

EFFET D'UN REVÊTEMENT RÉFLÉCHISSANT ARTIFICIEL SUR LE MICROCLIMAT RADIATIF ET THERMIQUE DE LA VIGNE ET INCIDENCE SUR LA MICROFLORE LEVURIENNE DE SURFACE

REINFORCEMENT OF THE RADIATIVE AND THERMIC STRESSES OF THE GRAPE VINE. REPERCUSSIONS ON YEAST SURFACE MICROFLORA

J.M. SALMON*, Nathalie MAILHAC*, F.X. SAUVAGE**,
Marie-José BIRON* et J.P. ROBIN**

*INRA, ISVVM-IPV, Laboratoire de Microbiologie et de Technologie des Fermentations,
2 place Viala, 34060 Montpellier (France)

**INRA, ISVVM-IPV, Unité de Recherche de Biochimie Métabolique et Technologie,
2 place Viala, 34060 Montpellier (France)

Résumé : Le microclimat radiatif et thermique de la vigne, lors de la maturation du raisin, peut être artificiellement modifié par usage de revêtements réfléchissant aluminés posés sur le sol, afin de modifier la composition biochimique des baies de raisin, et par conséquent la composition des moûts et la qualité du vin. Lors d'une telle expérimentation, nous avons montré que l'augmentation de température et/ou l'augmentation du rayonnement réfléchi ultraviolet par le revêtement concourrait à une baisse sensible de la microflore levurienne de surface des baies traitées. Cette baisse de population s'accompagne d'une modification de la répartition des différents genres de levures. Lors de l'expérimentation décrite dans cet article, c'est le genre *Saccharomyces* qui semble être favorisé au détriment des autres genres de levure.

Abstract : All along the ripening period, the radiative and thermic stresses of the grapevine may be reinforced by the use of a reflective soil cover (aluminized film). Such a treatment leads to repercussions on the berries, on the must composition and finally on the wine quality. During such a preliminary experiment, we demonstrated that the temperature increase and/or the reinforcement of the reflected ultraviolet radiations (measured at 254 nm) at the level of grape berries severely impaired the development of yeast cells at their surfaces. By means of an artificial inoculation of grapes at the beginning of the ripening period with a mixture of four different yeast genera (*Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia fermentans* and *Schizosaccharomyces pombe*), we demonstrated that the repartition of yeast genera amongst this population was affected by the treatment of stocks with the aluminized film : during the experiment presented in this paper, the *Saccharomyces* genus was favoured. One may consider by extension similar effects resulting from the reflective properties of some natural soils. Such effects may considerably influence the distribution of wild yeast flora during the spontaneous fermentation of musts. If such an hypothesis is confirmed at a local or regional level, it will represent a first significant piece of the definition of one of the aspects of the "terroir" effect on the characteristics of wines.

Mots clés : levures, microflore totale, baies, maturation, stress thermique, réflexion ultraviolette, facteur de sélection.

Key words : yeast, total microflora, grape berries, grape ripening, thermic stress, ultraviolet reflective radiations, selection factor

INTRODUCTION

Des travaux récents ont conduit à étudier l'effet de revêtements artificiels réfléchissant aluminés au sol, modifiant artificiellement les microclimats radiatif et thermique de la vigne, et donc au cours de la période de maturation la réponse du végétal, la composition

biochimique des baies de raisin, et à terme la composition des moûts à la vendange et la qualité du vin. Les revêtements aluminés utilisés pour ces essais sur la vigne apportent au minimum 20 p. cent d'énergie lumineuse en plus à la partie inférieure de la canopée (feuilles et fruits) (SAUVAGE *et al.*, 1995). ROBIN *et al.* (1996b) ont montré que cette augmentation des rayon-

nements réfléchis est constituée principalement de rayonnements visibles (80 à 90 p. cent de rayonnements réfléchis par le revêtement) et de rayonnements infrarouges (90 à 100 p. cent de rayonnements réfléchis par le revêtement). Aucune donnée n'est par contre disponible quant aux propriétés de réflexion du rayonnement ultraviolet (UV) par de tels revêtements et à leurs éventuelles conséquences. La résultante de cette irradiation accrue par réflexion entraîne une élévation sensible de la température des grappes entre 1,5 à 2°C en pleine journée sous ensoleillement par rapport à des grappes situées sur un sol nu (IGOUNET *et al.*, 1995a).

Si de nombreuses données biochimiques concernant la baie de raisin ont été recueillies lors de tels essais sur la vigne (SAUVAGE *et al.*, 1995 ; IGOUNET *et al.*, 1995a ; ROBIN *et al.*, 1995 ; ROBIN *et al.*, 1996a ; ROBIN *et al.*, 1996b ; ROBIN *et al.*, 1996c), aucune donnée n'est disponible quant à l'effet de ce microclimat sur la population levurienne de surface des baies de raisin. En effet, les baies de raisin sont l'habitat de nombreuses variétés de levures conduisant à des populations totales comprises entre 10^3 et 10^4 cellules par ml de jus selon PEYNAUD et DOMERCQ (1953). La propagation des cellules de levure à la surface des baies est étroitement liée à la quantité de sucres disponible au niveau de cette surface (BENDA, 1983). Le vent et les insectes sont les principaux vecteurs d'ensemencement des populations levuriennes de surface (BENDA, 1962 ; STEVIC, 1962). Les diverses espèces de levures représentées à la surface des baies varient fortement d'une étude à l'autre (cf. synthèses bibliographiques dans KUNKEE et GOSWELL, 1977 et BENDA, 1983), mais les levures du genre *Saccharomyces* représentent toujours moins de 10 p. cent de la flore levurienne de surface. L'espèce *Hanseniaspora uvarum* semble l'espèce la plus répandue dans les régions de climat tempéré et chaud (BOULTON *et al.*, 1995).

Chez *Saccharomyces cerevisiae*, en croissance dans un milieu liquide, la diminution ou l'augmentation de température ambiante, dans une gamme comprise entre 4°C et 40°C, affecte de nombreuses activités enzymatiques et en conséquence le taux de croissance, mais en absence de produits toxiques, n'induit pas de mortalité cellulaire (SA-CORREIA et VAN UDEN, 1986). Dans cette gamme, une variation de température de quelques degrés autour d'un optimum situé vers 30°C affecte négativement le taux de croissance. Au-delà de 40°C, une mortalité induite par la chaleur est observée (VAN UDEN, 1985). Les valeurs maximales de température pouvant être tolérées par *S. cerevisiae* oscillent entre 40 et 45°C selon les souches étudiées et leur type de métabolisme (fermentation ou respiration)

(WHITE et MUNNS, 1951). Pour les autres espèces de levures, les températures maximales de croissance oscillent entre 30°C (*Candida* sp.) et 47°C (*Saccharomyces marxianus*), la moyenne se situant dans la gamme 30°C-35°C (LUND, 1958). De plus, les levures présentent généralement une meilleure résistance à la chaleur dans un environnement sec qu'en suspension liquide.

