 2000; Hunter & Ruffner, 2001; Wang *et al.*, 2003a, b).

La gestion équilibrée de la canopée, le choix du système de conduite, une taille d'hiver adaptée, un palissage et des interventions en verts raisonnées sont indispensables pour avoir un microclimat des grappes optimum et pour réduire l'hétérogénéité de la maturation du raisin, facteur de déséquilibre possible des vins ou de modification du style de vin.

Bibliographie

- Carbonneau, A., 1995. La surface foliaire exposée potentielle – guide pour sa mesure. *Le Progrès Agricole et Viticole* 9, 204-212.
- Carbonneau, A., 2002. Gestion de l'eau dans le vignoble: théorie et pratique. *Le Progrès Agricole et Viticole* 21, 455-467.
- Carbonneau, A., Deloire, A. & Costenza, P., 2003. Le potentiel hydrique foliaire : sens des différentes modalités de mesure. GESCO XIII^{ème} journées du groupe européen d'étude des systèmes de conduite de la vigne, Montevideo, Uruguay 3- 7 février.
- Deloire, A., Carbonneau, A., Ojeda, H., Silva, P., Kraeva, E., Jacquet, O. & Andary, C., 2001. Relations between grapevine water status and berry phenolic compounds of Syrah and Grenache noir varieties. Proposition for principles of canopy management. GESCO XII^{ème} journées du groupe européen d'étude des systèmes de conduite de la vigne, Montpellier, France, 3 - 7 juillet 1, 253-258.
- Deloire, A., Lopez, F. & Carbonneau, A., 2002. Réponses de la vigne et terroirs. Eléments pour une méthode d'étude. *Le Progrès Agricole et Viticole* 4, 78-86.
- Deloire, A., Silva, P. & Martin-Pierrat, S., 2003. Terroirs et état hydrique du Grenache noir. Premiers résultats. *Le Progrès Agricole et Viticole* 17, 367-373.
- Deloire, A., Carbonneau, A., Wang, Z. & Ojeda, H., 2004. Vine and water, a short review. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 38, 1-13.
- Dreier, L.P., Hunter, J.J. & Ruffner, H.P., 1998. Invertase activity, grape berry development and cell compartmentation. *Plant Physiol. Biochem.* 36, 865-872.
- Fillon, L., Ageorges, A., Picaud, S., Coutos-Thévenot, P., Lemoine, R., Romieu, C. & Delrot S., 1999. Cloning and expression of a hexose transporter gene expressed during the ripening of grape berry. *Plant Physiol.* 120, 1083-1094.
- Flexas J., Escalona J.M. & Medrano H., 1999. Water stress induces different levels of photosynthesis and electron transport rate regulations in grapevines. *Plant Cell Environ.* 22, 39-48.
- Gaudillère J.P., Van Leeuwen C. & Ollat N., 2002. Carbon isotope composition of sugars in grapevine, an integrated indicator of vineyard water status. *J. Exp. Bot.* 53, 757-763.
- Hunter J.J., 1998. Plant spacing implications for grafted grapevine. II. Soil water, plant water relations, canopy physiology, vegetative and reproductive characteristics, grape composition, wine quality and labour requirements. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 19, 35-51.
- Hunter, J.J., 2000. Implications of seasonal canopy management and growth compensation in grapevine. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 21, 81-91.
- Hunter, J.J. & Ruffner, H.P., 2001. Assimilate transport in grapevines – effect of phloem disruption. *Aust. J. Grape and Wine Research* 7, 118 - 126.
- Hunter, J.J., Ruffner, H.P., Volschenk, C.G. & LeRoux, D.J., 1995. Partial defoliation of *Vitis vinifera* L.W. Cabernet Sauvignon/99 Richter: Effect on root growth, canopy efficiency, grape composition, and wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.* 46, 306-314.
- Morlat, R., 1996. Eléments importants d'une méthodologie de caractérisation des facteurs naturels du terroir, en relation avec la réponse de la vigne à travers le vin. 1^{er} colloque internationale « les terroirs viticoles : concept, produit, valorisation ». 17-18 juillet, Angers-France, pp 17-31.
- Murisier, F.M., 1996. Optimisation du rapport feuille-fruit de la vigne pour favoriser la qualité du raisin et l'accumulation des glucides de réserve. Relation entre le rendement et la chlorose. Thèse de l'Ecole Polytechnique Fédérale de Zurich 132 p.
- Ollat, N., Diakou-Verdin, P., Carde, J.P., Barrieu, F., Gaudillère, J.P. & Moing, A., 2002. Grape berry development: A review. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 36, 100-131.
- Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A. & Deloire, A., 2002. Influence of pre and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz. *Am. J. Enol. Vitic.* 53, 261-267.

