

INFLUENCE DE L'INCISION ANNULAIRE SUR LA QUALITE DES PEPINS DE RAISIN : CONSEQUENCES SUR LEURS TENEURS EN ACIDE ABSCISSIQUE ET LEURS POSSIBILITES DE GERMINATION.

M. BROQUEDIS et J. BOUARD

Laboratoire de Physiologie végétale et Ampélogie. Université de Bordeaux I.
Avenue des Facultés, 33405 Talence Cedex (France)

La germination des pépins de raisin est souvent difficile. Pour rendre compte de ce fait, de multiples causes ont été invoquées et en particulier la présence d'inhibiteurs. A cet égard, le rôle de l'acide abscissique n'est pas encore très clair. C'est pourquoi nous avons voulu voir s'il existait une relation entre la teneur des pépins en cet acide et leurs possibilités de germination. Pour cela, nous avons cherché à obtenir des pépins de différentes qualités en utilisant la technique de l'incision annulaire qui, on le sait, est susceptible d'entraîner des modifications importantes dans le développement des baies.

MATERIEL ET METHODES

Réalisation des incisions. Les incisions annulaires ont été effectuées avec un inciseur, peu après la nouaison, sur des rameaux principaux de Cabernet Sauvignon portant deux grappes G1 et G2 (BOUARD, 1978). Les entre-cœurs situés au niveau de ces grappes ont été éliminés et les incisions réalisées de la façon suivante : soit entre les deux grappes (une seule incision par rameau : traitements EG1 et EG2), soit de part et d'autre de ces deux grappes (deux incisions par rameau : traitement 2ia). Chaque traitement a été répété sur 30 pieds, dans deux vignes situées dans deux régions différentes du vignoble bordelais, Couhins et Arveyres.

Germination des pépins. Les pépins correspondant aux différents traitements et aux témoins T1 et T2 ont été récoltés au moment des vendanges, fin septembre 1984. Ils ont été conservés au laboratoire, à 20°C, pendant 8 jours, puis réhydratés par immersion pendant 72 heures dans de l'eau déminéralisée, à 20°C et à l'obscurité. Ils ont ensuite été placés pendant 60 jours dans une chambre froide à 2°C \pm 1, sur des

Ce travail a fait l'objet d'une communication au 4^e Symposium International de Génétique de la Vigne, Vérone, 1985.

supports humides assurant leur imbibition. Au cours de leur germination, les pépins disposés sur papier filtre humide (remplacé périodiquement) ont subi pendant une période de 8 jours les alternances de température suivantes : 30°C pendant 3 heures, puis 20°C pendant 21 heures (BAL-THAZARD, 1979). Par la suite, la température a été maintenue constante à 25° C.

Dosage de l'acide abscissique. Les grappes utilisées ont été congelées aussitôt après leur récolte. Les pépins ont ensuite été prélevés et rapidement lyophilisés. L'acide abscissique, sous ses formes libre et liée, a été extrait selon une méthode déjà décrite (BROQUEDIS, 1983) et récemment modifiée pour accroître à la fois la simplicité, la sensibilité et la reproductibilité de l'extraction quantitative de cet acide : on utilise un système de dialyse qui permet de réunir en même temps, sans les mélanger, trois types de solvants (deux phases aqueuses et une phase étherée) et de réaliser ainsi la majeure partie de l'extraction en une seule fois. Les dosages de l'acide abscissique ont été effectués par HPLC selon un protocole déjà décrit (BROQUEDIS, 1983).

