

Déviations fongiques et terreuses des raisins et des vins

Composés et microorganismes impliqués



Stéphane LA GUERCHE
Laboratoire SARCO - Bordeaux



Bertrand VACHER, Brunhilde DAUPHIN, Monique PONS & Philippe DARRIET
Faculté d'Œnologie de Bordeaux

Pierre SAURIS & Dominique BLANCARD
UMR Santé Végétale – INRA Bordeaux

Soutien financier :  Bayer CropScience



 BORDEAUX

Introduction

- De nouveaux défauts aromatiques sont perçus dans les moûts et les vins depuis une quinzaine d'années
- Ce sont principalement des odeurs de moisi, de terre et/ou de champignon
- Ils sont toujours associés à une mauvaise qualité sanitaire de la vendange
- Deux types de défauts :
 - Ceux présents dans les raisins et les moûts mais non perçus dans les vins
 - Ceux présents ou non dans les raisins et les moûts et persistants dans les vins

➡ Etude des potentialités de la mycoflore des baies de raisin à produire des composés terreux



Démarche scientifique



- **Caractérisation des défauts moisissés et terreux**
 - Identification des composés responsables de ces déviations
 - Étude de ces composés (cinétiques d'évolution, dosages dans des grappes, des moûts et des vins)

- **Analyse de la microflore des raisins**
 - Identification phénotypique et moléculaire des microorganismes
 - Évaluation de leur potentialités à produire des défauts
 - Étude du métabolisme des champignons producteurs de composés moisissés et terreux



Principaux composés responsables

Compound	Kovats Indices		Odor	Identification mode ^a	Olfactory perception threshold ^b (µg/L)					
	BP20	BPX5			water	model solution		red wine		
						10% higher	10% higher	10% higher	10% higher	
1 1-octen-3-one	1290	1063	mushroom	GC-O, KI, MS	0.003	0,001	0.03	0,015	0.07	0,03
2 2-heptanol	1320	-	mushroom	GC-O, KI, MS	100	50	-	-	-	-
3 fenchone	1388	1014	earthy-camphor	MS, KI	500	250	-	-	-	-
4 1-octen-3-ol	1438	978	mushroom	GC-O, KI, MS	2	0,5	20	10	40	25
5 unknown	1471	1003	mushroom	GC-O	-	-	-	-	-	-
6 unknown	1528	1344	moss	GC-O	-	-	-	-	-	-
7 2-methylisoborneol	1537	1210	earthy-camphor	GC-O, KI, MS	0,012	0,006	0.04	0,02	0.055	0,04
8 fenchol	1549	1182	earthy-camphor	MS, KI	50 ^c	30	-	-	-	-
9 2-octen-1-ol	1598	1211	mushroom	GC-O, KI	50	40	-	-	-	-
10 unknown	1667	-	earthy	GC-O	-	-	-	-	-	-
11 geosmin	1869	1197	earthy	GC-O, KI, MS	0.01	0,005	0.04	0,015	0.05	0,02
12 unknown	1891	1459	mushroom	GC-O	-	-	-	-	-	-

La Guerche et al., 2006. *J. Agric. Food Chem.*

- Champignon : 1-octen-3-one, 1-octen-3-ol, 2-heptanol, 2-octen-1-ol
- Terreux : géosmine, 2-methylisoborneol, fenchol, fenchone

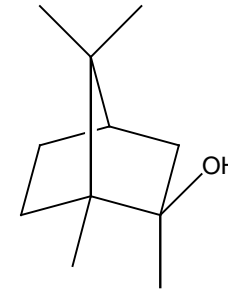


Principaux composés responsables

Composés caractéristiques de la pourriture

➤ Le **2-méthylisobornéol**

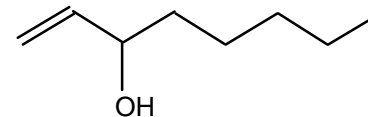
- Terreux, camphré, humus
- Seuil de perception très faible :
55 ng/L dans 1 vin rouge
- Degradé durant la FA



⇒ Pas d'impact sur l'arôme du vin

➤ Le **1-octen-3-ol**

- Champignon de Paris
- Seuil de perception dans 1 vin blanc : 20 µg/L
- Peu dégradé durant la FA

