

Connaissances actuelles sur la diversité des bactéries du vin

Patrick LUCAS

UMR CENOLOGIE – Institut des Sciences de la Vigne et du Vin

210, chemin de Leysotte CS 500098, 33882 Villenave d'Ornon Cedex

Tel : 05 57 57 58 33 / 06 47 22 99 58

Mail : patrick.lucas@u-bordeaux.fr

Résumé

Que savons-nous aujourd'hui de la diversité des bactéries qui se développent dans les vins ? Cette question en appelle d'autres : que sait-on de plus que nos anciens ? Quel intérêt présente la connaissance de cette diversité ? Est-elle utile pour améliorer la qualité des vins ? On sait qu'il existe des bactéries dans le vin depuis les premiers travaux de Louis Pasteur en 1860. Il avait compris qu'elles sont la cause de nombreuses altérations. On sait aussi depuis les années 1950 que les bactéries sont bénéfiques en réalisant la fermentation malolactique (FML). Depuis, de nombreux travaux scientifiques ont permis de comprendre quelles espèces de bactéries sont présentes dans les vins, quelles sont celles qui causent des altérations, comment elles les produisent, quelles sont les bactéries qui réalisent la FML, et comment elles s'y prennent. On sait depuis longtemps que ce sont presque toujours des bactéries de l'espèce *Oenococcus oeni* qui réalisent la FML, qu'il existe une grande diversité de souches de cette espèce, qu'elles sont naturellement présentes dans les vins, qu'elles se développent généralement après la fermentation alcoolique et que certaines souches d'*O. oeni* sont plus efficaces que d'autres pour réaliser la FML. Quelques dizaines ont été sélectionnées et sont commercialisées comme levains malolactiques, pour mieux contrôler la réalisation de la FML. Récemment, les nouvelles technologies de séquençage de l'ADN ont ouvert d'autres horizons en nous permettant de comprendre quelle est la diversité de ces souches d'*O. oeni*. On sait maintenant que les vigneronnes sont responsables de cette diversité. En produisant des vins, ils domestiquent des souches qui évoluent génétiquement en s'adaptant à leurs vins. Il n'y a pas de souches spécifiques de crus, d'exploitations ou de régions, mais des souches adaptées à certains types de vins. Non seulement elles se développent mieux dans certains vins que dans d'autres, mais lors de la FML, ces souches modifient la qualité des vins de manières différentes. L'utilisation raisonnée de cette biodiversité est donc un levier pour moduler la qualité des vins.

Mots clés :

Bactéries lactiques, *Oenococcus oeni*, Fermentation malolactique, Biodiversité, Domestication

Introduction : que savait-on sur la diversité des bactéries jusqu'aux travaux les plus récents ?

L'identification des bactéries du vin et leurs rôles :

C'est Louis Pasteur, vers 1860, qui a constaté pour la première fois que des bactéries sont présentes dans le vin. Sous son microscope, il en a observé de différentes formes et propriétés. Il a surtout montré que certaines d'entre-elles sont responsables de « maladies » du vin, qui sont encore d'actualité : la piqûre acétique, la graisse, la tourne, l'amertume. Ces activités nuisibles lui ont inspiré la fameuse expression : « Les levures font le vin, les bactéries le détruisent ». Il a même mis au point un procédé pour les éliminer, procédé qui est encore largement utilisé aujourd'hui : la pasteurisation.

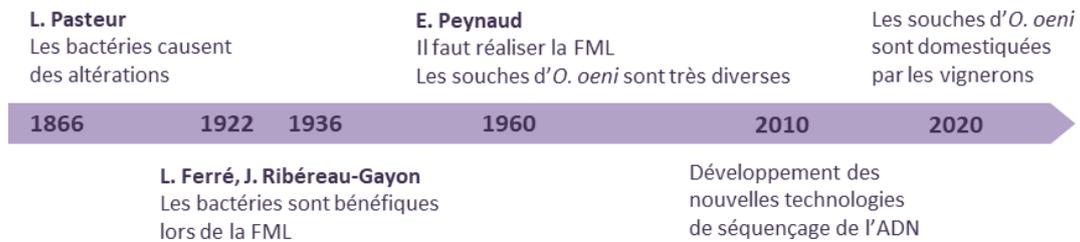
Il a fallu attendre les années 1950 pour que l'on trouve un rôle bénéfique aux bactéries – la FML – et que l'on commence à maîtriser cette « deuxième fermentation ». Ce sont Louis Ferré, en Bourgogne, (1922), puis Jean-Ribéreau-Gayon à Bordeaux (1936), qui ont été les premiers à constater que les bactéries améliorent la qualité sensorielle des vins de Chardonnay et des vins rouges de Bordeaux lorsqu'elles réalisent la FML. En 1954, il est devenu possible de suivre la réalisation de la FML en dosant l'acide malique grâce une méthode simple et peu coûteuse : la chromatographie sur papier. Forts de ces connaissances, Emile Peynaud et ses collègues ont pu conseiller d'utiliser les bactéries pour réaliser la FML, qui est rapidement devenue la norme dans tous les vins rouges et certains vins blancs.

