ÉVOLUTION DES TENEURS EN COMPOSÉS PHÉNOLIQUES SOLUBLES, EN TANINS PROANTHOCYANIQUES ET EN ANTHOCYANES DES BAIES MILLERANDÉES DE *VITIS VINIFERA* L. AU COURS DE LEUR DÉVELOPPEMENT

EVOLUTION OF THE CONTENTS IN SOLUBLE PHENOLIC COMPOUNDS, IN PROANTHOCYANIC TANINS AND IN ANTHOCYANINS OF SHOT GRAPE BERRIES OF *VITIS VINIFERA* L. DURING THEIR DEVELOPMENT

Céline CHOLET et Gérard DARNÉ

Laboratoire des Sciences de la Vigne, Université Bordeaux I,
avenue des Facultés, 33405 Talence cedex, France

Résumé : Trois sortes de baies millerandées de Merlot et de Cabernet-Sauvignon ont été distinguées et étudiées : les petites baies de 3 mm de diamètre, les baies moyennes de 4 à 6 mm de diamètre, vertes jusqu'à la maturité et les baies moyennes de 4 à 7 mm de diamètre qui vèrent pendant la maturation.
L'évolution biochimique des composés phénoliques de ces baies anormales (composés phénoliques solubles totaux, tanins proanthocyaniques, anthocyanes) a été comparée à celle des baies à développement normal. Cette comparaison montre que le métabolisme polyphénolique des baies millerandées n'est pas profondément modifié par rapport à celui des baies normales, il est seulement plus ou moins retardé, voire complètement bloqué.

Abstract : The skin of berries of black, red, grey and pink cultivars of *Vitis vinifera* L. contain anthocyanins and tanins. High pression liquid chromatographic studies of anthocyanins in normal berries of black cultivars (Cabernet-Sauvignon and Merlot noir) permit to show clearly that the synthesis of these pigments starts early in the skins, about three weeks before veraison. Acylated anthocyanins are also present at this stage and they have a similar evolution than no acylated anthocyanins.
On the contrary, proanthocyanic tanins contents of skins and seeds decrease from the first stage of veraison, initially rapidly then more slowly until the maturity. In grape seeds, the final proanthocyanic tanins content keeps the same whatever the year (DARNÉ, 1991).
In case of «millerandage», some berries have not a regular development and stay very small until the maturity. A lot of these shot grape berries stay green with no viable seeds. Others shot grape berries become pink or red but stay small.
That is why three sorts of shot grape berries of *Vitis vinifera* are studied : small berries 3 mm in diameter, medium berries from 4 to 6 mm in diameter that stay green until maturity and the medium berries from 4 to 7 mm in diameter which change in color during maturation. Their polyphenolic biochemical evolution was compared with that of normal berries. Polyphenolic metabolism of shot grape berries was not modified, but it was just delayed or blocked. The small berries keep the polyphenolic characteristics of normal berries just after the fruit-setting ; the green medium berries cease evolving approximately one month after the fruit-setting, with maturity, these green medium berries have the characteristic polyphenolic of normal berries in the course of growth (between stages K - L) ; the red medium berries are the only shot grape berries which evolve throughout development of the bunch, but with a delay from approximately 1 month compared to normal berries.

Mots clés : millerandage, polyphénols, anthocyanes, tanins proanthocyaniques, *Vitis vinifera* L. var. Merlot, Cabernet-Sauvignon.

Key words : anthocyanins, shot grape berries, total polyphenols, proanthocyanic tanins, *Vitis vinifera* L. cv. Merlot, Cabernet-Sauvignon.

*Corresponding author: G. Darné

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

INTRODUCTION

Les composés phénoliques ou polyphénols du raisin ont une très grande importance en œnologie : ils participent à la couleur et aux qualités organoleptiques des vins. La pellicule des baies des cépages noirs, rouges, gris et roses contient des tanins et des anthocyanes. Ces dernières s'accumulent intensément de la véraison à la maturité (SOMERS, 1976 ; PIRIE et MULLINS, 1976, 1980 ; GUILLOUX, 1981) et, comme les tanins, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules hypodermiques les plus superficielles (PRATT, 1971 ; PARK et DARNÉ, 1996).

L'analyse par chromatographie liquide à haute pression (CLHP) des baies de cépages noirs (Cabernet-Sauvignon et Merlot) a permis de montrer que des anthocyanes commencent à être synthétisées dans les pellicules trois semaines avant le début de la véraison, donc avant leur changement de couleur (DARNÉ, 1991). Les anthocyanes acylées sont présentes dès la véraison; elles ont une évolution comparable à celle des anthocyanes non acylées (RIBÉREAU-GAYON, 1971 ; SOMERS, 1976 ; DARNÉ, 1991).

À partir du début de la véraison, l'évolution des teneurs en tanins proanthocyaniques (TPA), préalablement accumulés dans les pellicules et pépins, correspond au contraire à une diminution. Cette diminution est d'abord rapide pendant la véraison, puis plus lente jusqu'à la maturité. Dans les pépins, elle conduit à une teneur finale qui reste pratiquement la même quelle que soit l'année. Les pépins sont alors mûrs et morphologiquement aptes à germer (DARNÉ, 1991).

Après la récolte, lors des macérations, les pellicules des baies libèrent des tanins et des anthocyanes dans le jus extrait des pulpes.

Cependant, il arrive que sur une même grappe, des baies ne se développent pas normalement et restent de petite taille jusqu'à l'époque de la maturité. C'est le phénomène de millerandage. Les petites baies anormales sont appelées baies millerandées et beaucoup restent vertes et sans pépin viable ce qui peut, certaines années, affecter sensiblement la récolte, tant du point de vue du rendement que du point de vue de la couleur ou de la composition en tanins.