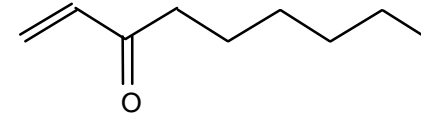


⇒ Pas ou peu d'impact sur l'arôme du vin



Principaux composés « champignon »

La 1-nonen-3-one



Identification par MDGC-MS

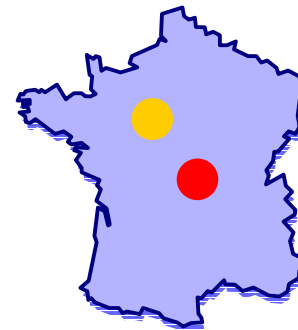
Caractéristiques de la méthode de dosage

. linéarité	R ² = 0.995
. sensibilité	5 ng/L
. gamme de concentration	15 - 150 ng/L

- Champignon de Paris
- Seuil de perception très faible :

	Seuils de perception		Teneurs moyennes dans les vins
	Vin blanc	Vin rouge	
1-nonen-3-one (ng/L)	20	/	8-130

- Apparition durant la FA
- Principalement retrouvée en Bourgogne, et parfois en Champagne



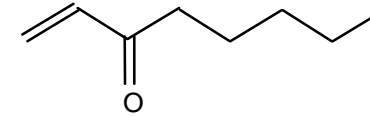
⇒ Impact ponctuel sur l'arôme du vin

La Guerche et al., OENO 2007



Principaux composés « champignon »

La 1-octen-3-one



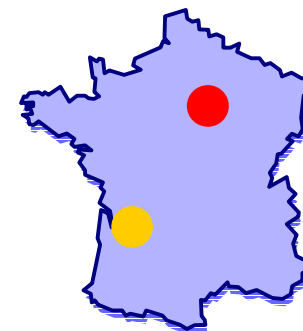
- Champignon frais, sous-bois
- Seuil de perception très faible :

	Seuils de perception		Teneurs moyennes dans les vins
	Vin blanc	Vin rouge	
1-octen-3-one (ng/L)	30	70	20-200

Caractéristiques de la méthode de dosage

. linéarité	R ² = 0.994
. sensibilité	15 ng/L
. gamme de concentration	20 - 250 ng/L

- Potentiellement dégradée par les levures durant la FA
- Principalement retrouvée en Champagne, parfois en Entre-2-Mers



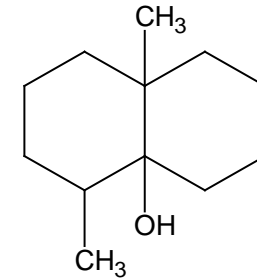
⇒ Impact sur l'arôme du vin

La Guerche et al., OENO 2007



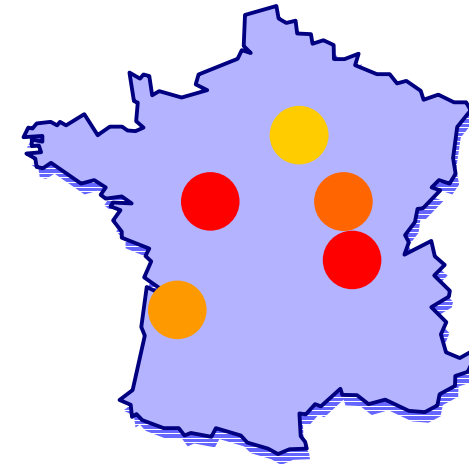
Principal défaut moisi terreux = *La (-)-géosmine*

- Terre humide, betterave



	Seuils de perception		Teneurs moyennes dans les vins
	Vin blanc	Vin rouge	
(-)-géosmine (ng/L)	40-50	50-80	60-200

- Seuil de perception très faible
- Teneurs élevées dans les vins
- Retrouvée dans la majorité des vignobles français :
 - Beaujolais et Val de Loire
 - Bourgogne
 - Bordelais et Champagne

