



**HAL**  
open science

## Traitements des raisins avant récolte: Impact de différents éliciteurs sur la composition en polysaccharides des vins

Rafael Apolinar Valiente, Yolanda Ruiz-García, Pascale Williams, Rocío Gil-Muñoz, Encarna Gómez-Plaza, Thierry Doco

### ► To cite this version:

Rafael Apolinar Valiente, Yolanda Ruiz-García, Pascale Williams, Rocío Gil-Muñoz, Encarna Gómez-Plaza, et al.. Traitements des raisins avant récolte: Impact de différents éliciteurs sur la composition en polysaccharides des vins. 11. Journées Scientifiques de la Vigne et du Vin, Mar 2019, Montpellier, France. hal-02121865

**HAL Id: hal-02121865**

**<https://hal.science/hal-02121865v1>**

Submitted on 6 May 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## Traitements des raisins avant récolte : impact de différents éliciteurs sur la composition en polysaccharides des vins

Rafael Apolinar-Valiente<sup>1</sup>, Yolanda Ruiz-García<sup>2</sup>, Pascale Williams<sup>1</sup>, Rocío Gil-Muñoz<sup>3</sup>, Encarna Gómez-Plaza<sup>2</sup>, Thierry Doco<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ Montpellier, SPO, INRA, Montpellier SupAgro, Montpellier, France

<sup>2</sup> Universidad de Murcia, Food Science and Technology, Faculty of Veterinary, Murcia, Espagne

<sup>3</sup> Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agroalimentario, Murcia, Espagne

Contact : thierry.doco@inra.fr

### Introduction

Les éliciteurs sont des molécules qui induisent des changements physiologiques chez la plante en simulant une situation de stress. Les plantes répondent à ces facteurs de stress en activant un ensemble de mécanismes, identiques aux réponses de défense lors d'infections par des agents pathogènes ou par des stress environnementaux (Benhamou, 1996). Ces mécanismes structurels et biochimiques sont impliqués dans les défenses naturelles passives et actives de la plante. Les défenses passives incluent les caractéristiques structurelles des feuilles et des fruits (épaisseur et composition de la cuticule, structure de l'épiderme) et des composés antifongiques préformés ayant un rôle de défense, tels que les anthocyanes et autres substances phénoliques (Benhamou, 1996). Dans le cas de la vigne, ces composés polyphénoliques sont très importants d'un point de vue œnologique, ils sont responsable de la couleur des vins et contribuent aux perceptions organoleptiques. De nombreux composés ont un rôle d'éliciteurs, par exemple les jasmonates, notamment le méthyl-jasmonate, ainsi que d'autres molécules tels que l'acide salicylique, le benzothiadiazole, le peroxyde d'hydrogène, mais aussi des oligosaccharides tels que le chitosane (un copolymère de glucosamine et de *N*-acetyl glucosamine lié par des liaisons  $\beta$ -(1,4)-). Parmi tous ces composés, quatre ont été utilisés lors de cette étude : le méthyl-jasmonate (MeJ), le benzothiadiazole (BTH) et du chitosane de deux origines différentes: de champignons (CHSf) et de crustacés (CHSs). L'application de différents éliciteurs a un effet sur la composition phénolique des raisins et des vins correspondants (Ruiz-García *et al.*, 2013 ; Portu *et al.*, 2016). Cependant, l'augmentation du contenu phénolique du raisin n'a pas toujours entraîné la production de vins à teneur en polyphénol supérieure à celle des vins non traités (Gil-Muñoz *et al.*, 2017). Les anthocyanes et une partie des tanins du raisin sont situés dans les cellules de la pellicule. Une diminution de la quantité en polyphénols des vins pourrait donc être étroitement liée à un changement de rigidité des parois cellulaires de la pellicule et donc une extraction moindre lors de la vinification. La paroi cellulaire de la plante est composée d'un réseau tridimensionnel de protéines de structure et de polysaccharides, notamment de cellulose, d'hémicellulose et de pectine (Carpita & Gibeaut, 1993). La paroi cellulaire est également une structure très dynamique qui est constamment remodelée au cours de la croissance et du développement de la plante. Lors d'une attaque par des agents pathogènes, les plantes réagissent et déposent des structures polysaccharidiques (callose) sur les sites de tentative de pénétration par des agents pathogènes, accumulent des composés phénoliques et diverses toxines au niveau de la paroi et/ou synthétisent des polymères analogues à la lignine afin de renforcer la structure de la paroi. Ces changements dans la composition de la paroi des cellules sont dus à l'activation de mécanisme de défense des plantes, qui pourraient donc être déclenchées par l'application de molécules élicitrices. La diminution potentielle de l'extraction des composés polyphénoliques n'est pas le seul élément négatif d'une rigidification des parois cellulaires des baies de raisin. La libération de polysaccharides et d'oligosaccharides à partir de la paroi pourrait également être affectée par une

