Connaissance Vigne Vin, 1983, **17**, N° 4, 247-257

ÉVOLUTION 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

M. BROQUEDIS

Laboratoire de Physiologie Végétale et Ampélologie
Université de Bordeaux I
33405 Talence Cedex (France)

INTRODUCTION

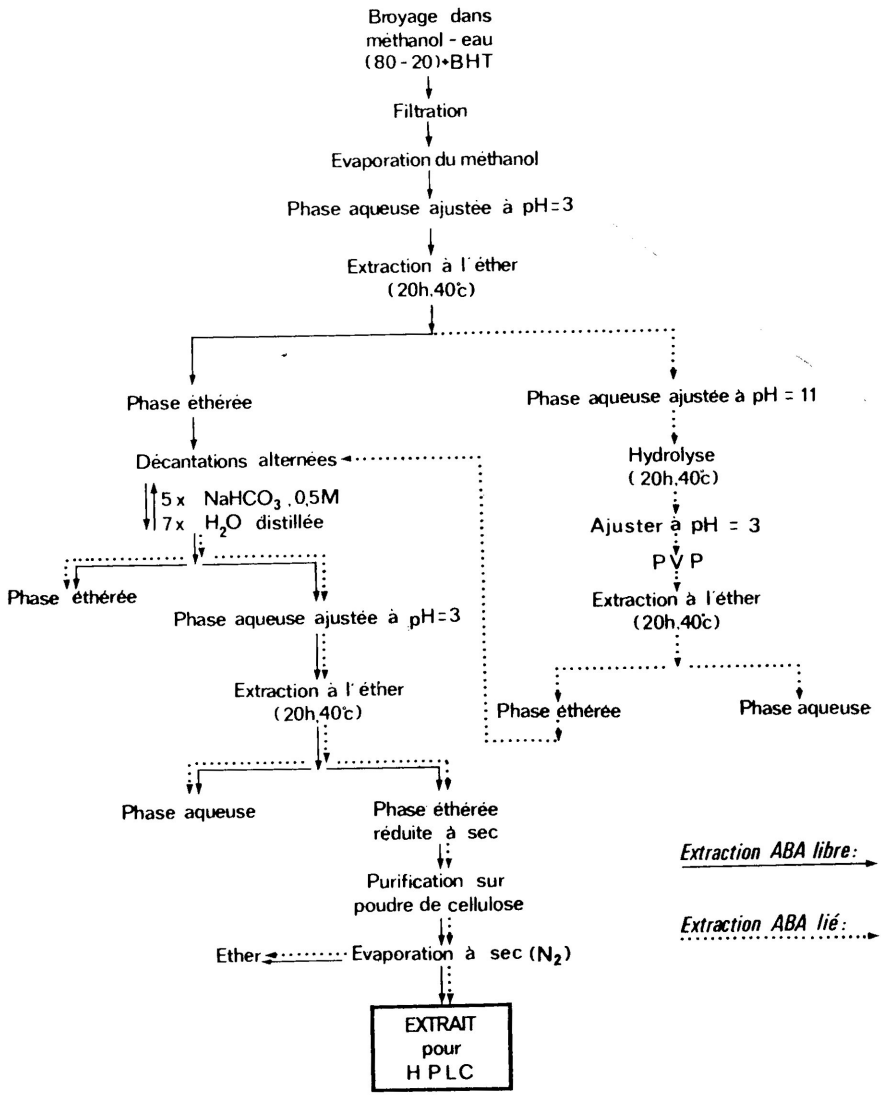
Si l'évolution de l'acide abscissique libre endogène de la baie de raisin au cours de sa croissance est actuellement bien connue, il n'en est pas de même de l'évolution de la fraction liée de cet acide, l'abscissate de β-D-glucopyranose, que nous nous sommes donc proposé d'étudier. Nous voulions savoir s'il existait des relations entre les variations de ces deux formes de l'acide abscissique et les stades repères de la vie de la baie, et aussi dans quelle mesure chacune d'elles participait à l'évolution de l'acide abscissique « total » endogène.

