J. Int. Sci. Vigne Vin, 1996, **30**, n°4, 207-219

LA FERMENTATION MALOLACTIQUE DES VINS DE NAOUSSA (GRÈCE). ÉTUDE DES BACTÉRIES LACTIQUES*

THE MALOLACTIC FERMENTATION IN THE WINES OF NAOUSSA (GRÈCE). STUDY OF LACTIC ACID BACTERIA*

E. SOUFLEROS, N. KONSTANTINIDIS,
Elefteria TSITSANOPOULOU et G. GERAKIANNAKIS

Laboratoire d'Œnologie, Institut d'Enseignement Technologique (T.E.I.)
Alexandrio de Macédoine, Thessalonique (Grèce)

Résumé : Le vin rouge d'Appellation d'Origine Naoussa de Qualité Supérieure, issu du cépage Xynomavro cultivé dans cette région viticole de Grèce, a un besoin absolu des avantages de la fermentation malolactique. Ce vin, malgré ses qualités incontestables, se caractérise par un goût astringent prononcé et par une acidité élevée ; l'acide malique contribuant essentiellement à ces deux caractères.
La mise en œuvre des conditions, généralements admises, qui favorisent la fermentation malolactique ont montré que, au cours des années 1987 et 1988, la population bactérienne ainsi que la fermentation malolactique évoluent positivement.
Les bactéries homofermentaires, principalement *Lactobacillus plantarum*, sont les plus nombreuses avant la fermentation malolactique et elles diminuent ensuite. L'inverse est observé pour l'évolution des bactéries hétérofermentaires dont *Leuconostoc oenos* est le représentant essentiel.
Enfin, la diminution de l'acidité totale des vins qui ont subit la fermentation malolactique est considérable.
Une analyse statistique confirme les points principaux de cette recherche.

Abstract : The red wine « Appellation d'Origine Naoussa de qualité supérieure » stemming from the « Xynomavro » vine cultivated in this wine-growing region of western Macedonia (Greece) needs the advantages coming of malolatic fermentation. This wine, in spite of its incontestable qualities has a strong astringent and a high level of acidity, the malic acid contributing essentially to these two characters.
Because of the interest malolactic fermentation presents for this region, we have collaborated with the wine-producters to insure, at first, the generally admitted conditions which favour the evolution of malolactic fermentation, then to study it. The latter includes :
a) the control of the conversion of malic acid into lactic acid by chromatography paper and b) the enumeration, isolation and identification of lactic acid bacteria.
During this two-year-long research, 187 samples have been taken from 50 different tanks during 12 samplings.
The isolation of lactic acid bacteria was done by plating dilutions of wine samples and their identification with the API system and other physico-chemical and enzymatic methods.
Data processing has been done by computer and given a strain group distribution according to their similarity.
The results show that : The homofermentative lactic acid bacteria - mainly *Lactobacillus plantarum* - are more numerous than the heterofermentative ones before the malolactic fermentation. They decrease during the fermentative process and disappear with its completion.
The heterofermentative lactic acid bacteria, whose main specie is *Leuconostoc œnos* evolves inversely.
A low increase of *Pediococcus* has been observed too after the beginning of malolactic fermentation.
A statistical analysis confirms the main points of this research.
The application of malolactic fermentation becomes more efficient the second year ; it is favoured in press-wines and for temperatures kept at 20-25°C ; the bacteria population is also increased.
The persued reduction of total acidity in wines, which underwent malolactic fermentation, was considerable.

Mots-clés : vin, fermentation malolactique, bactéries lactiques, *bacilli*, *cocci,* acide malique, acide lactique

Key words : wine, malolactic fermentation, lactic acid bacteria, *bacilli*, *cocci*, malic acid, lactic acid

---

*Cette recherche a été financée par l'Institut d'Enseignement Technologique de Thessalonique

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

INTRODUCTION

La quantité consommée d'un produit dépend directement de sa qualité. Cet axiome devient encore plus fort dans le cas du vin, vu que ce produit est d'abord destiné à plaire et ensuite à satisfaire certains des besoins nutritifs du consommateur.

Les excès de vin dans le territoire européen (C.E.E.) et la crise qui en découle sont certainement dus à l'absence de la qualité nécessaire. Cette conception a été l'objet d'une campagne lancée par la C.E.E. pour l'amélioration qualitative des vins, constituée d'une série de mesures, à savoir l'encépagement des vignobles, la diminution de la production, les nouvelles techniques de vinification et de traitement des vins, etc.

En ce qui concerne la Grèce, nous considérons que, au-delà des mesures précédentes, la connaissance profonde des phénomènes biochimiques importants contribuera à l'amélioration de la qualité de nos vins.

Dans les pays œnologiquement avancés, le rôle de la fermentation malolactique, surtout pour les vins rouges, est depuis un quart de siècle bien évident. Elle entraîne une amélioration gustative et une stabilité biologique. Les vins perdent leur saveur acerbe et dure, ils deviennent plus souples, moins acides et ils apparaissent à la bouche plus gras, plus ronds et plus agréables. La couleur des vins jeunes rouges devient moins vive, l'arôme est transformé et s'enrichit en nuance (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1976).