Les aspects génétiques et biochimiques des effets du rayonnement UV autour de 254 nm ont été particulièrement étudiés chez divers micro-organismes et notamment chez les levures (JAMES et WERNER, 1965). Les lésions produites par un tel rayonnement peuvent être létales, mutagènes ou recombinogènes. L'existence de mécanismes de réparation des lésions potentiellement létales induites par les rayonnements UV, après repos en absence de ces rayonnements, a été largement étudiée chez *S. cerevisiae* et a donné lieu à la découverte de nombreux mécanismes moléculaires de réparation des altérations et des défauts apparaissant au niveau de l'ADN (HAYNES et KUNZ, 1981).

Une modification de l'environnement thermique et/ou radiatif au niveau des baies de raisin, conjuguée aux modifications sensibles apportées à la maturation des baies de raisin (IGOUNET *et al.*, 1995b), peut donc être susceptible d'engendrer des modifications au sein des flores levuriennes naturellement présentes à leur surface. Les résultats présentés dans cet article proviennent d'une expérimentation préliminaire réalisée pour vérifier l'existence de telles modifications à la surface de baies de raisin pendant la période de maturation.

MÉTHODES

I — MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE

1) Matériel végétal

L'expérimentation a été menée sur un seul rang d'une parcelle située sur le domaine du Chapitre (INRA, commune de Villeneuve-les-Maguelonne, Hérault, France). L'orientation de ce rang est N/NE-S/SO. L'encépagement de cette parcelle est la variété Marselan (raisin de cuve obtenu à l'INRA par croisement des cépages Cabernet-Sauvignon et Grenache noir). Le mode de conduite est un simple palissage à 5 fils. Le rang étudié comporte 75 souches sur une longueur d'environ 100 mètres.

2) Modification de l'environnement radiatif et thermique de la vigne

Le revêtement aluminé utilisé pour ce traitement

est un tissu perméable de 50 cm de large constitué de bandelettes d'aluminium assemblées par des fils en nylon (VITEXSOL[®], marque commune INRA/MDB TEXINOV, Saint-Didier-de-la-Tour, Isère, France) et fixé au sol à l'aide de crochets métalliques. Ce revêtement est disposé de part et d'autre du pied des ceps de vigne un mois avant la véraison estimée, réalisant ainsi une surface réfléchissante d'un mètre de large au pied du rang de vignes. Le revêtement aluminé utilisé possède une valeur de l'albédo pour le rayonnement solaire global compris entre 0,90 et 0,95.

3) Répartition des essais

Deux essais sont effectués : l'un concerne l'évolution des flores levuriennes indigènes (blocs N), l'autre l'évolution des floresensemencées artificiellement à partir de mélanges de souches de levures identifiées (blocs E). Les essais sont répartis sur la rangée du Nord vers le Sud de la façon suivante : 9 ceps non traités (NT), 18 ceps équipés du revêtement aluminé (NS) et 8 ceps non traités (NT) composant le bloc témoin nonensemencé (bloc N), puis 5 ceps de séparation des deux blocs, suivis de 13 ceps non traités (ET), 16 ceps équipés du revêtement aluminé (ES) et 6 ceps non traités (ET) composant le bloc essaiensemencé (bloc E). Les prélèvements effectués sur ceps équipés du revêtement aluminé (blocs NS et ES) s'effectuent sur le côté de la rangée exposé à l'Ouest, tandis que ceux effectués sur ceps témoins (NT et ET) s'effectuent du côté Est. De façon à maximiser les effets thermiques et radiatifs, les grappes équipées du revêtement aluminé et exposées à l'Ouest sont dégagées de leur feuillage avoisinant.

4) Échéancier des prélèvements et traitements

L'expérimentation est menée sur un rang de vignes situé au milieu d'une parcelle d'un domaine viticole et donc soumise aux divers traitements phytosanitaires effectués sur cette même parcelle. L'échéancier des diverses opérations effectuées sur ce rang est résumé dans le tableau I.

II — TECHNIQUES MICROBIOLOGIQUES

1) Prélèvement stérile des baies

Sur une quinzaine de souches pour chacune des 4 situations expérimentales (NT, NS, ET et ES), une baie provenant de la zone médiane d'une de leurs grappes situées à même hauteur du sol (environ 50 cm) est prélevée. Les baies sont prélevées avec leur pédicelle par ciselage au niveau de ce dernier, à l'aide de ciseaux métalliques nettoyés à l'alcool 95 p. cent (v/v) entre chaque prélèvement. Chaque baie est déposée dans un tube à hémolyse stérile (14 ml) contenant 2 ml d'eau peptonée stérile (bacto-peptone DIFCO 1 g/l,

NaCl 9 g/l). Les tubes ont été ensuite agités de façon intermittente pendant 6 heures, puis les baies retirées stérilement des tubes. Les fractions liquides ont été alors conservées à 4°C pour dilution et ensemencement ultérieurs.

2) Numération cellulaire totale

De façon à cerner rapidement la population totale attendue dans un groupe d'échantillons, un étalement systématique préalable d'une gamme de dilutions de plusieurs fractions prises au hasard est effectué sur milieu gélosé YEPD (Yeast extract DIFCO 10 g/l, bacto-peptone DIFCO 20 g/l, glucose 20 g/l, agar 20 g/l) et dénombré après 48 h d'incubation à 28°C. Les différentes fractions sont alors étalées en double pour dénombrement après dilution adéquate sur milieu gélosé YEPD en boîtes de Petri contenant les inhibiteurs suivants : biphényle 112,5 µg/ml, pénicilline G 100 U/ml, et tétracycline 50 µg/ml. Les boîtes sont incubées à 28°C pendant 6 jours avant comptage des colonies.

