

VARIATIONS, AU COURS DE L'ANNÉE, DE L'ACTIVITÉ DE L'ALPHA-AMYLASE ET DES INVERTASES DANS LES BOURGEONS ET LES ENTRE-NŒUDS DE VIGNE EN RELATION AVEC LEUR CONTENU EN GLUCIDES ET EN ACIDE ABSCISSIQUE

ANNUAL VARIATIONS OF ALPHA-AMYLASE AND INVERTASES ACTIVITIES IN BUDS AND INTERNODES OF GRAPEVINES AND THEIR RELATION WITH CARBOHYDRATES AND ABSCISIC ACID CONTENTS

T. KOUSSA^{1*}, Lalla Aicha RIFAI¹ et Monique CHERRAD²

1 : Laboratoire de Biologie et Biotechnologie Végétales, Faculté des sciences, Université Chouaib Doukkali, 24000 El Jadida, Maroc

2 : Laboratoire des Sciences de la Vigne, Université Bordeaux I, Avenue des Facultés, 33405 Talence, France

Résumé : Des dosages d'amidon, de glucides solubles, d'acide abscissique libre (ABA) et de l'activité de l' α -amylase et des invertases (acide et alcaline) ont été effectués dans les bourgeons et les entre-nœuds de *Vitis vinifera* L. var. Merlot au cours du cycle annuel. L'amidon s'accumule dans les deux types d'organes de la mi-août jusqu'à la mi-novembre puis ses teneurs commencent à chuter jusqu'à la mi-février, c'est-à-dire vers l'approche du débourrement. Pendant cette période, l'activité α -amylase présente des variations inverses à celles des teneurs en amidon suggérant l'implication de cette enzyme dans l'hydrolyse de ce polymère. Dès la mi-février, l'amidon s'accumule dans les deux organes, variation qui ne peut plus être expliquée par la seule action de l' α -amylase dont l'activité augmente aussi. L'ABA pourrait contrôler les variations des teneurs en amidon des deux organes par l'action inhibitrice qu'il est susceptible d'exercer sur l'activité de l' α -amylase. Une relation inverse entre la teneur en ABA et l'activité α -amylase est effectivement observée dans les entre-nœuds pendant tout le cycle annuel alors qu'elle n'est visible qu'après la levée de la dormance dans les bourgeons. Une telle différence de comportement de l'activité α -amylase vis-à-vis de l'ABA dans les bourgeons au cours du cycle pourrait être attribuée aux changements physiologiques provoqués par la période de froid hivernal induisant la levée de la dormance.

Par ailleurs, les fluctuations de l'activité des invertases (acide et alcaline) paraissent se faire à l'inverse de celles des teneurs en saccharose et en raffinose pendant pratiquement tout le cycle, phénomène très net dans le cas des bourgeons. Ce fait, laisse penser que les variations des teneurs en ces deux sucres pourraient être contrôlées par les invertases particulièrement par la forme acide. Cependant, dans les bourgeons, quand l'activité invertase acide est élevée, la teneur en saccharose est maximale. Ces invertases pourraient aussi être impliquées, à côté de l' α -amylase, dans l'accumulation de l'amidon notée pendant l'hiver en fournissant le glucose nécessaire à sa formation. Les variations de la teneur en ABA ne paraissent pas suivre celles des activités invertases pendant tout le cycle annuel laissant penser que l'augmentation des teneurs en ABA ne serait pas une condition nécessaire à l'activation des invertases.

Summary : The concentration of starch, soluble carbohydrates, free abscisic acid (ABA) and activities of α -amylases and invertases (the acid and the alkaline form) were investigated in buds and internodes of *Vitis vinifera* L. cv. Merlot during annual cycle. The levels of starch increased in the two organs from middle august to middle of November and the decreased until middle February. These variations seem to be controlled by α -amylase which activity was low during periods of starch accumulation and high when starch contents decreased. As the bud burst draws near (since the middle of February), starch accumulated in internodes and buds. However at the same time of the activity of α -amylase which activity also increased. Starch contents could be controlled by ABA which is known to reduce α -amylase activity. Indeed in internodes ABA content was high when α -amylase activity was low. This was also the case in the buds but after break dormancy phase. This difference of comportment of α -amylase towards ABA in the buds during the annual cycle could be in relation with the change of the physiological state of buds induced by the winter chilling.

The invertases activities in buds and internodes changed inversely to the sucrose and raffinose contents during all the annual cycle suggesting that the levels of these sugars were controlled by invertases, highly by the acid form and slightly by the alkaline form. Nevertheless, in the buds, when alkaline activity of invertase was high, sucrose content was maximal. These invertases seem also implicated, with α -amylase, in the development of starch content particularly when starch was accumulated by glucose providing. In the case of buds, invertases activities appeared to change in the same sense of ABA content but not during all the cycle. This suggested that this growth regulator may not be crucial for the control of invertases activities.

Mots clés: acide abscissique, α -amylase, invertases, glucides solubles, *Vitis vinifera*

Key words: abscisic acid, α -amylase, invertases, soluble carbohydrates, *Vitis vinifera*.