MATERIEL ET METHODES

Notre étude a été effectuée sur les baies provenant d'un clone sélectionné de Cabernet Sauvignon, prélevées régulièrement, tous les 7 jours, du 20 juillet au 5 octobre 1981. Chaque fois, 5 grappes de niveau I ont été récoltées de façon à obtenir plusieurs lots homogènes de 200 baies qui ont été immédiatement pesés puis congelés (— 50 °C) afin de pouvoir séparer les pépins des parties charnues (pulpe + pellicule) sans risque de modification biochimique. Les échantillons ainsi obtenus ont été lyophilisés, puis après détermination de leur poids sec, soumis au protocole d'extraction permettant d'obtenir l'acide abscissique libre et l'acide abscissique lié.

Les techniques d'extraction mises en œuvre sont des adaptations des méthodes de MILBORROW (1967) et de DURING (1977) pour l'acide abscissique libre, et de celles de MILBORROW (1970) et de BULARD et *al.* (1974), pour l'acide abscissique lié (figure 1). Les dosages quantitatifs d'acide abscissique ont été effectués par chromatographie liquide

Communication présentée le 22 septembre 1983, au II[e] Symposium International sur la Physiologie de la Vigne, à Bourgas (Bulgarie).



ABA = Acide abscissique

Fig. 1. — Schéma du protocole d'extraction de l'acide abscissique libre et lié

à haute pression (HPLC), en utilisant les conditions chromatographiques que nous avions mises au point (BROQUEDIS, 1980, 1981) pour séparer les isomères cis- et trans- de cet acide avec quelques modifications : l'appareillage consistait en un chromatographe Spectra Physics de type SP 8100 équipé d'un détecteur SP 8400 et d'un intégrateur-enregistreur SP 4100. Les séparations ont été réalisées à 35 °C avec une colonne de 25 cm de longueur remplie de Lichrosorb RP8 où circulait la phase mobile (eau-méthanol-acide acétique; 70-25-5, v/v/v) avec un débit de 1,5 ml par minute. L'acide abscissique a été détecté sous un rayonnement UV à la longueur d'onde de 254 nm.

RESULTATS

I. — CROISSANCE DES BAIES ET DES PEPINS

a) **Baies**

La première étape de la croissance (figure 2) est marquée par une augmentation rapide et régulière du poids frais des baies jusqu'à la mi-véraison. Cette étape, au cours de laquelle le grain est vert, correspond bien à la « première phase de croissance rapide » déjà mentionnée par d'autres auteurs.

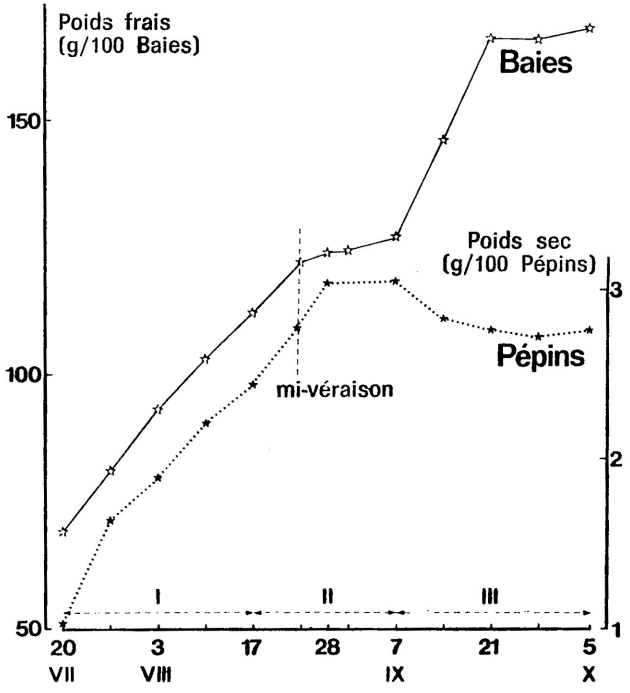


Fig. 2. — Evolution de la croissance pondérale des baies et des pépins de Cabernet Sauvignon au cours du cycle végétatif de 1981.
I, II, III : 1e, 2e et 3e étapes de croissance telles qu'elles sont définies dans le texte.