3) Ensemencement des ceps de vigne

Les quatre espèces de levures retenues pour l'ensemencement artificiel des grappes des blocs ES et ET ont été initialement isolées au laboratoire à partir de moûts de raisin en fermentation. Ces quatre espèces sont des espèces reconnues comme contaminants potentiels des baies de raisin (KUNKEE et GOSWELL, 1977). Il s'agit de *Saccharomyces cerevisiae* (souche K1, ICV-INRA), *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia fermentans* et *Schizosaccharomyces pombe*. Ces quatre souches de levures sont récoltées après croissance de 48 heures sur milieu YEPD liquide, dénombrées à l'aide d'un compteur de particules (Coulter Counter ZBI, Coultronics, France), puis une suspension cellulaire de concentration voulue (25 000 cellules/ml) est réalisée dans du NaCl stérile à 9 g/l. Sur la base de la faible représentativité du genre *Saccharomyces* dans la contamination de surface des baies de raisin, les proportions retenues pour les quatre espèces dans le mélange sont respectivement 10 p. cent pour *S. cerevisiae* et 30 p. cent pour les trois autres espèces. La suspension fraîchement réalisée est alors pulvérisée sur les grappes des blocs ES et ET à raison d'1 ml de solution par grappe, ce qui correspond à environ 500 cellules par baie.

4) Détermination des répartitions entre genres

Les différentes fractions liquides issues des prélèvements effectués sur les blocs ES et ET ont été étalées en double pour dénombrement après dilution adéquate sur 4 milieux gélosés différents en boîtes de Petri contenant les inhibiteurs suivants : biphényle 112,5 µg/ml, pénicilline G 100 U/ml, et tétracycline 50 µg/ml. Ces milieux contiennent en commun res-

pectivement : Yeast extract DIFCO 10 g/l, bacto-peptone DIFCO 20 g/l, et agar 20 g/l. Ils diffèrent par leur contenu soit en glucose 20 g/l et cycloheximide 1 g/l (YEPDcyclo), soit en galactose 20 g/l (YEPG), soit en saccharose 20 g/l (YEPS), soit en lactose 20 g/l (YEPL). Les boîtes sont incubées à 28°C. Un premier dénombrement est effectué au bout de 48 heures, le second étant réalisé après 6 jours d'incubation sur les mêmes boîtes.

P. fermentans est facilement détecté par sa croissance rapide (48 heures) sur milieu YEPL. Les colonies correspondantes forment de petites pastilles mates, uniformément blanches. *H. uvarum* est la seule espèce à se développer sur milieu YEPDcyclo au bout de 6 jours d'incubation. Cette espèce se présente alors sous forme de petites colonies brillantes à bords diffus. Sur milieu YEPG, se développent, au bout de 48 heures d'incubation, *S. cerevisiae* et *P. fermentans* sous forme de grosses colonies. Le même résultat est observé sur milieu YEPS où, par contre, *S. cerevisiae* et *P. fermentans* apparaissent au bout de 48 heures d'incubation sous forme de petites colonies. La morphologie des colonies de *S. cerevisiae* sur ce milieu (cônes très brillants) permettent de les différencier des colonies de *P. fermentans*. Enfin, sur ces deux milieux, apparaissent seulement après 6 jours d'incubation les colonies de *S. pombe*. Sur les échantillons étudiés, d'autres colonies levuriennes non attribuables à *S. pombe* apparaissent après 6 jours d'incubation. Le nombre total de levures a été dénombré sur boîtes YEPD après 6 à 7 jours d'incubation à 28°C.

III — TECHNIQUES ANALYTIQUES

1) Analyse chromamétrique

Les mesures sont réalisées *in situ* à l'aide d'un chromamètre Minolta™ CR 200, permettant la mesure des couleurs dans tout le spectre visible dans un système de couleur non linéaire (MAC LAREN, 1980). A l'aide des paramètres L* (clarté), a* et b* caractérisant respectivement l'intensité sur les axes vert/rouge et bleu/jaune, les variables C (saturation de couleur) et H₀ (angle de teinte) sont calculées (BAKKER *et al.* (1986)). Les descripteurs de couleur L*, C et H₀, implicitement reliés à la teneur en pigments des baies (notamment celle en composés anthocyaniques), peuvent être notamment modulés par des facteurs environnementaux microclimatiques. Les évolutions de ces descripteurs en fonction du temps permettent de renseigner sur la dynamique de maturation du raisin et notamment sur la vitesse moyenne de changement de couleur impliquée dans la maturation du raisin (ROBIN *et al.*, 1996a).

2) Analyses biochimiques des moûts

Des lots homogènes d'environ 100 baies saines sont effectués au hasard des grappes selon le protocole d'échantillonnage classique décrit par FLANZY *et al.* (1969). Les lots sont, après lavage et essuyage des baies, broyés durant 3 min à l'aide d'un mixeur (Waring-Blendor), réglé à 20 000 tours par minute. Le moût obtenu est ensuite centrifugé, à 4°C, pendant 20 min, à 8 000 g. Le surnageant récupéré constitue le jus sur lequel sont déterminés le pH, l'acidité titrable, ainsi que la teneur en sucres par réfractométrie. L'acidité est titrée à pH 8,3 sur 20 ml de jus selon la méthode officielle de l'O.I.V.

3) Mesure des températures

Les mesures de température *in situ* sont effectuées directement sur une centaine de baies prises au hasard sur des grappes mais toujours situées à la même hauteur par rapport au sol (50 cm) à l'aide d'un radiothermomètre infrarouge RAYNGER®, PM (RAYTEC Inc., Santa Cruz, USA). Les mesures sont effectuées à une distance de 20 cm de la grappe, l'appareil étant réglé sur une émissivité de 0,95. Toutes les mesures sont réalisées à midi solaire, par temps ensoleillé, et en absence de vent.

4) Mesure du rayonnement ultraviolet

L'intensité du rayonnement ultraviolet de longueur d'onde $\lambda_{254 \text{ nm}}$ est mesurée *in situ* à l'aide d'un radiomètre ultraviolet BLAK-RAY® J-225 (Ultra-Violet Products Inc., San Gabriel, USA). Le rayonnement incident est mesuré en déposant directement le capteur sur le sol nu ou sur le revêtement aluminé, sur des zones préalablement identifiées pour toute la durée de l'expérimentation. Le rayonnement réfléchi est mesuré en positionnant le capteur à hauteur de la zone fructifère (environ à 50 cm de la surface du sol) à la verticale du revêtement ou du sol nu au-dessus des zones précédemment définies. La précision de la mesure est d'environ 2 p. cent de la valeur lue. La campagne de mesures du rayonnement ultraviolet a été effectuée tout au long de l'expérimentation, de façon à pouvoir bénéficier de conditions météorologiques variées.

RÉSULTATS

I — EFFICACITÉ DE LA MODIFICATION ARTIFICIELLE DES MICROCLIMATS RADIATIFS ET THERMIQUES

L'efficacité du traitement par le revêtement réfléchissant artificiel peut être évaluée soit par l'analyse de facteurs permettant de juger du degré d'avancement comparé de la maturation (analyses chimique et chro-

mamétrique), soit par la modification de paramètres physico-chimiques mesurés *in situ* (analyses thermique et du rayonnement ultraviolet).