augmentation/modification de la rigidité de ces parois cellulaires. Les polysaccharides et les oligosaccharides ont été isolés et caractérisés dans les vins, ils peuvent être regroupés en trois grandes familles : (i) les Polysaccharides Riches en Arabinose et en Galactose (PRAG), (ii) ceux riches en rhamnogalacturonanes (RG-I et RG-II), provenant des parois pecto-cellulosiques des baies de raisin et (iii) les mannoprotéines (MP) produites par les levures et libérées lors de la fermentation et le vieillissement des vins sur lies (Pellerin, 1998). La structure et les quantités dépendent de plusieurs facteurs, tels que l'origine des raisins ou le processus de vinification (macération, enzymages, Flash-détente...). Ces macromolécules jouent un rôle dans la stabilité colloïdale et ont la capacité d'interagir et de s'agréger avec les tanins. Ils empêchent la formation de trouble protéique dans le vin blanc, ils interviennent dans la stabilisation de l'acide tartrique. De plus, les polysaccharides présentent des propriétés sensorielles : ils modulent/diminuent la perception de l'astringence (Boulet *et al.*, 2016). Les oligosaccharides proviennent de la dégradation des pectines et des structures hémicellulosiques présentes dans les parois cellulaires de la baie de raisin, mais aussi des parois cellulaires des levures. La structure et les quantités d'oligosaccharides dépendent de plusieurs facteurs (Apolinar-Valiente *et al.*, 2014), et ils joueraient un rôle dans la perception de l'astringence des vins (Boulet *et al.*, 2016).

Le but de ce travail est d'étudier l'effet de quatre éliciteurs (méthyl jasmonate (MeJ), benzothiadiazole (BTH), chitosane de champignons (CHSf) et chitosane de crustacés (CHS)) sur la fraction de polysaccharides et d'oligosaccharides des vins issu du cépage Monastrell traités avant la récolte du raisin.

