

BIODYNAMIE

Bases scientifiques



Philippe Jean Coulomb

Syndicat International des Vignerons en Culture Biodynamique

ETUDE COMPAREE DE DEUX VIGNOBLES DES COTES DU RHONE EN
CONDUITES BIODYNAMIQUE ET RAISONNEE

9 Janvier 2004

Avertissement : tous les résultats et commentaires énoncés ci-dessous ne trouveront leur pleine validité que s'ils se vérifient sur trois années au minimum. Ce premier compte-rendu ne constitue donc qu'une approche préliminaire de la recherche entreprise.

SOMMAIRE

BASES SCIENTIFIQUES

I Présentation des vignobles

| | |
|----------------------------------------------------------------------------|----------------|
| Vignoble en culture biodynamique classé cru en 1990 | page 3 |
| Vignoble en culture raisonnée classé cru en 1990 | page 7 |
| 2) <u>Analyses de sol des deux vignobles biodynamique et raisonné</u> | page 10 |
| 3) <u>Analyses pétiolaires des deux vignobles biodynamique et raisonné</u> | page 14 |
| 4) <u>Etude des Composés phénoliques</u> | page 16 |
| <i>*Resvératrol et Polyphénols totaux :</i> | |
| <i>résultats sur feuilles et baies</i> | page 18 |
| <i>Anthocyanes,</i> | page 20 |
| <i>*Analyse des résultats</i> | page 21 |
| <i>*Etude cytologique</i> | page 21 |

ANNEXE 1

page 25

VINS & SANTE, 2004, (9ème année), Editions du Voyage, p. 50-55

« Rouges, Blancs, Rosés, Cépages, modes de culture, polyphénols, resvératrol : impact sur la santé ».

ANNEXE 2

page 33

Un effet non intentionnel positif pour les fongicides !

Maryline ABERT, Philippe Olivier COULOMB et Philippe Jean COULOMB

SARL ENIGMA, 84 190 Beaumes de Venise.

ANNEXE 3

page 42

Phytothérapie Européenne, 2003, 13, 5-8.

« L'un des agents du « French paradox » : le Resvératrol du vin rouge.

Maryline ABERT, Docteur ès Sciences, Philippe Olivier COULOMB, Ingénieur Agronome, *

Philippe Jean COULOMB, Docteur ès Sciences, Professeur à la Faculté des Sciences d'Avignon

I Présentation des vignobles

Vignoble en culture biodynamique classé cru en 1990

Le vignoble étudié, d'une superficie de 8,5 ha, est un promontoire qui s'élève à une centaine de mètres au-dessus de la plaine du Comtat, avec de tous côtés sur ses pentes 11 ha de bois de chênes centenaires qui le protègent et l'isolent du reste de l'appellation. Il y règne un micro-climat particulier où la pluviométrie est plus faible qu'ailleurs.

Localisation géographique : Sarrians Vaucluse, France

Vignoble : AOC, Côtes du Rhône, Gigondas, Vacqueyras

Parcelle

Age de la parcelle : 15 ans

Nombre de pieds : 4 000 pieds/ha

Cépage grenache : porte-greffe : R 110 (50%)

Cépage syrah : porte-greffe : R 140 (50%)