INTRODUCTION

Les plantes ligneuses, dont la vigne, passent par une période de repos pendant la mauvaise saison et ne produisent de nouvelles pousses que lorsque les conditions redeviennent favorables. Chez quelques-unes de ces plantes, des relations entre la dormance des bourgeons et les glucides ont été envisagées (RICAUD *et al.*, 1994; RINNE *et al.*, 1994). Selon certains de ces auteurs, il y aurait généralement accumulation de l'amidon pendant la phase de dormance et diminution à l'approche du débourrement ; les glucides solubles variant pratiquement de façon inverse. Pour COTTIGNIES (1985), l'hydrolyse de ces glucides de réserves constituerait une étape préliminaire essentielle pour l'interruption de la dormance. Selon la plante considérée, différents systèmes enzymatiques seraient impliqués dans les fluctuations des teneurs en glucides (SAUTER et VAN CLEVE, 1991 ; MACISAAC et BEWLEY, 1995) ; par exemple, l' α -amylase et les invertases. Ces dernières enzymes semblent être contrôlées par l'acide abscissique (ABA). Une telle relation a été mise en évidence chez quelques plantes puisque l'on a montré que l'hydrolyse de l'amidon par l' α -amylase (EC 3.2.1.1) était sous l'influence inhibitrice de l'ABA (JACOBSEN et BEACH, 1985; VAN DEN BERG *et al.*, 1991). De même, une action stimulatrice de l'activité invertase (β -fructosidase, EC 3.2.1.26) par l'ABA a été suggérée par DÜRING et ALLEWELDT (1980) et GOUPIL *et al.* (1998) ; mais cette relation n'a été que peu étudiée.

Chez la vigne, l'étude des variations des teneurs en glucides solubles et en amidon a été réalisée dans les « bois » par de nombreux auteurs (BOUARD, 1966 ; FERCHAUD, 1976), principalement pour apprécier la qualité des rameaux utilisés pour la multiplication de la vigne par voie végétative. L'autre constituant de la bouture, le bourgeon latent, que l'on a généralement tendance à oublier quand on parle de la qualité des rameaux, a été beaucoup moins étudié (ALSAIDI, 1975 ; WAMPLE et BARY, 1992; HAMMAN *et al.*, 1996 ; KOUSSA *et al.*, 1998). Les études portant sur les variations enzymatiques (α -amylase et invertases) dans les deux organes constituant la bouture sont encore plus rares et n'ont concerné jusqu'à présent que l' α -amylase des rameaux (BERBEZY, 1995).

Dans ce travail, nous avons suivi les variations des activités de l' α -amylase et des invertases acide et alcaline dans les bourgeons latents et dans les entre-nœuds de la vigne au cours du cycle annuel. Nous avons aussi essayé de préciser d'une part l'importance de ces enzymes dans les variations des teneurs en glucides solubles et en amidon et d'autre part l'éventuelle implication de l'ABA dans le contrôle de leur activité.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les prélèvements ont été effectués dans la collection du centre INRA de Bordeaux sur une variété de *Vitis vinifera* L., le Merlot et ont porté sur trois cycles végétatifs consécutifs. La vigne est conduite en guyot double, les raisins sont récoltés à maturité et les rameaux de l'année ne sont taillés qu'à l'approche du débournement vers la mi-mars. Sur des sarments de l'année, les 10 premiers bourgeons à partir de la base ainsi que les trois premiers entre-nœuds de type N1-N2 compris entre deux vrilles consécutives (BOUARD, 1966), ont été prélevés, immédiatement fixés à l'azote liquide puis lyophilisés avant d'être stockés à -20°C.

La méthode d'extraction des protéines utilisée a été adaptée à partir de celle décrite par BERBEZY (1995). Le matériel végétal est broyé dans un tampon tris-HCl 50 mM (pH 7,5) contenant du CaCl₂ (6 mM), du Na₂CO₃ (4 mM), du polyvinyl pyrrolidone insoluble (2 %) et de l'acide ascorbique (1 g/l). Après centrifugation, le surnageant, constituant l'extrait enzymatique, est récupéré pour la détermination des protéines totales, des invertases et de l' α -amylase. Le dosage des protéines totales est réalisé sur une partie de ce surnageant par la méthode de BRADFORD (1976) en utilisant la sérum albumine bovine comme standard.

La détermination de l'activité α -amylase est effectuée selon une méthode adaptée de celle de BERBEZY (1995). Une partie de l'extrait enzymatique destinée pour le dosage de l' α -amylase est traité à 70 °C pendant 15 min pour dénaturer la β -amylase (SALAS et CARDEMIL, 1986), puis mise en présence d'une solution d'amidon à 0,1 %. La réaction de dégradation de l'amidon se déroule pendant 30 min à 47 °C, puis elle est arrêtée avec une solution d'iode acidifiée constituée de 360 mg d'iode dans 500 ml d'acide chlorhydrique (0,25 N). La densité optique du mélange est alors mesurée à 620 nm.

Pour les invertases, le dosage a été réalisé selon la méthode de SUNNER et HOWELL (1935) que nous avons adaptée à notre matériel végétal. Selon l'activité invertase recherchée, deux tampons différents sont utilisés: le tampon acétate (0,1M ; pH 4,5) pour l'activité invertase acide ou le tampon Tris-HCl (50 mM ; pH 7,5) pour l'activité invertase alcaline. Deux fractions d'extrait enzymatique de 100 μ l, dont le pH a été préalablement ajusté respectivement à 4,5 ou 7,5 selon l'activité recherchée, sont mises en contact avec 100 μ l de saccharose (0,1 M) et 200 μ l de tampon. Après incubation pendant 60 min à 40 °C, la réaction est arrêtée par une solution de Dinitro 3,5 salicylique (10 g/l). La coloration est développée par un passage de 5 min à 100 °C avant de réaliser la lecture à 540 nm.