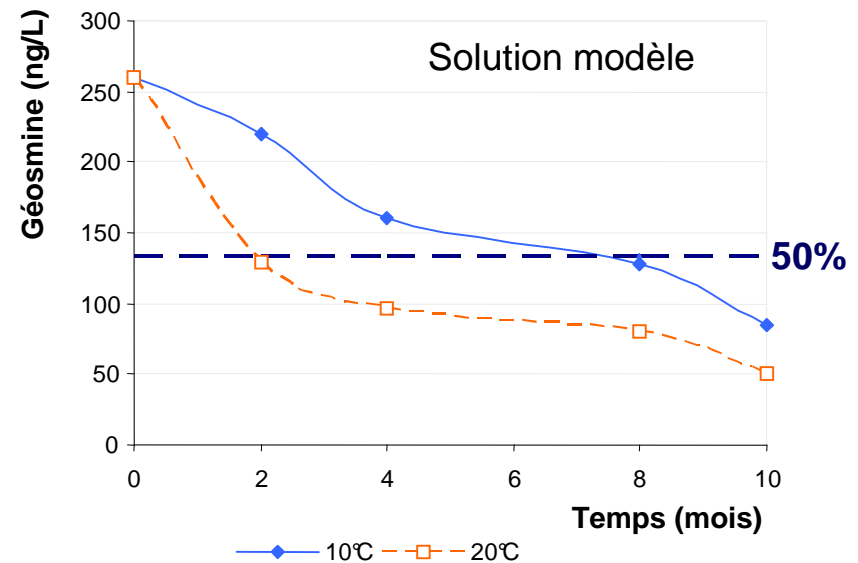
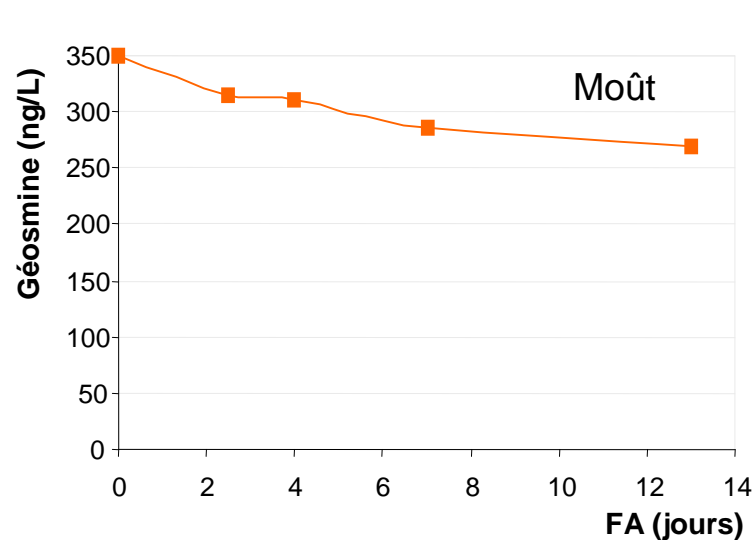


Darriet et al., 2000; J. Agric. Food Chem.



La géosmine

Évolution dans un moût et en solution modèle



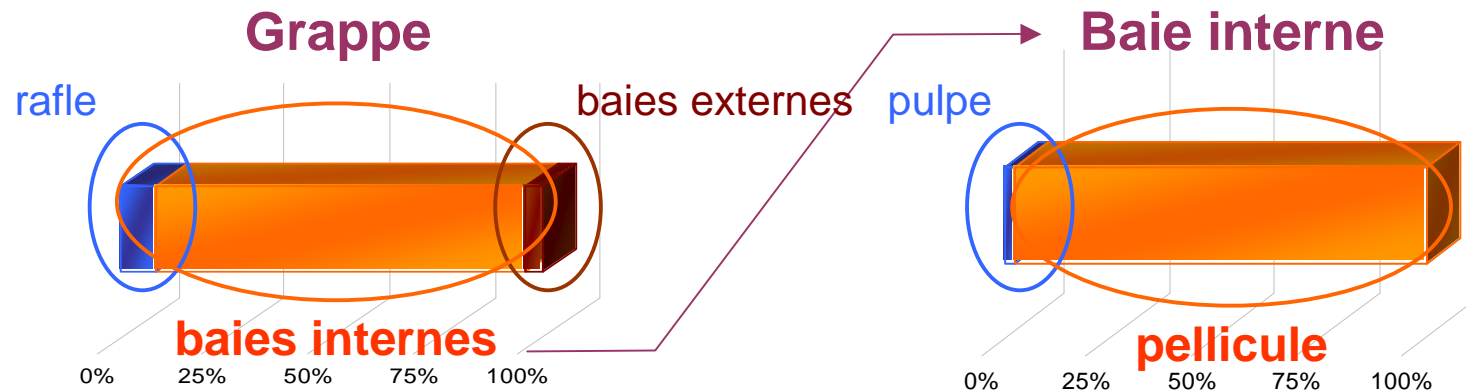
- Faible diminution de la teneur en géosmine de - 20% après 2 semaines de fermentation alcoolique d'un moût de Sémillon botrytisé
- En solution modèle, la dégradation est d'autant plus lente que la température est basse (- 50% en 2 mois à 20°C et en 8 mois à 10°C)