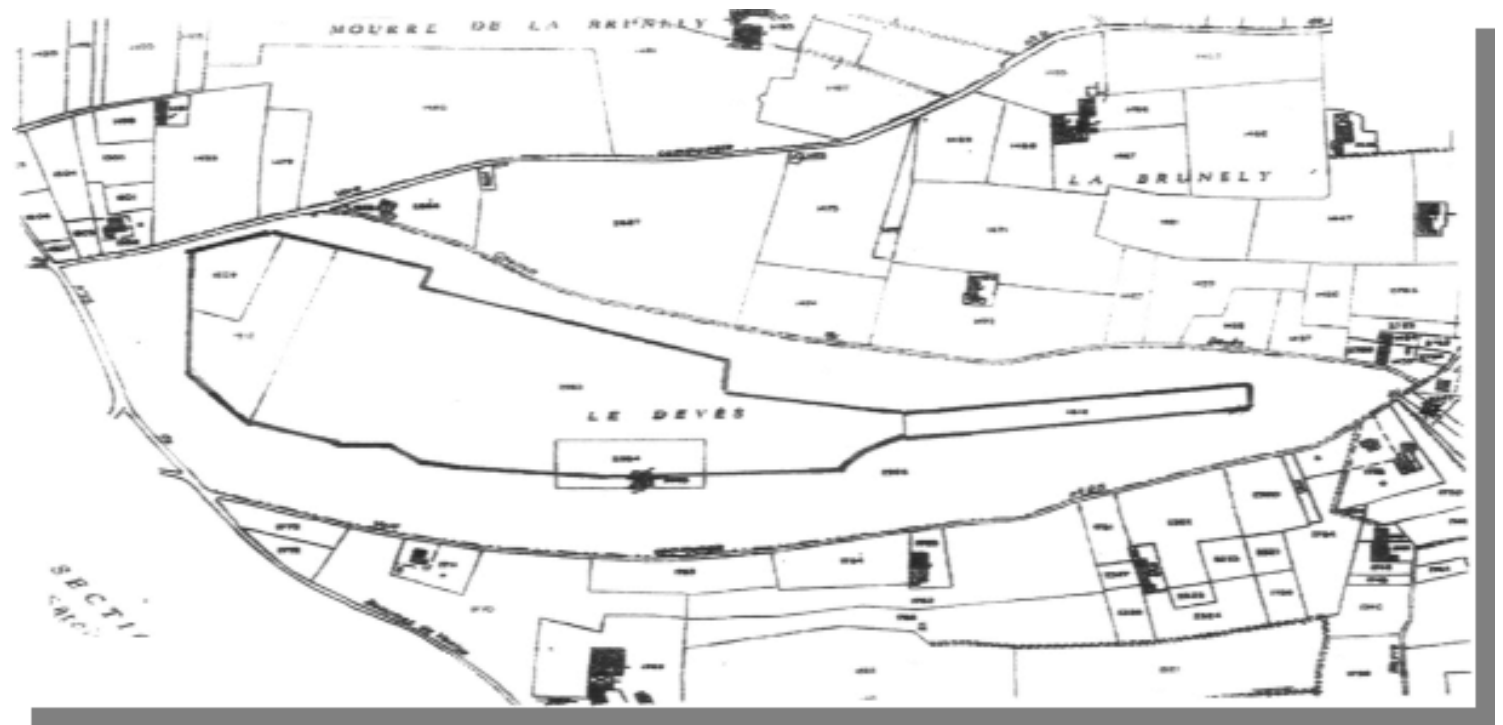
Rendement maximum : 35 hl/ha

Taille : gobelet ou cordon de Royat avec 6 porteurs maximum à 2 yeux

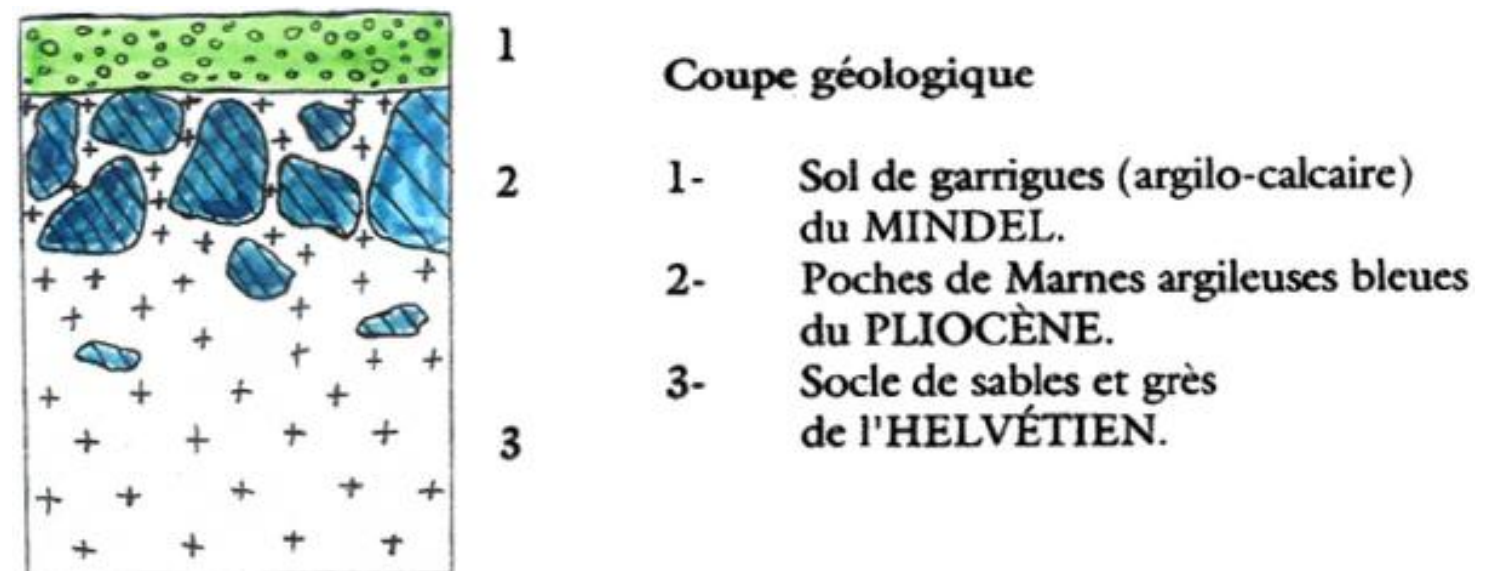
Production : environ 40 000 cols

Conservation des vins : 6 à 8 ans

Les vins sont contrôlés ECOCERT sas F-32 600



Substrat géologique



La couche N°1 est constituée de galets mélangés à un sol argilo-calcaire, datant de la glaciation Mindel du

quaternaire. Les galets restituent la nuit la chaleur emmagasinée durant la journée. Les poches de marnes argileuses bleues du tertiaire (Pliocène) évitent la dessiccation pendant les fortes chaleurs estivales. Enfin les sables de l'helvétien favorisent un enracinement profond.

Environnement

Strate arborescente et arbustive

Quercus coccifera, Rosmarinus officinalis, Asparagus acutifolius, Genista pilosa, Genista scorpius, Spartium junceum, Juniperus oxycedrus, Pinus halepensis, Quercus ilex, Quercus pubescens, Buxus sempervirens, Sorbus aria, Hedera helix, Smilax aspera, Clematis vitalba.

Strate herbacée

Euphorbia characias, Rubia peregrina, Lavendula vera, Sedum sediforme, Coronilla minima, Brachipodium phoenicoides, Silene italica, Carex glauca, Orchis purpurea, Helleborus foetidus, Lathyrus vernus, Mercurialis perennis, Polygonatum vulgare, Asparagus officinalis, Brachipodium ramosum,

Malherbologie

Amarantus vridis, Chenopodium album, Senecio vulgare, Diplotaxis erucoïdes, Diplotaxis tenuifolia, Fumaria officinalis, Agropyrum repens,

Techniques culturales des 3 dernières années

Passages /an

Labour (15 cm) : 1 chaussage avant hiver

cultivateur : 5

sous-soleuse : 1 rang sur 2 ; 1 année sur 2

Disques : 1

Technique : palissage,

nombre de fils : 1 porteur + 2 releveurs

hauteur du 1^{er} fil :

hauteur du dernier fil : 1,70 m

Taille : à 2 yeux

Gyrobroyage des sarments

Enherbement :

apport de semences exogènes tous les 2 rangs

Ecimage : 1 X (première végétation).

Rognage : oui

Ebourgeonnage : oui

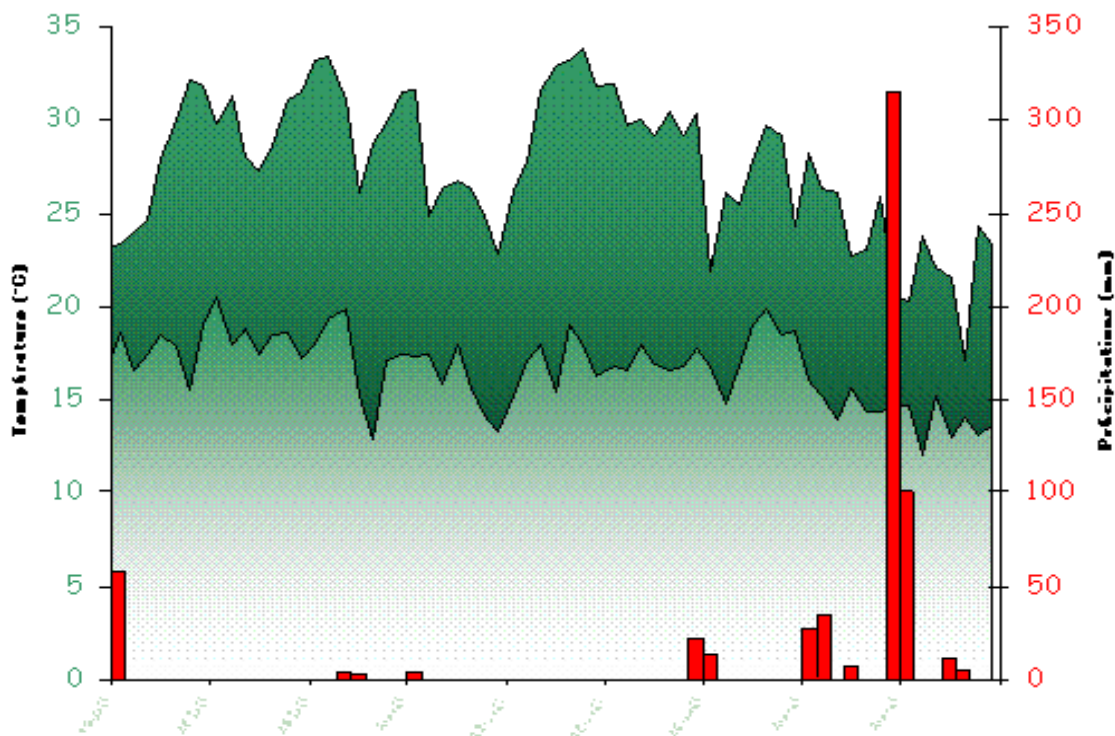
Amendements : aucun.

Accidents climatiques :

- Septembre 2002 : fortes précipitations.
- Été 2003 : intensité et durée des chaleurs anormales.

SDN : aucun.

Données climatiques 2002)



Traitements

| | TRAITEMENTS Biodynamiques |
|--------------|--------------------------------------------------------------------|
| Octobre 2002 | 501 |
| 21 | |
| Novembre | MT |
| 8 | |
| Février 2003 | MT |
| 11 | 501 |
| 12 | |
| Mars | 500 + argile |
| 26 | |
| Avril | Microthiol spécial disperss 4kg/ha |
| 15 | Pluie 7mm |
| 20 | Pluie 15mm |
| 26 | Microthiol 4 kg/ha, Cuivrol 1kg/ha (180gCu), Héliosol 1l/ha |
| 29 | |
| Mai | 500 urticae |
| 5 | 501 |
| 10 | premières fleurs |
| 15 | Cuivrol 1 kg/ha (360g Cu) + Microthiol 8 kg + Héliosol 1 l + prêle |
| 16 | pluie 5mm |
| 18 | pluie 15mm + froid 15°C maxi. |

| | |
|---------|-------------------------------------------------------------------|
| 26 | Cuivrol 3kg/ha (540g Cu) + Microthiol 8 kg + ortie + osier |
| 28 | |
| 30 | |
| Juin | Macc 80 4,1 kg (800g Cu) + Microthiol 8 kg + héliosol + osier |
| 12 | pluie 5mm, Macc 80 3,3 kg/ha (600 Cu) + Microthiol 8 kg+ Héliosol |
| 26 | |
| Juillet | pluie 3 mm |
| 1 | début véraison |
| 14 | Microthiol 8 ha + héliosol |
| 21 | Pluie 11mm |
| 24 | |

Pathologies :

Mildiou : faible, un mildiou mosaïque se développe en période post-récolte.