Les activités enzymatiques sont exprimées en Unité enzymatique (U.E.) par mg de protéines contenues dans l'échantillon. L'U.E. est définie comme la quantité d'en-

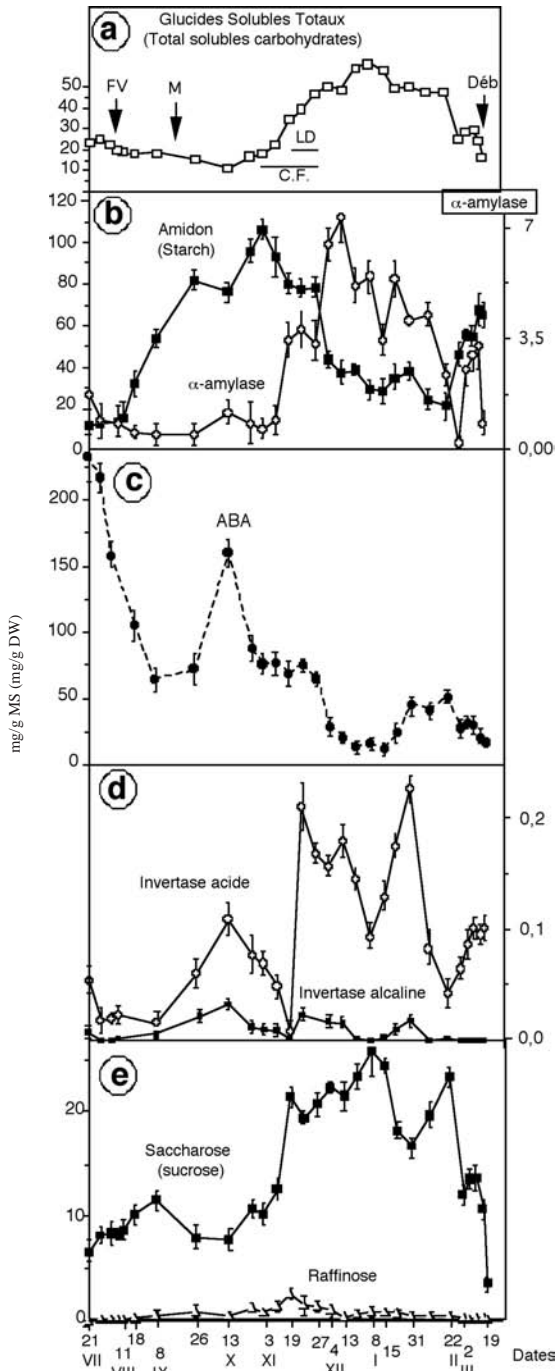


Figure 1 - Evolution de l'activité de l' α -amylase (b) et des invertases (acide et alcaline) (d), des teneurs en glucides solubles totaux (a), en amidon (b), en saccharose (e), en raffinose (e) et en acide abscissique libre (ABA) (c) dans les bourgeons au cours du cycle annuel.

Les valeurs correspondent à la moyenne de trois répétitions \pm SD. (FV : fin de la véraison ; M : maturité ; C.F. : chute des feuilles ; LD : levée de la dormance).

Development of α -amylase (b) and invertases (acid and alkaline) (d) activities and total soluble carbohydrates (a), starch (b), sucrose (e), raffinose (e) and free abscisic acid (ABA) (c) contents in buds during the annual cycle.

Data presented are means of 3 replicates \pm SD. (FV : end of veraison; M: maturity; C.F.: leaf fall; LD: break of dormancy).

zyme permettant l'hydrolyse, en une minute, de 1 mg d'amidon pour l' α -amylase et d'une nanomole de saccharose pour les invertases.

L'extraction et le dosage des glucides solubles par chromatographie en phase gazeuse après transformation en dérivés triméthylsilylés ont été réalisés selon le protocole décrit par KOUSSA *et al.* (1998). Le dosage de l'amidon est réalisé sur la poudre végétale débarrassée de ses glucides solubles. Le protocole de dosage de ce polymère est celui établi par MOING et GAUDILLÈRE (1992).

L'extraction et le dosage de l'ABA par chromatographie liquide à haute pression ont été effectués selon la méthode décrite par KOUSSA *et al.* (2004).

RÉSULTATS

Les résultats ont été obtenus pour trois cycles annuels. Les différents cycles présentant les mêmes caractéristiques, nous nous limiterons au cycle pour lequel les prélèvements sont les plus complets.

I - ÉVOLUTION DES TENEURS EN AMIDON ET GLUCIDES SOLUBLES

Les teneurs en amidon des bourgeons (fig. 1b) sont généralement moins élevées que celles des entre-nœuds (fig. 2b) mais elles présentent, dans ces deux organes, le même type de variations. Relativement faibles entre le 21 juillet et le 18 août, elles augmentent fortement dans les deux organes pour atteindre des valeurs élevées vers la fin octobre. Dans les entre-nœuds, ces teneurs diminuent fortement jusqu'au début décembre pour se maintenir à des valeurs de l'ordre de $60 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MS}$ jusqu'à la mi-février. Dans les bourgeons, cette diminution continue à se faire jusqu'à la mi-février où les teneurs en amidon sont de l'ordre de $25 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MS}$. Par la suite et jusqu'au débourrement, les teneurs en amidon augmentent dans les deux organes.

Dans les bourgeons comme dans les entre-nœuds, les teneurs en glucides solubles totaux (GST) évoluent à l'inverse de celles de leur amidon (fig. 1a et 2a). Les variations des teneurs en GST sont dues à celles du fructose et du glucose (résultats non présentés) mais surtout à celles du saccharose, sucre soluble le plus abondant dans les deux organes pendant pratiquement tout le cycle (fig. 1e et 2e). Contrairement à celles de l'amidon, les teneurs en saccharose des deux organes sont généralement du même ordre. En revanche, les teneurs en raffinose des entre-nœuds sont généralement plus élevées que celles des bourgeons. Pratiquement absent dans les deux organes jusqu'au 18 août, le raffinose s'y accumule pour atteindre une valeur maximale vers la mi-novembre. Alors que dans les bourgeons la teneur en raffinose chute juste après,

elle reste pratiquement stable dans les entre-nœuds jusqu'au début février où elle diminue pour retrouver, au débourrement, une valeur très faible.