Le vin rouge d'Appellation d'Origine Naoussa de Qualité Supérieure, auquel se réfère cette recherche, a un besoin impératif des avantages issus de la fermentation malolactique. Le cépage Xynomavro, cultivé dans cette région viticole de Macédoine occidentale, se caractérise, en dehors de ses qualités importantes, par un goût astringent prononcé et par une acidité élevée ; l'acide malique contribuant largement à ces deux caractères.

L'étude approfondie de la composition de la microflore bactérienne indigène de la région viti-vinicole de Naoussa, ainsi que la recherche des conditions qui favorisent son développement, constituent des nécessités indispensables pour la réalisation avec succès de la fermentation malolactique, but principal de cette recherche. L'idée d'une étude propre à cette région vinicole trouve d'autres exemples dans la bibliographie internationale. Pour preuve, mentionnons l'étude de la fermentation malolactique réalisée pour les vins de Champagne. Celle-ci a démontré que nous devons faire face séparément aux particularités des conditions de chaque région (VALADE *et al.*, 1985).

Grâce à l'intérêt que présente la fermentation malolactique en général, et plus particulièrement dans la région de Naoussa, nous avons collaboré, en vue de cette recherche, avec les producteurs de vin intéressés, afin, dans un premier temps, de mettre en œuvre les conditions admises qui favorisent l'évolution de la fermentation malolactique (pH, température, SO_2, etc.)

Ce travail démontrera ultérieurement quelle est la composition de la microflore bactérienne indigène, si la réalisation de la fermentation malolactique est possible en lui assurant les conditions nécessaires et si l'ensemencement des vins par des cultures pures de bactéries lactiques est indispensable.

Notre travail, dans l'un comme dans l'autre cas, s'inspire des nombreux travaux déjà réalisés (LAFON-LAFOURCADE, 1975 ; LAFON-LAFOURCADE *et al.*, 1984 ; GENEIX *et al.*, 1983a ; GENEIX *et al.*, 1983b, LARUE *et al.*, 1984 ; LONVAUD-FUNEL *et al.*, 1985, etc.).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Notre recherche sur la fermentation malolactique a été conduite sur des vins rouges produits à échelle industrielle, au cours des vendanges 1987 et 1988, dans les caves les plus importantes de la zone d'Appellation d'Origine Naoussa de qualité supérieure. Cette zone est située en Grèce du Nord (Macédoine occidentale) à l'ouest de Thessalonique. On y cultive le cépage indigène Xynomavro (SOUFLEROS, 1978 ; SOUFLEROS *et al.*, 1979).

L'étude de l'évolution de la fermentation malolactique a été faite de deux manières :

a) par le contrôle de la transformation de l'acide malique en acide lactique, à l'aide de la chromatographie sur papier ;

b) par le dénombrement, l'isolement et l'identification des bactéries lactiques.

I — PRÉLÈVEMENTS

Six prélèvements ont été effectués la première année en 1987 (tableau I) et six autres, la seconde année, en 1988 (tableaux II).

Nous avons prélevé, en 1987, 94 échantillons provenants de 30 cuves et en 1988, 93 échantillons dans 20 cuves différentes. Dans les tableaux I et II figurent les dates successives des prélèvements qui permettent de suivre l'évolution de la fermentation malolactique. Le travail d'isolement a eu lieu au laboratoire d'Œno-

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

logie de l'Institut d'Enseignement Technologique de Thessalonique, habituellement deux heures seulement après le prélèvement ; parfois, plus tard, après une conservation des échantillons à la température de 3°C.

II — ÉTUDE DES ÉCHANTILLONS

1) Évolution de la teneur en acide malique

Nous avons utilisé la chromatographie sur papier. Cette méthode est basée sur la possibilité de séparation des acides organiques suivant leur coefficient de partage entre les deux phases. La place du spot de chaque acide dépend de son Rf (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1976).

Par ce procédé, il est donc possible de contrôler la présence ou non des acides malique et lactique afin de suivre l'évolution de la fermentation malolactique.

2) Étude microbiologique

Elle comprend le dénombrement, l'isolement et l'identification des bactéries lactiques des vins. Dans ce but, nous avons essayé quatre milieux de culture : Sartorius, Dubois-Bidan, Carr et MRS. Les meilleurs résultats ont été donnés par les milieux Sartorius et Dubois-Bidan qui sont à base de jus de tomate. Le Bergey's Manual précise que *Leuconostoc oenos* se développe mieux dans des milieux qui contiennent du jus de tomate. Le milieu de culture (liquide et solidifié) que nous avons finalement retenu, est celui de Sartorius préparé par nos soins selon la composition suivante, par litre :

- jus de tomate 250 ml,
- extrait de levure 5 g,
- caséine hydrolysée 5 g,
- DL-acide malique 10 g,
- tween 80 deux gouttes,
- $MgSO_4$ 50 mg,
- $MnSO_4$ 50 mg.

Le milieu nutritif est ajusté à pH 4,5, à l'aide d'une solution de soude et solidifié par addition de 18 g d'agar agar par litre. Il est ensuite réparti à raison de 10 ml dans des tubes à essai stériles et bouchés d'un tampon d'ouate. Les tubes sont stérilisés à l'autoclave pendant 20 minutes à 121°C.

a) Dénombrement des bactéries lactiques viables

On place dans une boîte de Pétri jetable stérile en tenant compte des règles d'asepsie :

- 1 ml de vin ou 1 ml de la suspension du vin dilué (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} et 10^{-6}) ;

- 0,2 ml d'une solution de pimaricine (0,5 g/100 ml) pour inhiber les levures (LAFON-LAFOURCADE et JOYEUX, 1979) ;

- 10 ml du milieu nutritif Sartorius solidifié.