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés ici à l'influence du millerandage sur les composés phénoliques des différentes baies de raisin, normales et millerandées. Les deux phases de croissance classiquement utilisées pour décrire le développement des baies normales (COOMBE, 1976 ; STAUDT *et al.*, 1986 ; BLANKE, 1992), ainsi que les stades de référence du développement normal (BAGGIOLINI, 1952) ne sont pas en concordance avec ce que l'on observe chez les baies millerandées. En effet, ces baies particulières sont en retard dans leur développement, par rapport aux baies normales (CHOLET *et al.*, 1998 ; COLIN *et al*., 2000 ; CHOLET, 2001). Néanmoins, ce sont les phases de croissance des baies normales qui seront notre référence tout au long de cette étude.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I - PRÉLÈVEMENTS

Les prélèvements ont été réalisés en 1997, 1998, 1999 et 2000 dans la région de Bordeaux (Château Brown), sur deux cépages : le Merlot et le Cabernet-Sauvignon.

Des grappes normales de raisin et des grappes millerandées ont été prélevées le matin, toujours à la même heure (entre 9 h 30 et 10 h 30). Elles ont aussitôt été plongées directement dans de l'azote liquide, puis stockées au congélateur à –30 °C.

Les différents prélèvements ont toujours été effectués à des stades clés du développement de la grappe (BAGGIOLINI, 1952 ; BAILLOD et BAGGIOLINI, 1993) : nouaison (J) ; petit pois (K) ; fermeture de la grappe (L) ; véraison (M) et maturité (N).

II- PRÉPARATION DU MATÉRIEL VÉGÉTAL

Pour chaque stade et chaque cépage, les baies congelées ont été triées par diamètre et par couleur, afin de différencier les baies millerandées de petite taille (diamètre inférieur à 3 mm), les baies millerandées de taille moyenne (diamètre compris entre 4 et 7 mm), les baies normales (diamètre supérieur à 8 mm), ainsi que les baies vertes ou rouges. En même temps, les pépins, quand ils étaient présents, ont été séparés du péricarpe. Ainsi préparés, les échantillons ont été lyophilisés.

III - EXTRACTION ET DOSAGES DES POLYPHÉNOLS

Les composés phénoliques totaux du matériel végétal lyophilisé ont été extraits selon la technique de DARNÉ et MADERO-TAMARGO (1979).

Les teneurs en composés phénoliques solubles totaux (CPST) des extraits convenablement dilués (25 fois) ont été estimées en déterminant leur densité optique (DO) à 280 nm sous 1 cm de trajet optique, avec un spectrophotomètre d'absorption moléculaire (Hitachi-U 2000), en s'inspirant des travaux de RIBÉREAU-GAYON (1970) sur le vin rouge.

Les tanins proanthocyaniques facilement extractibles (TPA) ont été dosés selon le protocole de RIBÉREAU-GAYON et STONESTREET (1966) basé sur leur propriété de se transformer en anthocyanidines colorées par

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

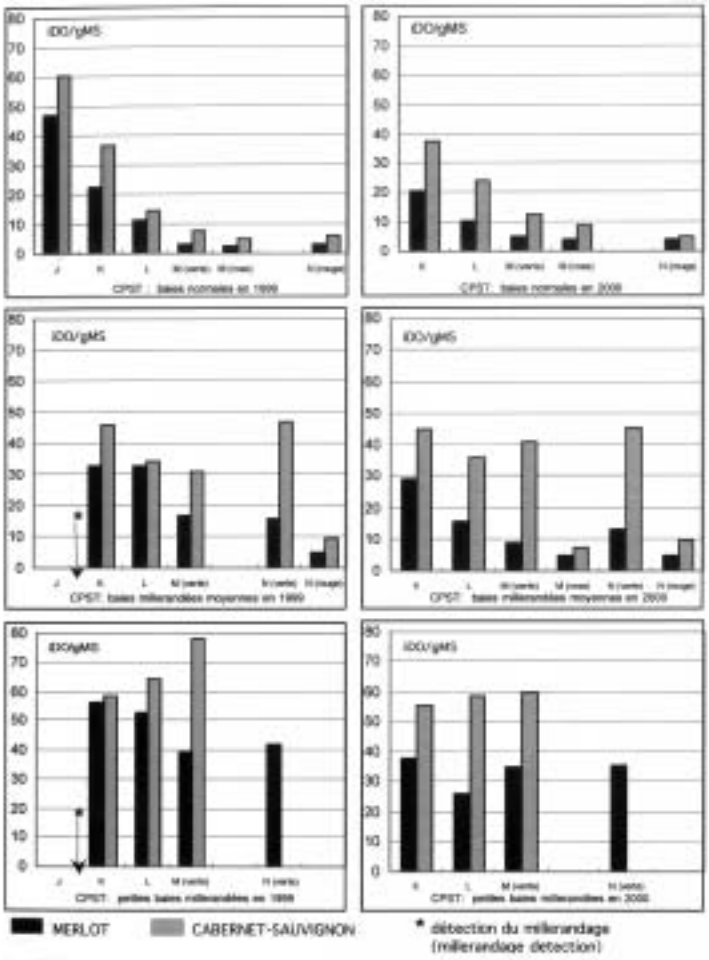


Fig. 1 - Évolution, en IDO pr gMS, des composés phénoliques solubles totaux (CPST) dans les baies normales et millerandées de Merlot et de Cabernet-Sauvignon au cours du développement de la grappe, en 1999 et 2000.