RESULTATS

I — INFLUENCE DES INCISIONS ANNULAIRES SUR LA TENEUR EN ACIDE ABSCISSIQUE DES PEPINS

Les dosages ont été effectués au moment de la récolte des pépins et au moment de leur mise en germination.

a) Teneur en acide abscissique des pépins au moment de leur récolte

Si l'on exprime les teneurs en acide abscissique libre et lié en ng par pépin, trois groupes de valeurs peuvent être distingués. En effet, par rapport aux pépins témoins de types T1 et T2 (figure 1) qui ont des teneurs en acide abscissique équivalentes, les pépins de types EG1 et EG2 apparaissent caractérisés par des valeurs *un peu plus fortes*, ceux de type 2ia par des valeurs *nettement plus faibles*. L'influence des incisions annulaires se trouve ainsi parfaitement mise en évidence. On remarque en outre que les teneurs en acide abscissique libre et lié sont peu différentes mais pratiquement toujours à l'avantage de l'acide abscissique lié. Le rapport entre les deux formes d'acide abscissique reste en effet toujours compris entre 0,9 et 1 et n'atteint cette dernière valeur que dans un seul cas.

Si l'on exprime maintenant la teneur en acide abscissique des pépins en µg pour 100 g de matière sèche (Tableau I), il est clair que les valeurs les plus fortes sont obtenues pour les traitements 2ia puis EG1, la valeur la plus faible caractérise le traitement EG2, les témoins T1 et T2 ayant des valeurs intermédiaires. Le classement des différents types de pépins en fonction de leurs teneurs décroissantes en acide abscissique se pré-

sente finalement de la façon suivante : EG2 < T2 < T1 < EG1 < 2ia. Ce classement est le même pour les deux vignes.

b) Teneur en acide abscissique des pépins après réhydratation et traitement par le froid

Avant d'être placés dans les conditions favorables à leur germination, les pépins ont subi une réhydratation pendant 72 heures, puis l'action du froid (2°C pendant 60 jours). Après ces traitements, on constate (figure 2) que l'acide abscissique lié a considérablement diminué (de 88 p. 100 en moyenne) et qu'il en est de même pour l'acide abscissique libre bien que sa diminution (de 30 p. 100 en moyenne) soit moins accentuée. Il apparaît ainsi une différence très nette entre les deux formes d'acide abscissique avec une inversion de la tendance observée au moment de la récolte, puisqu'à cette époque les teneurs de la forme liée étaient les plus importantes.

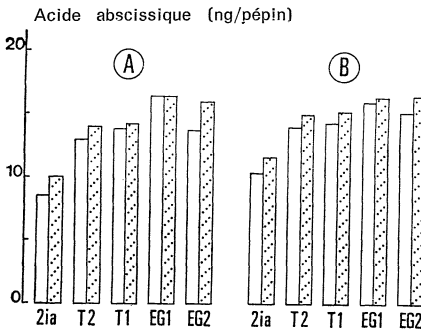


Fig. 1. — Teneurs en acide abscissique libre et en acide abscissique lié (en pointillé) des différents types de pépins au moment de leur récolte. A = vigne de Couhins, B = vigne d'Arveyres.

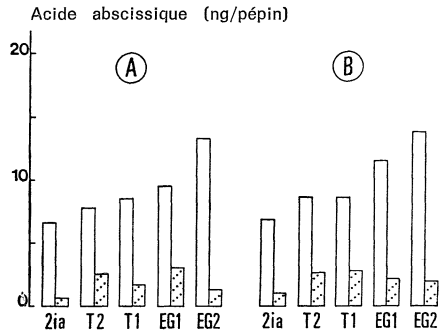


Fig. 2. — Teneurs en acide abscissique libre et en acide abscissique lié (en pointillé) des différents types de pépins au moment de leur mise en germination. A = vigne de Couhins, B = vigne d'Arveyres.

On constate en outre que le classement en trois groupes de valeurs noté à la récolte, en fonction de la distribution de l'acide abscissique libre, n'est pas modifié et qu'il est même un peu plus accentué. On peut cependant remarquer que les pépins de type EG2 contiennent davantage d'acide abscissique libre que ceux de type EG1 dans les deux vignes, contrairement à ce qui avait été observé lors de la récolte.