La géosmine

Localisation dans la grappe au vignoble



- Elle est toujours associée à des grappes mures touchées par la pourriture grise



- Elle est localisée au cœur de la grappe, dans la pellicule des baies internes

Micro-organismes responsables des
Goûts moisi-terreux

Recherche de la flore
fongique

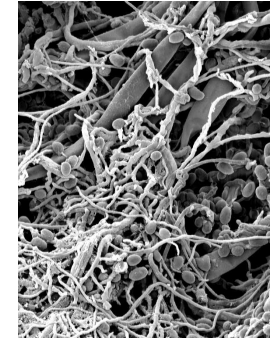
Sur les grappes
pourries/odeurs spécifiques

Sur l'échantillonnage de
raisins issues de parcelles



La géosmine

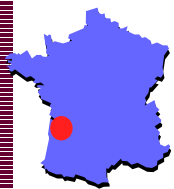
Le(s) microorganisme(s) associé(s)



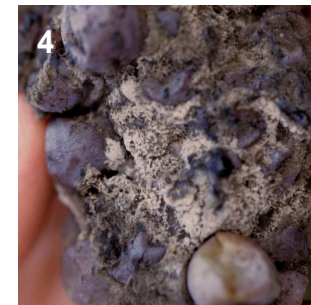
Analyse complète de la microflore des grappes "terreuses"

➤ 4 pourritures ont été mises en évidence

Type de pourriture	Champignons isolés	Sites ¹			
		M1	M2	M3	S2
Pourriture grise ¹	<i>Botrytis cinerea</i>	+++ ²	+++	++	+++
Complexe pourriture grise / pourriture bleue	<i>B. cinerea</i> + <i>Penicillium</i> sp.	++	+++	++	++
Pourriture bleue ²	<i>Penicillium</i> spp.	-	-	-	+
Pourriture vert-noir ³	<i>Cladosporium</i> sp.	+	+	+	-
Pourriture rose ⁴	<i>Trichotecium roseum</i>	-	-	+	-



Bordelais



La géosmine

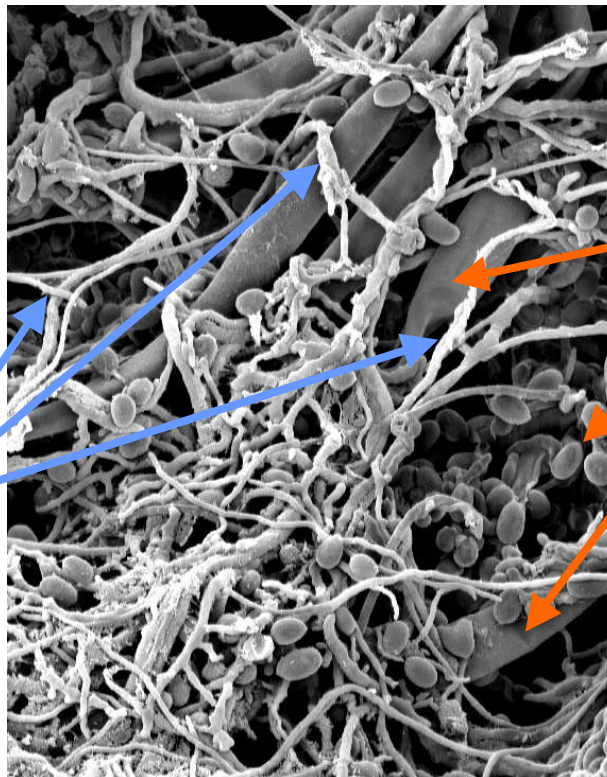
Le(s) microorganisme(s) associé(s)