Après solidification du milieu nutritif, les boîtes de Pétri sont renversées et mises à incuber sous atmosphère de CO_2, dans une jarre Gas Pak (inhibition des bactéries acétiques) à 29°C, pendant sept jours.

Le nombre de colonies apparues correspond à la population des bactéries lactiques. Les boîtes de Pétri choisies suivant les règles microbiologiques, pour le dénombrement et l'isolement des bactéries sont celles dont le nombre de colonies varie de 30 à 300.

b) Isolement des bactéries lactiques

Dans chaque boîte de Pétri, on prélève, avec un fil de platine flambé, de 2 à 6 colonies une par une, provenant chacune d'une seule cellule. Chaque prélèvement est introduit dans un tube contenant le milieu nutritif liquide Sartorius.

L'incubation est conduite sous atmosphère de CO_2 à 29°C pendant 4 à 7 jours, suivant la souche.

Par la suite, une faible quantité de la culture liquide est étalée sur un milieu nutritif solide additionné de pimaricine et placé dans les boîtes de Pétri.

Après incubation de 4 à 7 jours à 29°C, en atmosphère de CO_2, une colonie bien séparée des autres est prélevée dans chaque boîte de Pétri et subit la coloration de Gram, afin de contrôler sa pureté, la morphologie de ses cellules bactériennes et leur caractère Gram(+) (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1975). Les souches isolées sont transférées dans des milieux liquides et solidifiés et conservées à froid (de 2° à 4°C), jusqu'au moment où il sera possible de pratiquer les tests d'identification.

c) Tests biochimiques d'identification

- Désamination de l'arginine, production de l'acétoïne

Afin de déterminer le caractère homofermentaire ou hétérofermentaire des souches isolées, nous avons appliqué à l'aide du système API 10E, le test de la désamination de l'arginine (ADH) et de la production de l'acétoïne (VP). Rappelons que le test de l'arginine est négatif pour les bacilles homofermentaires et positif pour les bacilles hétérofermentaires, tandis que le test de l'acétoïne est négatif pour les coques homofermentaires et positif pour les coques hétérofermentaires.

- Production de CO_2 et d'acide lactique

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

Ces deux tests ne sont pas d'une spécificité absolue (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1975) pour les bactéries lactiques du vin. Toutefois, nous avons déterminé la production de CO_2 sur un milieu nutritif MRS-agar contenant 50 g de glucose par litre (SOUFLEROS, 1988) et nous avons procédé au dosage enzymatique des isomères D et L de l'acide lactique (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1975 ; LEFKIDOU, 1985).

- Test API 50 CHL

Les autres tests biochimiques sont réalisés à l'aide de la galerie API 50 CH. Celle-ci nous permet de tester simultanément la fermentation de 49 carbohydrates (oses et dérivés) (API System, Montalieu-Vercieu, France).

Les tests de fermentation sont lus à 3 h, 6 h, 24 h et 48 h. On recherche, dans chaque tube, l'acidification produite qui se traduit par le virage au jaune du bromocrésol pourpre contenu dans le milieu. Pour le test esculine, on observe un virage du pourpre au noir. La notation des résultats est faite de la manière suivante :

-	-/+	+/-	+	intensité de fermentation
0	1	2	3	notation

Le traitement des données est fait par le laboratoire de recherche API à l'aide d'un ordinateur suivant le programme APILAB version X. 4.0. de la base des données API 50 CHL. Pour ce faire, les options choisies ont été le coefficient de Gower avec concordances négatives et l'agrégation selon la similarité moyenne (UPGMA). Ce traitement a amené au classement des souches en groupe selon leur pourcentage de similarité et la construction d'un dendrogramme (avec les taxons).

L'identification des souches est basée sur la comparaison des résultats obtenus par le laboratoire de recherche API et ceux donnés par différentes sources

TABLEAU I

Évolution de la fermentation malolactique en 1987
Début des vendanges : le 30 septembre 1987

Table I — Evolution of malolactic fermentation in 1987
Beginning of the grape harvest : the 30th of september 1987

Cuve	Date de remplissage	Type		Date des prélèvements					
		vin	cuve	14/10	20/10	2/11	12/11	25/11	14/12
1	7/10		s	+ (5,3)	+	+	+	- (4,1)	-
2	13/10		s		+ (5,4)	+	+	+ (4,5)	-
3	2/10		s	+ (4,4)	+	- (3,4)	-	-	-
4		P	s	+ (4,9)	-	- (3,7)	-	-	-
5		G	s	+ (5,0)	- (3,08)	-	-	-	-
6	2/10		s	+ (5,2)	+	- (4,2)	-	-	-
7			s					+	-
8	30/9		s	+ (4,7)	- (3,7)	-	-	-	-
9			s			-	-	-	-
10	3-5/10		s		+ (5,2)	+	- (4,1)	-	-
11	2/10		s		+ (5,4)	- (4,1)	-	-	-
12	12/10		v						-
13	15/10		v		+ (5,0)	+	+	+	+ (4,6)
14	16/10		v		+ (5,4)	+	+ (4,9)		
15	12/10		v						+ (4,7)
16	13/10		v						+ (4,8)
17	16/10		v		+ (5,0)	+	+	+	+ (4,4)
18	15/10		v		+ (5,0)	+	+	+	+ (4,4)
19	9/10		v					+ (4,8)	+ (4,4)
20	13/10		v		+ (5,2)	+	+	+	+ (4,9)