## Matériel et méthodes

- **Traitements au vignoble.** Le traitement en plein champ (3 réplicats de 25 pieds) a été réalisé en 2014 sur le cépage Monastrell (*Vitis vinifera*) dans les vignobles commerciaux de Jumilla (Murcia, Espagne). Les différents traitements ont été appliqués selon le protocole décrit précédemment (Ruiz-García *et al.*, 2013) : MeJ (Sigma Aldrich) à une concentration de 10 mM; BTH (Sigma Aldrich) à une concentration de 0,3 mM; CHSf (Sigma Aldrich) à une concentration de 0,03% (p/v); CHSs (Sigma Aldrich) à une concentration de 0,03% (p/v).
- **Vendanges et vinification.** Toutes les vinifications ont été effectuées en triple dans des cuves en acier inoxydable de 50 litres avec 45 kg de raisins égrappés et broyés. Avant le début de la fermentation alcoolique (FA), l'acidité totale a été corrigée à 5,5 g·L<sup>-1</sup> puis les moûts ont été inoculés avec des levures sélectionnées (25 g·hL<sup>-1</sup>, Uvaferm, VRB, Lallemand, France). La fermentation alcoolique a duré 10 jours à une température contrôlée de 25°C. Après la fin de la FA, le vin a été égoutté et les marcs de raisins ont été pressés à 1,5 bar (Hidro 80L, Ausavil, Espagne). Les paramètres œnologiques du vin ont été analysés à la fin de la FA : teneur en alcool comprise entre 14,6 et 15,6% v/v; acidité totale comprise entre 6,7 et 7,0 g d'acide tartrique·L<sup>-1</sup>; acidité volatile comprise entre 0,2 et 0,4 mg·L<sup>-1</sup> d'acide acétique.
- **Isolement des fractions polysaccharides et oligosaccharides.** Les fractions polysaccharides et oligosaccharides ont été isolées comme décrit précédemment (Apolinar-Valiente *et al.*, 2014).
- **Analyse des polysaccharides et des oligosaccharides.** Les polysaccharides ont été quantifiés à partir des résidus glycosidiques déterminés par chromatographie gazeuse après hydrolyse, réduction et acétylation. Les oligosaccharides sont quantifiés après solvolysé en milieu méthanol anhydre, puis les dérivés glycosidiques méthylés sont triméthylsilylés (Ducasse *et al.*, 2010). Les sucres complexes du vin sont : les oligosaccharides, les mannoprotéines (MP), le rhamnogalacturonane de type II (RGII) et les polysaccharides riches en arabinose et galactose (PRAG). Les polysaccharides totaux correspondent à la somme [RGII + MP + PRAG].
- **Traitement des données statistiques.** Les valeurs moyennes, l'écart type et la signification statistique selon un test LSD (p < 0,05) ont été calculées et réalisées à l'aide du logiciel Statgraphics Centurion XVI.1 (StatPoint Technologies, Inc., USA). L'analyse ACP a été calculée à l'aide de XL-STAT™, un plug-in pour Microsoft Excel développé par Addinsoft™.

## Résultats et Discussion

La **figure 1** montre la concentration en mannoprotéines (MP), en polysaccharides riches en arabinose et en galactose (PRAG), en rhamnogalacturonanes de type II (RG-II), en oligosaccharides et en polysaccharides totaux dans les vins rouges obtenus à partir des raisins ayant reçu un traitement à la vigne. Ces valeurs sont calculées à partir des concentrations de chaque monosaccharide identifié après hydrolyse acide des polysaccharides (Doco *et al.*, 1999). Les concentrations de PRAG pour les vins obtenus après traitement du MeJ (379 mg·L<sup>-1</sup>), du BTH (418 mg·L<sup>-1</sup>), des CHSs (324 mg·L<sup>-1</sup>) et du CHSf (346 mg·L<sup>-1</sup>) montrent des valeurs inférieures à celles du vin témoin (521 mg·L<sup>-1</sup>). La teneur plus faible en PRAG peut être due à une « extraction » plus difficile des parois cellulaires et, par conséquent, lié à une augmentation de la « rigidité » des parois. La paroi cellulaire de la plante est une structure complexe et hétérogène composée de polysaccharides, de composés phénoliques et de protéines de structure. La paroi est stabilisée par des liaisons ioniques et covalentes, qui constituent un support structural et représentent une barrière dynamique pour la cellule. Les parois cellulaires des plantes représentent également une barrière de défense contre les agents pathogènes externes. La modification des polysaccharides qui la composent aurait un impact sur la résistance et la « dégradabilité » des tissus par les enzymes libérés par ces agents pathogènes. Les variations de la composition de la paroi cellulaire font partie du large éventail de stratégies de défense mis en place par les végétaux, et qui peut être activé par des traitements avec des éliciteurs. Il a été proposé que les arabinogalactanes-protéines (AGP) constituent une barrière physique protectrice contre les agents pathogènes grâce à la création d'un gel au niveau des parois (Showalter, 2001). Les AGP font partie, entre autres, de la famille des PRAG et sont retrouvés dans les vins (Pellerin, 1998). La quantité de MP est nettement plus élevée dans le vin témoin (127 mg·L<sup>-1</sup>) par rapport aux vins élaborés à partir de raisins traités au MeJ (90 mg·L<sup>-1</sup>), BTH (98 mg·L<sup>-1</sup>), CHSs (92 mg·L<sup>-1</sup>) et CHSf (90 mg·L<sup>-1</sup>). Bien qu'il ait été observé que l'application foliaire d'éliciteurs, tels que le méthyle-jasmonate ou le chitosane, ne semble pas affecter la teneur en azote assimilable dans le moût pour la levure, les différences concernant les quantités de MP pourraient être expliquées par des modifications de conditions de fermentation des levures liés à la composition initiale du moût. Rosi et Giovani (2003) ont lié le contenu initial en colloïdes du moût aux MP libérés par les levures.

