Connaissance Vigne Vin, 1986, **20,** n° 3, 189-193.

NOTE

MISE EN EVIDENCE D'ANTHOCYANES DANS LES FEUILLES VERTES DE CABERNET SAUVIGNON

G. DARNÉ

Laboratoire de Physiologie Végétale et Ampélologie,
Université de Bordeaux I, Avenue des Facultés, 33405 Talence Cedex (France)

Chez la Vigne, les feuilles des parties médiane et apicale des rameaux principaux jouent un rôle important dans l'apparition de la coloration anthocyanique des pellicules des raisins rouges (DARNÉ et GLORIES, 1986). Il semble en effet qu'elles synthétisent une substance qui est ensuite exportée vers les baies, ce qui déclenche la synthèse des pigments anthocyaniques pelliculaires marquant le stade « véraison » des raisins.

Lorsque cette exportation est rendue impossible par une incision annulaire, une synthèse d'anthocyanes se manifeste rapidement dans ces mêmes feuilles qui prennent, dès l'époque de la véraison, une coloration rouge comparable à la coloration automnale des feuilles sénescentes. Cette apparition précoce d'anthocyanes nous a amené à étudier le contenu anthocyanique des feuilles vertes, aucune recherche n'ayant été faite à ce sujet.

MATERIEL ET METHODES

Des lots de 20 feuilles vertes de Cabernet Sauvignon ont été prélevées aux stades « nouaison » et « véraison » du raisin, en 1985, sur des ceps de la collection INRA de Bordeaux. Ces prélèvements ont toujours été effectués sur le nœud situé immédiatement au-dessus de la deuxième grappe, sur des rameaux portant toujours 2 grappes.

Les feuilles ont été lyophilisées puis réduites en poudre, et l'extraction des anthocyanes a été réalisée sur 1 g d'échantillon selon la technique de DARNÉ et MADERO TAMARGO (1979). Les extraits phénoliques obtenus ont été concentrés sous vide puis repris dans 10 mL de méthanol à 1 p. 100 d'HCl (V/V).

Les différentes molécules anthocyaniques ont été séparées par chromatographie liquide à haute pression en utilisant les conditions décrites par DOURNEL en 1985 (Tableau I). Leurs teneurs ont été calculées par éta-

lonnage externe en reportant les hauteurs des pics chromatographiques, mesurées en mm, à une courbe étalon établie à partir de concentrations connues des différentes anthocyanes de référence.

TABLEAU I

Conditions opératoires du dosage des anthocyanes

Colonne : phase stationnaire « inverse » Ultrasphère ODS C18
Diamètre des particules : 5µm
Longueur : 15 cm
Diamètre intérieur standard : 4,7 mm

Précolonne : phase stationnaire « inverse » Sphérosorb ODS C18
Diamètre des particules : 5 µm
Longueur : 5 cm
Diamètre intérieur standard : 4,7 mm

Phase mobile : Mélange binaire d'un solvant « A » (eau à 5 p. 100 d'acide formique, pH 2,1) et d'un solvant « B » (méthanol Prolabo RP à 5 p. 100 d'acide formique) préalablement filtrés sur membrane de 0,45 µm **selon le gradient d'élution suivant :**

Temps en minutes :	0	10	20	30	50
% de « A » :	100	85	80	40	**0**
% de « B » :	0	15	20	40	100

Débit : 1,0 mL par minute

Température : ambiante

Volume injecté : 20 µL d'extrait méthanolique préalablement filtré sur membrane de 0,45 µm

Détection : par spectrophotométrie à 520 nm au moyen d'un détecteur LKB muni d'une cellule de 2 mm de parcours optique

Sensibilité standard : 0,08

RESULTATS

La comparaison des chromatogrammes obtenus pour les deux stades étudiés (figure 1) montre que les feuilles vertes du Cabernet Sauvignon ne contiennent pas d'anthocyanes au stade nouaison du raisin. En revanche, il en existe dans les feuilles prélevées à l'époque de la véraison. Leur synthèse s'est donc produite entre la nouaison et la véraison, ce qui laisse penser qu'elle n'est possible que lorsque les feuilles ont atteint un certain développement.