Acide malique : + présence ; - absence
Entre parenthèses : acidité totale en gH_2SO_4 par litre
Total des prélèvements possibles : 120 - prélèvements non effectués : 35 - nombre de prélèvements : 85
s : cuve en béton au sous-sol, vin écoulé après l'extraction - **v** : vin au cours de l'extraction
G : vin de goutte - **P** : vin de presse

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

bibliographiques : BUCHANAN et GIBBONS (1974) (Bergey's Manual) ; RIBÉREAU-GAYON *et al.* (1975) ; CARR (1975) ; SHARPE *et al.* (1966) ; SKINNER et LOVELOCK (1979) et JOYEUX (1983). Cette comparaison est indispensable compte tenu du fait que la base de données API 50 CHL n'est pas spécifique des bactéries lactiques présentes dans le vin.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I — ÉVOLUTION DE LA FERMENTATION MALOLACTIQUE ET DIMINUTION DE L'ACIDITÉ TOTALE (tableaux I et II)

En 1987 (tableau I), nous avons constaté que, pendant les 30 premiers jours suivant le commencement de la vendange (30-9-87), la fermentation malolactique s'est achevée dans 7 cuves sur les 20 cuves étudiées (35 p. cent).

Deux mois et demi plus tard, la fermentation malolactique était accomplie dans 12 cuves sur les 20 cuves étudiées (60 p. cent). Dans les cuves restantes, la fermentation malolactique était déclenchée mais n'était pas achevée.

En 1988 (tableau II), nous constatons qu'au cours des 30 premiers jours suivant le début de la vendange (19-9-1988), la fermentation malolactique s'est achevée dans 11 cuves sur 20, soit 55 p. cent des cuves étudiées.

Soixante-dix jours après le commencement de la vendange, le nombre des cuves ayant fini la fermentation malolactique s'élève à 17, soit à 85 p. cent des cuves étudiées. En revanche, dans les trois cuves restantes, seules quelques traces d'acide lactique sont perceptibles.

Le pourcentage de réussite est plus important la deuxième année que la première année. Ceci montre que la fermentation malolactique s'effectue plus faci-

TABLEAU II

Évolution de la fermentation malolactique en 1988
Début des vendanges : le 19 septembre 1988

Table II — Evolution of malolactic fermentation in 1988
Beginning of the grape harvest : the 19th of september 1988

Cuve	Date de remplissage	Type		Date des prélèvements					
		vin	cuve	3/10	12/10	19/10	3/11	14/11	28/11
1	3/10		v	+	+	+	+	+	+
2	1-2/10		v - s	+ (5,2)	+	+	+	+	- (4,0)
3	1-2/10		v	+	+	+	+	+	-
4	25/9	P	s	+	+	-	-	-	-
5	20-21/9		s	+ (5,2)	+	+	- (4,1)	-	-
6	19-23/9		s	+ (5,1)	+	+	- (3,9)	-	
7	9-10/10		v	+	+	+	+	+	
8			M	+ (5,1)	+	+	- (4,0)	-	
9	25-29/9	T	M	+ (5,4)	+	+	- (3,9)	-	-
10	27/9		v	+	+	-	-		
11	29/9		v	+ (5,1)	+	- (3,9)	-		
12	19-21/9	T	M	+ (5,2)	- (3,9)	-	-	-	-
13	29/9	T	M	+	+	-	-	-	-
14	19/9		v - M	+	+	-	-	-	-
15	25/9		v	+	+				
16	19-21/9	T	M	+ (5,3)	+	- (4,1)	-	-	-
17	19-20/9	T	M	+ (5,4)	+	- (3,9)	-	-	-
18	29/9	T	M	+	+	-	-		
19	19/9	T	M	+ (5,4)	+	- (4,0)	-	-	-
20	29/9		v - M	+	+	-	-	-	-

Prélèvement non effectués : 14 - nombre de prélèvements : 106
Acide malique : + présence ; - absence
Entre parenthèses : acidité totale en gH_2SO_4 par litre
s : cuve en béton au sous-sol, vin écoulé après l'extraction - **v** : vin au cours de l'extraction - **M** : cuve inox de stock
G : vin de goutte - **T** : vin tiré - **P** : vin de presse

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

lement d'une année à l'autre, en raison des précautions prises.

Nous constatons le caractère acide nettement prononcé des vins provenant du cépage Xynomavro. L'acidité totale du moût ou du vin issus de ce cépage se situe, avant le déclenchement de la fermentation malolactique, aux alentours de 5 à 5,5 g/l en H_2SO_4. Celle-ci, étant relativement élevée pour un vin rouge, rend impérative la réalisation de la fermentation malolactique en vue d'une amélioration gustative. En effet, la fermentation malolactique permet une diminution importante de l'acidité totale des vins de Naoussa qui passe parfois de 5,5 à 3,5 ou 4 g/l en H_2SO_4. Cette diminution d'environ 1,5 g/l en H_2SO_4 correspondant approximativement à une transformation de 4 g/l d'acide malique en acide lactique, la fermentation malolactique permet s'assouplir les vins tout en assurant leur stabilité.