Botrytis : faible

Qualité de la végétation

Excellente vitalité, feuilles vertes

Enracinement profond

La pratique culturale ne permet pas le développement du chevelu racinaire de surface

Vie tellurique

Présence de lombrics et d'araignées

L'analyse microbiologique n'a pas été faite.

Vignoble en culture raisonnée classé cru en 1990

Le vignoble étudié, d'une superficie de 8,5 ha, est un promontoire qui s'élève à une centaine de mètres au-dessus de la plaine du Comtat situé au Nord du vignoble Biodynamique.

Les parcelles de syrah et de grenache sont séparées par un petit chemin goudronné communal

Localisation géographique : Sarrians Vaucluse, France

Vignoble : AOC, Côtes du Rhône, Gigondas, Vacqueyras

Parcelle

Age de la parcelle : 15 ans

Nombre de pieds : 4 000 pieds/ha

Cépage grenache : porte-greffe : R 110 (50%)

Cépage syrah : porte-greffe : R 140 (50%)

Rendement maximum : 35 hl/ha

Taille : gobelet ou cordon de Royat avec 6 porteurs maximum à 2 yeux

Production : environ 40 000 cols

Conservation des vins : 6 à 8 ans

Les vins sont contrôlés ECOCERT sas F-32 600

Relevé botanique

Haies de cyprès à l'Est et à l'Ouest. Absence de végétation de référence.

Substrat géologique (identique à celui de la parcelle Biodynamique)

Environnement

Pas de végétation de référence

Techniques culturales des 3 dernières années

Passages /an

Labour (15 cm) : 1 chausage avant hiver

cultivateur : 5

sous-soleuse : 1 rang sur 2 ; 1 année sur 2

Disques : 1

Technique : palissage,

nombre de fils : 1 porteur + 2 releveurs

hauteur du 1^{er} fil :

hauteur du dernier fil : 1,70 m

Taille : à 2 yeux

Gyrobroyage des sarments

Enherbement :

apport de semences exogènes : non : vigne dés herbée sous le rang.

Ecimage : 1 X (première végétation).

Rognage : oui

Ebourgeonnage : oui

Amendements : oui.

Syrah : N,P,K (10/10/20) 200Kg/ha

Grenache : N,P,K (0/7/15) 500Kg/ha

Compost de raisin en 2001

Accidents climatiques :

- Septembre 2002 : fortes précipitations.
- Été 2003 : intensité et durée des chaleurs anormales.

Traitements : voir tableau ci-dessous

SDN : aucun.

Etat sanitaire après récolte : forte attaque de mildiou mosaïque (pas de traitement post récolte). Faible attaque de l'Esca. Vigne effeuillée par la récolte mécanique.

Traitements

| | |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 17 Mars 2003 | <u>Désherbage</u> : Prius 2l/ha ; Glyphoset 1l/ha ; Zorial 0,5 kg/ha. |
| 24 Mars | Vignes de moins de 4 ans : le zorial est remplacé par le Surflan 2l/ha <u>Engrais : Syrah</u> : N,P,K (10/10/20, 200kg/ha Grenache N,P,K (0/7/15), 500 kg/ha |
| 30 Avril | Thiovit 5 kg/ha; Karathane, 0,3 l/ha |
| 7 Mai | Slogan 3 kg/ha; Karathane 0,3 l/ha; Thiovit 5 kg/ha. |
| 23 mai | Slogan 4 kg/ha; Systhane 0,25 l/ha |
| 5 juin | Valiant 3kg/ha ; Corail 0,4 l/ha |
| 18 Juin | Insecticide Milord, Pilier 1 l/ha |
| 23 Juin | Pilier 1l/ha |
| 26 Juin | Thiovit 5 kg/ha; Karathan 0,3 l/ha; Champflo 2l/ha |
| 2 Août | Syrah Chamflo 3 l/ha; Grenache Baythroïd 0,75 l/ha. |

Mode d'action des produits chimiques utilisés

Herbicides

PRIUS PRO :

Terbuthylazine (absorption racinaire) + **glyphosate** (absorption foliaire, véhiculé par la sève jusqu'à l'extrémité des racines et des rhizomes : agit par blocage de la biosynthèse des acides aminés aromatiques).

GLYPHONET : ? (pas répertorié)

glyphosate (absorption foliaire, véhiculé par la sève jusqu'à l'extrémité des racines et des rhizomes : agit par blocage de la biosynthèse des acides aminés aromatiques).

ZORIAL *:

Norflurazon (absorbé par les racines et transporté dans la plantule en cours de germination, il entraîne une destruction de la chlorophylle résultant de l'interruption de la synthèse des caroténoïdes).

SURFLAN :

Oryzalin (inhibition de la division cellulaire)

Anti-oidium :

THIOVIT :

Soufre mouillable (action par vapeur)

KARATHANE :

Dinocap (produit de contact multisite)

SYSTHANE :

Myclobutanil (systémique)

CORAIL :

Tébuconazole (systémique avec deux sites d'action distincts sur la biosynthèse des stérols)

Anti-mildiou :

SLOGAN :

Fosétyl-al (absorbé par les feuilles et les racines, il est doté d'une systémie ascendante et descendante : inhibition de la germination des spores et blocage du développement du mycélium de nombreux champignons, principalement des Phycomycètes) + **métirame-zinc**

VALIANT FLASH :

Fosétyl-al (absorbé par les feuilles et les racines, il est doté d'une systémie ascendante et descendante : inhibition de la germination des spores et blocage du développement du mycélium de nombreux champignons, principalement des Phycomycètes)+ **folpel** + **cymoxanil** (action de contact sur les spores au moment de leur germination, action pénétrante, action stoppante avec destruction des champignons en cours d'incubation dans la plante hôte, action antisporulante)

CHAMP FLO :

Cuivre de l'hydroxyde de cuivre

Insecticide :

PILIER :

Betacyfluthrine (contact et ingestion sur le système nerveux des insectes en perturbant la conduction de l'influx nerveux) + **fénitrothion** (inhibition de l'AchEstérase)

* Remarque : le Zorial a fait l'objet d'un retrait d'homologation de la part du Ministère de l'Agriculture. La date limite d'utilisation est le 31 décembre 2003.

2) Analyses de sol des deux vignobles biodynamique et raisonné

| | Calcaire total | Calcaire actif | Matière Org. |
|----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| Bio D-G | 15,36 | 3,92 | 2,92 |
| Bio D-S | 12,33 | 5,14 | 3,05 |
| Rais-G | 27,98 | 13,26 | 2,19 |
| Rais-S | 15,67 | 6,77 | 3,15 |
| <i>Valeurs types</i> | | | <i>1 à 1,8</i> |

Tableau 5 Analyse des sols en % des vignes de Grenaches et de Syrahs en culture Biodynamique (Bio D-G et Bio D-S), et en culture raisonnée (Rais-G et Rais-S). (Prélèvements réalisés le 09/2003).

| OligoE mg/Kg | Fe ox | Cu | Zn | Mn | B |
|----------------------|--------------|---------------|------------|-----------|----------|
| Bio D-G | 57 | 22,4 | 4,7 | 10,7 | 0,13 |
| Bio D-S | 68 | 28,1 | 7 | 12,7 | 0,17 |
| Rais-G | 37 | 34,6 | 4,1 | 7,4 | 0,17 |
| Rais-S | 97 | 13,3 | 4,6 | 15,7 | 0,24 |
| <i>Valeurs types</i> | <i>50</i> | <i>2 à 60</i> | <i>2,5</i> | <i>20</i> | <i>1</i> |

Tableau 6 Analyse des oligoéléments (Oligo E) dans les sols culture Biodynamique (Bio D-G et Bio D-S), et en culture raisonnée (Rais-G et Rais-S). (Prélèvements réalisés le 14/08/2003).