- Observation en microscopie électronique du complexe *B. cinerea* – *P. expansum* sur une grappe de Cabernet Sauvignon (source SERCOMI)



Bordelais

Filaments fins et clairs de *P. expansum*



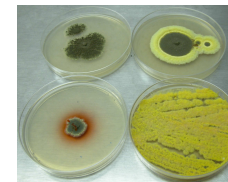
Spores et filaments larges et foncés de *B. cinerea*

Cabernet S
Médoc, 2004



La géosmine

Potentialités de production de géosmine



- Grand nombre de champignons cultivés sur 5 milieux gélosés

Champignons	Nombre d'isolats testés	Odeur	Composé ^a	Niveaux de concentration (ng/boîte de Petri ; moyenne de 3 répétitions)				
				sur MA ^b	sur CZA	sur CYA	sur JR	sur JB
<i>Botrytis cinerea</i>	7	/	/	<5	<5	<5	<5	<5
	32	terreux camphré	MIB	<5 - 14	nt	nt	<5	nt
<i>Coniothyrium</i> sp.	1	terreux camphré	MIB	<5 - 9	nt	nt	<5	nt
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	1	/	/	<5	<5	<5	<5	<5
<i>Penicillium brevicompactum</i>	3	/	/	<5	<5	<5	<5	<5
<i>Penicillium carneum</i>	1	terreux	géosmine	650 - 5000	500 - 4000	550 - 4700	700 - 5400	<5 - 170
<i>Penicillium citreonigrum</i>	1	cave	inconnu	<5	<5	nt	<5	<5
<i>Penicillium claviforme</i>	1	/	/	<5	<5	<5	<5	<5
<i>Penicillium corylophilum</i>	1	/	/	<5	<5	<5	<5	<5
<i>Penicillium crustosum</i>	1	/	/	<5	<5	<5	<5	<5
<i>Penicillium decumbens</i>	1	terreux	géosmine	<5	<5	<5	66	<5
<i>Penicillium expansum</i>	49	terreux	géosmine	30 - 140	20 - 100	30 - 150	<5	10 - 200
<i>Penicillium glabrum</i>	3	/	/	<5	<5	<5	<5	<5
<i>Penicillium islandicum</i>	1	terreux	géosmine	500 - 4000	nt	nt	500 - 4000	nt
<i>Penicillium miczynskii</i>	2	terreux	géosmine	210 - 250	nt	nt	130 - 190	nt
<i>Penicillium pinophilum</i>	1	terreux	géosmine	150	nt	nt	<5 - 180	nt
<i>Penicillium purpurogenum</i>	12	/	/	<5	<5	<5	<5	<5
	3	camphré	inconnu	<5	<5	<5	<5	<5
	1	terreux	géosmine	<5 - 37	<5 - 15	<5	<5	<5
	1	cave	inconnu	<5	nt	nt	<5	nt
<i>Penicillium rubrum</i>	2	/	/	<5	<5	<5	<5	<5
<i>Penicillium</i> sp.	1	/	/	<5	<5	<5	<5	<5
<i>Penicillium thomii</i>	8	/	/	<5	<5	<5	<5	<5
	3	terreux camphré	MIB	<5 - 9	<5	<5	<5	<5
<i>Penicillium variable</i>	3	terreux	géosmine	<5	<5	<5	<5	18
<i>Rhizopus nigricans</i>	1	terreux camphré	MIB	<5 - 11	nt	nt	<5	nt

La Guerche et al., 2006
J. Agric. Food Chem.