En 1987, dans certaines cuves, la fermentation malolactique ne s'étant pas déclarée spontanément ou étant très lente nous a amenés à effectuer, soit des assemblages avec des vins dont la fermentation malolactique était en cours, soit à pratiquer une légère désacidification pour rendre le milieu plus favorable.

II — ÉVOLUTION DES BACTÉRIES LACTIQUES

1) Population bactérienne

Au cours des prélèvements réalisés en 1987 (tableau III), on note une augmentation progressive du nombre des cellules bactériennes. Son maximum a été situé entre 10^4 et 10^6 cellules/ml à l'exception des trois échantillons qui atteignent 10^7 cellules/ml.

La population bactérienne est plus élevée dans les vins de presse et dans les vins à peine soutirés dans des cuves en béton situées au sous-sol ; la température restant plus élevée à cette période froide de l'année (octobre et novembre). Ceci explique que, dans ces cas précis, la fermentation malolactique est plus rapide et plus complète.

TABLEAU III

Nombre de colonies par ml d'échantillon (année 1987)

Table III — Number of strains per ml of sample (year 1987)

Cuves	Type		Date des prélèvements					
	vin	cuve	14/10	20/10	2/11	12/11	25/11	14/12
1		s	-	-	-	$2,0 \times 10^5$	-	$3,7 \times 10^5$
2		s	-	-	$2,8 \times 10^3$	$5,0 \times 10^4$	-	$2,2 \times 10^5$
3		s	$3,2 \times 10^2$	-	-	$5,0 \times 10^1$	$4,0 \times 10^5$	$9,1 \times 10^5$
4	P	s	-	-	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^0$	-	$8,3 \times 10^7$
5	G	s	$4,0 \times 10^2$	-	-	$4,4 \times 10^2$	$1,0 \times 10^7$	$6,8 \times 10^6$
6		s	$4,7 \times 10^1$	-	$6,4 \times 10^2$	-	-	-
7		s	-	-	-	-	-	$1,3 \times 10^7$
8		s	$> 3 \times 10^2$	-	-	$6,4 \times 10^1$	$1,3 \times 10^6$	$6,5 \times 10^4$
9		s	-	-	$> 3 \times 10^3$	$> 3 \times 10^4$	-	-
10		s	-	-	$1,6 \times 10^4$	$0,8 \times 10^1$	-	-
11		s	-	-	$4,5 \times 10^2$	$2,0 \times 10^5$	-	-
12			-	-	-	-	$4,5 \times 10^5$	$6,2 \times 10^5$
13		v	-	-	-	-	-	$2,3 \times 10^7$
14		v	-	-	$4,0 \times 10^2$	$1,5 \times 10^3$	$1,8 \times 10^4$	$1,9 \times 10^5$
15		v	-	-	$8,6 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	-	-
16		v	-	-	-	-	-	$41,8 \times 10^5$
17		v	-	-	-	-	-	$1,0 \times 10^2$
18		v	-	-	-	-	-	$8,0 \times 10^4$
19		v	-	-	-	-	-	$1,3 \times 10^5$
20		v	-	-	$8,0 \times 10^3$	$9,7 \times 10^4$	-	-
21		v	-	-	-	$3,6 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$	$1,4 \times 10^5$
22		v	-	-	-	-	-	$2,0 \times 10^6$
23		v	-	-	-	$1,7 \times 10^4$	$2,3 \times 10^5$	$6,2 \times 10^4$

(-) : comptage des cellules impossible

s : cuves en béton au sous-sol - **v** : vinificateur - **P** : vin de presse - **G** : vin de goutte

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

TABLEAU IV

Répartition des bactéries lactiques identifiées des vins de Naoussa

Table IV — Distribution of the identified lactic acid bacteria in the wines of Naoussa

	1987		1988		Total 87 + 88	
	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%
BACTÉRIES HOMOFERMENTAIRES						
Bacilles						
Lactobacillus plantarum	24	21,8	33	25,8	57	24
Lactobacillus casei	8	7,3	13	10,2	21	8,8
Streptobacterium sp.	1	0,9	1	0,8	2	0,8
Total	**33**	**30**	**47**	**36,7**	**80**	**33,6**
Coques						
Pediococcus cerevisiae	3	2,7	1	0,8	4	1,7
Pediococcus pentosaceus	6	5,5	10	7,8	16	6,7
Streptococcus thermophilus	1	0,9	0	0	1	0,4
Streptococcus sp.	0	0	1	0,8	1	0,4
Total	**10**	**9,1**	**12**	**9,4**	**22**	**9,2**
Total bactéries homofermentaires	**43**	**39,1**	**59**	**46,1**	**102**	**42,9**
BACTÉRIES HÉTÉROFERMENTAIRES						
Bacilles						
Lactobacillus brevis	8	7,3	12	9,4	20	8,4
Lactobacillus delbruekii	5	4,5	3	2,3	8	3,4
Lactobacillus fructivorans	1	0,9	1	0,8	2	0,8
Total	**14**	**12,7**	**16**	**12,5**	**30**	**12,6**
Coques						
Leuconostoc oinos	47	42,7	45	35,2	92	38,7
Leuconostoc gracile	5	4,5	7	5,5	12	5
Leuconostoc cremoris	0	0	1	0,8	1	0,4
Leuconostoc mesenteroides	1	0,9	0	0	1	0,4
Total	**53**	**48**	**53**	**41,4**	**106**	**44,5**
Total bactéries hétérofermentaires	**67**	**61**	**69**	**53,9**	**136**	**57,1**
Total bactéries homofermentaires et hétérofermentaires	**110**	**100**	**128**	**100**	**238**	**100**

Les dénombrements n'ont pas pu être répétés au cours de l'année 1988.