Phenolics evolution, in OD/g dry weight of Merlot and Cabernet-Sauvignon normal grape berries nd shot grape berries, during the developpement of grape berries in 1999 et 2000

chauffage en milieu acide (réaction de BATE-SMITH 1954). La différence de coloration est appréciée par spectrophotométrie sous 1 cm d'épaisseur à 550 nm de longueur d'onde par rapport à un témoin non chauffé. Les résultats sont exprimés en utilisant une formule de conversion donnant directement la teneur en TPA de l'extrait à partir de la différence de DO : X mg/gMS = (37,83 x (DOn - DOn') – 0,0324) x facteur de dilution

Les anthocyanes ont été séparées et dosées par CLHP, selon la méthode de DARNÉ (1991) en injectant 20 µl d'échantillon à analyser dans une colonne Lichrocart 250-4, (4 mm de diamètre x 25 cm de longueur; phase stationnaire : Lichrosphère 100 RP 18; diamètre des particules : 5 µm), à la température ambiante de 25 °C. La phase mobile est constituée de 2 solvants (A : Eau à 5 % d'acide formique et B : Méthanol à 5 % d'acide formique) délivrée sous un débit de 1 ml/mn selon un gradient faisant passer la proportion de solvant A de 80 % (temps 0) à 40 % (temps 10 mn) puis à 0% (temps 40 mn). La détection des anthocyanes s'effectue par spectrophotométrie à 520 nm, à l'aide d'un détecteur Beckman 168 à barrette de diodes permettant de confirmer la nature des molécules par comparaison de leur spectre d'absorption.

RÉSULTATS

Les différents résultats obtenus au cours des quatre cycles étudiés étant concordants, les graphiques présentés seront limités aux deux derniers cycles, 1999 et 2000. Les teneurs sont rapportées à 1 gramme de matière sèche (gMS), ce mode d'expression nous permettant de nous affranchir des problèmes de dilution par l'eau dont l'origine est variable.

I –ÉVOLUTION DES TENEURS EN COMPOSÉS PHÉNOLIQUES SOLUBLES TOTAUX (CPST)

Les teneurs en CPST (fig. 1) sont exprimées en indice de densité optique à 280 nm rapporté au gramme de matière sèche (iDO/gMS)

J. Int. Sci. Vigne Vin, 2004, **38**, n°3, 171-180
©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

1) Baies normales

Les teneurs en CPST sont très élevées au stade nouaison (J), de l'ordre de 45 à 60 iDO/gMS. Puis, elles diminuent constamment au cours de la phase de croissance herbacée et jusqu'à la véraison (M) où elles sont comprises entre 5 et 10 iDO/gMS. À partir de la véraison et jusqu'à la maturité (N), les teneurs ont tendance à se stabiliser autour de 5 iDO/gMS.

2) Baies millerandées de taille moyenne

Dans l'ensemble, les concentrations dans ces baies sont plus élevées que dans les baies normales.

Au cours de la croissance herbacée, comme pour les baies normales, les teneurs en CPST subissent une importante diminution, mais elles restent toujours supérieures à celles des baies normales. On constate qu'au moment de la véraison de la grappe, les teneurs en CPST des baies millerandées moyennes vertes sont comparables à celles des baies normales en cours de croissance (K ou L).

À partir de la véraison de la grappe, les teneurs en CPST des baies millerandées moyennes qui restent vertes tendent à se stabiliser. Ainsi, au moment de la maturité, les teneurs en CPST de ces baies sont proches de celles des baies normales en cours de croissance (K ou L), c'est-à-dire de l'ordre de 10 à 50 iDO/gMS.