L'analyse chromamétrique de baies récoltées peu de temps avant la vendange montre des différences extrêmement significatives entre les baies traitées et les baies témoins pour tous les descripteurs de la couleur (Clarté (L*), Saturation (C) et Angle de teinte(H₀)) (tableau II). De telles différences dénotent un degré de maturation plus avancée des baies traitées par rapport aux baies témoins (ROBIN *et al.*, 1996a), confirmant l'efficacité du traitement sur le site expérimental.

L'analyse chimique des jus issus de baies récoltées sur des ceps traités et témoins est présentée sur le tableau III. Il apparaît nettement que les baies provenant des ceps traités possèdent en moyenne une teneur en sucres plus élevée et une acidité plus faible que les baies témoins. Ces différences s'amplifient au cours de la période de maturation pour atteindre un écart maximum peu de temps avant la vendange. Ces résultats confirment bien ceux précédemment obtenus par analyse chromamétrique des baies *in situ*.

1) Bilan des mesures de température

Un écart thermique moyen significatif de plus de 2°C a été détecté pour une température ambiante de 30°C, lors de mesures effectuées *in situ* sur les baies à l'aide d'un radiothermomètre sur les blocs traités (tableau IV, données du 19/08/1997). Ces différences sont du même ordre de grandeur que celles déterminées précédemment lors d'essais comparables (IGOUNET *et al.*, 1995a). De précédentes études ont montré que de telles différences thermiques cumulées sur les mois de juillet et août, en région méditerranéenne, conduisaient en moyenne à une somme des écarts de température générés par mois par rapport à l'air ambiant de l'ordre de 70°C pour les baies traitées contre 30°C pour les baies témoins (IGOUNET *et al.*, 1995b). De telles différences sont calculées à partir des écarts maximum journaliers de température et n'intègrent donc pas les écarts thermiques sur toute la journée.

2) Bilan des mesures dans l'ultraviolet à 254 nm

Durant l'expérimentation, la mesure de l'intensité du rayonnement ultraviolet à 254 nm réfléchi à 90° au niveau de la zone fructifère a été effectuée et comparée à l'intensité du rayonnement incident mesuré au niveau du sol nu. La figure 1 montre l'évolution de ce paramètre en fonction du rayonnement incident lors de différentes prises de mesure étalées au cours de l'expérimentation. Il apparaît que le revêtement aluminé renvoie vers les grappes de raisin environ 65 p. cent du rayonnement ultraviolet de courte longueur d'onde

alors que le sol nu considéré n'en renvoie que 46 p. cent ; l'écart est surtout apparent quand le rayonnement incident est fort (cas d'ensoleillement élevé).

II — EFFET DE LA MODIFICATION ARTIFICIELLE DES MICROCLIMATS RADIATIFS ET THERMIQUES SUR LA FLORE LEVURIENNE TOTALE

L'étude de l'évolution du nombre total de levures à la surface des baies de raisin au cours de la période de maturation des baies (tableau V) montre une évo-

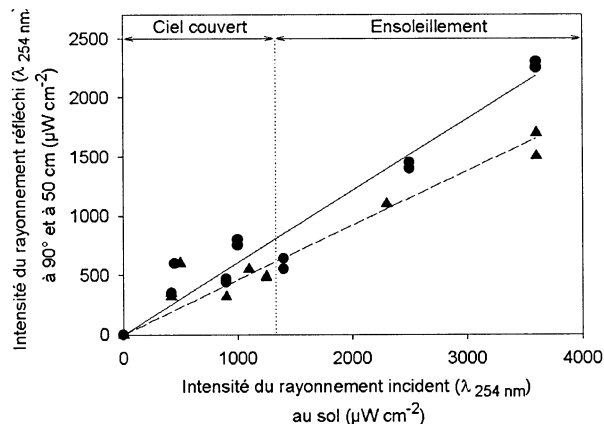


Fig. 1 — Mesures du rayonnement ultraviolet (λ 254 nm) réfléchi par le sol nu (▲) et par le revêtement aluminé (●) pendant l'expérimentation.

Fig. 1 — UV reflectance measurements (λ 254 nm) of soil (▲) and aluminized film (●) during the experiments.

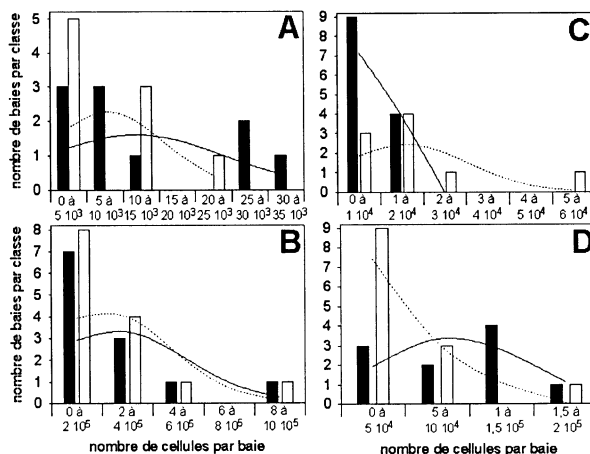


Fig. 2 — Histogrammes de répartition de la population levurienne totale par baie mesurée sur les ceps témoins (boîtes noires) ou traités (boîtes blanches) et répartition théorique suivant une loi de distribution normale sur ceps témoins (—) ou traités (- - -).

Dates de prélèvement : A : 07/07/1997 ; B : 18/07/1997 ; C : 01/08/1997 ; D : 14/08/1997.

Fig. 2 — Distribution of yeast total flora per grape berry on control (black boxes) and film-treated stocks (white boxes), and theoretical distribution according to the normal law on control (—) and film-treated stocks (- - -).

Harvest dates : A : 07/07/1997 ; B : 18/07/1997 ; C : 01/08/1997 ; D : 14/08/1997.

TABLEAU I
Echéancier des diverses opérations effectuées
sur la rangée expérimentale.

Table I — Timing of the various treatments
on the experimental vine row.