De la mi-véraison à la fin véraison, stade auquel les baies ont pris leur couleur définitive, la croissance pondérale s'infléchit fortement.

La véraison terminée, les baies entrent dans leur période de maturation et on assiste alors à une « deuxième phase de croissance rapide », marquée par une très forte augmentation de leur poids frais qui s'achève 8 jours avant le stade « maturité ».

A partir de cette date, le poids des baies n'évolue pratiquement plus jusqu'à la récolte.

b) **Pépins**

La détermination des poids secs des pépins permet de mettre en évidence une augmentation rapide, d'emblée très marquée, qui atteint un maximum à une date très proche du stade fin véraison de la baie.

Par la suite, le poids sec des pépins se stabilise quelques jours avant de diminuer légèrement jusqu'à la date de la récolte. Cette diminution s'effectue parallèlement à la deuxième phase de croissance rapide des baies qui correspond à la période de la maturation.

En définitive, les pépins achèvent leur croissance pondérale à la véraison, donc plusieurs semaines avant que les baies atteignent leur poids maximum.

II. — ACIDE ABSCISSIQUE LIBRE ET ACIDE ABSCISSIQUE LIÉ DES PELLICULES ET DES PULPES

a) **Acide abscissique libre**

L'évolution de la teneur en acide abscissique libre des pellicules et des pulpes (figure 3a) s'effectue en 3 étapes principales :

Du premier prélèvement au début de la véraison, c'est-à-dire *au cours de la première phase de croissance rapide de la baie,* la teneur en acide abscissique libre évolue peu. On constate cependant l'existence d'un maximum le 27 juillet qui pourrait être lié aux facteurs climatiques.

Pendant la véraison, on assiste tout d'abord à une augmentation très importante et très rapide de la teneur en acide abscissique libre qui, en 7 jours, atteint un maximum élevé, lequel coïncide à la fois avec la mi-véraison et avec un minimum marqué de la température moyenne. Il lui succède une forte diminution qui, en 4 jours, ramène cette teneur à une valeur voisine de celle notée au début de la véraison.

Au cours de la phase de maturation de la baie, la tendance globale est une diminution lente de la teneur en acide abscissique libre, modulée semble-t-il par quelques variations ponctuelles. Cette dernière phase conduit aux teneurs minimales en acide abscissique libre.

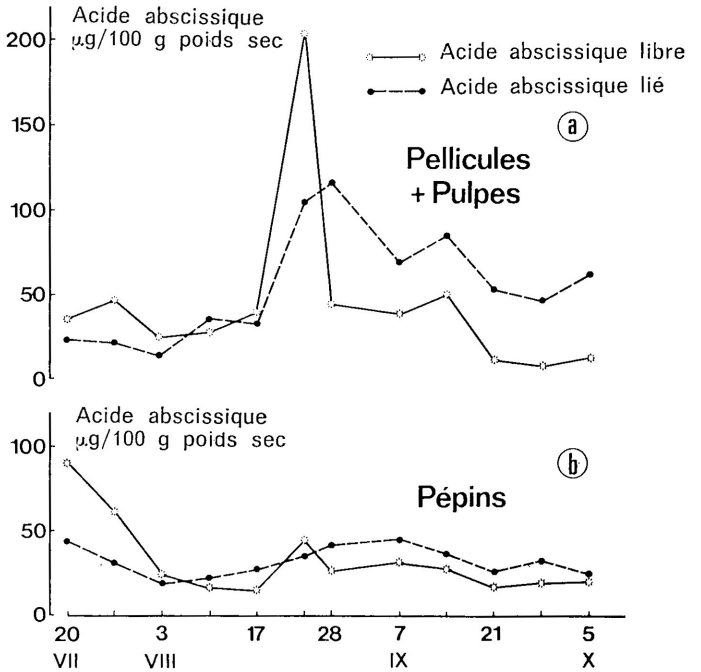


Fig. 3. — Evolution des teneurs en acide abscissique libre et lié des baies de Cabernet Sauvignon
a) des pellicules + pulpes
b) des pépins.