- Peterlunger, E., Buccella, A., Iacono, F. & Bravdo, B.A., 2000. Physiological changes in grapevine during adjustment to water stress: ABA, leaf gas exchanges and root hydraulic conductivity. *Acta Hort.* 526, 211-206.
- Price, S.F., Breen, P.J., Valladao, M. & Watson, B.T., 1995. Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 46, 187-194.
- Riou, C., 1998. Facteurs explicatifs des critères de qualité de la récolte. Application au réseau modèles qualité en viticulture. *Le Progrès Agricole et Viticole* 115, 247-252.
- Robinson, S.P, Davies, C., 2000. Molecular biology of grape berry ripening. *Austr. J. Grape and Wine Research* 6, 175-188.
- Seguin, G., 1983. Influence des terroirs viticoles sur la constitution et la qualité des vendanges. *Bull. OIV* 56, 623, 3-18.
- Wang, Z.P, Deloire, A., Carbonneau, A., Federspiel, B. & Lopez, F., 2003a. An *in vivo* experimental system to study sugar phloem unloading in ripening grape berries during water deficiency stress. *Annals of Bot.* 92, 1-6.
- Wang, Z.P, Deloire, A., Carbonneau, A., Federspiel, B. & Lopez, F., 2003b. Study of sugar phloem unloading in ripening grape berry under water stress conditions. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 37, 213-222.
- Williams, L.E. & Araujo, F.J., 2002. Correlation 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. Amer. Soc. Hort. Sci.* 127, 448-454.

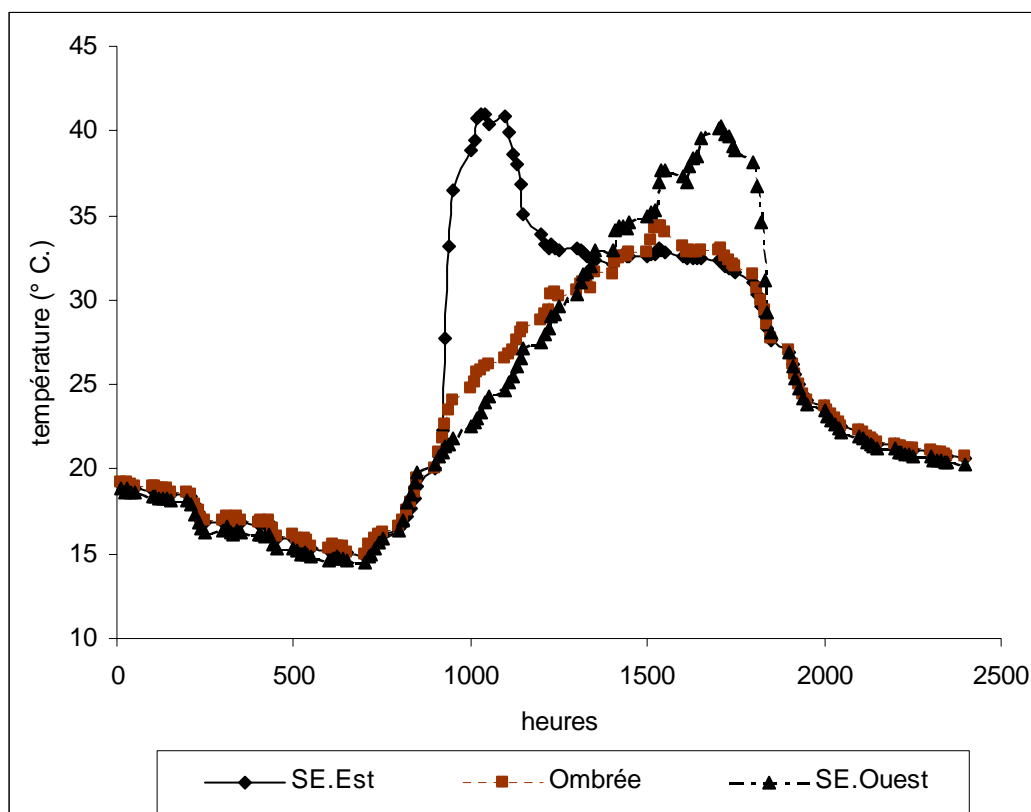


Figure 1 : Evolution journalière de la température des baies de grappes sur exposées et de grappes à l'ombre (intérieur de la canopée). Pour les grappes sur exposées à l'est (SE Est), la température des baies est de 41°C à 10h., et de 26°C à la même heure pour les grappes à l'ombre (Ombrée). L'augmentation de température des baies sur exposée le matin est très rapide. L'après midi, les grappes sur exposées à l'ouest (SE Ouest) ont une température moyenne de 40°C contre 33°C pour (Ombrée) vers 17h. Les températures des 3 populations de baies sont similaires de 18h40 à 9h40.