La description des « bonnes » et « mauvaises » bactéries du vin :

A partir des années 1950, de nombreux travaux ont permis de mieux connaître les « mauvaises » bactéries responsables des altérations, mais aussi les « bonnes » bactéries qui réalisent la FML. On s'est vite rendu compte que ce sont presque toujours des bactéries de l'espèce *Oenococcus oeni* qui réalisent la FML, alors que ce sont plutôt les « mauvais » lactobacilles et pédiocoques qui causent l'amertume, la tourne, la graisse ou les amines biogènes. Cependant, on sait maintenant que ce concept de « bonnes » et « mauvaises » espèces est faux. En effet, certaines souches d'*O. oeni* produisent des altérations comme la graisse, le goût de souris, ou les amines biogènes, et inversement, certains lactobacilles et pédiocoques peuvent réaliser la FML sans provoquer la moindre altération. Ce ne sont pas des espèces, mais certaines souches de toutes les espèces, qui causent les altérations. Par analogie, tous les hommes de notre espèce ne sont pas mauvais, mais certains le sont plus que d'autres.

La diversité des souches d'*O. oeni* et les limites des connaissances :

Dans la mesure où ce sont presque toujours des souches d'*O. oeni* qui font la FML, de nombreux travaux ont été réalisés pour analyser la diversité de ces souches. Emile Peynaud a été l'un des premiers à se pencher sur le sujet. Dès 1960, il a isolé pas moins de 400 souches, montré qu'elles se développent plus ou moins bien dans les vins, et qu'elles réalisent la FML plus ou moins efficacement. Il a été le premier à sélectionner une souche qu'il a cultivée au laboratoire et inoculée dans une cuve pour déclencher la FML. Par la suite, diverses méthodes d'analyse microbiologiques ont été mises au point pour étudier la diversité des souches. Elles ont permis de différencier les souches de mieux en mieux, mais sans jamais donner d'indication sur leurs liens de parenté. Ainsi, jusqu'à récemment, on savait qu'il existait une grande diversité de souches d'*O. oeni* dans les vins, mais on ne savait pas si elles étaient spécifiques des exploitations, des régions, ou des vins, si elles existaient depuis toujours, ou si elles étaient apparues récemment, etc.



Question / Réponse n°2

Qu'est-ce qui a changé et permis de mieux connaître la diversité des bactéries ?

Le développement des technologies de séquençage de l'ADN :

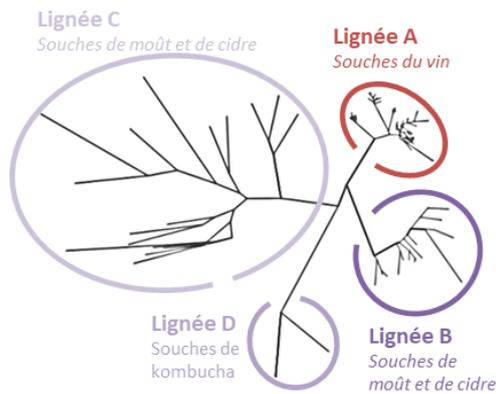
Les connaissances les plus récentes sur la diversité des souches d'*O. oeni* ont été acquises grâce à l'extraordinaire développement des technologies de séquençage de l'ADN depuis 2010. Avec ces technologies, il est devenu possible de lire tout le génome des bactéries de plus en plus rapidement et pour un coût de plus en plus faible. A titre d'exemple, en 2005, il fallait un à deux ans de travail et des centaines de milliers d'euros pour analyser le génome d'une seule bactérie. Aujourd'hui, c'est réalisable en quelques heures pour une centaine d'euros. Grâce au séquençage des génomes de centaines de souches d'*O. oeni*, il est devenu possible de positionner les souches dans des « arbres phylogénétiques », qui sont un peu l'équivalent d'arbres généalogiques. Etre capable de voir leurs liens de parenté, cela a complètement changé notre connaissance de leur diversité.