II - ÉVOLUTION DE L'ACTIVITÉ α -AMYLASE

Pendant pratiquement tout le cycle annuel, l'activité de l' α -amylase des bourgeons (fig. 1b) est généralement plus élevée que celle des entre-nœuds (fig. 2b). Du 21 juillet au 11 novembre, l'activité α -amylase reste faible dans les deux types d'organes. Par la suite, l'activité α -amylase augmente progressivement dans les bourgeons jusqu'à la mi-décembre, puis diminue lentement jusqu'au début mars. Dans les entre-nœuds, une forte et brusque augmentation de l'activité α -amylase est notée vers fin novembre - début décembre suivie d'une très rapide diminution. Par la suite, l'activité de cette enzyme reste faible jusqu'au début mars. Ces variations se retrouvent pour les trois cycles étudiés indépendamment des fluctuations occasionnelles des températures extérieures. Du 21 juillet au 2 mars, les variations de l'activité α -amylase dans les deux types d'organes semblent se faire dans le sens inverse de celles notées pour leurs teneurs en amidon. Après le 2 mars, l'activité de cette enzyme augmente une seconde fois dans les deux organes jusqu'à l'approche du débourrement, variant cette fois-ci dans le même sens que leurs teneurs en amidon.

III - ÉVOLUTION DES ACTIVITÉS INVERTASES

Dans les bourgeons comme dans les entre-nœuds, l'activité de l'invertase acide et celle de l'invertase alcaline varient généralement dans le même sens. De même, dans les deux types d'organes, l'invertase alcaline présente toujours une activité nettement moins élevée que celle de l'invertase acide avec des fluctuations beaucoup moins intenses. En revanche, les activités des deux invertases sont généralement plus élevées dans les bourgeons (fig. 1d et 2d) que dans les entre-nœuds. Ce fait est particulièrement net entre le 19 novembre et le 22 février où l'activité invertase acide augmente fortement dans les bourgeons alors qu'elle reste faible et pratiquement stable dans le cas des entre-nœuds. Dans les deux types d'organes, les variations de ces invertases semblent se faire à l'inverse de celles des teneurs en saccharose. En effet, cette évolution inverse est notée dans les bourgeons même pendant la période comprise entre le 19 novembre et le 22 février caractérisée à la fois par des teneurs en saccharose élevées et des activités invertases intenses. Dans les entre-nœuds, cette période est caractérisée par une faible activité des invertases et une accumulation de la teneur en saccharose.

IV - ÉVOLUTION DES TENEURS EN ABA

Dans les bourgeons, la teneur en ABA, élevée le 21 juillet, diminue pour atteindre un minimum le 8 sep-

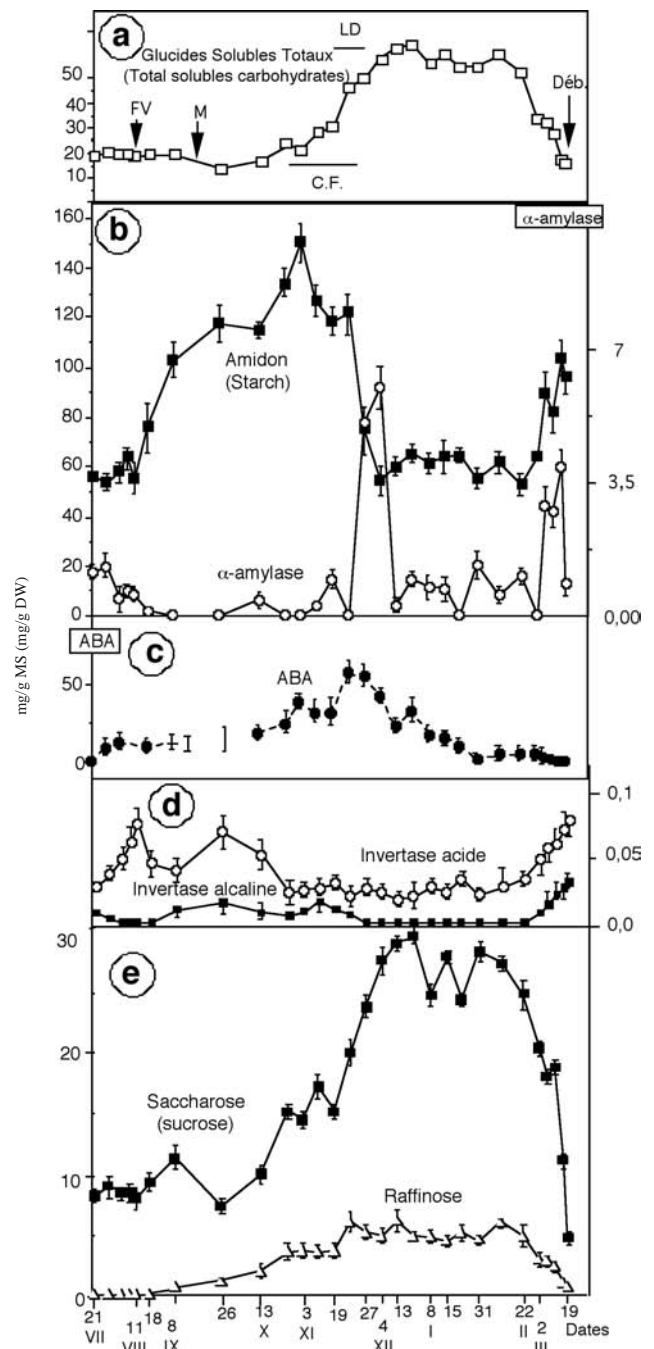


Figure 2 - Evolution de l'activité de l' α -amylase (b) et des invertases (acide et alcaline) (d), des teneurs en glucides solubles totaux (a), en amidon (b), en saccharose (e), en raffinose (e) et en acide abscissique libre (ABA) (c) dans les entre-nœuds au cours du cycle annuel.