2) Identification des souches de bactéries lactiques

Les données sont rassemblées dans les tableaux IV, V, VI et VII.

Au cours des vendanges 1987 et 1988, nous avons isolé respectivement 300 et 232 souches de bactéries lactiques, soit au total 532 souches. Les prélèvements de ces souches ont été effectués tout au long de la vinification, dès les premières heures de la fermentation alcoolique jusqu'à la fin du soutirage, afin que l'isolement des souches soit le plus représentatif possible des bactéries lactiques présentes dans les vins au cours de cette période.

Pour l'année 1987, 110 souches ont été identifiées et 128 pour 1988 (tableau IV). Ce total de 238 souches représente 45 p. cent des souches isolées.

Le rapprochement, en chiffre et en pourcentage, des souches étudiées montre que les bactéries homofermentaires sont plus nombreuses que les hétérofermentaires dans les échantillons où la fermentation malolactique ne s'est pas encore déclenchée ; leur nombre diminue peu à peu au cours du déroulement de la fermentation malolactique, et dans certains cas, elles disparaissent avec son achèvement (tableaux V et VI).

Parallèlement, on constate une augmentation progressive et spectaculaire du nombre des bactéries hété-

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

TABLEAU V

Répartition totale des bactéries lactiques identifiées au cours de la fermentation malolactique des vins de Naoussa

Table V — Total distribution of the identified lactic acid bacteria during the malolactic fermentation in the wines of Naoussa

	Genre et espèce de bactéries	Année 1987 Prélèvements dans la cave I. Boutaris et Fils						Année 1988 Prélèvements dans la cave coopérative et la cave I. Boutaris et Fils					
		Avant FML		FML en cours		Après FML		Avant FML		FML en cours		Après FML	
		Nombre de souches	%	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%
1	*Lacobacillus plantarum*	11	40,7	8	18,2	5	12,8	10	90,9	21	29,6	2	4,3
2	*Lactobacillus casei*	4	14,8	3	6,8	1	2,5	1	9,1	5	7	7	15,2
3	*Pediococcus pentosaceus*	0	0	3	6,8	3	7,7	0	0	4	5,6	6	13,1
4	*Pediococcus cerevisiae*	0	0	1	2,3	2	5,1	0	0	1	1,4	0	0
5	*Spretobacterium*	1	3,7	0	0	0	0	0	0	1	1,4	0	0
6	*Streptococcus thermophilus*	1	3,7	0	0	0	0	0	0	1	1,4	0	0
7	*Leuconostoc oinos*	2	7,4	20	45,4	25	64,1	0	0	19	26,8	26	56,5
8	*Leuconostoc gracile*	0	0	4	9,1	1	2,6	0	0	4	5,6	3	6,5
9	*Leuconostoc cremoris*	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1,4	0	0
10	*Leuconostoc mesenteroides*	0	0	0	0	1	2,6	0	0	0	0	0	0
11	*Lactobacillus brevis*	3	11	4	9,1	1	2,6	0	0	10	14,1	2	4,3
12	*Lactobacillus fructivorans*	1	3,7	0	0	0	0	0	0	1	1,4	0	0
13	*Lactobacillus delbrueckii*	4	14,8	1	2,3	0	0	0	0	3	4,2	0	0
	Total	**27**	**100**	**44**	**100**	**39**	**100**	**11**	**100**	**71**	**100**	**46**	**100**
	Nombre total de souches	110						128					
	Souches identifiées (%)	24,5		40		35,5		8,6		55,5		35,9	
	Bactéries homofermentaires (%)	63		34		28		100		46,5		32,6	
	Bactéries hétérofermentaires (%)	37		66		72		0		53,5		67,4	
	Bacilles (%)	85,2		36,4		18		100		57,7		23,8	
	Coques (%)	14,8		63,6		82		0		42,3		76,2	

FML : fermentation malolactique

TABLEAU VI

Répartition des bactéries lactiques identifiées au cours de la fermentation malolactique des vins de Naoussa, en 1988

Table VI — Distribution of the identified lactic acid bacteria during the malolactic fermentation in the wines of Naoussa, in 1988