Dates	Opérations effectuées
15/06/1997	Installation des revêtements aluminés sur les sites NS et ES
30/06/1997	Prélèvement pour estimation des populations indigènes
03/07/1997	Ensemencement artificiel du bloc E
07/07/1997	Prélèvement A
10/07/1997	Traitement fongicide de contact et antioïdium
15 au 20/07/1997	Véraison
18/07/1997	Prélèvement B
28/07/1997	Traitement lessivant fongicide de contact et antioïdium
01/08/1997	Prélèvement C
07/08/1997	Traitement fongicide de contact et antioïdium
14/08/1997	Prélèvement D
05/09/1997	Vendange de la parcelle

lution croissante de cette population jusqu'au troisième prélèvement (C du 01/08/1997). A ce stade, on peut effectivement noter un effondrement des populations levuriennes de surface, vraisemblablement dû au traitement phytosanitaire lessivant (antifongique et antioïdium) effectué le 28/07/1997 sur la parcelle (tableau I). Le quatrième prélèvement D permet d'observer une nouvelle multiplication des levures à la surface des baies analogue à celle observée sur les prélèvements A et B. L'examen des histogrammes de répartition de la flore levurienne totale de surface par baie pour les quatre prélèvements révèle une répartition différente entre sites témoins et sites traités (figure 2). Un test de normalité réalisé sur ces différentes populations (test de Shapiro-Wilks) a révélé que la majorité des distributions observées suivaient une distribution normale (à l'exception du prélèvement C sur site témoin (figure 2 et tableau V)). En conséquence, l'analyse statistique des populations normales dénombrées sur ceps traités et témoins a été réalisée à l'aide d'un test classique de Student. Dans le cas du prélèvement C, un test non paramétrique (test des suites de Wald-Wolfowitz) a été utilisé afin de comparer à la fois la tendance centrale des distributions, mais aussi la forme générale de celles-ci. Les résultats des différents tests effectués montrent des différences marquées et significatives pour tous les prélèvements (tableau V). A l'exception du prélèvement C, où une inversion des populations est constatée, la tendance générale indique que le traitement induit une baisse sensible des populations levuriennes de sur-

TABLEAU II
Analyse chromamétrique des baies (prélèvement du 29/08/1997).

Table II — Grape berries chromametric analysis (grapes harvested on 29/08/1997).

	Blocs traités NS et ES		Blocs témoins NT et ET	
Nombre d'échantillons	75		75	
Moyenne Clarté (L*)	33,11		35,49	
Ecart type Clarté	2,66		3,44	
Moyenne Saturation (C)	8,67		9,21	
Ecart type Saturation	1,60		2,15	
Moyenne Angle de teinte (H ₀)	-77,41		-79,97	
Ecart type Angle de teinte	5,01		4,85	
Test de Student (échantillons indépendants)	t ^a	p ^b	ddl ^c	degré de signification ^d
Clarté (L*)	4,75	0,00001	74	**
Saturation (C)	1,82	0,073	74	*
Angle de teinte (H ₀)	3,18	0,00177	74	**

^a valeur du paramètre t du test de Student ; ^b probabilité p que les moyennes ne soient pas différentes ; ^c nombre de degrés de liberté, ^d degré de signification du test de Student (** = significatif au seuil p ≤ 0,05 ; * = significatif au seuil p ≤ 0,1 ; NS = non significatif).

TABLEAU III
Caractéristiques chimiques des jus issus de baies de raisin.

Table III — Chemical analysis of grape juices.

Date de prélèvement	Opérations effectuées	Bloc traité NS	Bloc témoin NT
C : 01/08/1997	Sucres totaux (g/l)	147,9	139,4
	pH	3,13	3,01
	Acidité titrable (meq/l)	102,5	122,35
D : 14/08/1997	Sucres totaux (g/l)	226,4	207,9
	pH	3,90	3,71
	Acidité titrable (meq/l)	79,25	98,24

TABLEAU IV
Températures de surface des baies et signification statistique des moyennes
(19/08/1997, température ambiante : 30°C).

Table IV — Grape berries temperature and statistical significance of means
(19/08/1997, ambient temperature : 30°C).

	Blocs traités NS et ES		Blocs témoins NT et ET	
Nombre d'échantillons	100		107	
Moyenne des températures	30,55 °C		33,78 °C	
Ecart type	0,652		1,018	
Test de Student (échantillons indépendants)	t	p	ddl	degré de signification
	-27,03	0,00001	205	**

Mêmes abréviations que pour le tableau II

face des baies. Si la baisse de population généralisée observée lors du prélèvement C est bien attribuable à un traitement phytosanitaire de la parcelle, le renversement des populations observé entre les prélèvements C et D (soit une période de 13 jours) renforce fortement la conclusion précédente concernant l'effet négatif du traitement sur les populations levuriennes de surface des baies. L'effet du traitement poussé à son terme (dernier prélèvement D) conduit à une population moyenne par baie traitée réduite de moitié par rapport aux baies témoins. Il est tentant de penser, qu'en l'absence du traitement phytosanitaire lessivant du 28/07/1997, les différences observées auraient été plus fortes. Nous avons donc tenté d'évaluer les espèces de levures affectées par le traitement au sein de populations de levures fermentaires ensemencées au début de la période de maturation du raisin.

III — EFFET DE LA MODIFICATION ARTIFICIELLE DES MICROCLIMATS RADIATIFS ET THERMIQUES SUR LA RÉPARTITION ENTRE ESPÈCES AU SEIN D'UNE FLORE LEVURIENNE ENSEMENCÉE

Le bloc E a été ensemencé avec quatre espèces différentes de levures classiquement isolées à la surface des baies de raisin appartenant à quatre genres différents, mais surtout susceptibles d'assurer partiellement ou complètement la fermentation alcoolique des moûts de raisin : *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia fermentans* et *Schyzosaccharomyces pombe*. Ces quatre espèces de levures avaient été initialement isolées de moûts de raisin en cours de fermentation. Ces levures ont été ensemencées par pulvérisation le 03/07/1997 à une densité cellulaire approximative de 25 000 cellules par grappe, soit environ 500 cellules par baie. La population moyenne indigène présente sur les baies avant ensemencement était alors comprise entre 100 et 400 cellules de levures par baie. Les quatre genres de levures ont été ensemencés en respectant un pourcentage plus faible de la population ensemencée pour *S. cerevisiae* (10 p. cent), levure généralement isolée sur les baies de raisin à de très faibles fréquences, que pour les autres genres (30 p. cent). Ces essais n'ont été poursuivis que sur les prélèvements A et B, la diminution très nette de la popu-

TABLEAU V
Dénombrement de la flore levurienne sauvage totale des baies de raisin (en nombre de cellules par baie).

Table V— Analysis of the total wild yeast flora of grape berries (number of yeast cells per grape berry).