II — CONSEQUENCES DE LA TENEUR EN ACIDE ABCISSIQUE DES PEPINS SUR LEUR DEVELOPPEMENT ET LEUR GERMINATION

Sous l'influence des incisions annulaires, le développement des pépins comme celui des péricarpes subit des modifications et l'on peut se demander quelle est l'influence de l'acide abscissique.

a) Acide abscissique et développement des pépins

Lorsque deux incisions (2ia) sont pratiquées de part et d'autre des deux grappes, afin de les isoler toutes les deux de l'extrémité et de la base du rameau porteur, le poids sec des pépins issus de ces grappes diminue fortement (de 50 p. 100 en moyenne) par rapport à celui des témoins (Tableau I).

Lorsque l'incision est réalisée entre les deux grappes, le poids sec des pépins issus de la première (EG1), la plus proche de la base du rameau, diminue légèrement (de 6 p. 100 en moyenne) par rapport à celui des pépins des grappes T1 de même rang. En revanche, le poids sec des pépins de la deuxième grappe (EG2), située au-dessus de l'incision, subit une augmentation relativement importante (de 15 p. 100 en moyenne) par rapport à celui des pépins témoins T2.

TABLEAU I

Poids sec des pépins (en g pour 100 pépins) et teneurs en acide abscissique (ABA) total (en μ g pour 100 g de matière sèche), en fonction des différents types d'incisions annulaires.

Types d'incisions		EG2	T2	T1	EG1	2ia
COUHINS	Poids	3,001	2,699	2,550	2,390	1,255
	ABA	98,77	102,33	111,29	134,61	152,11
ARVEYRES	Poids	3,095	2,602	2,568	2,402	1,330
	ABA	102,91	112,04	114,82	138,65	166,89

Finalement, en fonction de leur poids sec, les pépins des différents traitements peuvent être classés dans l'ordre suivant : EG2 > T2 > T1 > EG1 > 2ia et ce classement est valable pour les deux vignes. Il montre que l'incision annulaire réalisée après la nouaison sur les rameaux principaux de Cabernet Sauvignon a une influence sur le développement des pépins et le tableau I permet de préciser que cette influence est très nette.

Si l'on compare maintenant ce classement à celui qui a été établi précédemment en ce qui concerne les teneurs en acide abscissique, on constate qu'il est exactement *inverse*.

Ainsi, grâce à l'incision annulaire et aux pépins de différentes qualités qu'elle permet d'obtenir, il est possible de mettre en évidence

l'existence d'une *relation* entre la *croissance pondérale* du p \acute{e} pin et sa *teneur en acide abscissique*, relation qui sugg \acute{e} re un *effet inhibiteur* de la part de cet acide (figure 3).

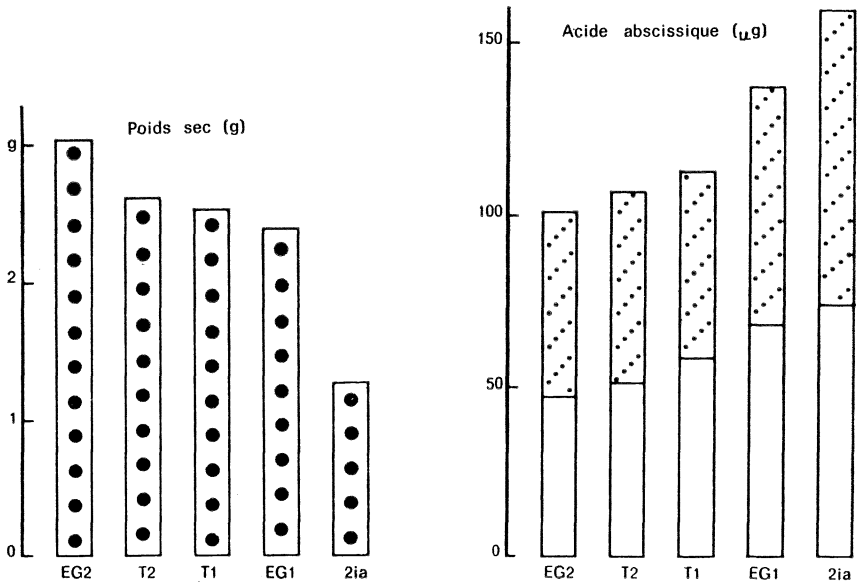


Fig. 3. — Comparaison des poids secs moyens et des teneurs moyennes en acide abscissique (ABA) total des différents types de p \acute{e} pins des deux vignes. L'ABA total = ABA libre et ABA lié (en pointillé).

