



Journée Technique

**Prévenir et limiter les altérations nommées
Goûts Moisis-Terreux**

Jeudi 10 avril 2008



Institut Français de la Vigne et du Vin (ENTAV – ITV France)

46, Avenue Gustave Eiffel – BP 39537 – 37095 Tours Cedex 2 – Tél. 02 47 88 24 20 – Fax 02 47 88 24 21

Siège : Domaine de l'Espiguette – 30240 Le Grau du Roi - Tél. 04 66 51 62 53 – Fax 04 66 53 29 16

www.entav.fr et www.itvfrance.com - Loi de 1948 – SIRET 775 878 390 00019 – NAF : 911 C



Origine des déviations nommées GMT

Stéphane LA GUERCHE (SARCO)

Laurence GUERIN (IFV – Tours)

Déviations fongiques et terreuses des raisins et des vins Composés et microorganismes impliqués

Stéphane LA GUERCHE^{1,3},

B. Vacher¹, D. Blancard², B. Dauphin¹, M. Pons¹, P. Sauris² & P. Darriet¹

¹ UMR1219 Œnologie, Université Victor Segalen Bordeaux 2, INRA, ISVV, 351 cours de la libération, 33405 Talence /

² INRA, UMR 103 Santé Végétale, ISVV, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon / ³ Laboratoire SARCO, filiale de recherche du groupe Laffort et de Lamothe Abiet, BP40, 33072 Bordeaux

La récolte de vendanges botrytisées, marquées par des odeurs fongiques ou moisies n'est pas un phénomène récent (1). Cependant, au cours de ces dernières années, plusieurs défauts aromatiques à caractère fongique, moisi ou terreux associés au développement plus ou moins visible de pourritures sur les raisins ont été mis en évidence dans des vins de différentes régions viticoles (Bordelais, Beaujolais, Val de Loire, Bourgogne).

Les premiers travaux ont permis d'identifier dans les vins un composé présentant une forte odeur de terre humide, de betterave : il s'agit de la (-)-géosmine (2, 3). Toutefois, la géosmine n'est pas le seul composé responsable du caractère moisi terreux des vins. D'autres défauts fongiques et/ou terreux sont également apparus dans différents vignobles français (4). L'importance des préjudices causés par ces problèmes sur la qualité des vins de nombreux cépages (Cabernet Sauvignon, Sémillon, Gamay, Chenin, Pinot noir) a donc motivé une étude approfondie visant, d'une part, à caractériser la nature des défauts associés à ces odeurs fongiques ou terreuses et, d'autre part, à préciser leur origine biologique et les conditions de leur expression au vignoble (5).

Des prélèvements réalisés dans différentes régions viticoles au cours des 10 derniers millésimes ont conduit à observer diverses formes de pourritures à la surface et au cœur des grappes (6). *Botrytis cinerea* a majoritairement été retrouvé et, à un moindre degré, plusieurs espèces de *Penicillium* (*P. expansum*, *P. thomii*, *P. purpurogenum*, *P. brevicompactum*, *P. glabrum* ...). D'autres genres fongiques ont aussi été révélés. Ces champignons sont souvent retrouvés sous la forme de complexes parasitaires en association avec *B. cinerea*, le complexe *B. cinerea/Penicillium* spp. étant le plus fréquent.

Les potentialités de production de composés à odeurs terreuses ont été évaluées pour chaque champignon sur différents milieux, y compris après pré-culture par *B. cinerea*. Ces aptitudes varient d'une espèce à l'autre, voire entre isolats d'une même espèce (4). Il a été démontré sur jus et broyat de raisins le rôle préliminaire indispensable de *B. cinerea* dans l'induction de la synthèse de géosmine par *P. expansum* (7, 8).

Afin d'évaluer l'aptitude de ces champignons à générer des pourritures, la pathogénicité de 37 *Penicillium* spp. a également été déterminée sur baie de raisin par notation d'un indice de pourriture sur baie (IPB). Un groupe constitué par les isolats de *P. expansum* présente les valeurs d'IPB les plus élevées, alors que les autres espèces présentent des IPB relativement faibles (6). Ces connaissances permettent de mettre en évidence la forte incidence de complexes entre *B. cinerea* et des pourritures secondaires des raisins, dans la genèse de défauts aromatiques.