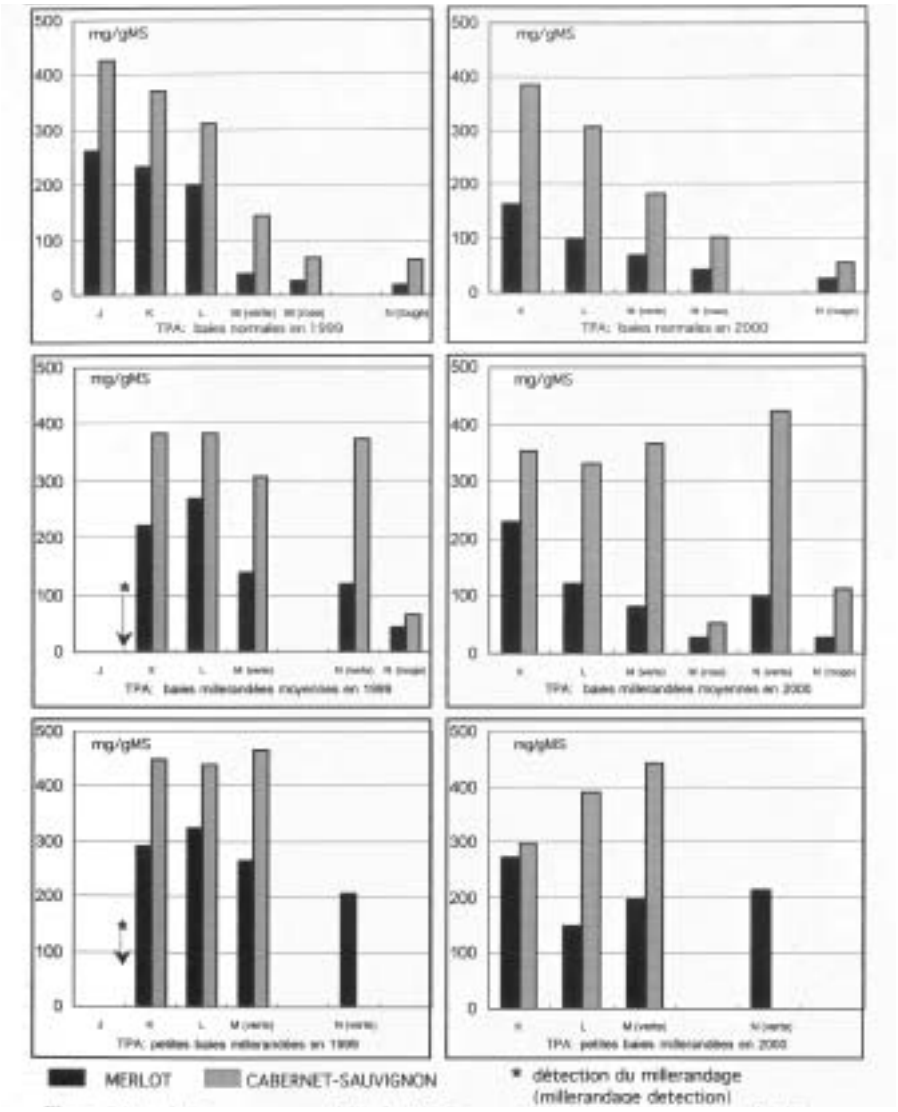


Fig. 2 - Evolution, en mg par gMS, des tanins proanthocyaniques (TPA) dans les baies normales et millerandées de Merlot et de Cabernet-Sauvignon au cours du cycle de développement en grappe, en 1999 et 2000.

Proanthocyanins evolution, in mg/g dry weight, of Merlot and Cabernet-Sauvignon normal grape berries and shot grape berries, during the development of grape berries in 1999 and 2000.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

Au contraire, à partir de la véraison de la grappe, les teneurs en CPST des baies millerandées moyennes qui rougissent diminuent et elles ont tendance à se stabiliser pendant la phase de maturation, comme pour les baies normales. Cependant, ces teneurs sont plus élevées que celles des baies normales. En effet, elles restent de l'ordre de 5 à 10 iDO/gMS jusqu'au moment de la maturité, ce qui rappelle celles des baies normales roses au moment de la véraison .

3) Baies millerandées de petite taille

Les teneurs en CPST, d'abord très élevées, diminuent plus ou moins nettement suivant le cépage, tout au long du développement de la grappe. Cependant, au moment de la maturité, leurs teneurs en CPST sont très proches de celles qu'avaient les baies normales au moment de leur nouaison, puisqu'elles sont comprises entre 30 et 60 iDO/gMS.

II - ÉVOLUTION DES TENEURS EN TANINS PROANTHOCYANIQUES (TPA)

Il apparaît de nombreuses similitudes entre les teneurs en TPA, exprimées en mg/gMS, et celles en CPST (fig. 2).

1) Baies normales

À la nouaison, les teneurs en TPA sont très élevées et comprises entre 250 et 450 mg/gMS, puis elles diminuent beaucoup au cours de la phase de croissance herbacée.

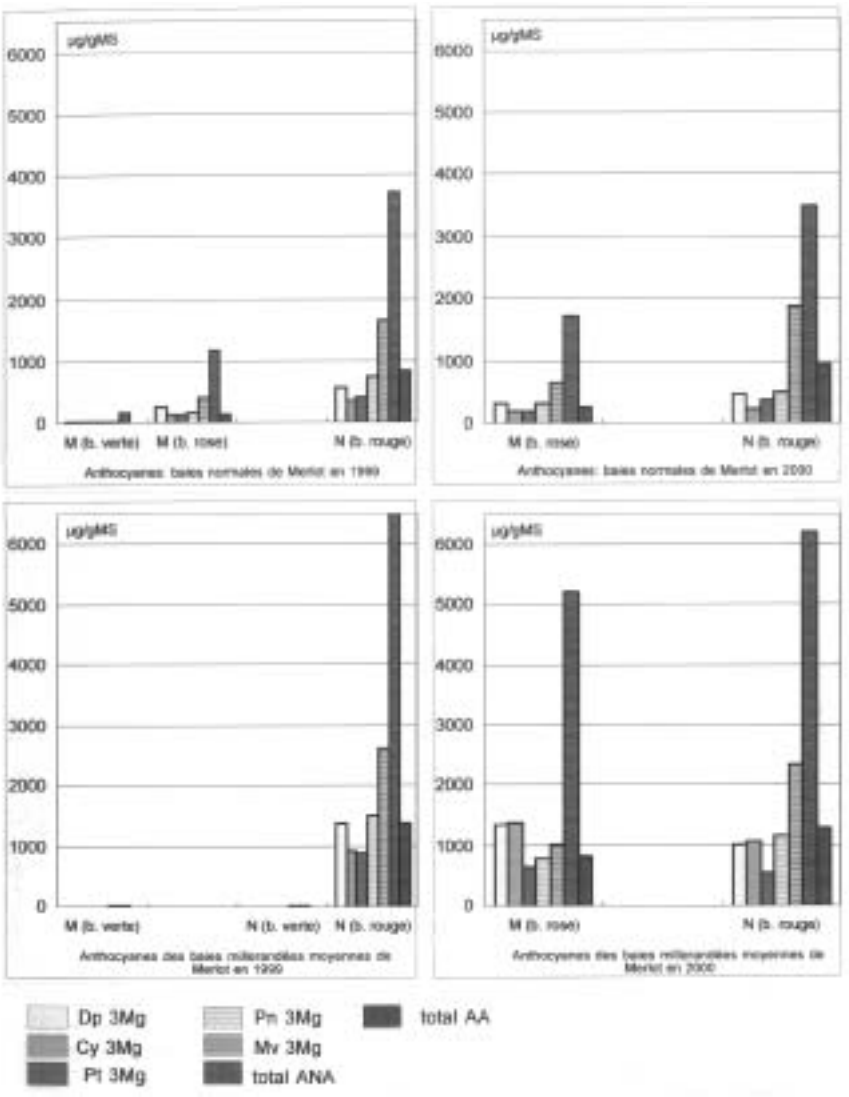


Fig. 3 - Évolution des teneurs des différentes anthocyanes, en µg par gMS, dans les baies normales et millerandées de Merlot, au cours de la maturation, en 1999 et 2000.