b) Acide abscissique et germination des p \acute{e} pins

Les figures 4A (Couhins) et 4B (Arveyres) qui représentent les pourcentages de germination obtenus avec les différentes catégories de p \acute{e} pins montrent clairement l'influence des incisions annulaires puisque trois ensembles de courbes se détachent : d'une part, les courbes de germination correspondant aux p \acute{e} pins témoins T1 et T2 qui sont pratiquement confondues, d'autre part celles des p \acute{e} pins de type 2ia qui représentent le pourcentage de germination le plus élevé, enfin celles des p \acute{e} pins EG2 caractérisés par le pourcentage de germination le plus bas. Les vitesses de germination sont différentes aussi, la plus rapide étant observée pour les p \acute{e} pins de type 2ia, les plus lentes pour ceux de types EG1 et surtout EG2, les p \acute{e} pins témoins T1 et T2 ayant des vitesses de germination intermédiaires.

Ces résultats suggèrent immédiatement l'existence d'une relation entre les teneurs en acide abscissique des p \acute{e} pins au moment de leur mise en germination (figure 2) et leurs possibilités de germination. Cette relation apparaît tout particulièrement claire avec les teneurs en acide abscissique *libre* que l'on trouve dans les p \acute{e} pins après le traitement de

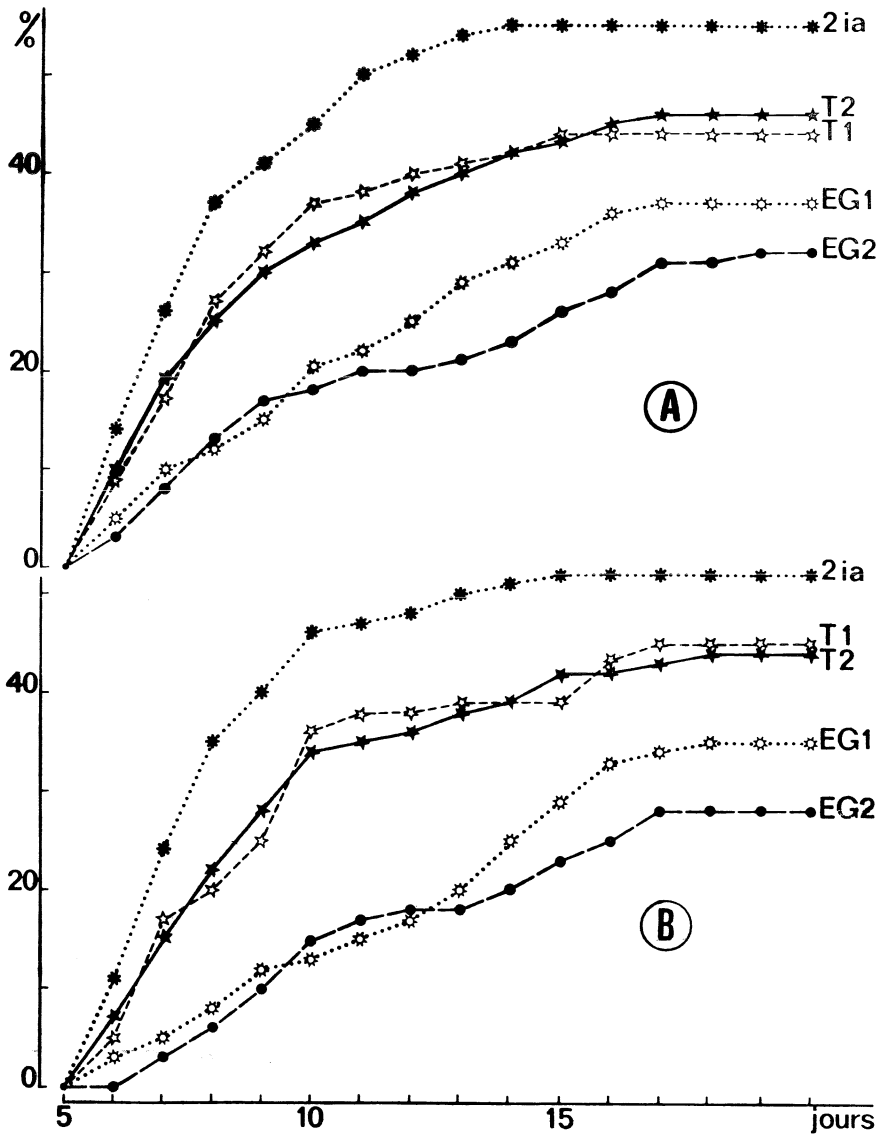


Fig. 4. — Variations des pourcentages de germination des différents types de pépins en fonction du temps.
 A = vigne de Couhins, B = vigne d'Arvevres.

levée de dormance par le froid. On constate en effet qu'il existe une remarquable corrélation entre ces dernières teneurs et les courbes de germination. A la plus faible teneur en acide abscissique libre (2ia), correspondent les meilleures possibilités de germination. A la plus forte teneur en acide abscissique libre correspond la germination la plus mauvaise (EG2) et, pour des teneurs sensiblement égales (T1 et T2), l'aptitude à la germination est pratiquement la même. EG1 se situe entre T1 et T2 d'une part et EG2 d'autre part.

Il semble donc exister une relation très nette entre les possibilités de germination des différents types de pépins et leurs teneurs en acide abscissique libre au moment de leur mise en germination. Dans la mesure où l'acide abscissique peut être impliqué dans les phénomènes de dormance, cette relation pourrait traduire l'existence d'une dormance résiduelle plus ou moins marquée chez les différents types de pépins.