| | K2O mg/Kg | MgO mg/Kg | K2O/MgO mg/Kg | N2 g/Kg | C/N |
|----------------------|------------------|----------------------|--------------------------|--------------------|------------|
| Bio D-G | 434,7 | 180,8 | 2,40 | 1,69 | 10 |
| Bio D-S | 483,6 | 259,7 | 1,86 | 1,99 | 8,89 |
| Rais-G | 388,5 | 200,6 | 1,94 | 1,54 | 8,26 |
| Rais-S | 280,5 | 345,3 | 0,81 | 2,25 | 8,15 |
| <i>Valeurs types</i> | <i>310 à 400</i> | <i>100 à 175</i> | <i>2 à 3</i> | | |

Tableau 7 Analyse des sols (K2O, MgO, K2O/MgO, Azote total et C/N) de Grenaches et de Syrahs en culture Biodynamique (Bio D-G et Bio D-S), et en culture raisonnée (Rais-G et Rais-S). (Prélèvements réalisés le 14/08/2003).

| | Matière Organique % | P2O5 (Joret) g/Kg |
|----------------------|--------------------------------|------------------------------|
| Bio D-G | 2,92 | 0,576 |
| Bio D-S | 3,05 | 1,210 |
| Rais-G | 2,19 | 0,133 |
| Rais-S | 3,15 | 0,437 |
| <i>Valeurs types</i> | <i>1 à 1,8</i> | <i>0,15 à 0,25</i> |

Tableau 8 Analyse des sols (Matière organique et P2O5) de Grenaches et de Syrahs en culture Biodynamique (Bio D-G et Bio D-S), et en culture raisonnée (Rais-G et Rais-S). (Prélèvements réalisés le 14/08/2003).

Dans le cas des sols calcaires la méthode Joret (extraction à l'oxalate d'ammonium) la richesse optimale d'un sol en P2O5 (g/kg) est comprise entre 0,15 et 0,25.

| | Mg⁺⁺/CEC | Ca⁺⁺/CEC | K⁺ | Na⁺ |
|----------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|-----------------------|
| Bio D-G | 4,97 | 307,85 | 5,12 | 0,68 |
| Bio D-S | 7,58 | 331,19 | 6,04 | 0,72 |
| Rais-G | 5,64 | 341,47 | 4,67 | 0,69 |
| Rais-S | 8,99 | 293,22 | 3,13 | 0,82 |
| <i>Valeurs types</i> | <i>de 6 à 8%</i> | <i>de 70 à 80%</i> | <i>de 3 à 6%</i> | <i>< 10%</i> |

Tableau 9 Analyse des sols (Mg^{++} , Ca^{++} , K^+ et Na^+/CEC) de Grenaches et de Syrahs en culture Biodynamique (Bio D-G et Bio D-S), et en culture raisonnée (Rais-G et Rais-S). (Prélèvements réalisés le 14/08/2003).

Le **pH** de l'eau est de 8,3 dans les deux cas.

Analyse des résultats

Le cuivre.

Très utilisé pour lutter contre le mildiou, le cuivre a un impact non négligeable sur les micro-organismes et la faune du sol. Ses teneurs naturelles dans le sol varient entre 2 et 60 mg/kg.

Les chercheurs de l'INRA ont étudié à Dijon (Unité Mixte de recherche Microbiologie des Sols) l'impact des applications répétées de Bouillie bordelaise (mélange de chaux et de sulfate de cuivre) sur la biologie des sols. Ils ont constaté que, sur des sols de Champagne, les concentrations dans les premiers centimètres sont supérieures à 200 mg/kg. Cette constatation s'explique par le fait que le cuivre qui a la faculté de se lier très fortement à la matière organique du sol et à l'argile, est peu mobile et donc s'accumule.

Une expérimentation mise en place dans les Landes en 1998 a montré que l'excès de cuivre entraîne une diminution de la biomasse microbienne. Les champignons sont plus atteints que les bactéries, les populations de ces dernières sont modifiées.

Il ressort en outre de cette étude que les jeunes vignes et les vers de terre n'aiment pas le cuivre.

En effet, la toxicité du cuivre pour la vigne dépend de son âge : les vieilles vignes résistent aux fortes teneurs grâce à leurs racines profondes qui descendent en dessous de la zone d'accumulation.

Il convient cependant de remarquer que C. COULOMB et col., ont révélé (Phytoma N°512, janvier 1999) l'effet nettement positif des traitements au cuivre (bouillie bordelaise et Hydroxyde) sur les baies de raisin. Non seulement ils protègent les baies de la contamination fongique, mais de surcroît le cuivre induit un stress salubre qui entraîne un épaississement et une lignification des parois. Le produit provoque un tassement des premières assises qui réduit les risques d'éclatement et donc la contamination par le Botrytis.

Des dosages de cuivre ont également été réalisés à partir des effluents de la cave (vendanges 2002-biodynamie). **L'eau des effluents renfermait une concentration de 13 µg/l.**

- Dans le cadre de l'arrêté du 02 février 1998 relatif aux prélèvements et à la consommation d'eau, ainsi qu'aux émissions de toute nature des installations classées pour la protection de

l'environnement la limite légale est de 0,5 mg/l si le rejet dépasse 20 g/jour.

- Dans le cas des normes imposées pour la potabilité de l'eau (décret 89-3 du 03/01/1989 modifié) la norme est : < 1 mg/l.

Dans les deux cas la valeur obtenue en sortie de cave est largement inférieure aux normes imposées. :

L'analyse des deux vignobles montre que la concentration varie de 13,3 à 34,6 mg/Kg nous sommes donc très loin des 200 mg/Kg détectés dans un vignoble de Champagne.

Le pH

Dans le cas des deux terrains et pour les deux conduites nous avons un pH de l'eau égal à 8,3.

L'amplitude des variations de pH qui pourrait affecter les activités microbiennes (nitrification, ammonification, minéralisation du carbone...) est donc largement pondérée par la présence des carbonates qui assurent un tampon relativement basique.

Pour mémoire : les bactéries ont des concentrations qui vont de 1 million à 1 milliard par gramme de sol.

Le pH de la rhizosphère est très différent de celui du sol non rhizosphérique . La différence vient en grande partie de la forme d'azote qui est absorbée. Lorsque l'azote est prélevé sous forme ammoniacale, le pH diminue par relargage d'un proton compensateur, ce qui augmente la solubilité des éléments cationiques. Lorsque l'azote est sous forme de nitrate, un efflux d'ion hydrogènocarbonate HCO_3^- abaisse le pH ; ceci favorise alors l'immobilisation des métaux lourds présents sous forme cationique (Cd,Pb, Ni...) et augmente celle des métalloïdes présents sous forme anionique (Tc, Se, As...).

Le Bore

Le Bore est nécessaire au développement des microorganismes. Il joue également un rôle important dans l'élongation cellulaire des feuilles et des racines et il intervient dans les processus de lignification.

Les apex des racines et des feuilles sont très sensibles à la déficience en Bore : elles provoquent un affaiblissement de la vigne et une chute importante du rendement des récoltes.

Au niveau cellulaire on le trouve lié aux parois soit sous la forme d'acide borique soluble, soit sous forme insoluble associé aux rhamnogalacturonanes. Il serait absorbé de façon passive à travers la membrane plasmique. En règle générale le plus fort taux de pectines pariétales renferme les concentrations en Bore les plus élevées.

La matière organique

Elle est très importante dans les deux vignobles.

Dans le cas du Biodynamique une analyse faite en 1999 donne un pourcentage identique à celui de 2003 : 2,90 %.

Ce pourcentage excellent est sans aucun doute dû aux gyrobroyages, des sarments réitérés chaque année.

Notre avis est que l'apport intéressant en Matières Organiques (MO) résultant de cette technique culturale est contrebalancé par des effets très négatifs : le gyrobroyage entraîne des milliards de spores fongiques, de bactéries et virus pathogènes vecteurs de maladies dans l'ensemble de la parcelle. Il résulte que des maladies comme le Court-noué, le pourridié, l'Esca..., au lieu de rester localisées vont contaminer chaque année de nouvelles vignes. Nous recommandons très fortement aux viticulteurs de revenir à la technique antique du brûlage.