Date de prélèvement	Bloc traité NS		Bloc témoin NT	
A : 07/07/1997	Nombre d'échantillons	9		10
	Moyenne	7,9 10 ³		1,6 10 ⁴
	Ecart type	7,7 10 ³		1,3 10 ⁴
	Test de Shapiro-Wilks	p^a = 0,05 (**b)		p = 0,08 (*)
B : 18/07/1997	Nombre d'échantillons	14		12
	Moyenne	2,0 10 ⁵		2,5 10 ⁵
	Ecart type	2,6 10 ⁵		2,8 10 ⁵
	Test de Shapiro-Wilks	p^a = 0,004 (**)		p = 0,003 (*)
C : 01/08/1997	Nombre d'échantillons	9		13
	Moyenne	1,6 10 ⁴		7,1 10 ³
	Ecart type	1,4 10 ⁴		6,3 10 ³
	Test de Shapiro-Wilks	p^a = 0,24 (NS)		p = 0,03 (**)
D : 14/08/1997	Nombre d'échantillons	13		10
	Moyenne	4,2 10 ⁴		8,7 10 ⁴
	Ecart type	4,5 10 ⁴		5,7 10 ⁴
	Test de Shapiro-Wilks	p^a = 0,08 (*)		p = 0,01 (**)
Test de Student	t	p	ddl	degré de signification
A : 07/07/1997	1,64	0,09	17	*
B : 18/07/1997	0,43	0,67	24	NS
D : 14/08/1997	2,16	0,04	21	**
Test de Wald-Wolfowitz	Z^c		p^d	
C : 01/08/1997	0,51		0,60	

Test de normalité de Shapiro-Wilk : ^a probabilité p pour que la distribution observée ne suive pas une loi normale de distribution, ^b degré de signification du test (** = significatif au seuil $p \leq 0,05$; * = significatif au seuil $p \leq 0,1$; NS = non significatif) - **Test de Student** : mêmes abréviations que pour le tableau II - **Test des suites de Wald-Wolfowitz** : ^c valeur du paramètre Z ajusté, ^d probabilité p pour que les échantillons testés n'appartiennent pas à une même population.

lution observée au prélèvement C (figure 2 et tableau V) rendant aléatoire tout type ultérieur d'analyse des populations. Les populations totales à la surface des baies récoltées sur ceps témoins et traités, ainsi que les répartitions globales des 4 genres de levures au sein de cette population sont données sur le tableau VI. Par rapport aux répartitions théoriques entre genres de levures au moment de l'ensemencement des grappes, il est à noter que, contrairement aux trois autres genres, le genre *Hanseniaspora* ne s'est que très faiblement implanté sur les baies. Si les différences en terme de population totale entre blocs sont non significatives pour les deux prélèvements étudiés, on retrouve, par contre, une ten-

dance marquée pour une augmentation significative de la fréquence des levures du genre *Saccharomyces* au détriment des autres genres au sein de la population totale dans le cas des ceps traités (tableau VII). Il est toutefois à remarquer que pour les deux situations étudiées, la fréquence des levures du genre *Saccharomyces* tend à décroître du premier prélèvement au suivant, en favorisant l'émergence d'autres populations de levures non identifiées. Ce résultat n'est pas étonnant, dans la mesure où les levures du genre *Saccharomyces* ne représentent naturellement qu'entre 1 et 10 p. cent de la flore levurienne de surface.

TABLEAU VI
Analyse de la flore levurienne des baies de raisin ensemencées
(flore totale et répartition entre genres).

Table VI — Analysis of the yeast flora of grape berries (total flora and repartition amongst yeast genera).

Date de prélèvement	Nombre de cellules par baies		Bloc traité ES	Bloc témoin ET
A : 07/07/1997	Nombre d'échantillons		8	6
	Nombre total de cellules par baie	Moyenne	4,5 10 ³	2,4 10 ⁴
		Ecart type	6,2 10 ³	3,9 10 ⁴
	<i>P. fermentans</i>	Moyenne	1,1 10 ³	1,0 10 ⁴
		Ecart type	1,5 10 ³	1,0 10 ⁴
	<i>H. uvarum</i>	Moyenne	7	2
		Ecart type	20	5
	<i>S. cerevisiae</i>	Moyenne	3,4 10 ³	6,6 10 ³
		Ecart type	3,1 10 ³	6,3 10 ³
	<i>S. pombe</i> et autres	Moyenne	3,0 10 ²	3,7 10 ³
		Ecart type	5,2 10 ²	6,2 10 ³
	B : 18/07/1997	Nombre d'échantillons		11
Nombre total de cellules par baie		Moyenne	1,3 10 ⁵	3,4 10 ⁵
		Ecart type	1,8 10 ⁵	4,1 10 ⁵
<i>P. fermentans</i>		Moyenne	6,2 10 ⁴	1,7 10 ⁵
		Ecart type	2,8 10 ⁴	1,0 10 ⁵
<i>H. uvarum</i>		Moyenne	1,4 10 ²	34
		Ecart type	2,5 10 ²	1,4 10 ²
<i>S. cerevisiae</i>		Moyenne	6,4 10 ⁴	9,7 10 ⁴
		Ecart type	2,8 10 ⁴	9,4 10 ⁴
<i>S. pombe</i> et autres levures		Moyenne	4,3 10 ³	7,3 10 ⁴
		Ecart type	8,1 10 ³	1,0 10 ⁵

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

L'expérimentation réalisée montre qu'une diminution sensible de la population levurienne de surface des baies est observée lors de traitement de la vigne par revêtement aluminé durant la période de maturation du raisin. Si l'on omet de l'analyse le troisième prélèvement (C), où la réalisation d'un traitement phytosanitaire trop drastique a vraisemblablement interféré avec les populations levuriennes, l'écart entre les deux populations semble augmenter au cours du temps et donc atteindre un maximum peu de temps avant la vendange. Une telle cinétique d'inhibition sur la population levurienne sur les ceps traités ne peut être attribuée qu'à l'accumulation d'un ou plusieurs facteurs

inhibiteurs de la croissance des levures au cours de l'expérimentation. La pose de revêtement réfléchissant artificiel induit bien, sur le site expérimental en cours de journée ensoleillée, une augmentation sensible de la température des grappes d'environ 2°C par rapport aux baies témoins. De même, pour la première fois, il a été constaté que ce traitement renvoyait vers les grappes de raisin 15 p. cent de plus de rayonnement ultraviolet de courte longueur d'onde (λ 254 nm) que le sol nu. Bien que l'augmentation de température observée ait lieu dans une gamme favorable à la croissance levurienne, il est possible que la conjugaison des deux effets (température et rayonnement ultraviolet) puisse expliquer l'inhibition observée de la croissance levurienne sur les ceps traités. Une explication alternative liée à

TABEAU VII
Analyse statistique des données du tableau VI.

Table VII — Statistical analysis of the data presented on table VI.