Les valeurs correspondent à la moyenne de trois répétitions \pm SD. (FV : fin de la véraison ; M : maturité ; C.F.: chute des feuilles ; LD : levée de la dormance).

Development of α -amylase (b) and invertases (acid and alkaline) (d) activities and total soluble carbohydrates (a), starch (b), sucrose (e), raffinose (e) and free abscisic acid (ABA) (c) contents in internodes during the annual cycle.

Data presented are means of 3 replicates \pm SD. (FV : end of veraison; M: maturity; C.F.: leaf fall; LD.: break of dormancy).

tembre suivi d'un maximum le 13 octobre (fig. 1c). Pour les deux autres cycles étudiés, le maximum d'ABA est noté pendant la même période de l'année entre fin-septembre et mi-octobre. Cette teneur diminue de nouveau jusqu'au 15 janvier en présentant un fort ralentissement du 27 octobre au 4 décembre. Après le 15 janvier, la teneur en ABA augmente légèrement dans les bourgeons jusqu'à 22 février pour diminuer par la suite jusqu'au débourrement, le 19 mars. En revanche, la teneur en ABA des entre-nœuds, très faible le 21 juillet, augmente lentement pour atteindre un maximum vers la fin novembre (fig. 2c). La valeur de ce maximum est nettement plus faible que celle notée pour les bourgeons. Par la suite, la teneur en ABA des entre-nœuds diminue jusqu'à la fin janvier et sa valeur demeure très faible jusqu'au débourrement le 19 mars.

DISCUSSION

Cette étude a permis de confirmer les résultats d'autres auteurs sur l'évolution des glucides solubles des rameaux chez la vigne comme chez d'autres plantes (BOUARD, 1966; SAUTER et VAN CLEVE, 1991; MOING et GAUDILLÈRE, 1992). Elle a permis également de caractériser avec précision l'évolution des teneurs en amidon dans les entre-nœuds de vigne. Dans les bourgeons, où les sucres ont été beaucoup moins étudiés (ALSAIDI, 1975; WAMPLE et BARRY, 1992; HAMMAN *et al.*, 1996), nos recherches ont montré que les glucides solubles analysés ainsi que l'amidon présentent le même type d'évolution que dans les entre-nœuds. Les différences tiennent essentiellement aux teneurs généralement plus élevées dans ces derniers.

Globalement, jusqu'à la fin février, les variations des teneurs en amidon des bourgeons et des entre-nœuds semblent pouvoir être expliquées, au moins en partie, par celles de l'activité de leur α -amylase. Ainsi, l'accumulation de l'amidon observée de la mi-août à la fin octobre semble favorisée par les faibles activités de cette enzyme. De même, la chute des teneurs en amidon notée à partir du mois de novembre pourrait être attribuée à la forte augmentation de l'activité de l' α -amylase. Cette enzyme pourrait donc intervenir activement dans l'hydrolyse de l'amidon dans les deux organes, ce qui confirmerait d'ailleurs certains travaux chez d'autres végétaux ligneux (SAUTER et VAN CLEVE, 1991; BERBEZY, 1995). L'activité α -amylasique, plus élevée dans les bourgeons que dans les entre-nœuds, pourrait même expliquer, en partie, la différence de teneurs en amidon entre les deux organes.

Paradoxalement, l'augmentation de l'activité de l' α -amylase dans les bourgeons et dans les entre-nœuds au cours du mois de mars, s'accompagne d'une accumulation de l'amidon. L'implication de l' α -amylase dans l'hydrolyse de l'amidon dans ces deux organes pendant cette

époque resterait néanmoins valable si l'on admet que la synthèse de l'amidon est plus intense que son hydrolyse. Un tel phénomène est tout à fait possible puisque la synthèse et la dégradation de l'amidon sont deux processus qui peuvent coexister (MACISAAC et BEWLEY, 1995; BERBEZY, 1995). Les besoins en énergie des bourgeons pendant cette période ne sont pas assez importants (BOUARD, 1966; COTTIGNIES, 1985) pour expliquer la forte diminution de la teneur en glucides solubles par consommation au sein même des deux organes. Ce fait suggère que la diminution des teneurs en glucides solubles se ferait au profit de la synthèse de l'amidon.

Au cours de tout le cycle annuel, les fluctuations de l'activité invertase acide des bourgeons et des entre-nœuds semble pouvoir expliquer une grande partie des variations de leurs teneurs en saccharose et en raffinose. L'accumulation de ces deux sucres, et plus particulièrement du saccharose, paraît être favorisée par une diminution de l'activité invertase acide alors que la diminution de leurs teneurs pourrait être le résultat d'une augmentation de l'activité de cette enzyme. Une telle relation entre l'invertase acide et le saccharose a d'ailleurs été signalé chez la vigne principalement dans les baies de raisin (DÜRING et ALLEWELDT, 1980; HUNTER *et al.*, 1994; PEREZ et GOMEZ, 2000). Une relation similaire a également été signalée chez d'autres plantes (RICAUD *et al.*, 1994; BOGATEK *et al.*, 1999). L'action de l'invertase acide sur le raffinose n'a été que peu étudiée chez les plantes (MILLER et RANWALA, 1994). Dans notre cas, cette enzyme semble intervenir dans l'hydrolyse de ce triholoside. Il semble qu'il en est de même pour l'invertase alcaline dont l'action sur les deux sucres serait, toutefois, très atténuée. Manifestement, cette forme alcaline ne serait impliquée que partiellement dans l'hydrolyse des deux sucres, ce qui est d'ailleurs en accord avec les travaux de RICAUD *et al.* (1994).