Anthocyanins evolution, in µg/g dry weight of Merlot normal grape berries and shot grape berries, during ripening of grape berries in 1999 and 2000.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

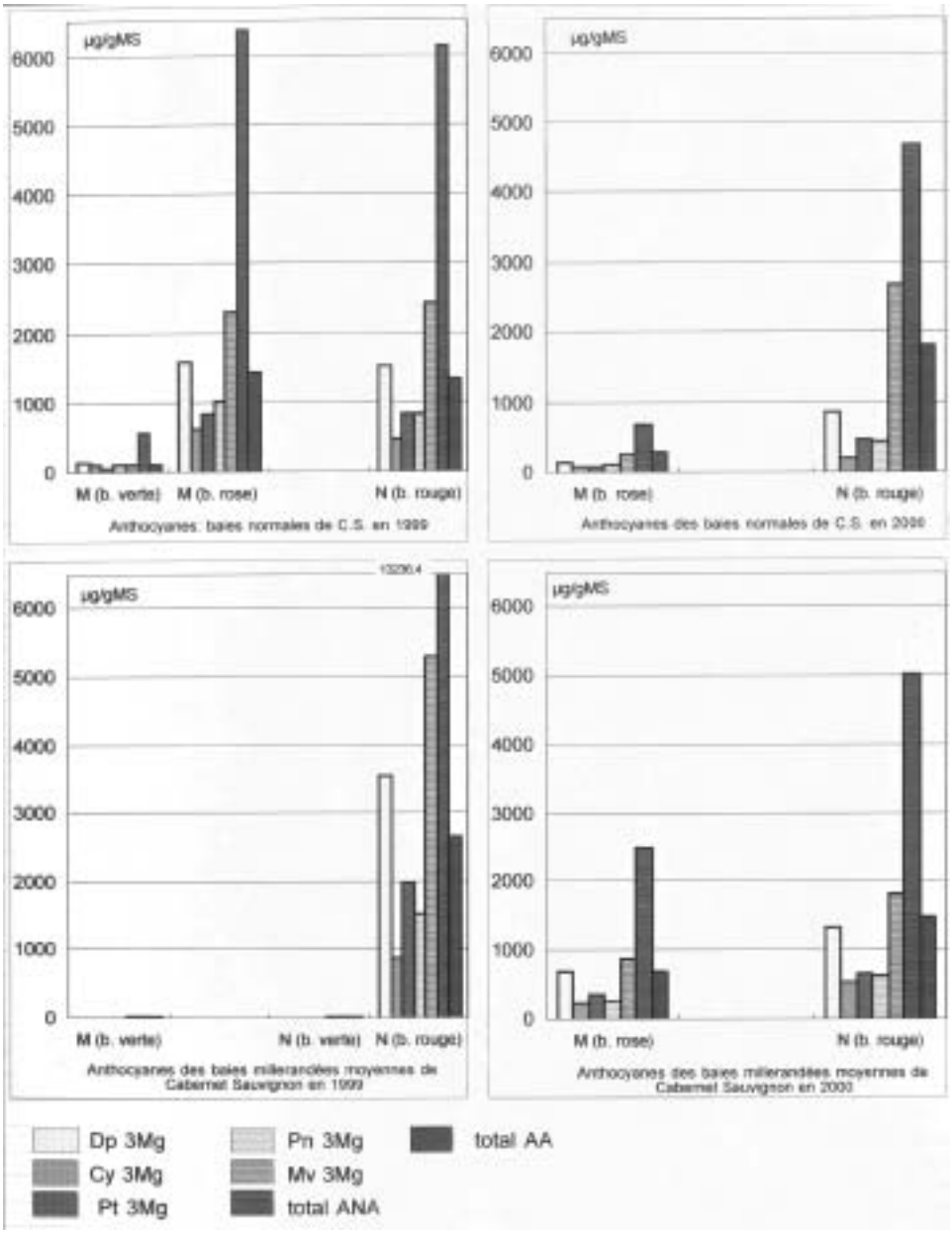


Fig. 4 - Évolution des teneurs des différentes anthocyanes, en µg par gMS dans les baies normales et millerandées de Cabernet-Sauvignon, au cours de la maturation en 1999 et 2000.

Anthocyanins evolution, in µg/g dry weight of Cabernet-Sauvignon normal grape berries and shot grape berries, during ripening of grape berries in 1999 and 2000.

Cette diminution est plus nettement marquée entre la fin de la croissance et la véraison, les teneurs étant alors comprises entre 50 et 100 mg/gMS. À partir de la véraison et jusqu'à la maturité, les teneurs en TPA se stabilisent autour de 50 mg/gMS.

2) Baies millerandées de taille moyenne

Au cours de la phase de croissance herbacée (J à M), le profil général de l'évolution des teneurs en TPA correspond à une diminution, comme celui des baies normales. Cette diminution est plus nette pour le Merlot, mais elle n'est pas toujours régulière comme le montrent les résultats de 1999.

À partir de la véraison de la grappe et jusqu'à la maturité, les teneurs en TPA des baies millerandées moyennes vertes restent élevées et constantes, comprises entre 100 et 400 mg/gMS, ce qui rappelle les baies normales aux stades K ou L. Pour les baies millerandées moyennes qui rougissent, les teneurs en TPA diminuent jusqu'à la maturité en restant toutefois plus élevées que celles des baies normales prélevées aux mêmes stades. En effet, à la maturité, les teneurs en TPA des baies millerandées moyennes

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

rouges sont comparables à celles des baies normales au moment de la véraison, donc comprises entre 50 et 100 mg/gMS.

3) Baies millerandées de petite taille

Les petites baies millerandées ont des teneurs en TPA toujours très élevées, comprises entre 200 et 500 mg/gMS. Ces valeurs sont très proches voire supérieures à celles des baies normales au moment de leur nouaison.