Il y a lieu de préciser enfin que si l'on compare les poids des différents types de pépins à la récolte et les possibilités de germination de ces pépins (Tableau I et figure 4), on constate que ces dernières sont les meilleures pour les pépins de type 2ia, c'est-à-dire ceux dont les poids sont les plus faibles, et les plus mauvaises pour les pépins de type EG2, c'est-à-dire ceux dont les poids sont les plus élevés. Comme ces résultats s'observent très nettement pour les deux vignes considérées, il apparaît clairement que, dans nos conditions expérimentales, *les meilleures possibilités de germination des pépins ne sont pas liées à la présence de la quantité de réserves la plus grande.*

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Il est difficile de s'interroger sur le déterminisme de la disparition d'une partie importante de l'acide abscissique contenu dans les pépins après leur traitement par le froid sans évoquer une éventuelle relation entre la teneur en acide abscissique de ces graines et leur dormance. Les résultats que nous avons obtenus sont en accord avec ceux de certains auteurs (cf. WALTON, 1980 et CÔME, 1982) qui constatent que l'élimination de la dormance par le froid est concomitante d'une baisse de la teneur en acide abscissique des graines.

Nous avons alors cherché à préciser les modalités de la disparition de l'acide abscissique des pépins entre leur récolte et leur mise en germination.

En ce qui concerne *la diminution de la quantité totale d'acide abscissique* (libre et lié), il est remarquable de constater qu'elle s'est produite dans les deux vignes dans des proportions importantes, de l'ordre de 60 p. 100, mais comparables pour les différents types d'incisions annulaires, à l'exception de EG2 où elle a été plus faible (Tableau II).

La disparition de l'acide abscissique lié est spectaculaire, de l'ordre de 90 p. 100, quel que soit le type de pépins, T1, T2, 2ia, EG1 ou EG2. Elle est due à la fois au lessivage des téguments au cours de la réhydratation (BROQUEDIS, 1984) et au traitement de levée de dormance par le froid. La disparition presque complète de cette forme d'acide abscissique peut être attribuée aux conditions favorables à son hydrolyse, ce qui fait alors apparaître de l'acide abscissique libre.