(1) Ribéreau-Gayon, J. & Peynaud, E. 1964. *Traité d'Oenologie*. Paris : Béranger.

(2) Darriet et al. 2000. *J Agric Food Chem* **48**, 4835-4838.

(3) Darriet et al. 2001. *Eur Food Res Technol* **213**, 122-125.

(4) La Guerche et al. 2006. *J Agric Food Chem* **54**, 9193-9200.

(5) La Guerche S. 2004. *Thèse de doctorat* Université Victor Segalen Bordeaux 2.

(6) La Guerche et al. 2007. 8^{ème} *Symposium International d'œnologie*. Bordeaux, Juin 2007.

(7) La Guerche et al. 2005. *Antonie Van Leeuwenhoek* **88**, 131-139.

(8) La Guerche et al. 2007. *Antonie Van Leeuwenhoek* **92**, 331-341.

Schémas épidémiologiques des déviations nommées Goûts Moisis-Terreux (GMT) dans différents vignobles

Laurence GUERIN⁽¹⁾, F. GUYOT⁽¹⁾, B. VINCENT⁽²⁾, et V. LEMPEREUR⁽³⁾
Institut Français de la Vigne et du Vin – Unités de Tours⁽¹⁾, Beaune⁽²⁾, Villefranche/Saône⁽³⁾

Les déviations nommées goût moisi-terreux (GMT) sont signalées depuis plusieurs années dans différents vignobles français, dans des vins blancs, rouges et rosés. Cette problématique est liée à l'état sanitaire du raisin et a des conséquences dépréciatrices sur la qualité organoleptique des vins.

Une partie des études menées par l'IFV, à ce jour, s'appuie sur la caractérisation de l'écosystème fongique des raisins, à la fois sur l'étude de sa diversité et sur la recherche des micro-organismes producteurs de géosmine, principal composé de ce caractère terreux.

Au cours du Millésime 2004, il a été possible de suivre un ensemble de parcelles sur les régions viticoles de Bourgogne, Bordeaux, Alsace, Beaujolais et Val de Loire.

Les analyses microbiologiques ont été réalisées à partir d'un prélèvement de 200 baies représentatif de la parcelle ; celui-ci est lessivé à l'aide d'une solution à 2% de Tween 80.

L'analyse microbiologique est réalisée à partir de cette eau de lavage en utilisant le milieu de culture Dichloran Rose Bengale Chloramphénicol (DRBC). Les isolements et purification des différentes souches sont réalisés sur des milieux tels que le DRBC et le Czapek Yeast Agar (CYA).

Les identifications des souches sont réalisées dans un premier temps sur des milieux spécifiques (CYA, MEA,...) et par microscopie, puis complétées par de la biologie moléculaire, notamment les ITS et/ou par séquençage.

La capacité de production en géosmine, des souches isolées et identifiées, est réalisée sur milieu gélosé CYA, qui après broyage est dosée par SPME-GC – MS/MS au département Sciences pour l'Oenologie (SPO) de l'INRA de Montpellier.

Le millésime 2004 a été marqué par les caractères fongiques.

Si l'on considère en premier la répartition des espèces fongiques des différents vignobles concernés par l'étude (schéma n°1), on remarque des proportions équivalentes, quel que soit le vignoble, concernant les moisissures des genres *Botrytis sp.*, *Cladosporium sp.*, *Alternaria sp.*, *Mucor sp.*, *Geotrichum sp.*, ainsi que le genre *Penicillium* ; cependant, seules quelques souches d'*Aspergillus sp.* sont retrouvées sur les vignobles du Beaujolais, de Bourgogne et du Val de Loire.

L'étude s'est portée plus précisément sur les moisissures du genre *Penicillium*, du fait de leur capacité de production en géosmine, répertoriée dans la bibliographie (1).