b) **Acide abscissique lié**

D'une façon générale, l'évolution des teneurs en acide abscissique lié (figure 3a) des pellicules et des pulpes se fait suivant des étapes bien distinctes qui paraissent analogues à celles décrites pour l'acide abscissique libre, avec toutefois quelques particularités en rapport d'une part avec les quantités et, d'autre part, avec un décalage dans le temps du maximum le plus important noté à l'époque de la véraison.

La première étape, qui s'étend *du premier prélèvement au début de la véraison,* est marquée par de faibles variations de la teneur en acide abscissique lié au cours desquelles se produit d'abord une très faible diminution jusqu'au 3 août, date à laquelle le pépin change de couleur, puis une augmentation qui conduit à des teneurs voisines de celles de l'acide abscissique libre.

La véraison est nettement marquée par une augmentation importante de la teneur en acide abscissique lié, d'abord très rapide jusqu'à la mi-véraison, ensuite beaucoup plus lente, qui aboutit au maximum observé à la fin véraison seulement, ce qui fait apparaître un décalage dans le temps par rapport à celui de l'acide abscissique libre. Cette accumulation

d'acide abscissique lié ne conduit pas à une teneur aussi élevée que celle de la forme libre.

Pendant la phase de maturation des baies, et jusqu'à leur récolte, on observe une diminution du taux élevé d'acide abscissique lié mais son niveau reste toujours supérieur à celui de l'acide abscissique libre. Cette diminution est très rapide jusqu'au 7 septembre. Par la suite elle est beaucoup plus modérée et l'on constate que les deux courbes acide abscissique libre et acide abscissique lié évoluent parallèlement.

III. — ACIDE ABSCISSIQUE LIBRE ET ACIDE ABSCISSIQUE LIÉ DES PEPINS

a) **Acide abscissique libre**

Trois étapes principales caractérisent aussi l'évolution de la teneur en acide abscissique libre des pépins (figure 3b).

Tout au long de la première étape *qui aboutit au début de la véraison,* la teneur initialement élevée en acide abscissique libre des pépins baisse constamment. Cette diminution est importante jusqu'à leur changement de couleur (le 3 août), elle s'atténue ensuite, ce qui conduit à une valeur minimale au stade « début de la véraison ».

Pendant la deuxième étape qui correspond à *la véraison des baies,* la quantité endogène d'acide abscissique libre des pépins augmente rapidement jusqu'à un maximum qui coïncide avec la mi-véraison, puis diminue jusqu'à la fin véraison, sans revenir à la valeur déterminée au début de la véraison. En outre, il faut remarquer que la valeur notée au stade « mi-véraison » est très inférieure à celle déterminée initialement lors du premier prélèvement.

A partir de *la fin véraison,* la quantité d'acide abscissique libre des pépins demeure à peu près stable jusqu'au 14 septembre, puis décroît très faiblement pour ne plus évoluer jusqu'à la récolte.

b) **Acide abscissique lié**

La teneur en acide abscissique lié des pépins ne subit pas de variations aussi accentuées que celle de l'acide abscissique libre (figure 3b). Il est donc difficile de distinguer les 3 étapes décrites précédemment.

Notons cependant que cette évolution paraît identique jusqu'au changement de couleur des pépins : la quantité d'acide abscissique lié diminue, et sa valeur reste toujours inférieure à celle de l'acide abscissique libre.