Néanmoins, il apparaît que l'augmentation de l'activité des deux invertases dans les deux organes n'est pas toujours proportionnelle à la diminution de leurs teneurs en saccharose et en raffinose. Cela est particulièrement visible pour l'invertase acide et le saccharose dans le cas des bourgeons pendant la période comprise entre le 19 novembre et le 31 janvier. En effet, pendant cette période, on note une activité invertase acide importante dans les bourgeons en même temps que des teneurs élevées en saccharose. Un tel fait semble indiquer que le saccharose dosé serait essentiellement localisé dans le cytosol donc à l'abri de l'action de l'invertase acide contenu dans la vacuole. Une telle compartimentation va permettre le maintien des fortes teneurs en saccharose dans les bourgeons surtout que l'activité invertase alcaline du cytosol est faible. En plus de cela, il est clair que les variations des teneurs du saccharose ne sont pas uniquement dues aux invertases mais elles seraient plutôt le bilan

des activités de toutes les enzymes impliquées dans le métabolisme de ce disaccharide (ex : saccharose synthase et saccharose phosphate synthase). Ainsi, pendant cette période, les fortes teneurs en saccharose pourrait également être le résultat d'activités d'enzymes de synthèse de ce sucre plus intenses que les activités des enzymes de sa dégradation.

Dans les deux organes, le début d'accumulation de l'amidon à partir de la mi-août et son arrêt vers le début novembre correspondent respectivement à la période succédant à la fin de la véraison des baies de raisin et à la phase de la sénescence des feuilles. Ces faits semblent indiquer que les sucres des bourgeons et des entre-nœuds proviennent des feuilles et que cette migration débute avec le début de leur prélèvement par les fruits (DREIER *et al.*, 1998 ; FAMIANI *et al.*, 2000). La photosynthèse active à des stades avancés de la vie des feuilles (HUNTER *et al.*, 1994) permettrait de maintenir cette migration jusqu'au début novembre. Différents auteurs ont signalé que cette migration de sucres se ferait principalement sous forme de saccharose (KLIEWER, 1965 ; GLAD *et al.*, 1992). Ce dernier sucre ne s'accumulant significativement dans les deux organes qu'à partir de la mi-octobre, nous sommes amenés à penser que dès sa migration, il serait aussitôt hydrolysé en hexoses. La relative faible activité des invertases particulièrement dans les bourgeons pendant la deuxième quinzaine du mois d'août suggère que l'hydrolyse du saccharose ne serait pas essentiellement due aux invertases. En outre, les hexoses libérés par hydrolyse du saccharose ne s'accumulant pas pendant cette période suggèrent une polymérisation rapide en amidon. Les faibles activités de l' α -amylase à cette époque de l'année pourraient permettre une prédominance de la synthèse de l'amidon sur son hydrolyse.

La relation qui paraît exister entre l'amidon et l' α -amylase dans les bourgeons et les entre-nœuds semble être sous le contrôle inhibiteur de l'ABA. Comme cela a été signalé chez d'autres plantes (ROBERTSON *et al.*, 1989 ; MOLINA-CANO *et al.*, 1999), cette action de l'ABA se ferait probablement par inhibition de la synthèse de cette enzyme. Dans les entre-nœuds, les variations inverses entre l'ABA et l'activité α -amylase se retrouvant pendant pratiquement toute la période étudiée suggère une action inhibitrice de l'ABA pendant tout le cycle annuel. Dans les bourgeons, cette évolution inverse entre l'ABA et l' α -amylase n'est observée que pendant la période comprise entre la fin-novembre et le débourrement c'est-à-dire après la phase de levée de dormance. Pour la variété Merlot, cette phase est définie par POUGET (1963) comme étant les 7 premiers jours où la température moyenne est inférieure à 10 °C ce qui permet aux bourgeons d'acquiescer l'aptitude au débournement. Ce changement de comportement de l'ABA vis-à-vis de

l' α -amylase dans les bourgeons pourrait être la conséquence de la diminution du pH cytoplasmique sous l'effet des faibles températures hivernales, fait signalé par GENDRAUD et LAFLEURIEL (1983) et par PELET *et al.* (1992). Un tel changement de pH favoriserait la diffusion de l'ABA de la vacuole et des chloroplastes vers le cytosol, donc un plus grand contrôle de la synthèse de l' α -amylase et, par conséquent, de l'hydrolyse de l'amidon. Ce changement pourrait également être favorisé par la diminution de la teneur en ABA qui subit une estérification sous forme d'ABA-GE sous l'action du froid de levée de la dormance (KOUSSA *et al.*, 1994). Ce fait semble augmenter la fluidité membranaire et par suite sa perméabilité par action sur sa composition en acides gras (KOUSSA et CHERRAD, 2000). Toutefois, l'hydrolyse de l'amidon ne semble pas être uniquement sous la dépendance de l'ABA puisqu'elle peut aussi être stimulée par l'acide gibbérellique qui s'accumule lorsque la température diminue durant l'hiver (HANKS et REES, 1980).