Ainsi, on peut remarquer que l'espèce *P.expansum* est retrouvée majoritairement dans les vignobles de Bordeaux, d'Alsace, du Val de Loire, mais plus faiblement en Beaujolais et pas du tout en Bourgogne, à l'inverse de l'espèce *P.purpurescens* ; en proportion plus faible, des souches de *P.minioluteum*, *brevicompectum*, *spinulosum* et *purpurogenum* ou *restrictum*.

Ces souches ainsi répertoriées et identifiées sont testées en capacité de production en géosmine et il a été défini, :

Pour le Beaujolais : *Botrytis*, *P.thomii*, *P.expansum* et *P.purpurescens*

Pour la Bourgogne : *Botrytis*, et *P.purpurescens*

Pour le Val de Loire : *P.janczewski*, et *P.expansum*

A partir de l'étude de ces souches productrices, deux modes de production ont pu être validés sur raisins :

- un mode dit « autonome », c'est à dire sans la nécessité de la présence notamment de *Botrytis sp.* ; ce qui est le cas ici de *P.thomii* et les souches de *P.expansum*
- un mode dit « secondaire », pour lequel la présence de *Botrytis sp.* semble nécessaire ; ce qui est le cas ici de *P.purpurescens*.

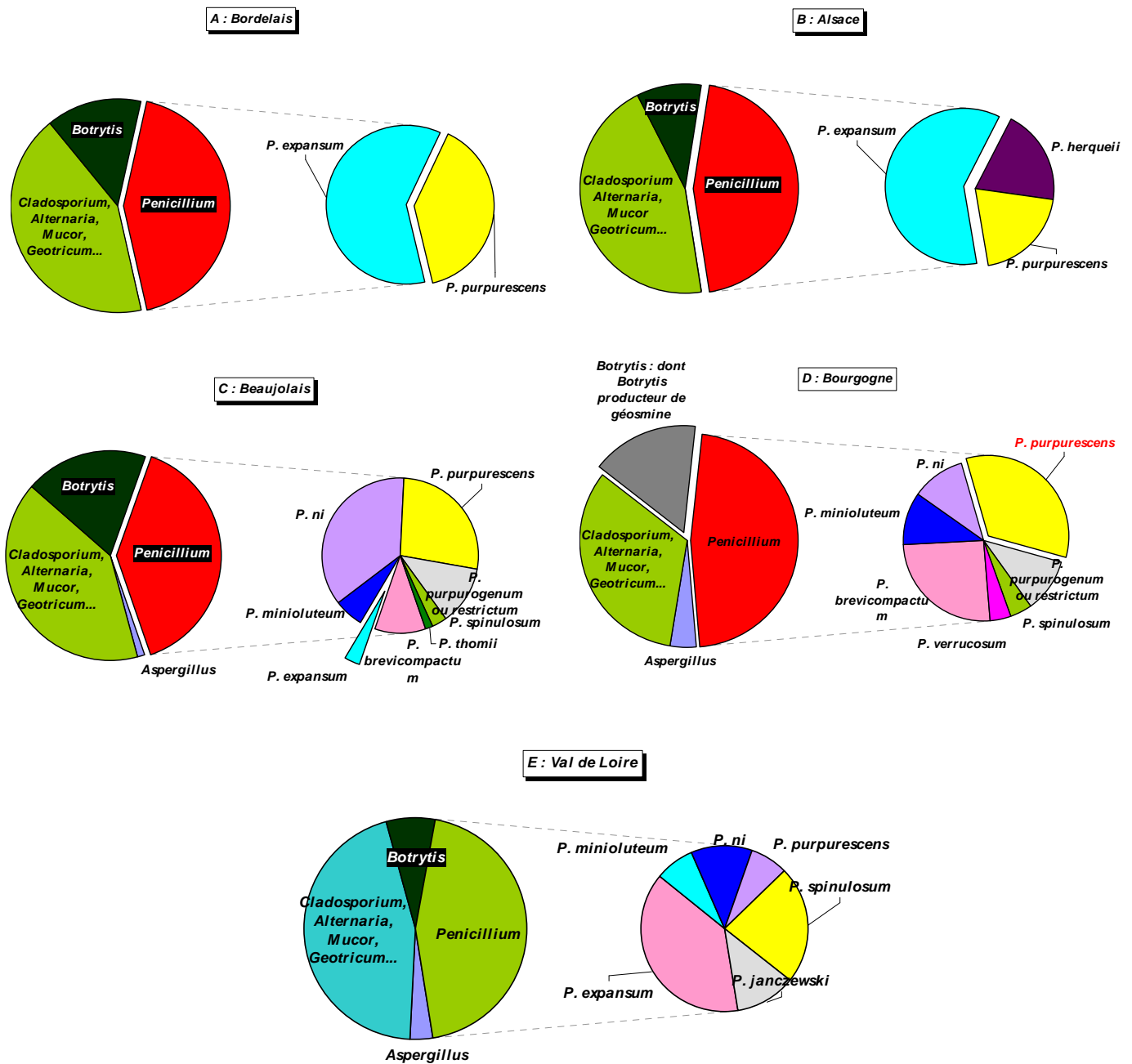
Il apparaît que la diversité fongique et plus particulièrement la diversité liée au genre *Penicillium* est importante, mais à l'exception de l'espèce *P.expansum*, l'ensemble des espèces identifiées sont retrouvées dans l'ensemble des vignobles étudiés.