Contrairement à ce que l'on a pu observer précédemment, la véraison des baies ne semble pas affecter l'évolution de la teneur en acide abscissique lié des pépins puisque celle-ci augmente régulièrement du 3 août au 7 septembre sans marquer de pic maximum à la mi-véraison. L'arrêt

de cette lente augmentation coïncide avec la fin de la croissance pondérale des pépins, la teneur en acide abscissique lié retrouvant alors la valeur déterminée le jour du premier prélèvement.

Par la suite, une diminution de la teneur en acide abscissique lié s'amorce pour suivre une évolution parallèle à celle de l'acide abscissique libre, mais avec des quantités toujours plus élevées de la fin véraison à la récolte.

INTERPRETATION ET CONCLUSION

Les résultats que nous avons obtenus montrent nettement qu'au début du développement des baies, la majeure partie de *l'acide abscissique « total »* (libre + lié) est contenue dans les pépins dont la teneur par rapport au poids sec dépasse d'environ deux fois et demie celle du reste du fruit. Cette quantité importante d'acide abscissique, présente très tôt dans les pépins, diminue rapidement pour atteindre un minimum qui coïncide avec le changement de leur couleur (figure 4), il est donc situé

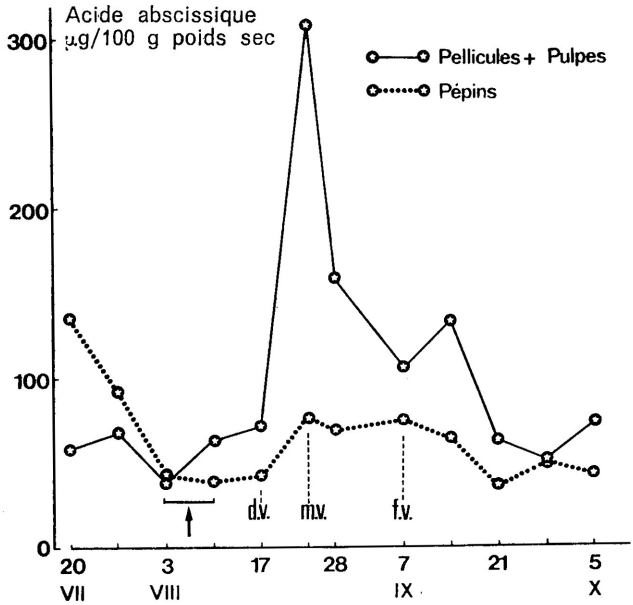


Fig. 4. — Evolution des teneurs en acide abscissique « total » des pellicules + pulpes et des pépins de Cabernet Sauvignon

↑ : changement de couleur des pépins
d.v. : début véraison
m.v. : mi-véraison
f.v. : fin véraison

bien avant le début de la véraison. A partir de ce moment, l'acide abscissique «total » tend à augmenter. Cette augmentation devient très rapide dès le début véraison, et la teneur en acide abscissique atteint sa valeur

maximale à la mi-véraison pour s'y maintenir jusqu'à la fin véraison. On observe ensuite une diminution de la teneur en acide abscissique « total ».

Les variations de *l'acide abscissique libre* des pépins sont assez semblables à celles de l'acide abscissique « total » (figure 3b) et la mi-véraison est nettement marquée puisque c'est à cette date qu'est atteint le maximum d'acide abscissique libre. Ce résultat est nouveau en comparaison des résultats antérieurs essentiellement représentés par les travaux de DURING et de COOMBE. En effet, DURING signale que la quantité endogène d'acide abscissique libre des pépins passe par un maximum après la véraison, c'est-à-dire pendant la deuxième phase de croissance rapide des baies. Tandis que pour COOMBE la teneur en acide abscissique reste stable et très faible pendant toute la période allant du début de la véraison à la maturité des baies.

