

Quantifier l'activité du Botrytis par le dosage de la laccase

Botrytis cinerea est un champignon parasite qui sécrète une enzyme : la laccase. Elle est le meilleur marqueur de la présence de pourriture grise, maladie que les vignerons connaissent bien.

La pourriture grise demeure l'une des plus graves maladies du raisin. En effet, les conséquences d'une attaque de *Botrytis cinerea* sont nombreuses et irréversibles. Son développement entraîne d'abord des pertes de récolte, mais aussi une dépréciation qualitative immédiate ou différée du produit fini obtenu.

Les conditions idéales permettant la contamination par le *Botrytis cinerea* sont une hygrométrie élevée (90 à 95 %) et une température de 15 à 18 °C.

Par temps sec, le *Botrytis* ralentit son développement pour reprendre par la suite un développement intense dès que l'humidité revient.

La présence de blessures dues aux attaques de vers de la grappe, d'oïdium ou à une chute de grêle facilite beaucoup l'installation du champignon.

Des dégâts importants

Lorsque le champignon est installé sur la baie, il se développe à sa surface ainsi qu'à l'intérieur. La pellicule est fragilisée et de nombreuses déchirures apparaissent laissant s'écouler le jus. Une attaque du champignon de 15 % diminue le rendement en jus de 15 %.

Modifications de la constitution de la baie

On constate par ailleurs des modifications de la constitution du moût. Le champignon dégrade l'acide tartrique et l'acide malique. Ceci entraîne une augmentation du pH et une diminution de l'acidité volatile, conduisant à des vins manquant de fraîcheur et probablement plus instables. Par contre, l'acidité volatile augmente, compliquant la gestion du SO₂.

Le *Botrytis cinerea* consomme de l'azote ammoniacal pour son développement, ce qui peut entraîner des difficultés de fermentation alcoo-

lique, voire en provoquer l'arrêt. Le degré alcoolique augmente fortement (de +10 à +33 % pour une attaque de 15 %). Cette augmentation n'est pas due à une surmaturation mais à la concentration des sucres due à une perte en jus.

Le développement de la pourriture grise produit des glucanes, polysaccharides synthétisés à partir du glucose. Ils forment une masse visqueuse qui s'oppose à la clarification des vins et colmate les filtres. Un traitement brutal de la vendange, qui va détériorer la baie, entraîne une dispersion du glucane.

Conséquence de la présence de laccase

La laccase, enzyme oxydative, est la plus caractéristique des enzymes sécrétée par le champignon. Absente des raisins sains, elle est spécifique des raisins parasités par cet agent pathogène et des vins qui en sont issus. Les diverses opérations pré-fermentaires de traitement du raisin n'ont qu'une incidence limitée sur la laccase. Enzyme soluble, elle passe naturellement dans le moût lors des opérations de foulage et de pressurage. Elle a une grande stabilité au pH du moût et du vin, et une grande résistance au SO₂. En effet, une vendange pourrie encuvée sans sulfitage voit son activité laccase augmenter. Cette dernière disparaît dès l'ajout de SO₂, mais réapparaît quand le SO₂ libre a disparu. Donc, le sulfitage d'une vendange rouge pourrie n'est pas suffisant pour obtenir une protection totale et lorsque tout le SO₂ est combiné, la laccase n'est plus inhibée.

L'action de la laccase sur la couleur commence déjà dans la baie où elle "digère" les cellules de la pellicule et ses composés, dont les anthocyanes. Cette action se poursuit dans le moût. Une attaque de 15 % provoque une chute de la teneur en anthocyanes de 30 %. En plus de modifier la couleur, la laccase provoque une instabilité de





Doser la laccase permet de quantifier la présence du Botrytis.

cette couleur qui se manifeste par la casse oxydative. Le moût devient marron : la teinte augmente en même temps que le pourcentage d'attaque.

De plus, les vins atteints perdent leurs notes florales et fruitées. Les arômes spécifiques du cépage sont détruits par les enzymes du *Botrytis cinerea*, qui laissent apparaître des odeurs désagréables : notes lourdes de madère, odeurs phéniquées, iodées ou parfois de moisissure.

Le SO_2 joue un rôle déterminant dans la protection des vins à l'égard de la casse oxydative et dans la destruction de l'activité laccase au cours des premiers mois d'élevage.

Pourquoi doser la laccase ?

L'état sanitaire de la vendange, en particulier le niveau de contamination des raisins par *Botrytis cinerea*, constitue un critère déterminant dans l'appréciation de la qualité de la matière première en vinification.

L'appréciation visuelle de la vendange est critiquable car subjective et insuffisante. En effet, il n'est pas possible de détecter une attaque récente de *Botrytis*. Pourtant, dès le stade pourri interne, donc sans aucun signe externe visible, la qualité de la vendange est déjà compromise. De plus, la vendange mécanique, amplement utilisée dans notre région, complique cette appréciation. Elle aggrave aussi les effets de la pourriture grise en permettant un contact précoce entre les pellicules et le jus.

Du fait de son absence des raisins sains, la laccase est un bon marqueur de la présence de *Botrytis cinerea*. Aussi est-il primordial de la doser pour déceler la présence de champignon et anticiper les dégâts.

L'activité laccase des moûts et des vins peut être évaluée par une méthode colorimétrique qui met en jeu un substrat spécifique de l'enzyme : la syringaldazine. Celle-ci est jaune clair en solution et devient rose mauve en présence de laccase. Le résultat obtenu est exprimé en unité laccase. Une unité d'activité laccase correspond à la quantité d'enzyme catalysant l'oxydation d'une nanomole de syringaldazine par minute dans les conditions de la réaction. Une activité laccase supérieure à 2 est considérée comme un seuil critique à partir duquel il y a détérioration de la qualité des vins.

VENDANGES BOTRYTISÉES = INTERVENTIONS TECHNOLOGIQUES APPROPRIÉES

- Séparer les lots sains des lots altérés, ce qui implique un tri à la récolte ;
- Gérer les apports de SO_2 de façon pertinente :
 - sulfiter rapidement et de façon importante (10 à 15 g/hl)
 - resulfiter à la fin de la fermentation malolactique à 5 g/hl
 - surveiller le niveau de SO_2 libre et le maintenir à un niveau de 20 à 30 mg/l
- Chauffer la vendange : à partir de 65 °C, la laccase est détruite ;
- Utiliser des systèmes de transfert de la vendange peu agressifs afin de limiter l'apparition de glucane ;
- En présence de glucane : utiliser des traitements enzymatiques à base de beta-glucanases afin de faciliter la filtrabilité.