Il apparaît que deux modes de production de géosmine puissent exister, parmi les souches isolées et testées : un mode dit autonome – un mode dit secondaire. L'ensemble de ces résultats montre la difficulté d'établir un modèle unique expliquant notamment la production de géosmine par les moisissures présentes sur les raisins.

Bibliographie :

(1) Matheis J-P., Roberts R-G. *Applied Environmental Microbiology*, 1992, Vol 58, n°9, 3170-3172.

Schéma n°1: Répartition de moisissures par vignoble – Millésime 2004





Gestions Viticoles des GMT

Réseaux conduits en Indre et Loire

Pascal MALLIER (Chambre d'Agriculture 37)

Réseaux conduits en Loir et Cher

Michel BADIER (Chambre d'Agriculture 41)

Réseaux conduits en Beaujolais

Caroline LEROUX (Chambre d'Agriculture 69)

Réseau d'Alerte du Chenin (RAC)

Pascal MALLIER, Chambre d'Agriculture d'Indre et Loire

Depuis 2002, le RAC est un système d'alerte des viticulteurs cultivant le cépage Chenin à l'est de Tours, vis-à-vis des GMT (Goûts moisis-terreux). Ce réseau est constitué de 7 parcelles réparties sur les AOC Montlouis et Vouvray. Il sert également à comprendre le mécanisme des GMT à travers les différentes conduites culturales des parcelles. Les sept parcelles sont exploitées par cinq viticulteurs partenaires du RAC avec l'IFV. Parmi ces parcelles, deux sont choisies comme témoins (sans GMT avant 2002).



Trois à six observations sanitaires sont effectuées selon un protocole évolutif depuis 2002, entre la véraison et le surmaturité.

Parallèlement, les grappes observées sont prélevées en vue de l'extraction de 30 l de moût pour mesure de la géosmine.

L'observation sanitaire porte sur Botrytis cinerea et les moisissures vertes

Ce test prédictif permet d'évaluer le risque GMT et d'informer les viticulteurs en 4 à 5 jours par voie de presse professionnelle. Simultanément, l'IFV réalise un prélèvement de baies pour identifier ultérieurement d'éventuels microorganismes producteurs de GMT. La mesure de la géosmine a commencé en 2004 sur les deux derniers prélèvements (maturité et surmaturité). Compte tenu des teneurs élevées (>100 ng/l) sur certaines parcelles, il eut été possible de prévenir la situation subie en 2004.

Ensuite, les millésimes 2005 et 2006 ne donnent pas lieu à une alerte généralisée. En effet, les teneurs sont très faibles en 2005 (été sec), faibles en 2006, malgré une pluviométrie importante et tardive qui favorise le *Botrytis*. Au contraire, 2007 permet d'alerter les viticulteurs pour les parcelles de Chenin habituellement sensibles, une semaine avant le début des vendanges.