Après avoir subi lui aussi une diminution de sa teneur jusqu'au changement de couleur des pépins, *l'acide abscissique lié* s'accumule progressivement dans ces organes, jusqu'au moment où ils atteignent pratiquement leur poids définitif. Par la suite, après la fin de la véraison, une diminution lente de la teneur en acide abscissique lié se manifeste et se poursuit jusqu'à la dernière date de prélèvement.

En ce qui concerne les pellicules et les pulpes des baies on note comme pour les pépins, que le maximum en *acide abscissique « total »*, très accentué, est atteint à la mi-véraison, et cela correspond au ralentissement de la croissance. Ce niveau très élevé d'acide abscissique pourrait expliquer en partie ce ralentissement, mais il n'est certainement pas seul à être impliqué dans ce phénomène complexe étant donné les transformations biochimiques importantes qui se produisent dans le métabolisme des baies en voie de maturation.

Après la véraison, la dégradation de l'acide abscissique s'amorce suivant un rythme d'abord rapide, puis beaucoup plus lent, la diminution étant même entrecoupée d'une nouvelle augmentation beaucoup plus modeste que la précédente.

Si l'on considère maintenant *l'acide abscissique libre* de l'ensemble pellicules + pulpes, il faut souligner l'élévation brutale de sa teneur à partir du début de la véraison, ce qui traduit une puissante capacité de synthèse de cet acide par la plante. Cette synthèse semble suivie par deux phénomènes distincts, la *dégradation* et *l'accumulation sous une forme de stockage*. On peut, en effet, penser que la dégradation n'est responsable que d'une partie de la chute rapide de l'importante quantité d'acide abscissique libre, l'autre partie est certainement imputable au blocage de la forme libre pour donner la forme liée. Il semble, en effet, qu'avant la fin de la véraison il y ait stockage d'acide abscissique par estérification de sa forme libre en présence du glucose contenu dans les

baies. Cette production d'acide abscissique lié s'effectue d'une façon *très intense* puisque le niveau atteint en un court laps de temps est très élevé.

Une fois la véraison achevée, les deux formes d'acide abscissique voient alors leurs teneurs diminuer et, bien que la forme liée soit toujours nettement plus abondante que la forme libre, le parallélisme des deux courbes représentant leurs variations semble montrer que le processus d'interconversion en faveur de la forme liée ne fonctionne plus. Il n'y a donc vraisemblablement plus d'accumulation d'acide abscissique lié pendant la phase de maturation des baies. Par contre, sa diminution progressive fait plutôt penser à une libération d'acide abscissique rapidement dégradé par la plante.

Ainsi, l'étude de l'acide abscissique (libre et lié) de la baie de Cabernet Sauvignon en fonction de sa croissance et de sa constitution permet de distinguer nettement trois périodes différentes. Ces périodes correspondent à trois phases du développement de la baie qui se situent avant, pendant et après la véraison.

Manuscrit reçu le 3 octobre 1983 ; accepté pour publication le 28 octobre 1983.

RÉSUMÉ

L'acide abscissique libre s'accumule dans l'ensemble pellicule + pulpe lorsque les pépins commencent à changer de couleur et atteint sa valeur maximale (à la mi-véraison) plus tôt que l'acide abscissique lié (à la fin véraison). Par la suite l'acide abscissique est progressivement catabolisé et la teneur en acide abscissique lié (forme de stockage) reste supérieure à celle de l'acide abscissique libre.

SUMMARY

Free abscisic acid accumulates in both the skin and pulp together when the seeds begin to change colour. It obtains its maximum (at the half veraison) earlier than bound abscisic acid (at the end of the veraison). Then, abscisic acid is progressively catabolised and the level of bound abscisic acid (storage form) remains above than of free abscisic acid.

ZUSAMMENFASSUNG

Die freie Abscisinsaüre setzt sich in der Haut und im Fruchtfleisch der Traube ab, während die Kernen anfangen ihre Farbe zu wechseln.

Sie erreicht ihr Maximalwert schneller als die verbundene Abscisinsaüre.