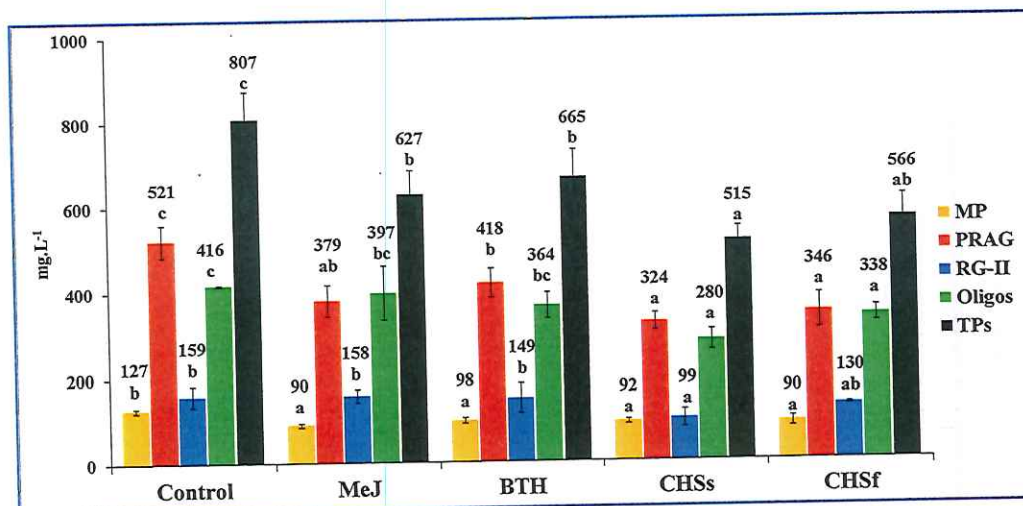


Figure 1. Concentration (mg·L<sup>-1</sup>) en mannoprotéines (MP), polysaccharides riches en arabinose et galactose (PRAG), rhamnogalacturonans type II (RG-II), polysaccharides totaux (TPs) et oligosaccharides dans les vins rouges étudiés. Les différentes lettres indiquent au sein d'une même colonne les différences significatives obtenues ( $p < 0.05$ ) (moyenne des 3 mesures). MeJ : raisins traités au méthyle jasmonate; BTH : raisins traités au benzothiadiazole; CHSs : raisins traités avec du chitosane de crustacés; CHSf : raisins traités avec du chitosane de champignons.

Dans nos travaux, la teneur plus faible en PRAG dans les échantillons traités pourrait influencer sur les conditions initiales du moût et donc sur la fermentation de la levure. Enfin, concernant les polysaccharides, le vin élaboré à partir de raisins traités au chitosane de crustacé (CHSs) est le seul échantillon présentant des différences de teneur en RG-II ( $99 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) par rapport au vin témoin ( $159 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Comme dans le cas des extractions de PRAG, il semble cohérent de déduire une « extraction/libération » plus difficile à partir des parois cellulaires liée à une augmentation de la « rigidité » de celle-ci. En ce qui concerne la teneur totale en oligosaccharides (Figure 1), des différences significatives sont observées entre le vin témoin ( $416 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) et les vins élaborés avec des raisins traités avec du CHSs ( $280 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) ou du CHSf ( $338 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). L'augmentation de la rigidité de la paroi cellulaire suggérée précédemment affectant l'extraction des polysaccharides avec les traitements utilisés pourrait donc également diminuer la libération des oligosaccharides et diminuer leurs concentrations dans les vins. Les oligosaccharides qui ont été identifiés dans les vins proviennent de la dégradation des polysaccharides de la paroi cellulaire par des activités enzymatiques endogènes ou exogènes (Ducasse *et al.*, 2011).