➡ La synthèse de composés terreux est dépendante de l'espèce, de l'isolat testé et du milieu de culture



La géosmine

Présence des microorganismes au vignoble



MICROORGANISMS	BORDEAUX REGION				BEAUJOLAIS			BURGUNDY		LOIRE VALLEY			
	M 1	M 2	S 1	S 2	BJ 1	BJ 2	BG 1	BG 2	VL 1	VL 2	VL 3	VL 4	
Years studied	1999 - 2004	1999 - 2004	1999 - 2002	1999 - 2001	2002	2002 2004	2002 - 2005	2005	2002	2002	2002	2004	
<i>P. expansum</i>	+++	+++	+++	++	+++	+++	+	++	+	+++	++	+++	+
<i>P. thomii</i>	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>P. purpurogenum</i>	-	+	-	-	-	-	++	-	-	+	-	-	+
<i>P. glabrum</i>	-	-	+	-	-	-	+	++	+	-	-	++	-
<i>P. brevicompactum</i>	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-
<i>P. carneum sect roqueforti</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total <i>Penicillium</i> spp.	++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++
<i>S. coelicolor</i> ou <i>S. lividans</i>	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
<i>Streptomyces griseus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Streptomyces flavogriseus</i>	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Autres <i>Streptomyces</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
Total <i>Streptomyces</i> spp.	-	+	-	+	+	+	+	-	-	++	++	++	++
<i>Botrytis cinerea</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++

➔ *P. expansum* et *B. cinerea* sont omniprésents en quantité abondante sur les grappes contenant la géosmine



La géosmine

Présence des microorganismes au vignoble

- Analyse de la flore de grappes contenant des teneurs élevées en géosmine



Cépage	Millésime	Géosmine (µg/grappe)	Principaux champignons caractérisés
Cabernet Sauvignon	2004	0,5	<i>B. cinerea</i> , <u><i>P. expansum</i></u> , <i>P. glabrum</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. thomii</i>
Gamay	2004	2	<i>B. cinerea</i> , <u><i>P. expansum</i></u> , <i>P. glabrum</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. thomii</i>
Gamay	2004	2	<i>B. cinerea</i> , <u><i>P. expansum</i></u> , <i>P. purpurogenum</i>
Gamay	2004	0,7	<i>B. cinerea</i> , <i>P. brevicompactum</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. thomii</i>
Gamay	2006	2	<i>B. cinerea</i> , <i>P. brevicompactum</i> , <u><i>P. expansum</i></u> , <i>P. glabrum</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. thomii</i>
Gamay	2006	0,5	<i>B. cinerea</i> , <i>P. brevicompactum</i> , <u><i>P. expansum</i></u> , <i>P. glabrum</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. rubrum</i> , <i>P. thomii</i>
Gamay	2006	0,1	<i>B. cinerea</i> , <i>P. brevicompactum</i> , <u><i>P. expansum</i></u> , <i>P. glabrum</i> , <i>P. rubrum</i> , <i>P. thomii</i>
Pinot Noir	2006	0,25	<i>B. cinerea</i> , <i>P. brevicompactum</i> , <u><i>P. expansum</i></u> , <i>P. glabrum</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. rubrum</i> , <i>P. thomii</i>
Pinot Noir	2006	0,6	<i>B. cinerea</i> , <i>P. brevicompactum</i> , <u><i>P. expansum</i></u> , <i>P. thomii</i>
Pinot Noir	2006	0,15	<i>B. cinerea</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. thomii</i>
Pinot Noir	2006	0,5	<i>B. cinerea</i> , <i>P. brevicompactum</i> , <u><i>P. expansum</i></u> , <i>P. thomii</i>
Chardonnay	2006	1	<i>B. cinerea</i> , <i>P. brevicompactum</i> , <u><i>P. expansum</i></u> , <i>P. glabrum</i> , <i>P. purpurogenum</i>
Chardonnay	2006	0,75	<i>B. cinerea</i> , <u><i>P. expansum</i></u> , <i>P. thomii</i>

- *P. expansum* est présent de façon quasi systématique
- Parmi les champignons isolés, aucune autre espèce productrice n'est retrouvée