Test de student (échantillons indépendants)	Nombre de cellules par baies	t	p	ddl	degré de signification
prélèvement A : 07/07/1997	Nombre total de cellules	1,42	0,18	12	NS
	<i>P. fermentans</i>	0,93	0,37	12	NS
	<i>H. uvarum</i>	-0,80	0,44	12	NS
	<i>S. cerevisiae</i>	-1,84	0,09	12	*
	<i>S. pombe</i> et autres	0,78	0,45	12	NS
prélèvement B : 18/07/1997	Nombre total de cellules	1,52	0,14	19	NS
	<i>P. fermentans</i>	0,18	0,86	19	NS
	<i>H. uvarum</i>	-1,48	0,16	19	NS
	<i>S. cerevisiae</i>	-1,90	0,07	19	*
	<i>S. pombe</i> et autres	1,99	0,06	19	*

Mêmes abréviations que pour le tableau II

la température et au rayonnement ultraviolet n'a pas pu être testée avec le dispositif expérimental mis en place : il est en effet connu que les insectes (premiers vecteurs de contamination levurienne des baies) sont, suivant les espèces, attirés ou repoussés par les deux types de rayonnement (thermique et ultraviolet). Les différences observées pourraient alors provenir d'une désaffection des ceps traités par une ou plusieurs espèces d'insectes susceptibles d'être des vecteurs de contamination levurienne des grappes. Toutefois, l'augmentation systématique des différences entre population levurienne de ceps traités et de ceps témoins au cours des deux mois de suivi, y compris après une baisse sévère des effectifs (prélèvement C), ne favorise pas cette dernière hypothèse.

La deuxième partie de l'expérimentation a permis de démontrer que le traitement pouvait favoriser l'implantation des levures du genre *Saccharomyces* au détriment d'autres genres de levures. Cet effet semble par contre indépendant du phénomène général de diminution de la contamination levurienne de surface des baies mis en évidence au préalable.

L'ensemble des résultats obtenus montre que la pose de revêtements réfléchissant artificiels au pied de ceps de vigne diminue la valeur de la population levurienne de surface des baies de raisin, mais aussi oriente en partie la répartition des différents genres de levures au sein de cette population. Outre les aspects biochimiques liés à la modification de la qualité du raisin par la technique (SAUVAGE *et al.*, 1995 ; IGOUNET *et al.*, 1995a ; ROBIN *et al.*, 1995 ; ROBIN *et al.*, 1996a ; ROBIN *et al.*, 1996b ; ROBIN *et al.*, 1996c), ce traitement, par son effet sur la microflore levurienne de surface, pourrait permettre de diminuer les risques évidents de compétition entre levure de fermentation (*Saccharomyces cerevisiae*) et autres levures indigènes lors des premières étapes de la fermentation. Les successions de flores levuriennes observées lors de fermentations spontanées de moûts de raisin (QUEROL *et al.*, 1990 ; FLEET *et al.*, 1984) peuvent en effet conduire dans certains cas à des difficultés fermentaires (BATAILLON *et al.*, 1996). De même, les problèmes rencontrés lors de l'implantation de levures sèches actives en début de fermentation (VEZINHET et LACROIX, 1984 ; QUEROL *et al.*, 1992) pourraient être atténués par l'effet d'un tel traitement sur l'effectif total levurien des baies.

D'autre part, les piqûres d'insectes sur les baies de raisin mûres peuvent, certaines années, causer de graves dégâts dans le Midi de la France (vendange 1997 notamment) ou dans certaines régions où les vendanges sont effectuées tardivement. C'est le cas de la pourriture acide, maladie qui s'est fortement développée avec la baisse des traitement phytosanitaires à base de cuivre (SCHUEPP et SIEGFRID, 1984). Cette maladie est due à une attaque de diptères du genre *Drosophila* sp., qui occasionne l'inoculation de certaines espèces de levures, de bactéries acétiques ou de nématodes. Les levures acétigènes fréquemment associées à cette pourriture acide sont *Kloeckera apiculata* et *Saccharomycopsis vini* (BISIACH *et al.*, 1981) ou *Candida* sp. (MERONI, 1996). Enfin les nématodes mis en jeu

(*Panagrellus zymosiphilus*) sont souvent eux-mêmes parasités par des levures (SHANN, 1987). Au vu des résultats obtenus, de telles atteintes du raisin devraient être affaiblies par la pose de revêtements réfléchissants artificiels. C'est en ce sens qu'une expérimentation sera menée dans l'avenir sur des parcelles à risque.