Figure 1 : Berry daily temperature evolution of exposed and shaded bunches (inside the canopy). For the east exposed berry (SE.Est) the temperature was 41°C at 10 am and for the shaded berry (Ombrée) the temperature was 26°C. The increase in temperature of the exposed berry during the morning is very rapid. During the afternoon, at 5 pm, the exposed berry at the west side of the canopy (SE.Ouest) had a temperature of 40°C whereas the shaded berry had a temperature of 33° C. The temperature of the 3 situations was the same from 6.40 pm to 9.40 am.

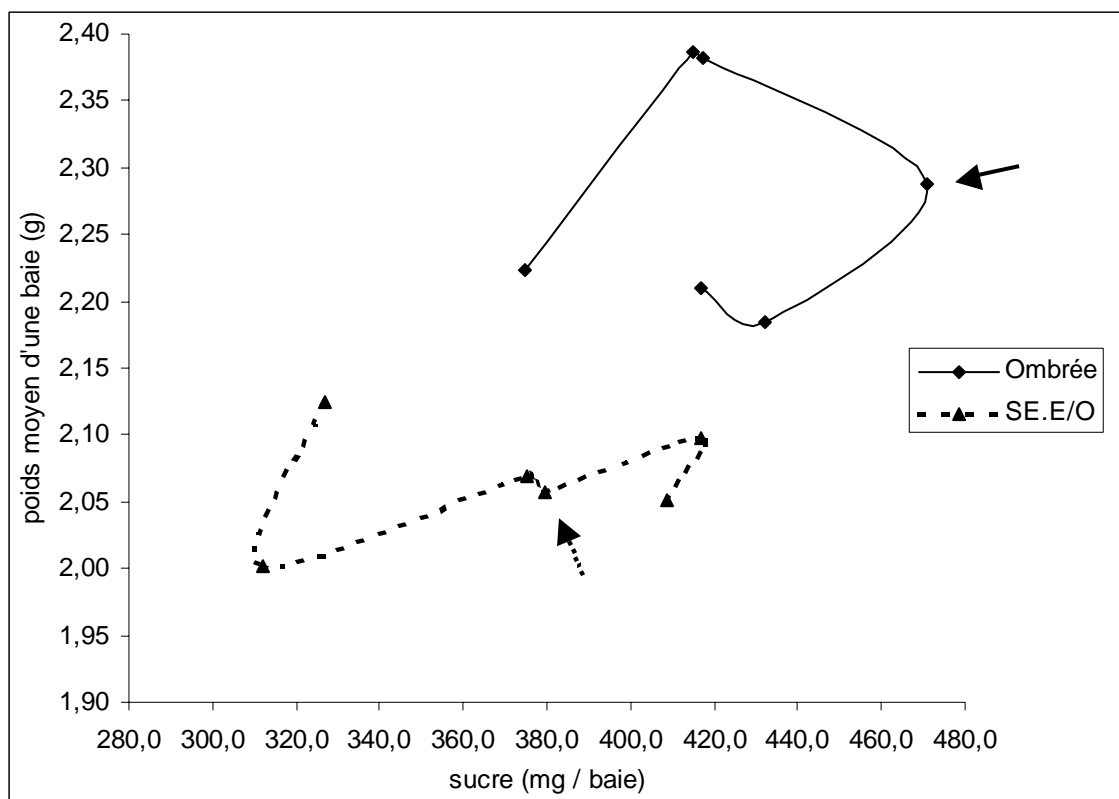


Figure 2 : Chargement en sucre des baies de grappes sur exposées (SE.E/O) et de grappes situées à l'intérieur de la canopée (Ombrée) pour une même condition expérimentale. Les dynamiques de chargement en sucre des baies sont très différentes, voire opposées (les flèches correspondent à la date du 19.02.2004, soit 10 jours après le premier prélèvement). Au sein d'une même plante, les baies peuvent avoir des évolutions de maturation très différentes, en fonction notamment du microclimat des grappes. Une gestion équilibrée de la canopée doit permettre de réduire l'hétérogénéité de la maturation des baies.

Figure 2: For similar experimental conditions, the comparison between exposed (SE.E/O) and shaded (Ombrée) berries showed different dynamics of sugar loading. The shaded berries showed an accumulation pattern opposite to that of exposed berries (the arrows (19.02.2004) = 10 days after the first sampling). The dynamics of sugar loading per berry could be an indicator of ripeness in relation with bunch microclimate and with the vine physiological functioning (i.e. sink – source relationship; plant water content). A balanced canopy management could reduce the heterogeneity of berry ripeness.