3) Analyses pétiolaires

date du prélèvement : 14 août 2003.

Pétioles séchés dans une étuve puis analysés.

Le bilan global est que dans les 4 cas analysés le pH est basique et la capacité d'échange cationique élevée, le sol est calcaire, le rapport C/N est correct.

En ce qui concerne le milieu nutritif, si le taux de phosphore est correct pour le raisonné, il est élevé pour le Biodynamique. Les taux de potassium et de magnésium sont élevés pour le Biodynamique alors que les taux de manganèse et de bore sont faibles. Enfin, Chez le GR le milieu est très chlorosant en raison d'un sol riche en calcaire actif et un peu faible en fer. Cet état est compensé chez la Syrah par un taux en fer assez élevé. Dans le cas du Biodynamique, le milieu est moyennement chlorosant.

3) Analyses pétiolaires des deux vignobles biodynamique et raisonné

| Oligo E | Fe | Cu | Zn | Mn | B |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| Mg/Kg | | | | | |
| Bio D-G | 70 | 85,4 | 32 | 96,1 | 28,40 |
| Bio D-S | 112 | 109,8 | 48,7 | 49,7 | 27,80 |
| Rais-G | 64 | 53,6 | 44,5 | 158,5 | 25 |
| Rais-S | 0 | 32,1 | 19,3 | 21,4 | 32,20 |
| <i>Valeurs types</i> | 70 à 120 | 30 à 60 | 25 à 40 | >20 | >15 |

Tableau 1 Analyse des oligoéléments (OligoE) dans les pétioles de feuilles de vignes de Grenaches et de Syrahs en culture Biodynamique (Bio D-G et Bio D-S), et en culture raisonnée (Rais-G et Rais-S). (Prélèvements réalisés 14/08/2003).

| Cations (%) | Mg²⁺ | Ca²⁺ | K⁺ | Na⁺ |
|----------------------|------------------------|------------------------|----------------------|-----------------------|
| Bio D-G | 0,79 % | 3,20 % | 1,39 % | 0,03 % |
| Bio D-S | 1,16 % | 3,40 % | 1,35 % | 0,03 % |
| Rais-G | 1,08 % | 4,30 % | 1,10 % | 0,02 % |
| Rais-S | 1,61 % | 2,57 % | 0,86 % | 0,04 % |
| Valeurs types | 0,4 à 0,6 % | 2 à 4 % | 1,5 à 2,5 % | |

Tableau 2 Analyse des cations dans les pétioles de feuilles de vignes de Grenaches et de Syrahs en culture Biodynamique (Bio D-G et Bio D-S), et en culture raisonnée (Rais-G et Rais-S). (Prélèvements réalisés 14/08/2003).

| | K/Mg |
|----------------------|-------------|
| Bio D-G | 1,76 |
| Bio D-S | 1,16 |
| Rais-G | 1,02 |
| Rais-S | 0,53 |
| <i>Valeurs types</i> | 4<K/Mg<8 |

Tableau 3 Analyse du rapport K/Mg dans les pétioles de feuilles de vignes de Grenaches et de Syrahs en culture Biodynamique (Bio D-G et Bio D-S), et en culture raisonnée (Rais-G et Rais-S). (Prélèvements réalisés 14/08/2003).

| | Phosphore | Azote |
|----------------------|------------------|--------------|
| Bio D-G | 0,7 | 0,12 |
| Bio D-S | 0,39 | 0,36 |
| Rais-G | 0,20 | 0,32 |
| Rais-S | 0,16 | 0,62 |
| <i>Valeurs types</i> | 0,10 à 0,18 | 0,4 à 0,6 |

Tableau 4 Analyse des % en Phosphore et en Azote dans les pétioles de feuilles de vignes de Grenaches et de Syrahs en culture Biodynamique (Bio D-G et Bio D-S), et en culture raisonnée (Rais-G et Rais-S). (Prélèvements réalisés le 14/08/2003).

Une analyse pétiole à la véraison qui donne des teneurs en phosphore supérieures à 0,15% traduisent une bonne nutrition pour cet élément.

Analyse des résultats

La majorité des physiologistes actuels préfèrent l'analyse des pétiole à celle des feuilles car elle permet d'accentuer les différences et donc est un meilleur organe de mesure que le limbe. Les teneurs en K et Mg sont celles qui retiennent le plus l'attention.

Le rapport K/Mg donne une bonne indication de la balance :

Si $K/Mg < 1$ il y a une carence potassique

Si $3 < K/Mg < 7$ l'alimentation potassique et magnésienne est normale,

Si $K/Mg > 10$ il y a une carence magnésienne

Dans le cas des vignobles Biodynamique (1,76 et 1,16) et raisonné (1,02 et 0,53) nous constatons que l'alimentation n'est pas équilibrée. La concentration en Mg^{2+} est élevée alors que la concentration en K est normale.

Les valeurs en K_2O et MgO sont inversées pour les deux vignobles : valeurs plus fortes en K_2O pour la Biodynamie mais plus faibles en MgO .

Dans le cas du vignoble raisonné les apports sont : Syrah : N,P,K (10/10/20) à 200Kg/ha et Grenache : N,P,K (0/7/15) à 500Kg/ha

Compost de raisin en 2001

Pour le K la gamme reconnue pour la vigne (pour les physiologistes) est la suivante :

| | |
|-------------|---------------------------------------------|
| < 1%K | très grave déficience avec symptômes |
| 1 à 1,5 % K | déficience grave, signes plus ou moins nets |
| 1,5 à 2 | déficience, signes légers |
| 2 à 2,5 | légère sous-nutrition K, sans signes |
| 2,5 à 3 | bonne à très bonne nutrition |
| > 3 | nutrition élevée. |

Cependant, les chiffres classiquement retenus comme optimum pour des vignes du Midi de la France sont : N=2,5% ; P=0,22% ; K=1,2%.

En ce qui concerne le cuivre nous avons vu, dans le chapitre précédent que l'analyse des sols des deux vignobles montrait que la concentration variait de 13,3 à 34,6 mg/Kg c'est à dire très loin des 200 mg/Kg détectés dans un vignoble de Champagne. Il est cependant intéressant de noter la forte concentration de ce dernier retrouvée dans l'analyse pétiolaire des vignes biodynamiques par rapport au raisonné. La mobilité du cuivre est-elle due aux pratiques culturales ?

Dans le cas de l'azote, il est à noter un faible pourcentage en azote pour les vignes biodynamiques : une cinétique protéosynthèse/protéolyse serait à réaliser sur les feuilles des deux cépages.

Pour le fer, les analyses du sol donnaient des valeurs > 50, les analyses pétiolaires témoignent d'une excellente assimilation pour le biodynamique alors qu'un véritable blocage survient dans la Syrah raisonnée. Ces données devront être confirmées en 2004 pour donner lieu à une interprétation. Il apparaît cependant que le feuillage Biodynamique était « de visu » nettement plus vert et plus vigoureux.

Dans le cas du Phosphore, il est admis que la nutrition est normale quand $0,1 < P < 0,18$.

Pour le vignoble Biodynamique le taux est très élevé (0,7 et 0,39) relevé dans l'analyse pétiolaire correspond à une concentration anormalement élevée décelée dans l'analyse du sol (0,5 à 1,2 contre 0,13 à 0,43 pour le raisonné).

Les deux vignobles étant situés sur le même substrat géologique, les différences observées résultent des techniques culturales différentes.

Sachant que l'alimentation en phosphore est à la base des mécanismes énergétiques de la cellule (ADP, ATP...) il conviendra ultérieurement de rechercher quel est le traitement qui conditionne une telle richesse du sol et par conséquent une telle nutrition. Un impact sur les microorganismes telluriques est à envisager.