II - ÉVOLUTION DES TENEURS EN ANTHOCYANES

1) Baies normales

Des anthocyanes s'accumulent à partir de la véraison, même dans les baies encore vertes. La teneur totale en anthocyanes (en µg/gMS) augmente fortement au cours du temps avec des quantités d'anthocyanes non acylées (ANA) toujours supérieures à celles des anthocyanes acylées (AA) (fig. 3 et 4 ; tableaux I et III).

À la maturité, l'ordre d'importance des 5 monoglucosides anthocyaniques non acylés (cyanidine 3 Mg = Cy, delphinidine 3 Mg = Dp, paéonidine 3 Mg = Pn, pétunidine 3 Mg = Pt et malvidine 3 Mg = Mv) est le suivant :

- pour les baies de Merlot (fig. 3): Mv > Pn > Dp > Pt ≥ Cy.
- pour les baies de Cabernet-Sauvignon (fig. 4) : Mv > Dp > Pn > Pt ≥ Cy.

2) Baies millerandées de taille moyenne qui rougissent

Seules les baies millerandées moyennes rouges semblent capables de synthétiser des anthocyanes. Comme les baies normales, elles renferment beaucoup plus de ANA que de AA tout au long de la maturation (fig. 3 et 4 ; tableaux II et IV).

À la maturité, l'ordre d'importance des ANA monoglucosides est le suivant:

- pour le Merlot (fig. 3) : Mv > Pn > Dp > Cy ≥ Pt, donc le même ordre que celui de la baie normale au même stade. Le pourcentage de ces molécules (tableau II) rappelle celui des baies normales roses à la véraison (tableau I).

- pour le Cabernet Sauvignon (fig. 4),: Mv > Dp > Pn > Pt ≥ Cy, ce qui est identique, même en pourcentage (tableau IV), aux baies normales au même stade (tableau III).

De plus, les baies millerandées moyennes rouges paraissent beaucoup plus riches en anthocyanes que les baies normales, mais cela s'explique par le rapport pellicule/pulpe plus élevé et par le phénomène de dilution qui est moins fort dans les baies millerandées de par leur petite taille. L'expression en mg/baie donne logiquement un résultat inverse.

3) Baies millerandées vertes de tailles moyenne et petite

Tableau I - Pourcentages des anthocyanes des baies normales de Merlot.

Percentage of anthocyanins in normal grape berries of Merlot.

Merlot 1999	Véraison (M)	Véraison (M)	Maturité (N)
Baies normales	Baies vertes	Baies roses	Baies rouges
Dp 3 Mg	21,9 %	22,3 %	15,2 %
Cy 3 Mg	21,6 %	11,6 %	9,4 %
Pt 3 Mg	13 %	13,5 %	11,1 %
Pn 3 Mg	19,4 %	16,2 %	19,9 %
Mv 3 Mg	24,1 %	36,5 %	44,4 %
Total non acylées	100 %	89,6 %	81,6 %
Total acylées	0 %	10,4 %	18,4 %
Merlot 2000		Véraison (M)	Maturité (N)
Baies normales	-	Baies roses	Baies rouges
Dp 3 Mg	-	18,3 %	13,6 %
Cy 3 Mg	-	12,6 %	7 %
Pt 3 Mg	-	12,5 %	11 %
Pn 3 Mg	-	18,6 %	14,6 %
Mv 3 Mg	-	38 %	53,9 %
Total non acylées	-	87 %	78,5 %
Total acylées	-	13 %	21,5 %

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

Tableau II - Pourcentages des anthocyanes des baies millerandées moyennes de Merlot.
Percentage of anthocyanins in mid-size shot grape berries of Merlot.

Merlot 1999	Véraison (M)	-	Maturité (N)	Maturité (N)
Baies millerandées	Baies vertes		Baies vertes	Baies rouges
Dp 3 Mg	-	-	-	18,8 %
Cy 3 Mg	-	-	-	12,7 %
Pt 3 Mg	-	-	-	12,1 %
Pn 3 Mg	-	-	-	20,7 %
Mv 3 Mg	100 %	-	100 %	35,7 %
Total non acylées	54,4 %	-	74,9 %	84 %
Total acylées	45,6 %	-	25,1 %	16 %
Merlot 2000		Véraison (M)		Maturité (N)
Baies millerandées	-	Baies roses		Baies rouges
Dp 3 Mg	-	26,2 %	-	16,3 %
Cy 3 Mg	-	26,6 %	-	17,6 %
Pt 3 Mg	-	12,2 %	-	8,9 %
Pn 3 Mg	-	15,4 %	-	19,2 %
Mv 3 Mg	-	19,6 %	-	38 %
Total non acylées	-	86,4 %	-	82,6 %
Total acylées	-	13,6 %	-	17,4 %

Contrairement aux baies normales encore vertes au moment de la véraison, les baies millerandées vertes, moyennes et petites, ne synthétisent pas d'anthocyanes. Cela signifie que ces baies millerandées restent vertes parce qu'elles ne sont pas capables d'amorcer le phénomène de la véraison, et cela jusqu'au stade maturité.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les teneurs en CPST et en TPA suivent la même cinétique, ce qui est normal puisque ce sont les tanins, polyphénols les plus représentés, qui gouvernent l'évolution des composés phénoliques solubles totaux (DARNÉ, 1991).

- Dans le cas des baies normales, dès la nouaison, les teneurs en CPST et TPA sont très élevées, puis elles diminuent régulièrement et fortement jusqu'à la véraison. Au cours de la maturation, ces teneurs restent relativement faibles et elles semblent se stabiliser à la maturité.