Par ailleurs, le RAC constitue un support pour comprendre l'apparition des GMT. Si le rôle du *Botrytis* n'est pas élucidé, celui du sol et du microclimat parcellaire le devient. Ainsi, la plupart des sols des parcelles sensibles ressuyent lentement après les pluies, générant un microclimat plus favorable aux moisissures d'altération (cf. stations météo dans les parcelles).

Globalement, le RAC est un outil de prévision intéressant à l'échelle d'une petite région viticole et dans l'état actuel des connaissances sur l'apparition des GMT. Il deviendra peut-être obsolète lorsqu'un indicateur précoce (R-30) permettra d'évaluer par exemple la sensibilité de la pellicule aux moisissures ou lorsqu'un outil permettra de modéliser les risques *Botrytis* et GMT.

A l'échelle de l'exploitation viticole, le test prédictif avant la récolte (dégustation du moût, mesure de la géosmine) permet d'affiner l'information fournie par le RAC pour organiser les vendanges et orienter les vinifications.



Gestions Viticoles des GMT

Moyens de maîtrise des GMT au vignoble

Pascal MALLIER (Chambre d'Agriculture 37)

Caroline LEROUX (Chambre d'Agriculture 69)



Gestion viticole des GMT en Touraine

Pascal MALLIER, Chambre d'Agriculture d'Indre et Loire

La recrudescence des GMT sur Gamay et Chenin en Touraine a un impact économique pour les exploitants. Si les principales causes sont désormais connues, les facteurs aggravants l'étaient beaucoup moins. C'est pourquoi différentes expérimentations sont menées par la Chambre d'Agriculture en partenariat avec l'IFV, des firmes, voire des distributeurs de produits phytosanitaires. Ces études permettent maintenant d'apporter quelques solutions concrètes pour ces deux cépages.

Plusieurs paramètres de la conduite viticole sont testés depuis 2004. La mesure de la géosmine dans le moût constitue le principal indicateur d'efficacité. Les facteurs étudiés sont sélectionnés parmi ceux exerçant déjà une action réductrice sur la pourriture grise.

Dans les conditions climatiques rencontrées en Touraine, il ressort d'abord que les actions visant à aérer la zone fructifère limitent efficacement la propagation de *Botrytis cinerea* et de moisissures vertes. Ainsi, l'effeuillage double face, couplé ou non avec la vendange en vert, l'usage du Bérélex réduisent fortement et de façon durable la teneur en géosmine jusqu'en début de surmaturité.

Les fongicides de synthèse anti-*Botrytis* constituent une autre solution intéressante dès lors qu'un programme à deux traitements (Cantus + Scala ou Switch + Sekoya) est effectué. D'autres choix de fongicide peuvent s'avérer aléatoires vis-à-vis de la géosmine.

Parmi les techniques efficaces citées ci-dessus, une association et une alternance sont recommandées pour améliorer l'efficacité dans le temps et pour éviter un risque éventuel de résistance de certaines moisissures ou un effet secondaire sur la vigne.

Les différents essais permettent également de mettre à jour l'inefficacité vis-à-vis des GMT de certains engrais foliaires à base de calcium (Chloral, Movical, Megagreen, Fermibaie), de certains SDN (Stimulase), de fongicides biologiques (Sérénade ; à base de Trichoderma ; Kanne), d'un biostimulant (Ecobios).

Dès 2008, il devient donc possible de réduire le risque GMT sur les parcelles connues à risque, en mettant en oeuvre des mesures fixes (drainage avant plantation, enherbement permanent) ou des mesures annuelles (effeuillage, traitements,...). La finalité étant d'abaisser le niveau de géosmine sous le seuil de perception sans perdre de vue la maîtrise du *Botrytis* et la qualité du raisin.

Prévenir et limiter les altérations nommées goûts moisi-terreux ou GMT

Caroline LE ROUX, Chambre d'Agriculture du Rhône/CDB
Valérie LEMPEREUR, IFV – Villefranche/Saône

Bilan des travaux réalisés en Beaujolais (2002-2007)

Depuis quelques années, la pourriture grise (*Botrytis cinerea*) est devenue la principale préoccupation phytosanitaire du vignoble du Beaujolais, notamment avec les altérations qui lui sont associées. En effet, la présence de géosmine au vignoble est indissociable de la pourriture grise.