L'identification de lignées de souches adaptées au vin, au cidre ou à d'autres produits :

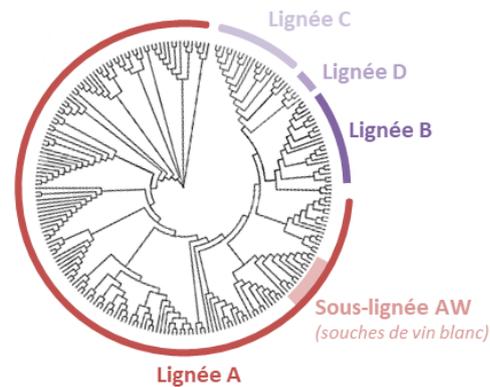
Grâce au séquençage des génomes des souches, des arbres phylogénétiques ont été construits et ont permis de comparer les souches d'*O. oeni* qui sont présentes dans différents vins, cidres, moûts de raisin, ou kombucha de différentes régions françaises et étrangères. On a constaté que toutes les souches analysées jusqu'à aujourd'hui appartiennent à 4 lignées génétiques, nommées lignées A à D, et que chaque lignée contient des souches provenant d'un même type de produit. Par exemple, toutes les souches de vin appartiennent à la lignée A. On sait que des souches des lignées A, B et C sont présentes dans tous les moûts de raisin, mais que lors de la FA, seules les « A » survivent, ce qui explique qu'elles sont les seules à réaliser la FML dans les vins.

L'identification de lignées de souches adaptées à certains types de vins :

En analysant plus en détail la lignée A, on a observé des « sous-lignées », comme par exemple la sous-lignée « AW », qui contient des souches isolées de vins blancs de Champagne, Bourgogne ou Val de Loire. Des travaux sur ces souches ont montré qu'elles sont nettement plus résistantes à l'acidité que les autres souches « A », mais qu'elles sont aussi beaucoup plus sensibles aux polyphénols, ce qui explique qu'elles se développent mieux que les autres dans des vins blancs acides, mais uniquement dans ces vins. Il existe donc des lignées de souches qui sont adaptées de certains types de vins. De plus, si des vins sont fermentés avec ces souches « AW » ou avec d'autres souches « A », leur composition aromatique est modifiée et reconnaissable. Il est probable que chaque sous-lignée a un impact aromatique spécifique. Par contre, il n'existe pas de lignée spécifique d'une région ou d'une exploitation, car les souches d'un même sous-lignée peuvent être retrouvées dans des vins produits dans différentes régions, dès lors que ces vins ont des caractéristiques physico-chimiques similaires. Les souches sont adaptées aux vins, pas aux régions.



Arbre phylogénétique n°1



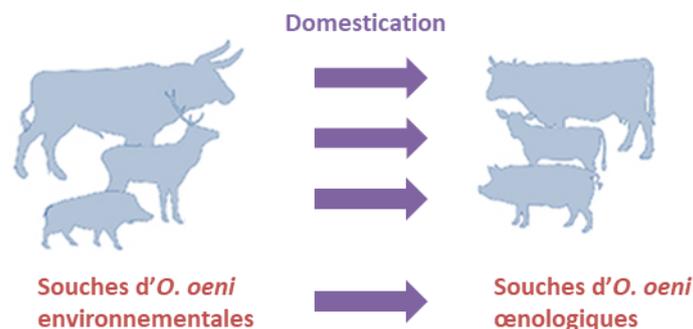
Arbre phylogénétique n°2

Question / Réponse n°3

Comment peut-on expliquer qu'il existe dans la nature des souches d'*O. oeni* adaptées à différents types de vins ?