4) Etude des Composés phénoliques

1. Objectif

L'étude a pour but d'évaluer les composés phénoliques présents dans les feuilles de vigne issues de parcelles conduites en **culture biodynamique** en comparaison avec des parcelles conduites en **culture raisonnée**.

Les polyphénols, et plus particulièrement le resvératrol, sont des molécules issues du métabolisme secondaire impliquées dans les mécanismes de défense de la plante. L'étude est menée sur deux cépages rouges : le grenache et la syrah.

2. Détails de l'expérimentation

2.1. Prélèvements

Des prélèvements à raison de 50 feuilles par parcelle ont été réalisés de manière aléatoire à des stades repères de la vigne : grappes visibles, floraison, grappes fermées, véraison puis maturité.

L'étude porte sur 4 parcelles : deux parcelles, syrah et grenache, « biodynamiques » et deux parcelles, syrah et grenache, « raisonnées » choisies sur le même terroir à proximité du précédent (300 mètres).

2.2 Evaluation des Polyphénols Totaux (PPT) sur feuilles de vigne par Spectrophotométrie UV/Visible

Protocole Expérimental :

1. *Extraction : Prélever les feuilles. Peser environ 2g de feuilles fraîches. Homogénéiser les feuilles dans un mélange 85/15 (v/v) méthanol/eau avec un Ultra Turrax pendant 5min. Filtrer sous vide avec un entonnoir filtrant (porosité 4). Traiter le filtrat avec 2X30ml d'Hexane pour éliminer les composés non polaires. Séparer les deux phases et conserver la phase inférieure. Récupérer la phase inférieure et évaporer à sec (<40°C). Redissoudre l'extrait polyphénolique dans 7ml de méthanol.*

2. *Analyse des PPT par spectrophotométrie UV/Visible :*

- *Prise d'essai de 50µl d'extrait polyphenolique*
- *1ml de Folin Ciocalteu*
- *attendre 5min puis 2ml de solution de carbonate de sodium à 20%*
- *7ml d'eau*
- *Après 30min , prendre absorbance à 725nm*
- *Exprimer en mg d'équivalent acide caféique par g de Matière Fraîche.*

2.3 Dosage du resvératrol sur feuilles de vigne par Chromatographie Liquide Haute Pression (CLHP)

Protocole Expérimental :

1. *Extraction : similaire aux PPT*
2. *Analyse du resvératrol sous ses quatre formes isomériques par **Chromatographie Liquide Haute Pression** :*

- *Filtrer l'extrait polyphénolique obtenu avec filtre millipore 0.22µm.*
- *Verser l'extrait dans un flacon opaque puis disposer dans l'injecteur de la chaîne CLHP.*

Les conditions chromatographiques sont les suivantes :

- ◇ *Colonne : Superspher RP-18e*
- ◇ *Pré-colonne : LiChrospher RP-18*
- ◇ *Phase mobile : Solvant A : acide acétique-eau (6/94 v/v) ;*

Solvant B : acide acétique-eau-acétonitrile (5/65/30 v/v/v)

- ◇ *Température de la colonne : 22°C±0.5°C*
- ◇ *Débit :0.5 ml/min*
- ◇ *Gradient d'élution*

| <i>Temps</i> | <i>A</i> | <i>B</i> |
|--------------|------------|------------|
| <i>(min)</i> | <i>(%)</i> | <i>(%)</i> |
| 0 | 100 | 0 |
| 5 | 70 | 30 |
| 45 | 0 | 100 |
| 57 | 0 | 100 |

◇ *Volume injecté :20µl*

◇ *Détection UV : à 306nm pour trans-resvératrol et trans-picéide et à 285nm pour cis-resvératrol et cis-picéide.*

• *Exprimer en µg de resvératrol aglucone par g de Matière Fraîche.*

3. *Resvératrol et Polyphénols totaux : résultats sur feuilles et baies*

Parcelles « Biodynamiques »

• SYRAH

| Prélèvements | Stade | Resvératrol total (1) | PPT (2) |
|--------------|------------------|-----------------------|---------|
| 23/04/2003 | Grappes visibles | 0.88 | 2.19 |
| 27/05/2003 | Floraison | 0.80 | 8.59 |
| 24/06/2003 | Grappes fermées | 0.70 | 10.54 |
| 30/07/2003 | Véraison | n.d. (3) | 10.71 |
| 01/09/2003 | baies | n d | 19,54 |

(1) en µg de resvératrol (forme aglucone) par g de Poids Frais

(2) en mg « équivalent acide cafeique » par g de Poids Frais

(3) n.d. : non détecté

• GRENACHE

| Prélèvements | Stade | Resvératrol total (1) | PPT (2) |
|--------------|------------------|-----------------------|---------|
| 23/04/2003 | Grappes visibles | 1.89 | 9.04 |
| 27/05/2003 | Floraison | 1.78 | 16.32 |

| | | | |
|------------|-----------------|----------|-------|
| 24/06/2003 | Grappes fermées | 0.64 | 11.35 |
| 30/07/2003 | Véraison | n.d. (3) | 13.19 |
| 01/09/2003 | baies | n d | 8,66 |

(1) en µg de resvératrol (forme aglucone) par g de Poids Frais

(2) en mg « équivalent acide cafeique » par g de Poids Frais

(3) n.d. : non détecté

► Parcelles « Raisonnées »

- SYRAH

| Prélèvements | Stade | Resvératrol total (1) | PPT (2) |
|--------------|------------------|-----------------------|---------|
| 23/04/2003 | Grappes visibles | 1.98 | 5.31 |
| 27/05/2003 | Floraison | 0.86 | 8.02 |
| 24/06/2003 | Grappes fermées | 0.82 | 7.61 |
| 30/07/2003 | Véraison | n.d. (3) | 7.40 |
| 01/09/2003 | baies | 0,95 TR (4) | 20,88 |

(1) en µg de resvératrol (forme aglucone) par g de Poids Frais

(2) en mg « équivalent acide cafeique » par g de Poids Frais

(3) n.d. : non détecté

(4) TR : transresvératrol

- GRENACHE

| Prélèvements | Stade | Resvératrol total (1) | PPT (2) |
|--------------|------------------|-----------------------|---------|
| 23/04/2003 | Grappes visibles | 1.58 | 8.36 |
| 27/05/2003 | Floraison | 1.37 | 14.47 |
| 24/06/2003 | Grappes fermées | 0.80 | 14.49 |
| 30/07/2003 | Véraison | n.d. (3) | 11.91 |
| 01/09/2003 | baies | n d | 9,43 |

(1) en µg de resvératrol (forme aglucone) par g de Poids Frais

(2) en mg « équivalent acide cafeique » par g de Poids Frais

(3) n.d. : non détecté

Feuilles rouges (Fr) et vertes (Fv) après récolte (8/10/2003)

| | Trans-picéide | T-Resvératrol | Cis-picéide | C-Resvératrol | PTT |
|------|---------------|---------------|-------------|---------------|--------------|
| | (1) | (1) | (1) | (1) | (2) |
| FrGB | nd | 1,89 | nd | nd | 15,39 |
| FrSB | nd | 1,47 | nd | nd | 11,25 |
| FrGr | nd | 3,54 | nd | nd | 10,96 |
| GB | nd | nd | nd | nd | 9,48 |
| SB | nd | nd | nd | nd | 6,05 |
| GR | nd | nd | nd | nd | 5,30 |

(1) en µg de resvératrol (forme aglucone) par g de Poids Frais

(2) en mg « équivalent acide cafeique » par g de Poids Frais

(3) n.d. : non détecté

Dosage du resvératrol sur les vins mocépages biodynamiques (Syrah et Grenache)

08/10/2003

| | Trans-picéide | T-Resvératrol | Cis-picéide | C-Resvératrol |
|----------|---------------|---------------|-------------|---------------|
| Syrah | nd | nd | nd | nd |
| Grenache | nd | nd | nd | nd |

4) Anthocyanes,

Nous avons étudié 5 anthocyanes monoglucosides en CLHP :

Delphinidine (DpGlc), Cyanidine (CyGlc), Pétunidine (PtGlc), Paeonidine (PnGlc)

ainsi que les formes acétylées de la Paeonidine (PnAc) et de la Malvidine (MvAc) et les formes Coumarylées de la Paeonidine (PnCou) et de la Malvidine (MvCou).