Depuis l'identification de ce problème en 2002, des travaux ont été menés en Beaujolais pour comprendre ce nouveau phénomène mais également pour apporter des solutions concrètes aux viticulteurs afin d'éviter ce problème.

Pour cela, les réseaux existants ont été renforcés par la mise en place de parcelles de suivi de la géosmine permettant d'alimenter en temps réel le réseau d'alerte sur le vignoble.

Depuis 2003, la Chambre d'Agriculture du Rhône/CDB et l'IFV/SICAREX Beaujolais ont développé des **tests prédictifs** au vignoble. Réalisés à partir de début véraison, ils permettent de juger par l'observation, l'olfaction et l'analyse, de la présence de géosmine sur une parcelle de vignes.

Le **test prédictif** est appliqué sur 100 grappes récoltées en continu sans aucun tri. Ce test consiste à :

- ✓ Observer visuellement chaque grappe, en les découpant. Le *Botrytis*, la pourriture pédonculaire et le pourri sec sont notés, à la fois sur leur intensité et leur fréquence. La présence de moisissures de couleur est également relevée.
- ✓ Sentir chaque grappe découpée. Les foyers de pourris peuvent sentir le terreux, le moisi, etc.
- ✓ Fouler les 100 grappes, déguster le jus obtenu après 10 minutes de macération et doser la géosmine.



L'observation seule ne permet pas de détecter la présence de géosmine. Ici, une grappe sentant la géosmine (Lantignié, 2007).

Caractéristiques d'une grappe à odeur terreuse :

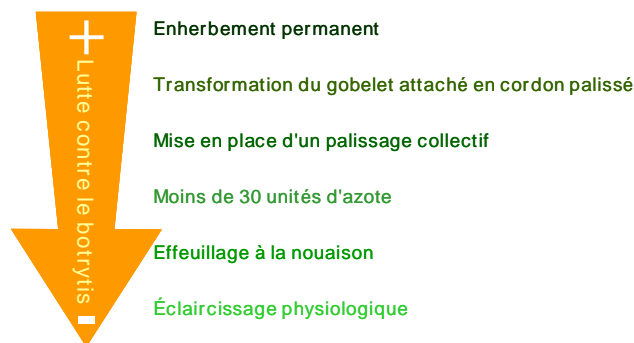
- les grappes saines, sans aucune altération, n'ont jamais montré de géosmine,
- la géosmine peut être présente lorsque qu'il y a de la pourriture grasse seule même à de faibles intensités ou de la pourriture grasse associée (pourriture pédonculaire et moisissures).

En moyenne en Beaujolais (observations 2004 à 2006), une grappe avec de la géosmine présente 38 % de *Botrytis* gras et 31 % de pédonculaire à d'autres altérations (avec ou sans moisissures visibles).

Un pourcentage très faible de grappes altérées suffit à contaminer le jus.

Les mesures prophylactiques à mettre en œuvre :

La lutte chimique intervient en complément, uniquement lorsque l'ensemble des mesures prophylactiques possibles ont été mises en place.



Lutte chimique et géosmine, des résultats de l'année 2004 :

A elle seule, elle ne suffit pas pour éviter la géosmine (analyses des données des essais Botrytis) :

Nombre d'anti botrytis	Botrytis global (% I)	Moisissures (% F)	Géosmine (ng/l)
0	35	23	98
1	21	12	35
2	14	16	29
3	9	11	26

Travaux en cours et futurs :

En plus des travaux concernant les observations, la perception, la dynamique d'apparition de ce phénomène, des essais dans les conditions de la pratique sont mis en place à partir de 2008 pour éviter l'apparition de la géosmine par application des mesures prophylactiques (annuelles ou pluri-annuelles) conjuguée ou non à la lutte chimique spécifique.