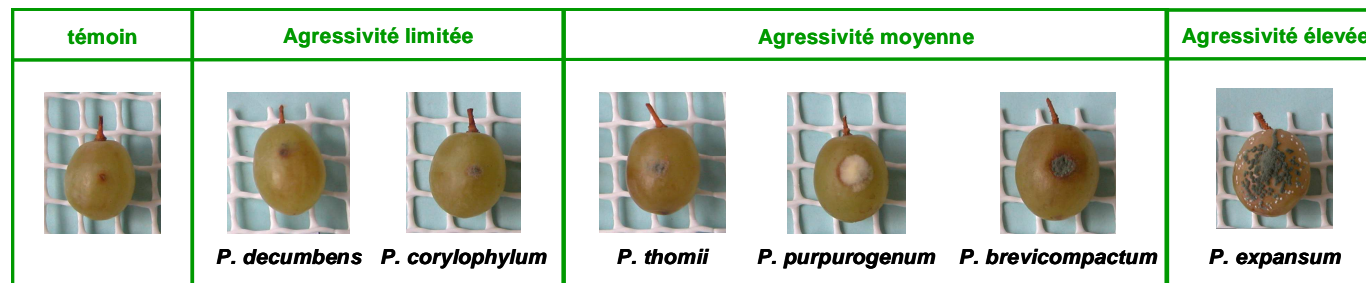
La Guerche et al.
OENO 2007



La géosmine

Agressivité de *Penicillium* spp. sur raisin

- Détermination d'un indice moyen de pourriture sur baie sur 37 *Penicillium* spp. inoculés sur différents cépages



La Guerche et al. OENO 2007

- 2 groupes :
 - un groupe constitué d'isolats de *P. expansum*, présentant des IPB élevés
 - un groupe, avec des faibles valeurs d'IPB, rassemblant les autres espèces testées

➔ Potentialités de production, présence, abondance et capacité à se développer sont des paramètres qui doivent être simultanément pris en compte afin d'envisager l'implication d'un champignon dans la genèse d'un défaut terreux au vignoble



La géosmine

Implication de *P. expansum*



- Dans nos conditions de culture, *P. expansum* se développe sur baie, rafle et jus de raisin sain, mais il ne produit pas de géosmine.
- Trois approches ont été envisagées pour étudier la genèse de la géosmine au vignoble :

Approche biochimique

Voie de biosynthèse
de la géosmine

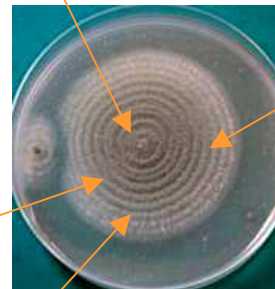
Approche biologique

Approche métabolique



Influence de
l'environnement

Influence de
la composition
du milieu



Influence de
B. cinerea



La Guerche 2004.
Thèse de doctorat



La géosmine

Approche biologique : rôle de Botrytis



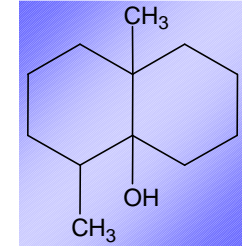
- Les inoculations successives de *B. cinerea* et de *P. expansum* permettent de générer de la géosmine sur jus et broyat de raisins
- Toutes les souches de *P. expansum* synthétisent ce composé après pré-culture de *B. cinerea*
- 22% des souches de *B. cinerea* testées sont favorables à la genèse de géosmine par *P. expansum* (29/103 isolats)
- Toutes les souches de *B. cinerea* ont un effet inducteur, en particulier par modification de la composition azotée du jus de raisin

La Guerche et al. 2005; 2007. Anton van Leeuw.



La géosmine

Conclusions



- La (-)-géosmine est responsable du défaut terreux le plus retrouvé dans les vins
- De nombreuses espèces fongiques appartenant principalement au genre *Penicillium* forment, avec *Botrytis cinerea*, des complexes de pourritures sur grappe
- Un nombre limité d'entre elles présentent la capacité à produire la géosmine
- En outre, ces potentialités varient selon le milieu et parfois selon l'isolat testé
- Bien que non producteur de géosmine, *Botrytis cinerea* semble largement associé à la genèse de ce défaut au vignoble
- Production de géosmine, représentativité dans des grappes contaminées et indices de pourriture sur baie de raisin conduisent à considérer que *Penicillium expansum* est majoritairement impliqué dans les déviations dues à la géosmine dans le vignoble



Micro-organismes responsables des
Goûts moisi-terreux

Recherche de la flore
fongique

Sur les grappes
pourries/odeurs spécifiques

Sur l'échantillonnage de
raisins issues de parcelles