L'acide abscissique libre semble avoir diminué moins fortement (de 30 p. 100 en moyenne) que l'acide abscissique lié, si l'on ne considère que la quantité initiale de cette forme libre. En fait, la quantité d'acide abscissique disparue sous forme libre est très importante car l'acide abscissique lié est une source potentielle d'acide abscissique libre. On

TABLEAU II

Comparaison de la teneur en acide abscissique total des pépins (en ng/pépin) au moment de leur récolte (R) et au moment de leur mise en germination (G).

Types d'incisions		EG2	T2	T1	EG1	2ia
COUHINS	R	29,70	26,89	28,00	32,83	18,50
	G	14,47	10,32	10,10	14,47	7,20
ARVEYRES	R	31,80	28,98	29,60	32,43	22,03
	G	15,73	10,22	10,29	13,65	7,84

peut donc penser que la totalité de l'acide abscissique libre qui a disparu correspond à la totalité de l'acide abscissique libre initial et à une partie de l'acide abscissique libre provenant de l'hydrolyse de l'acide abscissique lié dont la diminution considérable ne peut s'expliquer que de cette façon. Les résultats montrent aussi que cette diminution de l'acide libre (celui qui était libre et celui qui a été libéré par hydrolyse) ne s'est pas produite, contrairement à ce qui s'est passé pour l'acide lié, avec la même amplitude pour toutes les catégories de pépins puisqu'on enregistre des variations allant de 6 à 39 p. 100. Ces variations se retrouvent pour les deux vignes. On peut admettre que ces différences significatives sont en rapport avec la qualité de chaque type de pépins, avec leur état physiologique au moment de leur récolte (maturité des embryons surtout) puisque la teneur en acide abscissique libre de tous ces pépins, pourtant traités de la même façon avant leur mise en germination, n'a pas diminué dans

les mêmes proportions et qu'ils n'ont pas tous acquis les mêmes possibilités de germination.

La quantité totale d'acide abscissique endogène des pépins ayant baissé en moyenne de 60 p. 100 (Tableau II) au moment de la mise en germination, donc après réhydratation et traitement par le froid, il était intéressant de préciser à quel moment la disparition de l'acide abscissique s'est produite. Pour cela on a analysé les eaux dans lesquelles les pépins ont trempé pendant 72 heures, puis celles des morceaux de coton qui ont servi à maintenir l'imbibition pendant 60 jours et aussi les eaux de rinçage des pépins au bout de ces 60 jours.

Ces analyses montrent que la quasi totalité de l'acide abscissique qui a disparu des pépins en 72 heures se retrouve sous sa forme libre dans l'eau de trempage. Il ne subsiste en effet qu'une faible différence entre la quantité d'acide abscissique perdue par les pépins et celle retrouvée dans l'eau de trempage. Cette importante diffusion dans l'eau a sans doute été facilitée à la fois par une perméabilité accrue des téguments des pépins (ramollissement par l'eau et augmentation de la perméabilité membranaire due à l'acide abscissique) et par des conditions physiques favorables (réhydratation et température élevée).

Après le trempage, sous l'influence du froid, la perte d'acide abscissique s'est accentuée pour atteindre finalement les 60 p. 100 de sa valeur initiale. On retrouve de nouveau de l'acide libre dans les eaux de rinçage et dans les morceaux de coton qui ont assuré l'imbibition des graines. Les pépins ont donc encore cédé de l'acide abscissique libre par diffusion et, si l'on compare la totalité de l'acide abscissique libre cédé au milieu extérieur à la quantité initiale d'acide abscissique, il apparaît entre les deux une différence nette. Il est possible que cette différence corresponde à une dégradation de l'acide abscissique provoquée par les embryons dont l'activité a repris et qui sont alors le siège de phénomènes complexes (MILBORROW ET VAUGHAN, 1979). Ces embryons jouent certainement un rôle prépondérant dans la libération de l'acide abscissique à partir de l'acide abscissique lié présent dans les téguments des pépins et dans la dégradation ultérieure d'une autre partie de l'acide abscissique par la voie de l'acide phaséique.

Manuscrit reçu le 9 avril 1985 ; accepté pour publication le 20 mai 1985.