- Dans les baies millerandées moyennes rouges, les teneurs en CPST et TPA suivent le même profil d'évolution que les baies normales, mais avec un retard très net. En effet, aux mêmes stades, ces teneurs restent toujours plus élevées dans les baies millerandées moyennes rouges que dans les baies normales. Ainsi, au stade maturité, ces teneurs sont comparables à celles qu'avaient les baies normales à la véraison. Le retard dans leur évolution est donc d'environ 1 mois.

- Dans les baies millerandées moyennes vertes, après une légère diminution au début de la croissance herbacée (entre les stades K et L) les teneurs en CPST et TPA demeurent élevées tout au long du développement de la grappe. Ces teneurs restent proches de celles des baies normales en phase de croissance herbacée. Au stade maturité, ces baies millerandées moyennes vertes accusent un retard d'évolution d'environ deux mois. Ici le métabolisme des composés phénoliques semble bloqué au cours de la croissance (entre les stades K et L).

- Les petites baies millerandées gardent des teneurs en CPST et TPA très élevées tout au long du développement de la grappe. Ces teneurs restent très proches de celles des baies normales au moment de leur nouaison. Les quelques variations observées au cours du développement de la grappe sont peut-être en relation avec les variations climatiques. Au moment de la maturité, ces petites baies millerandées accusent un retard d'évolution d'environ trois mois.

Les teneurs en anthocyanes ont une évolution inverse de celle des composés phénoliques solubles totaux et de celle des tanins proanthocyaniques.

- Les baies normales accumulent fortement des anthocyanes à partir de la véraison et tout au long de leur maturation, ce qui rejoint les résultats de SOMERS (1976), PIRIE et MULLINS (1976 ; 1980), GUILLOUX (1981) et DARNÉ (1991). Au moment de la maturité, les teneurs ont tendance à diminuer, ces baies ayant plus ou moins atteint ou dépassé leur maturité. Ce sont les anthocyanes non acylées qui apparaissent les premières. Elles restent présentes en quantité beaucoup plus élevées que les anthocyanes acylées, jusqu'à la maturité.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

- Les baies millerandées moyennes qui rougissent accumulent aussi des anthocyanes en grande quantité avec des teneurs en anthocyanes non acylées supérieures à celles des anthocyanes acylées. Cependant, les teneurs en anthocyanes de ces baies ont tendance à augmenter jusqu'à la maturité et ces baies semblent ainsi être en pleine phase de maturation à ce moment là. Elles sont donc en retard par rapport aux baies normales à la même date, et ce retard est plus marqué pour le Merlot.

- Les baies millerandées moyennes et petites qui restent vertes ne semblent jamais capables d'amorcer une synthèse d'anthocyanes contrairement aux baies normales vertes au moment de la véraison.

Sur la base des observations de DARNÉ (1991), pour qui les anthocyanes seraient synthétisées à partir des tanins proanthocyaniques, il est clair qu'il existerait un seuil de concentration en TPA qui déterminerait l'aptitude des différentes baies à vérer. Ainsi :

Tableau III - Pourcentages des anthocyanes des baies normales de Cabernet Sauvignon.

Percentage of anthocyanins in normal grape berries of Cabernet Sauvignon.

Cabernet-Sauvignon 1999	Véraison (M)	Véraison (M)	Maturité (N)
Baies normales	Baies vertes	Baies roses	Baies rouges
Dp 3 Mg	26,2 %	25,1 %	25 %
Cy 3 Mg	21,3 %	9,7 %	8 %
Pt 3 Mg	11,1 %	13 %	13,5 %
Pn 3 Mg	20,4 %	16 %	13,6 %
Mv 3 Mg	21 %	36,2 %	39,9 %
Total non acylées	83,7 %	81,6 %	82 %
Total acylées	16,3 %	18,4 %	18 %
Cabernet-Sauvignon 2000		Véraison (M)	Maturité (N)
Baies normales	-	Baies roses	Baies rouges
Dp 3 Mg	-	20,5 %	18,2 %
Cy 3 Mg	-	11 %	4,7 %
Pt 3 Mg	-	12,9 %	10,5 %
Pn 3 Mg	-	17,9 %	9,6 %
Mv 3 Mg	-	37,8 %	57 %
Total non acylées	-	70,4 %	72 %
Total acylées	-	29,6 %	28 %

Tableau IV - Pourcentages des anthocyanes des baies millerandées moyennes de Cabernet Sauvignon.

Percentage of anthocyanins in mid-size grape berries of Cabernet Sauvignon.

Cabernet-Sauvignon 1999	Véraison (M)	-	Maturité (N)	Maturité (N)
Baies millerandées	Baies vertes		Baies vertes	Baies rouges
Dp 3 Mg	-	-	-	26,8 %
Cy 3 Mg	-	-	-	6,6 %
Pt 3 Mg	-	-	-	15,1 %
Pn 3 Mg	-	-	-	11,5 %
Mv 3 Mg	100 %	-	100 %	40 %
Total non acylées	64,4 %	-	62,9 %	83,3 %
Total acylées	35,6 %	-	37,1 %	16,7 %
Cabernet-Sauvignon 2000	-	Véraison (M)	-	Maturité (N)
Baies millerandées	-	Baies roses		Baies rouges
Dp 3 Mg	-	27,9 %	-	26,6 %
Cy 3 Mg	-	10,1 %	-	10,7 %
Pt 3 Mg	-	15 %	-	13,5 %
Pn 3 Mg	-	11,4 %	-	12,8 %
Mv 3 Mg	-	35,6 %	-	36,4 %
Total non acylées	-	78,2 %	-	77 %
Total acylées	-	21,8 %	-	23 %

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

- les baies qui «perdent» beaucoup de TPA rougissent rapidement : c'est le cas des baies normales.