L'ensemble de données correspondant à la concentration en [MP], [RG-II], [PRAG], la teneur totale en polysaccharides, le rapport polysach-Ara/Gal ainsi que la teneur totale, et les rapports caractéristiques des oligosaccharides ont été traités par analyse en composantes principales (ACP) (Figure 2). Les deux premières composantes principales expliquent ensemble 76% de la variabilité des données. Les projections sur le premier axe présentent une séparation entre le vin contrôle (à droite) et le reste des vins issus de raisins traités, notamment pour les applications CHSs, CHSf. Les principaux contributeurs à l'axe F1 (61%) (Figure 2) sont les concentrations en MP, en RG-II, en PRAG, la quantité totale en oligosaccharides et en polysaccharides, supérieur dans les vins témoins (Control 1, 2, et 3).

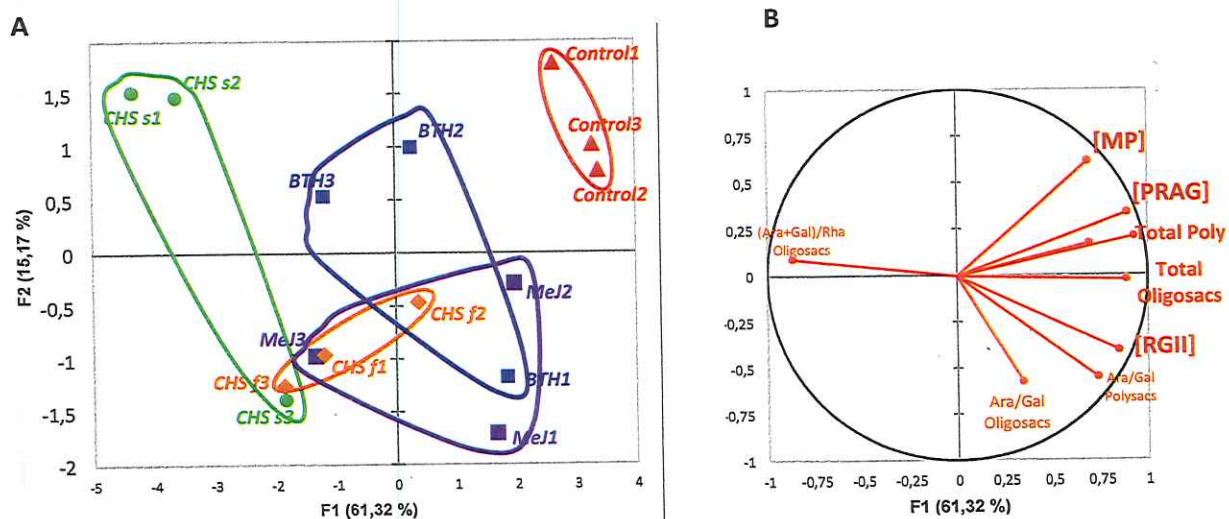


Figure 2. A : Représentation ACP des observations sur l'axe 1 et l'axe 2 des différents vins rouges étudiés (1 : vin contrôle  $\blacktriangle$  ; 2 : vin issu de raisins traités au MeJ  $\blacksquare$  ; 3 : vin issu de raisins traités au BTH  $\blacksquare$  ; 4 : vin issu de raisins traités avec du chitosane de crustacés  $\bullet$  ; 5 : vin issu de raisins traités avec du chitosane de champignons  $\blacklozenge$ ). B : Corrélations des variables selon les 2 premiers axes.