Ces souches n'existent pas dans la nature, ce sont les vignerons qui les créent :

Les vignerons domestiquent les bactéries, et en particulier *O. oeni*. Une espèce domestiquée est « une espèce élevée en captivité et modifiée à l'écart de ses ancêtres sauvages, de manière à la rendre plus utile aux humains qui contrôlent sa reproduction et son alimentation ». Cette définition s'applique évidemment aux animaux d'élevage, animaux domestiques et plantes cultivées, mais elle concerne aussi les microorganismes des aliments et boissons fermentés. Les productions alimentaires sont des environnements artificiels, qui n'existent pas dans la nature, dans lesquels les microorganismes peuvent évoluer, s'adapter et se spécialiser. En produisant du vin, et différents types de vins, les vignerons créent des environnements nouveaux dans lesquels les microorganismes évoluent et tentent de s'adapter. Les vignerons forcent les souches d'*O. oeni* environnementales à évoluer génétiquement pour mieux survivre dans les vins qu'ils produisent. Par exemple, chez les souches de la lignée AW, c'est probablement une modification de leur paroi cellulaire qui leur permet de mieux résister à l'acidité des vins blancs. Cette modification n'a probablement aucun intérêt dans la nature. Elle a dû apparaître dès lors que l'on a commencé à produire des vins blancs acides.



Question / Réponse n°4

Comment peut-on mettre à profit ces connaissances sur la diversité des souches d'*O. oeni* ?

En utilisation les souches de l'exploitation : c'est risqué, mais il y a des solutions :

Un premier réflexe est de réaliser des FML spontanées avec les souches de l'exploitation qui sont présentes dans le moût. Comme indiqué précédemment, ces souches sont parfois spécifiques des vins. C'est une solution attirante, mais qu'il faut utiliser avec discernement. Premièrement, il faut bien considérer que les souches d'*O. oeni* ne sont pas spécifiques de l'exploitation. Elles peuvent varier d'une année à l'autre, et être les mêmes dans des exploitations voisines ou d'autres régions. Deuxièmement, il ne faut pas oublier que les souches indigènes peuvent produire des altérations. Ce n'est pas parce qu'elles sont bien adaptées à un vin qu'elles ne produisent pas d'altérations. Enfin, selon les millésimes ou les caractéristiques du vin, il n'y a pas toujours dans le moût des souches capables de s'y développer. Dans ce cas, une solution est la réalisation de pieds de cuve de bactéries indigènes, ou l'utilisation de souches sélectionnées dans l'exploitation. Néanmoins, cela n'élimine pas le risque que ces souches produisent des altérations.

En sélectionnant des souches adaptées à certains types de vins, d'après leurs positions dans des arbres phylogénétiques :

Plus d'une quarantaine de souches d'*O. oeni* ont été sélectionnées jusqu'à présent par différentes sociétés. En général, ces sélections ont été bien réalisées, car l'analyse des génomes de leurs génomes a montré qu'il s'agit exclusivement de souches de la lignée A, et qu'elles appartiennent à différentes sous-lignées. Par exemple, il est remarquable que 3 souches commercialisées par 3 sociétés différentes pour réaliser la FML dans les vins blancs acides appartiennent toutes de la sous-lignée AW, alors que leurs positions dans les arbres phylogénétiques n'étaient pas connues au moment de leurs sélections. Cela démontre que leurs sélections ont été bien réalisées. Pourtant, il manque encore des souches de nombreuses sous-lignées. Aujourd'hui, les arbres phylogénétiques pourraient être utilisés pour orienter la sélection des souches les mieux adaptées à certains types de vins.

Conclusion :

L'utilisation des nouvelles technologies de séquençage de l'ADN a apporté un éclairage nouveau sur la diversité des souches de l'espèce *O. oeni*, sur la diversité des souches présentes dans les vins et exploitations, sur le rôle des vignerons dans l'apparition de ces souches, et sur les solutions possibles pour utiliser au mieux cette biodiversité. La FML est bien plus que la simple transformation de l'acide malique en acide lactique. Au cours de la FML, les bactéries transforment de nombreux composés du vin et modulent la qualité du vin de manière spécifique, selon la sous-lignée génétique à laquelle elles appartiennent. Elles peuvent parfois aussi produire des altérations. Maintenant que l'on sait qu'elles existent, les souches de ces différentes lignées génétiques pourraient être mieux utilisées pour mieux maîtriser la FML et son impact organoleptique. Néanmoins, il reste encore de nombreuses souches et lignées génétiques à isoler, identifier et caractériser.

Ce qu'il faut retenir :

- Il existe une grande diversité de souches d'*O. oeni*
- Elles forment des lignées génétiques adaptées à certains types de vins
- Les vignerons domestiquent les souches adaptées à leurs vins
- Les souches ne sont pas spécifiques des exploitations, mais des vins

Perspectives :

- Connaître les différences d'impact aromatique des souches des différentes lignées génétiques
- Mieux utiliser les souches en fonction des types de vins auxquels elles sont adaptées