Gestion Oenologique et traitements curatifs sur moûts et vins

Gestion œnologique des déviations nommées goûts moisi-terreux

*Laurence GUERIN⁽¹⁾, B.VINCENT⁽²⁾, et V. LEMPEREUR⁽³⁾
Institut Français de la Vigne et du Vin – Unités de Tours⁽¹⁾, Beaune⁽²⁾, Villefranche/Saône⁽³⁾*

L'application de la gestion œnologique sur des moûts et/ou des vins déviés ou suspectés déviés, part du principe que la gestion viticole liée aux problèmes rencontrés a échoué.

La gestion œnologique peut être abordée sous deux angles :

- l'un lié à l'adaptation des itinéraires ; cette approche nécessite une définition précoce des interventions à réaliser (définition des opérations pré fermentaires, minimisation des durées de macération, pressurage direct (définition d'un itinéraire rouge ou rosé),...),
- l'autre lié à l'utilisation de produits œnologiques adaptés et autorisés ; aujourd'hui, seul le charbon à utilisation œnologique semble efficace, par rapport aux autres produits de collage plus couramment utilisés.

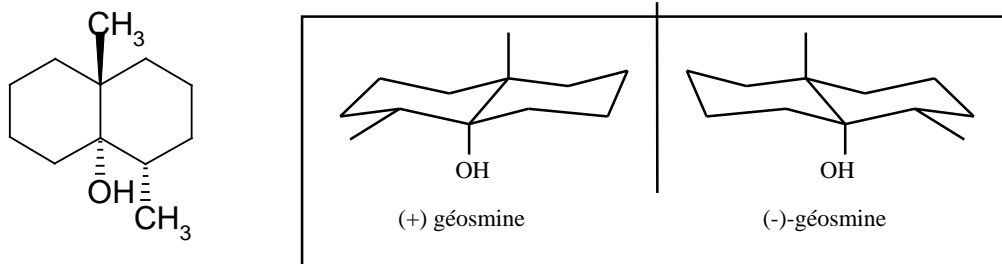
Cependant, la possibilité d'accomplir au mieux la gestion œnologique part d'un postulat assez simple de détection efficace mais surtout pertinente de la déviation nommée goûts moisi-terreux ; outre le recours aux analyses fines, l'outil le plus courant pour le technicien reste la dégustation, qui doit bénéficier d'un entraînement régulier.

Dosage de la géosmine dans les raisins et les vins

Marie-Claude MOUNIER, Laboratoire de Touraine

La Géosmine

La géosmine (*trans*-1,10-diméthyl-*trans*-9-*cis*-decalol) est une molécule organique d'origine naturelle pouvant être produite par divers micro-organismes. Il s'agit d'un alcool tertiaire dérivé du cyclohexanol. De formule brute $C_{12}H_{22}O$, la molécule possède trois carbones asymétriques et existe sous deux formes énantiomères (+)-géosmine et (-)-géosmine.



Analyse

La géosmine est dosée au laboratoire à l'aide d'une technique de microextraction en phase solide (SPME) couplée à une analyse par GC-MS/MS.

Principe de la méthode

La géosmine est adsorbée sur une fibre en polydiméthylsiloxane (PDMS) en mode espace de tête. Les composés volatils sont ensuite désorbés dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse, la séparation des composés volatils est conduite sur une colonne capillaire sous courant d'hélium.

Un spectromètre de masse est utilisé pour la détection.

La quantification est réalisée par rapport à une courbe de calibration établie au préalable.

(La géosmine D5 est utilisée comme étalon interne)

Avantages de la méthode

- la sensibilité est environ mille fois plus faible que celle des techniques classiques d'extraction liquide/liquide,
- le volume d'échantillon nécessaire est faible,
- les risques de pertes en composés volatils sont très limités,
- il n'y a pas d'utilisation de solvant,
- la technique de détection est fiable et spécifique.

Performances de la méthode

Limite de détection : 5 ng/L

Domaine de linéarité : de 5 à 100 ng/L

Prélèvement

Volume de vin nécessaire : 200-250 mL dans un flacon en verre, bouchon à vis

Personne à contacter : Anne CHAUVIN (responsable technique de la section chromatographie du LDT)

CPER 2007 – 2008



***Etudes menées avec le soutien financier de
VINIFLHOR et INTERLOIRE***