Dans les bourgeons, l'évolution dans le même sens des teneurs en ABA et des activités invertases de la fin juillet à la mi-février suggère que ce régulateur de croissance agirait en favorisant l'action de cette enzyme. Cependant, de la mi-février au débournement, les teneurs en ABA évoluent à l'inverse des activités invertases ce qui ne semble pas en accord avec la précédente hypothèse. Dans les entre-nœuds, les faibles variations des activités invertases qui caractérisent ces organes, particulièrement entre début novembre et la mi-février, ne permettent pas de mettre en évidence de façon nette ce type de relation. Chez d'autres plantes, certains auteurs ont signalé que l'ABA semble pouvoir aussi bien stimuler l'activité des invertases (RICHINGS *et al.*, 2000) que les inhiber (PALMS, 1995). Nous nous heurtons donc à la difficulté d'expliquer ce changement de comportement de l'ABA vis-à-vis des invertases dans un même organe au cours du cycle annuel. L'hypothèse que l'état physiologique qui caractérise les bourgeons et les entre-nœuds à l'approche du débournement serait favorable à l'activation des invertases nous paraît la plus appropriée dans l'état actuel de nos connaissances. Les conditions de l'environnement, la forte augmentation de la teneur en eau des bourgeons et des entre-nœuds (POUGET, 1963 ; BOUARD, 1966), ainsi que les changements de leur contenu en régulateurs de croissance, pourraient favoriser l'activité de ces enzymes indépendamment des variations des teneurs en ABA. Ce type de relation entre l'environnement et ces enzymes s'observe d'ailleurs dans les bourgeons vers le début novembre où le froid, responsable de la levée de la dormance, semble provoquer une forte augmentation de l'activité invertase acide, alors qu'il induit une chute de la teneur en ABA. Dans ces conditions, il semblerait que l'ABA pourrait être un facteur stimulant pour l'activation de l'invertase acide sans en être un élément indispensable.

CONCLUSION

Cette étude a permis de confirmer les variations du saccharose du raffinose et de l'amidon dans les entrenœuds et de les préciser dans les bourgeons. Les teneurs de ces glucides subissent des variations qui paraissent en relation avec des phénomènes physiologiques liés au stade de développement de la vigne. L' α -amylase et les invertases (particulièrement sous forme acide) pourraient intervenir de façon importante dans le contrôle de ces fluctuations. L' α -amylase contrôlerait l'hydrolyse de l'amidon, alors que l'action des invertases se ferait essentiellement sur le saccharose. L'activité de l' α -amylase pourrait être sous l'influence inhibitrice de l'acide abscissique alors que la présence de ce dernier ne paraît pas nécessaire pour l'activation des invertases.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALSAIDI I., 1975. Recherches physiologiques, histologiques et cytologiques sur les bourgeons latents de la vigne (*Vitis vinifera* L. var. Ugni blanc) au cours de leur cycle végétatif. Thèse, Bordeaux, France.
- BERBEZY P., 1995. Étude des remaniements glucidiques dans les mérithalles de sarments de vigne en période hivernale et sous l'action du froid. Identification des isoformes d' α -amylases présentes et purification de l'une d'entre elles. Thèse Univ., Reims, France.
- BOGATEK R., COME D., CORBINEAU F., PICARD M.A., ZARSKA-MACIEJEWSKA B. et LEWAK S., 1999. Sugar metabolism as related to the cyanide-mediated elimination of dormancy in apple embryos. *Plant Physiol. Biochem.*, **37**, 7/8, 577-585.
- BRADFORD M.M., 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochem.*, **72**, 248-254.
- BOUARD J., 1966. Recherches physiologiques sur la Vigne et en particulier sur l'aouïtement des sarments. Thèse Doct. d'État, Bordeaux, France.
- COTTIGNIES A., 1985. Dormance et croissance active chez le Frêne (*Fraxinus excelsior* L.). Thèse de Doct. d'État, Univ. Pierre et Marie-Curie, Paris VI, France.
- DREIER L.P., HUNTER J.J. et RUFFNER H.P., 1998. Invertase activity, grape berry development and cell compartmentation. *Plant Physiol. Biochem.*, **36**, 12, 865-872.
- DÜRING H. et ALLEWELDT G., 1980. Effects of plant hormones on phloem transport in grapevines. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, **93**, 339-347.
- FAMIANI F., WALKER R.P., TECSIL., CHEN Z.H., PROIETTI P. et LEEGOOD R.C., 2000. An immunohistochemical study of the compartmentation of metabolism during the development of grape (*Vitis vinifera* L.) berries. *J. Exp. Botany.*, **51**, 345, 675-683.
- FERCHAUD J., 1976. Recherches sur les variations de quelques constituants biochimiques (eau, glucides solubles, composés phénoliques et acides gras) des grappes et des sarments de Vigne au cours de la floraison et de la véraison. Thèse Bordeaux, France.
- GENDRAUD M. et LAFLEURIEL J., 1983. Caractéristiques de l'absorption du saccharose et du tétraphénylphosphonium par les parenchymes de Topinanbour, dormant et non dormant, cultivés *in vitro*. *Physiol. Vég.*, **21**, 1125-1133.
- GLAD C., REGNARD J.L., QUEROU Y., BRUN O. et MOROT-GAUDRY J.F., 1992. Phloem sap exudates as a criterion for sink strength appreciation in *Vitis vinifera* cv. Pinot noir. *Vitis*, **31**, 131-138.
- GOUPIL P., LONCLE D., DRUART N. et BELLETTRE A., 1998. Influence of ABA on nitrate reductase activity and carbohydrate metabolism in Chicory roots (*Cichorium intybus* L.). *J. Exp. Bot.*, **49**, 328, 1855-1862.
- HAMMAN R.A. JR., DAMI I.E., WALSH T.M. et STUSHNOFF C., 1996. Seasonal carbohydrate changes and cold hardness of Chardonnay and Riesling grapevine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **47**, 1, 31-36.
- HANKS G.R. et REES A.R., 1980. Growth substances of tulip and narcissus: The influence of floral organs and growth regulators. *New Phytol.*, **78**, 579-591.
- HUNTERS J.J., SKRIVAN R. et RUFFNER H.P., 1994. Diurnal and seasonal physiological changes in leaves of *Vitis vinifera* L.: CO₂ assimilation rates, sugar levels and sucrolytic enzyme activity. *Vitis*, **33**, 189-195.
- JACOBSEN J.V. et BEACH L.R., 1985. Control of transcription of α -amylase and r-RNA genes in barley aleurone protoplasts by gibberellin and abscisic acid. *Nature*, **316**, 275-277.
- KLIEWER W.M., 1965. The sugars of grapevine. II. Identification and seasonal changes in the concentration of several trace sugars in *Vitis vinifera* L. *Am. J. Enol. Vitic.*, **16**, 168-178.
- KOUSSA T., BROQUEDIS M. et BOUARD J., 1994. Changes of abscisic acid level during the development of grapevine latent buds, particularly in the phase of dormancy break. *Vitis*, **33**, 2, 63-67.
- KOUSSA T. et CHERRAD M., 2000. Levels and composition of fatty acids in buds and internodes of *Vitis vinifera* L. cv. merlot and their relationship with ABA and water content. *Vitis*, **39**, 3, 93-98.
- KOUSSA T., CHERRAD M., BERTRAND A. et BROQUEDIS M., 1998. Comparaison de la teneur en amidon, en glucides solubles et en acide abscissique des bourgeons latents et des entre-noeuds au cours du cycle végétatif de la vigne. *Vitis*, **37**, 1, 5-10.
- KOUSSA T., COLIN L. et BROQUEDIS M., 2004. Teneurs en acide abscissique de différents organes de *Vitis vinifera* L. (cv. Cabernet Sauvignon) du début de leur développement au stade fermeture de la grappe. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **38**, 2, 141-146.
- Mac ISAAC S.A. et BEWLEY J.D., 1995. Seasonal change in the starch content and associated anabolic and catabolic enzymes in the roots of perennial weeds, *Euphorbia esula*. *Plant Physiol. Biochem.*, **33**, 2, 163-171.
- MILLER W.B. et RANWALA A.P., 1994. Characterization and localization of three soluble invertase forms from *Lilium longiflorum* flower buds. *Physiol. Plant.*, **92**, 2, 247-53.