Soit 9 anthocyanes.

a) Résultats sur feuilles

Deux lots de feuilles on été récoltés sur les deux cépages (Syrah : S) et grenache (G). et pour les deux conduites biodynamique (B) et raisonné (R) :

- des feuilles entièrement vertes (Fv)
- des feuilles entièrement rouges (Fr)

| | DpGlc | CyGlc | PtGlc | PnGlc | MvGlc | PnAc | MvAc | PnCou | MvCou | Total |
|------|-------|-------|-------|--------|-------|------|------|-------|-------|---------------|
| FrGB | n d | n d | n d | 199,6 | 9,93 | n d | n d | 3,85 | n d | 213,38 |
| FrSB | nd | nd | nd | 306,25 | nd | 4,03 | nd | 19,33 | nd | 329,61 |
| FrGR | nd | nd | nd | 253,19 | nd | nd | nd | 9,10 | nd | 262,29 |
| FvGB | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| FvSB | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| FvGR | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |

ndFr : feuilles rouges

Fv : feuilles vertes

Les résultats sont exprimés en mg/kg de raisin, *baies prélevée le 08/10/2003*

b) Résultats sur baies

| | DpGlc | CyGlc | PtGlc | PnGlc | MvGlc | PnAc | MvAc | PnCou | MvCou | Total |
|----|-------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|---------------|
| GB | 19,50 | 8,99 | 20,95 | 49,35 | 156,86 | 0,54 | 4,20 | 5,44 | 16,27 | 282,12 |
| GR | 24,94 | 19,18 | 25,54 | 75,44 | 160,22 | 0,97 | 5,34 | 6,58 | 15,69 | 333,91 |
| SB | 47,31 | 7,55 | 63,07 | 68,81 | 396,48 | 7,88 | 74,44 | 37,61 | 168,49 | 871,64 |
| SR | 28,28 | 5,07 | 41,73 | 43,75 | 301,99 | 12,37 | 114,51 | 34,94 | 159 | 741,64 |

Les résultats sont exprimés en mg/kg de raisin, *baies prélevée le 01/09/2003*

Pour les deux cépages on observe une décroissance allant jusqu'à une absence de resvératrol à la véraison. Ce phénomène courant a déjà été décrit dans la littérature. La syrah « raisonnée » présente des teneurs plus fortes que la syrah « biodynamique » mais ce phénomène est inversé pour le grenache.

Les teneurs en PPT varient beaucoup ainsi il est difficile d'extraire des informations précises de ces données. Il est important de noter que les polyphénols sont des phytoncides présents naturellement dans la vigne ou toute autre plante. Par conséquent, il est difficile d'évaluer un stress uniquement par le dosage des polyphénols totaux.

Analyse des résultats

Resvératrol :

Pour les feuilles, les quatre formes isomériques du resvératrol ont été dosées. On constate que les feuilles rouges ne renferment que du trans-resvératrol.

Une cinétique des dosages réalisés tout au long du processus de maturité (grappes visibles, floraison, grappes fermées, et véraison) montre pour les deux conduites et les deux cépages une disparition progressive du taux de resvératrol.

Pour les baies, le cépage Syrah renferme plus de deux fois plus de resvératrol que le grenache. Les conduites culturales ne modifient pas les concentrations en resvératrol.

Pour le vin, aucune forme moléculaire de resvératrol n'a été retrouvée dans le vin.

Anthocyanes

- *pour les feuilles*, on observe une quantité très importante d'anthocyanes dans les feuilles rouges. Les feuilles vertes en sont dépourvues. La forme Paeonidine monoglucoside est alors la forme majeure.
- *Pour les baies*, c'est dans les baies du cépage Syrah que les anthocyanes sont les plus abondantes. On n'observe pas de différence significative entre les deux conduites.

Polyphénols totaux

Pour les baies, la Syrah renferme plus de deux fois plus de polyphénols totaux que le grenache.

Une cinétique des dosages réalisés tout au long du processus de maturité (grappes visibles, floraison, grappes fermées, et véraison) montre pour les deux conduites et les deux cépages une augmentation progressive des polyphénols totaux.

Dans les feuilles rouges la concentration en PTT est significativement supérieure à celle trouvée dans les feuilles vertes.

4) Etude cytologique

Les baies de raisin ont été collectées le même jour (2003) sur les deux parcelles, pour les deux cépages.

Fixation : glutaraldéhyde

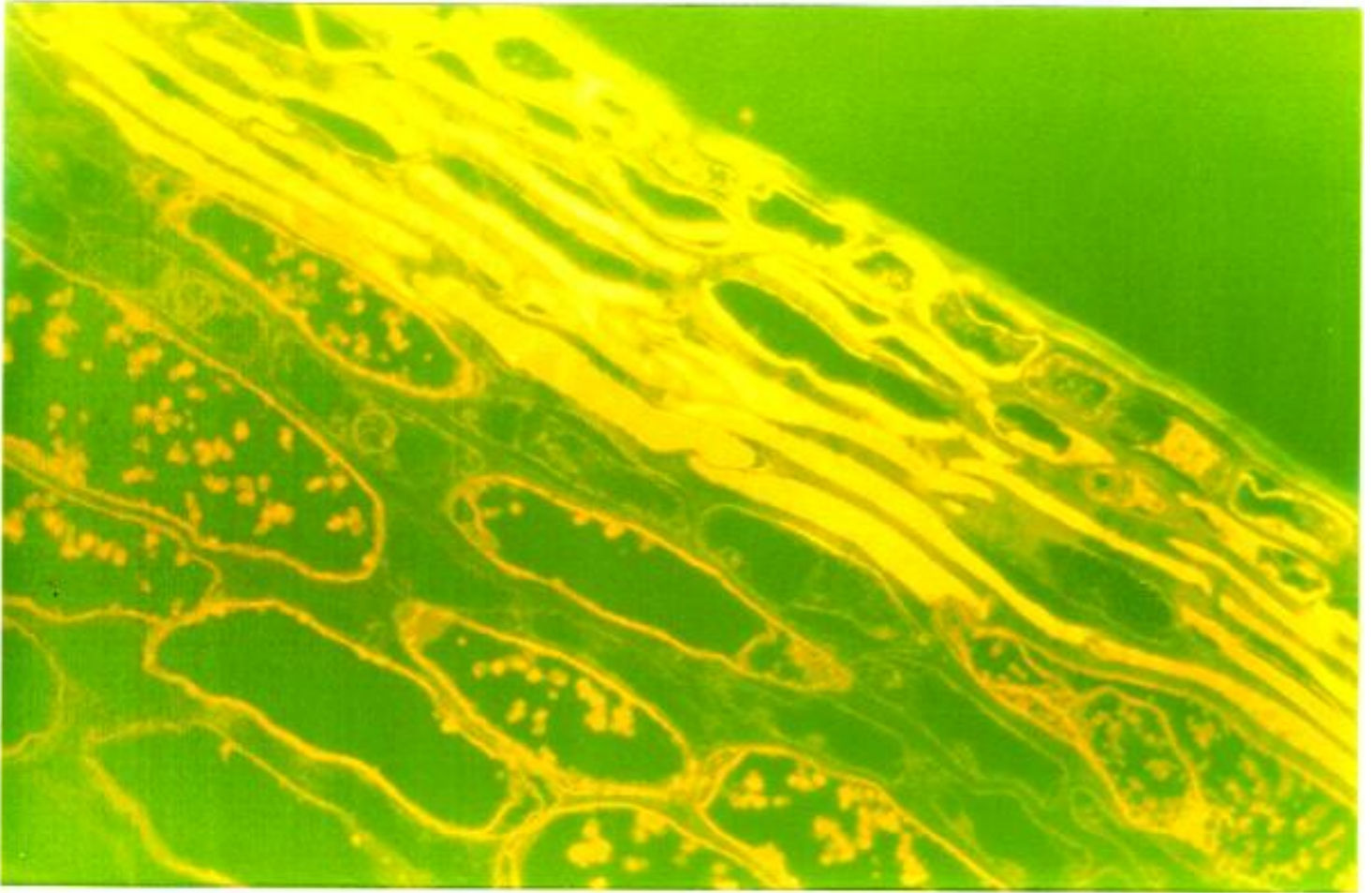
Déshydratation

Inclusion

Coupes à l'aide d'un Ultramicrotome Richert.