- les baies qui conservent des teneurs élevées en TPA rougissent à la condition que la concentration en TPA devienne inférieure à un seuil qui serait d'environ 200 mg/gMS pour le Merlot et 300 mg/gMS pour le Cabernet Sauvignon : c'est le cas des baies millerandées moyennes rouges.

- les baies dont les concentrations en TPA restent supérieures à ce seuil ne changent pas de couleur : c'est le cas des baies millerandées vertes petites et moyennes.

L'ensemble de ces résultats montre bien que le métabolisme des baies millerandées n'est pas profondément différent de celui des baies normales, mais il est plus ou moins retardé sinon bloqué. L'activation hormonale des enzymes nécessaires à la transformation des TPA en précurseurs des anthocyanes ou celle des enzymes en amont de cette réaction ne semble donc pas être la même dans les baies normales que dans les baies millerandées. Dans les baies millerandées, elle serait plus faible ou nulle et les baies resteraient vertes, ou bien elle se déclencherait plus tardivement dans le cas des baies qui rougissent.

On sait que l'acide abscissique intervient dans la synthèse des anthocyanes (WALTON et SONDHEIMER, 1968). On sait également (COLIN, 2000) que le millerandage pourrait être attribué à un déficit en ABA au moment de la nouaison. On peut donc penser, dans le cas des baies millerandées, que les faibles teneurs en ABA au tout début de leur croissance n'influenceraient pas correctement l'activation enzymatique du métabolisme des précurseurs des anthocyanes. Cette activation incorrecte ou partielle serait alors responsable des retards plus ou moins marqués de l'évolution des différents composés phénoliques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BAGGIOLINI M., 1952. Les stades repères dans le développement de la vigne et leur utilisation pratique. *Rev. Rom. Agric. Viticulture*, **11**, 137-139.

BAILLOD M. et BAGGIOLINI M., 1993. Les stades repères de la Vigne. *Rev. suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **25**, (1), 7-9.

BATE-SMITH E.C., 1954. Leuco-anthocyanidins. I. Detection and identification of anthocyanidins formed from leucoanthocyanins in plant tissues. *Biochem. J.*, **58**, 122-125.

BLANKE M.M., 1992. Carbon economy of the grape inflorescence : 8. Lag phase during berry growth - fact or artefact. *Vitic. Enol. Sci*., **47**, 112-115.

CHOLET C., 2001. Particularités histocytologiques, histochimiques et biochimiques des baies millerandées de *Vitis vinifera* L. Influence des polyamines sur le développement de la baie. *Thèse* Doctorat de l'Université Bordeaux II, 252 p.

CHOLET C., FOUGÈRE-RIFOT M. et BOUARD J., 1998. Particularités cellulaires des baies de raisin millerandées de *Vitis vinifera* L. var. Merlot. *J. Int. Sc. Vigne et Vin*, **32**, (4), 193-201.

COLIN L., 2000. Influence des traitements à base de polyamines et d'inhibiteurs de leur biosynthèse sur les teneurs des différentes polyamines et de l'acide abscissique au cours de la floraison des grappes et au début du développement des baies de raisin. Relations avec la coulure et le millerandage. *Thèse* Doctorat de l'Université Bordeaux II., 238p.

COLIN L., CHOLET C., FOUGÈRE-RIFOT M. et BROQUEDIS M., 2000. Mise en évidence d'une relation entre la composition en polyamines, les caractéristiques structurales et la précocité de l'arrêt de croissance des baies millerandées. *In Œnologie 99*, Tec&Doc, Lavoisier, éd. Paris, 63-66.

COOMBE G., 1976. The development of fleshy fruits. *Ann. Rev. Plant Physiol*., **27**, 507-528.

DARNÉG., 1991 : Recherches sur la composition en anthocyanes des grappes et des feuilles de vigne. *Thèse* d'Etat ès Sciences, Bordeaux I, 206 p.

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**, 221-228.

GUILLOUX M., 1981. Évolution des composés phénoliques de la grappe pendant la maturation du raisin. Influence des facteurs naturels. *Thèse* de Doctorat 3e Cycle, Université Bordeaux II, 125 p.

PARK H.S. et DARNÉ G., 1996. Évolution des pigments chlorophylliens des baies de *Vitis vinifera* L. au cours de leur développement. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, n° hors série «*La viticulture à l'aube du IIIe millénaire*», 75-77.

PIRIE A. et MULLINS M.G., 1980. Concentration of phenolics in the skin of grape berries during fruit development and ripening. *Am. J. Enol. Vitic*., **28**, (4), 204-209.

PIRIE A. et MULLINS M.G., 1976. Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate, and abscisic acid. *Plant Physiol.,* **58**, 468-472.

PRATT C., 1971. Reproductive anatomy in cultivated grapes- a review. *Am. J. Enol. Vitic.*, **22**, (2), 92-109.

RIBÉREAU-GAYON P., 1970. Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chim. Analyt*., **52**, (6), 627-631.

RIBÉREAU-GAYON P., 1971. Évolution des composés phénoliques au cours de la maturation du raisin. I-Expérimentation 1969. *Connaissance Vigne Vin,* **5**, 247-261.

RIBÉREAU-GAYON P. et STONESTREET E., 1966. Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chim. Analyt*., **48**, 188-196.

SOMERS T.C., 1976. Pigment profiles of grapes and wines. *Vitis*, **7**, 303-320.

STAUDT G. , SCHNEIDER W. et LEIDEL J., 1986. Phases of berry growth in *Vitis vinifera*. *Annals of Botany*, **58**, 789-900.

WALTON D.C. et SONDHEIMER E., 1968. Effect of abscissin II on phenylalanine ammonia lyase activity in excised bean axes. *Plant Physiol.*, **43**, 467-469.

Manuscrit reçu le 6 février 2004 ; accepté pour publication, après modifications le 18 juin 2004

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)