Genre et espèce de bactéries		Cave I. Boutaris et Fils						Cave coopérative					
		Avant FML		FML en cours		Après FML		Avant FML		FML en cours		Après FML	
		Nombre de souches	%	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%
1	*Lacobacillus plantarum*	8	88,9	14	37,8	0	0	2	100	7	20,6	2	4,9
2	*Lactobacillus casei*	1	11,1	3	8,1	0	0	0	0	2	5,9	7	17,1
3	*Pediococcus pentosaceus*	0	0	2	5,4	0	0	0	0	2	5,9	6	14,6
4	*Pediococcus cerevisiae*	0	0	1	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0
5	*Streptococcus sp.*	0	0	1	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0
6	*Streptobacterium*	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2,9	0	0
7	*Leuconostoc oinos*	0	0	6	16,2	5	100	0	0	13	38,2	21	51,2
8	*Leuconostoc gracile*	0	0	2	5,4	0	0	0	0	2	5,9	3	7,3
9	*Leuconostoc cremoris*	0	0	1	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0
10	*Lactobacillus brevis*	0	0	5	13,5	0	0	0	0	5	14,7	2	4,9
11	*Lactobacillus fructivorans*	0	0	1	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0
12	*Lactobacillus delbrueckii*	0	0	1	2,7	0	0	0	0	2	5,9	0	0
	Total	**9**	**100**	**37**	**100**	**5**	**100**	**2**	**100**	**34**	**100**	**41**	**100**
	Nombre total de souches			**110**						128			
	Souches identifiées (%)		17,6		72,5		9,8		2,6		44,1		53,3
	Bactéries homofermentaires (%)		100		56,7		0		100		35,3		36,6
	Bactéries hétérofermentaires (%)		0		43,3		100		0		64,7		63,4
	Bacilles (%)		100		64,9		0		100		47		26,8
	Coques (%)		0		35,1		100		0		53		73,2

FML : fermentation malolactique

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

J. Int. Sci. Vigne Vin, 1996, **30**, n°4, 207-219

TABLEAU VII

Bactéries lactiques identifiées dans les vins de Naoussa, au cours des vinifications 1987 et 1988

Table VII — Identified lactic acid bacteria in the wines of Naoussa, during the vinifications 1987 and 1988

	Cave I. Boutaris et Fils 1987		Cave I. Boutaris et Fils 1988		Cave coopérative 1988	
	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%
BACTÉRIES HOMOFERMENTAIRES						
Bacilles						
Lactobacillus plantarum	24	22,4	22	43,1	11	14,3
Lactobacillus casei	8	7,5	4	7,8	9	11,7
Streptobacterium sp.	1	0,9	0	0	1	1,3
Total	**33**	**30,1**	**26**	**51**	**21**	**27,3**
Coques						
Pediococcus cerevisiae	3	2,8	1	2	-	-
Pediococcus pentosaceus	6	5,6	2	3,9	8	10,4
Streptococcus thermophilus	1	0,9	0	0	0	0
Streptococcus sp.	0	0	1	2	0	0
Total	**10**	**9,3**	**4**	**7,9**	**8**	**10,4**
Total bactéries homofermentaires	**43**	**40,2**	**30**	**58,9**	**29**	**37,7**
BACTÉRIES HÉTÉROFERMENTAIRES						
Bacilles						
Lactobacillus brevis	8	7,5	5	9,8	7	9,1
Lactobacillus delbruekii	5	4,7	1	2	2	2,6
Lactobacillus fructivorans	1	8,9	1	2,0	0	0
Total	**14**	**13,1**	**7**	**13,7**	**9**	**11,7**
Coques						
Leuconostoc oinos	47	41,1	11	21,6	34	44,2
Leuconostoc gracile	5	4,7	2	3,9	5	6,5
Leuconostoc cremoris	1	0,9	0	0	0	0,4
Leuconostoc mesenteroides	0	0	1	2,0	0	0
Total	**53**	**46,7**	**14**	**27,5**	**39**	**50,7**
Total b. hétérofermentaires	**64**	**59,8**	**21**	**41,2**	**48**	**62,2**
Total b. homofermentaires et hétérofermentaires	**110**	**100**	**51**	**100**	**77**	**100**

rofermentaires au cours de la vinification ; elles atteignent parfois 100 p. cent de la population, dans les échantillons qui ont subi la réalisation complète de la fermentation malolactique.

Sur l'ensemble des souches identifiées, les bactéries hétérofermentaires s'élèvent à 57 p. cent au lieu de 43 p. cent pour les bactéries homofermentaires.

Leuconostoc oenos (*oinos*) occupe le premier rang soit près de 39 p. cent du total des souches identifiées ; elle est suivie par *Lactobacillus plantarum* (24 p. cent). Plus loin se trouvent *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus pentosaceus, Leuconostoc gracile*, etc.

Avant le déclenchement de la fermentation malolactique, *Lactobacillus plantarum* est l'espèce dominante (41 et 91 p. cent respectivement pour 1987 et 1988). Il laisse la place progressivement et rapidement à *Leuconostoc oenos*, dès le démarrage de la fermentation malolactique, laquelle devient majoritaire. La même observation peut être généralisée dans le cas des bacilles et des coques totaux.

Une augmentation (limitée) a été également marquée pour le genre *Pediococcus* après le déclenchement de la fermentation malolactique.

Nos observations vont dans le même sens que celles effectuées par d'autres chercheurs (MARET et SOZZI,

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

1977 ; MARET et SOZZI, 1979) qui indiquent que *Lactobacillus plantarum* diminue au cours de la fermentation alcoolique et disparaît au cours de la fermentation malolactique cédant sa place aux bacilles hétérofermentaires (*Leuconostoc* et *Pediococcus*).