## Conclusion

La diminution des concentrations en polysaccharides (MP, RG-II, et PRAG) et en oligosaccharides dans les vins issus des raisins traités avec MeJ, BTH et les deux traitements au chitosane semble indiquer une «dégradation» plus faible (ou plus difficile) de la paroi cellulaire lors des différentes étapes de la vinification. Nos résultats semblent indiquer que la diminution des glucides complexes dans les vins est liée à une rigidification de la paroi des cellules de la pellicule due à l'action de ces éliciteurs. Pour confirmer cette hypothèse, après avoir analysé leurs compositions, il serait intéressant de regarder l'état des parois cellulaires par microscopie. Sachant que les polysaccharides et les oligosaccharides des parois des cellulaires sont impliqués dans les propriétés physico-chimiques et organoleptiques des vins, l'application de ces traitements sur les raisins au vignoble pourrait influencer sur les caractéristiques et la qualité du vin fini.

## Références

- Apolinar-Valiente R., Williams P., Mazerolles G., Romero-Cascales I., Gómez-Plaza E., López-Roca J.M., Ros-García J.M., Doco T. (2014) Effect of enzyme additions on the oligosaccharide composition of Monastrell red wines from four different wine-growing origins in Spain. *Food Chem.* 156, 151-159
- Benhamou N. (1996) Elicitor-induced plant defence pathways. *Trends Plant Sci.* 1, 233-240
- Boulet J.C., Trarieux C., Souquet J.M., Ducasse M.A., Caillé S., Samson A., Williams P., Doco T., Cheynier V. (2016) Models based on ultraviolet spectroscopy, polyphenols, oligosaccharides and polysaccharides for prediction of wine astringency. *Food Chem.* 190, 357-363
- Carpita N.C., Gibeaut D. (1993) Structural models of primary cell walls in flowering plants: Consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant J.* 3, 1-30
- Doco T., Quéllec N., Moutounet M., Pellerin P. (1999) Evolution of soluble polysaccharides during ageing of red wines (Carignan Noir cv.). *Am. J. Enol. Vitic.* 50, 25-32
- Gil-Muñoz R., Bautista-Ortín A.B., Ruiz-García Y., Fernández-Fernández J.I., Gómez-Plaza E. (2017) Improving phenolic and chromatic characteristics of Monastrell, Merlot and Syrah wines by using methyl jasmonate and benzothiadiazoles. *Oeno One* 51(1), 17-27
- Ducasse M.A., Williams P., Meudec E., Cheynier V., Doco T. (2010) Isolation of Carignan and Merlot red wine oligosaccharides and their characterization by ESI-MS. *Carbohydr. Polym.* 79, 747-754
- Pellerin P., Cabanis M.T. (1998) Les glucides. In: *Œnologie : fondements scientifiques et technologiques* ; Lavoisier, Technique & Documentation, Eds.; Paris (France), pp. 40-92
- Portu J., López R., Baroja E., Santamaría P., Garde-Cerdán T. (2016) Improvement of grape and wine phenolic content by foliar application to grapevine of three different elicitors: Methyl jasmonate, chitosan, and yeast extract. *Food Chem.* 201, 213-221
- Rosi I., Giovani G. (2003) Effect of some winemaking variables on the production of exopolysaccharides by *Saccharomyces cerevisiae*. In: *Proceedings of the 7th International Symposium of Œnology*; Lonvaud-Funel A. Eds. TEC and DOC: Bordeaux, France, pp. 324-328
- Ruiz-García Y., Gil-Muñoz R., López-Roca J.M., Martínez-Cutillas A., Romero-Cascales I., Gómez-Plaza E. (2013) Increasing the phenolic compound content of grapes by preharvest application of abscisic acid and a combination of methyl jasmonate and benzothiadiazole. *J. Agric. Food Chem.* 61, 3978-3983
- Showalter A.M. (2001) Arabinogalactan proteins: structure, expression and function. *Cell Mol. Life Sci.* 58, 1399-1417