D'un point de vue plus général, les résultats obtenus dans cette étude posent le problème de l'impact des propriétés spectrales des sols (dans le domaine des rayonnements ultra-violet notamment) sur la flore levurienne de surface des baies et donc sur la vinification. Il serait en effet intéressant d'évaluer si des différences locales de température liées au terrain, ou plus vraisemblablement à la valeur de l'albédo du sol nu peuvent être suffisantes pour entraîner des modifications de flores levuriennes de surface. Un tel raisonnement devrait être également tenu vis-à-vis de la réflexion dans l'ultraviolet de ces sols. Si de tels effets sont mis en évidence, ils pourraient, par exemple, influencer notablement sur les successions de flores levuriennes observées pendant la fermentation spontanée des moûts, notamment lors d'années très ensoleillées pendant la période de maturation des baies. Une forte sélection de certaines espèces au sein des flores de surface pourrait alors avoir lieu. Si de tels phénomènes sont découverts à des échelles locales ou régionales, ils pourraient contribuer de façon valable à la notion d'effet "terroir", notion encore difficile à appréhender de par la multiplicité des mécanismes susceptibles d'être mis en cause.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAKKER J., BRIDLE P. et TIMBERLACKE C.F., 1986. *Tristimulus* measurements (CIELAB 76) of port wine colour. *Vitis*, **25**, 67-78.
- BATAILLON M., RICO A., SABLAYROLLES J.M., SALMON J.M. et BARRE P., 1996. Early thiamin assimilation by yeasts under enological conditions: impacts on alcoholic fermentation kinetics. *J. Ferment. Bioeng.*, **82**, 145-150.
- BENDA I., 1962. Ecological investigation of the yeast flora in the grape district of Franconia. *Bayer. Landwirtsch. Jahrb.*, **39**, 595-614.
- BENDA I., 1983. Wine and brandy. In: *Prescott and Dunn's industrial microbiology*. Reed G. ed., AVI Publishing Company Inc., Westport, USA, 4th ed., 293-402.
- BISIACH M., MINERVINI G. et SALOMONE C., 1981. Recherches expérimentales sur la pourriture acide de la grappe et sur les rapports avec la pourriture grise. *Prog. Agric. Vitic.*, 209-210.
- BOULTON R.B., SINGLETON V.L., BISSON L.F. et KUNKEE R.E., 1995. Yeast and biochemistry of ethanol fermentation. B. Natural grape and winery flora. In: *Principles and practices of winemaking*. Chapman and Hall, International Thomson Publishing, New York, USA, 122-123.
- FLANZY C., FLANZY M., ANDRE P. et CHAMBROY Y., 1969. Fixation à l'obscurité du ¹⁴CO₂ gazeux dans les baies de raisin en anaérobiose. II. Devenir du ¹⁴C au cours de la fermentation intracellulaire. *Ann. Technol. Agric.*, **18**, 307-325.
- FLEET G.H., LAFON-LAFOURCADE S. et RIBÉREAU-GAYON P., 1984. Evolution of yeasts and lactic bacteria during fermentation and storage of bordeaux wines. *Appl. Environ. Microbiol.*, **48**, 1034-1038.
- HAYNES R.H. et KUNZ B.A., 1981. DNA repair and mutagenesis in yeast. In: *The molecular biology of the yeast Saccharomyces*. Life cycle and inheritance. Strathern J.N., Jones E.W., Broach J.R. eds., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 371-414.
- IGOUNET O., BALDY C., ROBIN J.P., BOULET J.C., SANON M. et SUARD B., 1995a. Effets de revêtements artificiels du sol sur la température à l'intérieur des grappes de raisins au cours de la maturation. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **29**, 131-142.
- IGOUNET O., BALDY C., SUARD B., SAUVAGE F.X., LOPEZ F., BOULET J.C. et ROBIN J.P., 1995b. Régime thermique du raisin (*Vitis Vinifera* L., cépage Syrah) en cours de maturation. Influence de la couleur des baies, du degré de compacité des grappes et du régime éolien local. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **29**, 193-204.
- JAMES A.P. et WERNER M.M., 1965. The radiobiology of yeasts. *Radiat. Bot.*, **5**, 359-365.
- KUNKEE R.E. et GOSWELL R.W., 1977. Table wines, In: *Alcoholic beverages*. Rose A.H. ed., Academic Press, New-York, USA, 225-269.
- LUND A., 1958. Ecology of yeasts. In: *The chemistry and biology of yeasts*. Cook A.H. ed., Academic Press, New York, 63-91.
- MACLAREN, 1980. Food colorimetry. In: *Developments in food colours*, tome 1. Walford J. ed., London, Applied Science Publishers Ltd., 27-45.
- MERONI E., 1996. La pourriture acide des raisins. *Rencontres Rhodaniennes*, Institut Rhodanien, 30 avril 1996, Laudun, Gard, 69-74.
- PEYNAUD E. et DOMERCQ S., 1953. The yeasts of the Gironde. *Ann. Inst. Natl. Rech. Agron.*, **4**, 265-300.
- QUEROL A., JIMENEZ M. et HUERTA T., 1990. A study on microbiological and enological parameters during fermentation of must from poor and normal grapes harvest in the region of Alicante (Spain). *J. Food Sci.*, **55**, 1603-1606.
- QUEROL A., BARRIO E., HUERTA T. et RAMON D., 1992. Molecular monitoring of wine fermentations conducted by active dry yeast strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 2948-2953.

- ROBIN J.P., SAUVAGE F.X., BOULET J.C., RAZUNGLES A., MOUTOUNET M. et FLANZY C., 1995. Incidence d'un renforcement artificiel du microclimat radiatif et thermique de la vigne par usage de revêtements réfléchissants, sur les caractéristiques des moûts et sur la qualité du vin. *XX^e Congrès de la Vigne et du Vin*, O.I.V., 26 novembre-4 décembre, Punta del Este, Uruguay.
- ROBIN J.P., LOPEZ F., ROUJOU DE BOUBEE, IGOUNET O., SAUVAGE F.X., PRADAL M. et VERRIES C., 1996a. La coloration des baies de raisin Syrah au cours de leur maturation. Relations entre les descripteurs de la couleur, dynamique *in situ* et influence des facteurs de l'environnement. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **30**, 187-199.
- ROBIN J.P., SAUVAGE F.X., BOULET J.C., SUARD B. et FLANZY C., 1996b. Reinforcement of the radiative and thermic stresses of the grapewine in the field conditions using a reflective soil cover. Repercussions on the must composition and on the wine quality. *IVth Int. Symp. on Cool Climate Viticulture and Enology*, 16-20 Juillet, Rochester, NY, USA.
- ROBIN J.P., SAUVAGE F.X., BOULET J.C., SUARD B. et FLANZY C., 1996c. Importance des propriétés optiques de la surface du sol sur le microclimat de la vigne. Répercussions de l'usage d'un revêtement de sol réfléchissant sur la composition des moûts et sur la qualité du vin. *Colloque Int. sur les Terroirs Viticoles*, 17-18 juillet, Angers, France.
- SA-CORREIA I. et VAN UDEN N., 1986. Ethanol-induced death of *Saccharomyces cerevisiae* at low and intermediate growth temperatures. *Biotechnol. Bioeng.*, **28**, 301-303.
- SAUVAGE F.X., IGOUNET O., BOULET J.C., RAZUNGLES A., BALDY C. et ROBIN J.P., 1995. Modification du microclimat radiatif chez la vigne : stress thermique des grappes, répercussions sur la composition du moût et sur la qualité du vin. *V^e Symp. Int. Œnol.*, 15-17 juin 1995, Bordeaux, France, 55-61.
- SCHUEPP H. et SIEGFRID W., 1984. Die traubenfäule 1982 und die teilweise ungenügende bekämpfungserfolg mit den dicarboximid-fungiziden. *Schweiz. Z. Obst. Weinbau*, **119**, 61-70.
- SHANN C., 1987. Presenza di nemato in uve affette da marciume acido. *Inf. Agrar.*, **43**, 137-138.
- STEVIC B., 1962. The importance of bees (*Apis* sp.) and wasps (*Vespa* sp.) as carriers of yeasts for the microflora of grapes and the quality of wines. *Archiv Poljoprivedne Nauke Beograd*, **15**, 80-91.
- VAN UDEN N., 1985. Ethanol toxicity and ethanol tolerance in yeasts. *Ann. Rep. Ferment. Proc.*, **8**, 11-58.
- VEZINHET F. et LACROIX S., 1984. Marquage génétique des levures : outil de contrôle des fermentations en souche pure. *Bull. O.I.V.*, **57**, 759-773.
- WHITE J. et MUNNS D.J.J., 1951. Influence of temperature on yeast growth and fermentation. *J. Inst. Brew.*, **57**, 280-284.

Manuscrit reçu le 8 octobre 1997 ;
accepté pour publication le 15 décembre 1997)