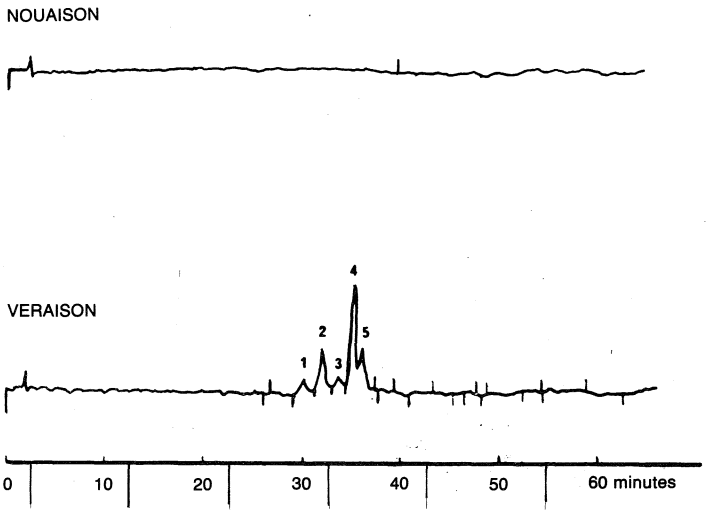


Fig. 1. - Chromatogrammes d'extraits anthocyaniques de feuilles chlorophylliennes de Cabernet Sauvignon prélevées aux stades nouaison et véraison du raisin. Pics : 1 : MG-3-delphinidine - 2 : MG-3-cyanidine - 3 : MG-3-pétunidine - 4 : MG-3-paéonidine - 5 : MG-3-malvidine.

Au point de vue qualitatif, ces anthocyanes foliaires, au nombre de 5, correspondent aux monoglucosides suivants, cités dans l'ordre de leur élution : MG-3-delphinidine, MG-3-cyanidine, MG-3-pétunidine, MG-3-paéonidine et MG-3-malvidine. Aucune de ces molécules ne se trouve estérifiée.

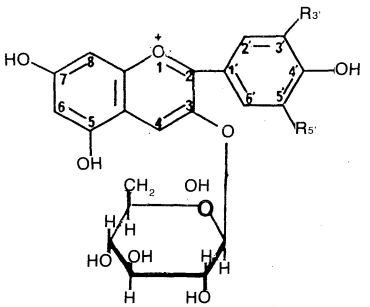
TABLEAU II

Teneurs en anthocyanes des feuilles chlorophylliennes de Cabernet Sauvignon au stade véraison du raisin en 1985

Anthocyanes	Teneurs en µg/g MS	Pourcentages
MG-3 cyanidine	77 µg	20 %
MG-3 paéonidine	178 µg	47 %
MG-3 pétunidine	27 µg	7 %
MG-3 delphinidine	25 µg	6 %
MG-3 malvidine	76 µg	20 %
Anthocyanes totales	383 µg	100 %

Le contenu anthocyanique total est inférieur à 400 µg par g MS, donc très faible (Tableau II). Il est toutefois remarquable de constater que, con-

trairement aux pellicules des baies du même cépage, ce sont les monoglucosides-3 de la paéonidine (47 p. 100) et de la cyanidine (20 p. 100) qui sont les plus abondants. Autrement dit, ce sont les structures anthocyaniques les moins substituées qui prédominent (Figure 2). En outre, les molécules méthoxylées sont toujours plus abondantes que les molécules hydroxylées : d'une part, la teneur de paéonidine (-OCH_3 en 3') est supérieure à celle de la cyanidine (-OH en 3') ; d'autre part, la teneur en malvidine (-OCH_3 en 3' et 5') est supérieure à celles de la pétunidine (-OCH_3 en 3' et -OH en 5') et de la delphinidine (-OH en 3' et 5').



$R_{3'}$	$R_{5'}$	monoglucoside -3 de :
OH	H	cyanidine
OCH_3	H	paéonidine
OH	OH	delphinidine
OCH_3	OH	pétunidine
OCH_3	OCH_3	malvidine

Fig. 2. - Structures moléculaires des anthocyanes, en fonction des substitutions en 3' et en 5'.

CONCLUSIONS

Les feuilles vertes de Cabernet Sauvignon synthétisent des anthocyanes. Cette synthèse ne se produit pas dans les feuilles trop jeunes ; elle se manifeste après le stade nouaison du raisin, et ne porte que sur des molécules simples d'anthocyanes. Compte tenu de leurs très faibles quantités, ces molécules sont totalement masquées par la pigmentation chlorophyllienne à l'époque de la véraison.

La composition anthocyanique de ces feuilles diffère complètement de celle des pellicules des baies vérées, puisque ce sont la paéonidine surtout et la cyanidine qui sont les plus abondantes, et non pas la malvidine et la delphinidine. En outre, ces molécules ne sont pas estérifiées.

Des études sont en cours sur plusieurs cépages rouges pour vérifier si ces premiers résultats se confirment et se maintiennent jusqu'à la chute des feuilles.

Note reçue le 25 août 1986.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

DARNÉ G. et GLORIES Y., 1986. Considérations nouvelles sur la synthèse des anthocyanes des baies de raisin au cours de la véraison. Communi-

cation au 3e *Symposium International sur la Physiologie de la Vigne,* Bordeaux, 24-27 juin 1986.

DARNÉ G. et MADERO TAMARGO J., 1979. Mise au point d'une méthode d'extraction des lipides solubles totaux, des glucides solubles totaux et des composés phénoliques solubles totaux des organes de la Vigne. *Vitis,* **18**, (3), 221-228.

DOURNEL J.-M., 1985. Recherches sur les combinaisons anthocyanes-flavanols. Influence de ces réactions sur la couleur du vin rouge. *Thèse 3e Cycle,* Bordeaux II, 136 pages.