RÉSUMÉ

Les incisions annulaires ont une influence sur le poids des pépins, leur teneur en acide abscissique et leurs possibilités de germination. Ces dernières apparaissent indépendantes de la quantité de réserves des pépins, mais très nettement liées à leur teneur en acide abscissique au moment de leur mise en germination.

SUMMARY

Girdling has an influence on grape seed weight, on abscisic acid levels and on germination. Seed germination appears to be independent of its reserves, but it strongly depend on its ABA content just before germination.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Ringeln der Rebe hat einen Einfluss auf das Gewicht, auf den Abscisinsäuregehalt und auf ihre Keimfähigkeit. Die Letztere ist unabhängig von der Menge der Reserve, sie ist jedoch stark mit ihrem Abscisinsäuregehalt zur Zeit ihrer Keimung verbunden.

RESUMEN

Las incisiones anulares tienen una influencia en el peso de las pepitas, su contenido en ácido abscísico y sus posibilidades de germinación. Estas últimas aparecen independientes de la cantidad de reservas en las pepitas, pero muy ligadas a su contenido en ácido abscísico en el momento de su germinación.

RIASSUNTO

Le incisioni anulari hanno un'influenza sul peso degli acini, il loro tenore in acido abscissico e le loro possibilità di germinazione. Queste ultime sembrano indipendenti della qualità di riserve degli acini ma molto chiaramente legate al loro tenore in acido abscissico al momento della loro messa in germinazione.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ATHMAN A., 1983. Recherches sur l'incision annulaire de la Vigne. *Thèse Docteur-Ingénieur*, Bordeaux.
- BALTHAZARD J., 1979. Contribution à l'amélioration de la germination des graines de Vigne. *Thèse Doctorat d'Université*, Dijon.
- BARTHE Ph., 1983. Acide abscissique et dormance embryonnaire chez *Pyrus malus L.* *Thèse d'Etat*, Nice.
- BOUARD J., 1978. Possibilités de développement des ovules et qualité des pépins de raisin en fonction du rang des grappes sur les sarments. *In Génétique et amélioration de la Vigne*, 59-67, I.N.R.A. 472 p.
- BROQUEDIS M., 1983. Evolution de l'acide abscissique lié (abscissate de β -D-Glucopyranose) et de l'acide abscissique libre au cours du développement de la baie de raisin. *Connaissance Vigne Vin*, 17, N° 4, 247-257.
- BROQUEDIS M., 1984. Sur la diffusion d'une partie de l'acide abscissique des pépins de raisin au cours de la phase de réhydratation nécessaire à leur germination. *Connaissance Vigne Vin*, 18, N° 4 273-276.

- BROQUEDIS M. et BOUARD J., 1980. Abscisic acid in different seed categories of two grapes varieties, Ugni blanc and Cabernet Sauvignon. *Proceedings of U.C.D. grape and wine centennial symposium*. University of California, Davis. 1982, 156-158.
- CÔME D., 1982. Germination. In P. MAZLIAK, *Physiologie végétale II, Croissance et développement*. Hermann, Paris, 129-225.
- DÜRING H., 1978. Studies on the environmentally controlled stomatal transpiration in grape vines. II - Effects of girdling and temperatures. *Vitis*, 17, 1-19.
- LEPAGE-DEGIVRY M.-Th. et BULARD C., 1979. Acide abscissique lié et dormance embryonnaire chez *Pyrus malus*. *Physiol. Plant.*, 46, 115-120.
- MILBORROW B.V., 1970. Metabolism of abscisic acid. *J. Exp. Bot.*, 21, 17-29.
- MILBORROW B.V., 1974. The chemistry and physiology of abscisic acid. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 25, 259-307.
- MILBORROW B.V. et VAUGHAN G., 1979. The long term metabolism of (\pm) — (2^{14}C) abscisic acid by apple seeds. *J. Exp. Bot.*, 30, 983-995.
- WALTON D.C., 1980-81. Does ABA play a role in seed germination ? *Israel J. Bot.*, 29, 168-180.