Observation à l'aide d'un Microscope à fluorescence

Les phénols fluorescent en jaune, ils sont principalement localisés dans les parois, les stérinoplastes et dans les vacuoles.



Syrah Biodynamie (SB)

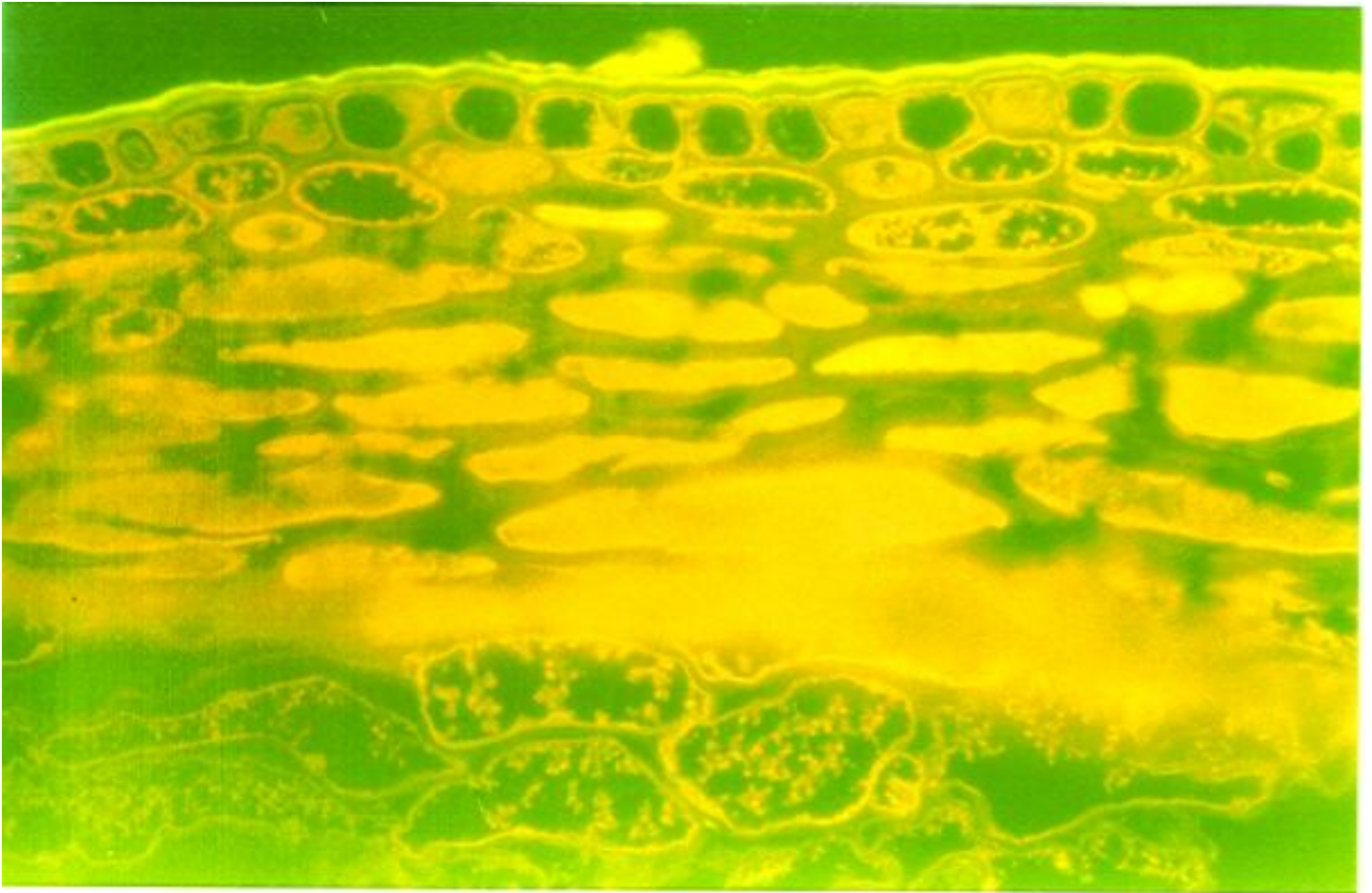
Interprétation

*La cuticule est régulière et normalement structurée : elle ne témoigne pas, sur l'ensemble des préparations observées, d'altérations qui pourraient être dues à des stress exogènes.

*L'épiderme est constitué de cellules rectangulaires dont les parois sont riches en phénols.

*La pellicule est stratifiée en deux couches de cellules : **1** cellules allongées et jointives dont les vacuoles renferment des phénols, uniformément répartis, qui fluorescent en jaune. **2** des cellules plus dilatées par hydratation dont les vacuoles renferment des phénols condensés ou tanins. Les parois renferment peu ou pas de phénols et sont dilatées. Noter la présence de stérinoplastes.

*La pulpe est constituée de larges cellules très pauvres en phénols mais riches en sucres. Les espaces interpariétaux deviennent considérables.



Syrah raisonné (SR)

Interprétation

*la cuticule, normalement structurée, témoigne d'une fluorescence jaune plus importante que chez SB. Sur d'autres coupes il est possible d'observer des ruptures.

*L'épiderme est également normalement constitué et présente des cellules à fort épaissement pariétal.

*la pellicule est formée de deux couches. **1** avec des cellules beaucoup plus dilatées que chez SB et des espaces interpariétaux vacuolisés très importants ; elles renferment des phénols vacuolaires uniformément répartis. De plus, on note, près de l'épiderme, la présence de nombreuses cellules renfermant des tanins. **2** la deuxième couche de la pellicule, plus interne et mitoyenne de la pulpe est constituée de cellules dilatées renfermant de nombreux tanins.

CONCLUSIONS

Ces observations confirment celles réalisées en 2002 sur des cépages de Châteauneuf du Pape :

Les baies biodynamiques présentent une meilleure structure tissulaire.

Il est cependant important de noter que 2003 fut soumis à des conditions climatiques extrêmes supportées de la même façon dans les deux vignobles qui se situent géographiquement proches l'un de l'autre.

Les phénols cellulaires constituant l'une des principales barrières de défense de la baie, on constate qu'ils sont répartis dans toute l'épaisseur de la pellicule avec une compartimentation qui correspond à des fonctions particulières.

Ils sont présents dans le parois de l'épiderme, tissu qui est le plus exposé aux agressions extérieures. Diffus dans les vacuoles des cellules de la pellicule de la zone 1. Enfin, polycondensés sous la forme de tanins dans les vacuoles de la zone 2. Ils disparaissent dans les cellules de la pulpe qui se spécialise dans l'accumulation des sucres.

Les baies issues du raisonné ont une pellicule moins bien organisée du point de vue cellulaire, les cellules sont plus dilatées (hydratation due à un stress), les espaces interpariétaux sont très importants et l'ordonnance tissulaire est perturbée : on retrouve des cellules possédant des vacuoles à tanins dans la couche sous épidermique. Cette modification est probablement due à un stress extérieur (autre que les conditions climatiques). Même constatation en ce qui concerne la zone 2 de la pellicule avec une très forte augmentation des globules tanniques intravacuolaires par rapport au SB.

Il paraît évident qu'une bonne préservation de la structure tissulaire physiologique d'une baie conditionnera une bonne constitution phénolique et tannique et, par voie de conséquence, une bonne vinification au cours de laquelle il ne sera pas nécessaire d'intervenir par des artifices œnologiques.