- MOING A. et GAUDILLÈRE J.P., 1992. Carbon and nitrogen partitioning in peach/plum grafts. *Tree Physiol.*, **10**, 81-92.
- MOLINA-CANO J.L., SOPENA A.A., SWANSTON J.S., CASAS A.M., MORALEJO M.A., UBIETO A., LARA I., PERZ-VENDRELL A. et ROMAGOSA I., 1999. A mutant induced in the malting barley cv. triumph with reduced dormancy and ABA response. *Theor. Appl. Genet.*, **98**, 3-4, 347-355.
- PALMS B., 1995. Clonage, caractérisation et étude de l'expression du gène de la nitrate réductase chez *Cichorium intybus* L.. Thèse d'Univ., Lille I, France.
- PEREZ F.J. et GOMEZ M., 2000. Possible role of soluble invertase in the gibberellic acid berry-sizing effect in sultana grape. *Plant growth Regul.*, **30**, 11-116.
- PÉLET G., LAFLEURIEL J., DAUPHIN G. et GENDRAUD M., 1992. Cytoplasmic pH and plasmalemma ATPase activity of parenchyma cells during the release of dormancy of Jerusalem artichoke tubers. *Plant Physiol. Biochem.*, **30**, 4, 379-382.
- POUGET R., 1963. Recherches physiologiques sur le repos végétatif de la Vigne (*Vitis vinifera* L.): La dormance des bourgeons et le mécanisme de sa disparition. Thèse d'Etat, Bordeaux, France.
- RICAUD S., ALAOUI-SOSSE B., DIZENGREMEL P. et BARNOLA P., 1994. Carbohydrate status and invertase activities in relation to survival and weak dormancy of the latent buds in *Plantanus acerifolia* Willd. *Plant Physiol. Biochem.*, **32**, 2, 277-283.
- RICHINGS E.W., CRIPPS R.F. et COWAN A.K., 2000. Factors affecting « Hass » avocado fruit size: Carbohydrate, abscisic acid and isoprenoid metabolism in normal and phenotypically small fruit. *Physiol. Plant.*, **109**, 1, 81-89.
- RINNE P., TUOMINEN H. et JUNTILA O., 1994. Seasonal changes in bud dormancy in relation to bud morphology, water and starch content, abscisic acid concentration in adult trees of *Betula pubescens*. *Trees Physiol.*, **14**, 459-561.
- ROBERTSON M., WALKER-SIMMONS M., MUNRO D. et Hill R.D., 1989. Induction of α -amylase inhibitor synthesis in Barley embryos and young seedlings by abscisic acid dehydration stress. *Plant Physiol.*, **91**, 415-420.
- SALAS E. et CARDEMIL L., 1986. The multiple forms of α -amylase enzyme of the Araucaria species of South America : *A. araucana* (Mol.) Koch and *A. angustifolia* (Bert.) O. Kutz. A comparative study. *Plant Physiol.*, **81**, 1061-1068.
- SAUTER J.J. et VAN CLEVE, B., 1991. Biochemical and structural results during starch-sugar conversion in ray parenchyma cells of *Populus* during cold adaptation. *J. Plant Physiol.*, **139**, 19-26.
- SUNNER J.B. et HOWELL S.F., 1935. A method for determination of invertase activity. *J. Biol. Chem.*, **108**, 51-54.
- VANDEBERG J.H., VREUGDENHIL D., LUDFORD P.M., HILLMAN L.L. et EWING E.E., 1991. Changes in starch, sugar and abscisic acid contents associated with second growth in tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.) one leaf cuttings. *J. Plant Physiol.*, **139**, 86-89.
- WAMPLE R.L. et BARY A., 1992. Harvest date as a factor in carbohydrate storage and cold hardiness of Cabernet sauvignon grapevines. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **117**, 1, 32-36.

Manuscrit reçu le 28 janvier 2005 ; accepté pour publication, après modifications le 24 juin 2005