Nachher wird die Abscisinsaüre langsam katabolisiert und der Enthalt der verbundenen Abscisinsaüre (eine Art Lagerung) bleibé höber als der freien Abscisinsaüre.

RESUMEN

El ácido abscisico libre se acumula dentro del conjunto piel + pulpa cuando las pepitas empiezan a cambiar de color y alcanzan el valor máximo (en el

medio envero), antes que el ácido abscisico combinado (en el final del envero). En adelante el ácido abscisico es progresivamente catabolizado y la tenor en ácido abscisico combinado (en forma de stock) permanece superior a la de ácido abscisico libre.

RIASSUNTO

L'acido absissico libero si accumula nell'insieme pellicola + polpa quando i vinaccioli iniziano a cambiare colore e raggiungono il valore massimo, (alla metà dell'invaiatura dell'uva) piú presto che l'acido absissico composto, (alla fine dell'invaiatura). In seguito, l'acido absissico é progressivamente catabolizzato e la quantità percentuale in acido absissico composto (forma di stoccaggio) rimane superiore a quella dell'acido absissico libero.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BARTHE P. et BULARD C., 1978. Bound and free abscisic acid in dormant and after-ripened embryos of Pyrus malus L. cv. Golden delicious *Z. Pflanzenphysiol.*, **90**, 201-208.

BROQUEDIS M., 1980. Influence de la conservation au froid des sarments sur leur teneur en acide abscissique, le débourrement et la rhizogenèse. *Actualités œnologiques et viticoles*, Dunod éd., 154-161.

BROQUEDIS M., 1982. Le métabolisme des boutures de vigne *(Vitis vinifera* L. var Ugni Blanc) pendant la rhizogenèse : influence des basses températures sur l'évolution des formes « libre » et « liée » de l'acide abscissique. IIe Colloque International sur la Multiplication de la Vigne, Bordeaux, 70-72.

BROQUEDIS M. et BOUARD J., 1980. Abscisic acid in different seed categories of two grape varieties, Ugni blanc and Cabernet Sauvignon. *Proceedings of U.C.D.* grape and wine centennial symposium, University of California, Davis, 1982, 156-158 et *Connaissance Vigne Vin*, **15**, N° 2, 89-95.

BROQUEDIS M. et BOUARD J., 1981. Dessèchement de la rafle et teneur en acide abscissique des pépins. *Connaissance Vigne Vin*, **15**, N° 4, 261-268.

BULARD C, BARTHE P., GARELLO G. et LE PAGE-DEGIVRY M.-Th., 1974. Mise en évidence d'acide abscissique lié au β-D-glucopyranose dans les embryons dormants de Pyrus malus L. *C.R. Acad. Sci.* (Paris), Série D, **278**, 2145-2148.

COOMBE B.G., 1976. Abscisic acid and sugar accumulation in grape berry. 9th International Conference Plant growth substances, Lausanne, 62-64.

COOMBE B.G. et HALE C.R., 1973. The Hormone Content of Ripening Grape Berries and the effects of Growth Substance Treatments. *Plant. Physiol.*, **51**, 629-634.

DÜRING H., 1974. Abscisic acid in ripening grape berries. *Vitis*, **13**, N° 2, 112-119.

DÜRING H., 1977. Analysis of abscisic acid and indole-2-acetic acid from fruits of *Vitis vinifera* L. by high pressure liquid chromatography. *Experientia*, **33**, 1666-1667.

LE PAGE-DEGIVRY M.-Th. et BULARD C., 1979. Acide abscissique lié et dormance embryonnaire chez Pyrus malus. *Physiol. Plant.*, **46**, 115-120.

MILBORROW B.V., 1967. The Identification of (+)—Abscisin II [(+)—Dormin] in Plants and Measurement of its Concentrations. *Planta*, **76**, 93-113.

MILBORROW B.V., 1970. The Metabolism of Abscisic Acid. *J. Exp. Botany*, **21**, N° 66, 17-29.