De même, LONVAUD-FUNEL (1992) observe, qu'au cours de la fermentation alcoolique, la répartition des espèces des bactéries lactiques est toujours modifiée dans le sens d'une sélection naturelle au profit des souches les plus résistantes au milieu alcoolisé, en particulier de *Leuconostoc oenos*.

Nous avons cependant noté une déviation partielle à nos observations précédentes, concernant uniquement les prélèvements réalisés en 1988 dans une des caves étudiées. Cette déviation se traduit surtout par un ralentissement de la diminution du nombre des bacilles lactiques et de l'augmentation du nombre des coques au cours de la fermentation malolactique par rapport aux autres prélèvements.

Ceci pourrait s'expliquer par une température de conservation du vin élevée (logement des vins dans des cuves en béton placées en sous-sol). En effet, dans cette cave, 43 p. cent des échantillons étudiés en 1988, contre 35,5 p. cent en 1987, proviennent de telles cuves.

Vers la fin de la fermentation malolactique, cette déviation disparaît et les coques hétérofermentaires, principalement *Leuconostoc oenos*, dominent parmi les bactéries lactiques.

En revanche, on trouve moins de bacilles et plus particulièrement moins de *Lactobacillus plantarum* (14,3 p. cent) dans la cave coopérative équipée de cuves en acier inoxydable.

D'autres chercheurs constatent que, dans les pays du sud (Espagne, Afrique du Nord, Chili, Argentine et sud de la France), la température élevée de l'environnement et l'acidité initiale faible du moût favorisent le développement de bacilles lactiques au détriment des coques (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1975). Des observations similaires ont été faites pour diverses régions viticoles grecques (LANARIDIS, 1985).

3) Analyse statistique

Afin de confirmer l'exactitude de nos observations, nous avons effectué une analyse statistique bidimentionnelle de la variance.

Pour cette étude, nous avons distingué trois phases de prélèvement : « avant » « en cours » et « après la fin de la fermentation malolactique » et nous avons suivi l'évolution des espèces bactériennes d'une phase à l'autre ; les cuves, dans lesquelles nous avons réalisé les prélèvements, constituant des groupes d'individus.

Grâce à cette étude, nous avons constaté que :

- Les cuves ne présentent pas entre elles de différences significatives concernant la population bactérienne. Elle peuvent donc être considérées comme homogènes.

- Pendant l'année 1987 (tableau VIII), l'évolution du total des bactéries homofermentaires ainsi que le total des hétérofermentaires ne présentent pas de différences significatives au cours des trois phases de prélèvements : avant, en cours et après la fermentation malolactique, puisque $F < 3,84$. Une distinction des bactéries entre les bacilles et les coques montre que l'évolution des bacilles ne présente pas de différences significatives, tandis que celle des coques en présente une.

TABLEAU VIII

Analyse statistique selon la cave et l'année de prélèvements

Table VIII — Statistical analysis according the wine-cellar and the year of sampling

Caves	Homo	Hétéro	Bacilles	Coques
Boutaris'87				
F	0,37	2,97	1,86	6,73
Différence significative	non	non	non	oui
Boutaris'88				
F	3,81	5,19	4,49	5,41
Différence significative	oui	oui	oui	oui
Coopérative'88				
F	4,2	4,73	4,64	3,6
Différence significative	oui	oui	oui	non

Fthéroique = 3,84 pour un degré de liberté :
2 pour le numérateur et 14 pour le dénumérateur.
Différences significatives lorsque $F > 3,84$

TABLEAU IX

Analyse statistique sur l'ensemble des bactéries identifiées

Table IX — Statistical analysis on the total of the identified lactic acid bacteria

Boutaris'87 +'88 + Coopérative	a		
	1-2	2-3	1-3
Homo - Hétérofermentaires	7,1	3,3	0,3
Bacilles - coques	2,2	26	0,4
Leuconostoc oenos	2,2	21,6	0,43
Lactobacillus plantarum	0,2	1,2	0,01

a : seuil de confiance en %
1-2, 2-3 et 1-3 : les trois phases de la fermentation malolactique

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

- En revanche, en 1988, on peut dire que l'augmentation du pourcentage des bactéries hétérofermentaires ou des coques et la diminution des bactéries homofermentaires ou des bacilles est un fait réel, puisque les différences sont significatives à une exception près (F = 3,6 au lieu de 3,84) (tableau VIII).

Une autre analyse statistique (tableau IX) sur l'ensemble des bactéries prenant en compte les deux années montre que l'augmentation de la fréquence de *Leuconostoc* présente des différences significatives au seuil de confiance de 95 p. cent ($a \leq 5$ p. cent) entre la 1ere et la 2e et la 1ere et la 3e phase des prélèvements, tandis que *Lactobacillus plantarum* présente des différences significatives entre les trois phases des prélèvements. Il existe aussi une différence significative entre les bactéries homofermentaires et hétérofermentaires pour les phases 1-3 et 2-3 et entre les bacilles et les coques pour les phases 1-2 et 2-3.

CONCLUSION

Dans les vins rouges de la région de Naoussa, avant le déclenchement de la fermentation malolactique, les bacilles homofermentaires sont dominantes, en particulier dans les vins logés en cuves souterraines en béton. Au cours de la transformation de l'acide malique en acide lactique, ces bactéries disparaissent pour faire place à des coques hétérofermentaires, en particulier à *Leuconostoc oenos*, c'est cette bactérie lactique qui est majoritaire dans les vins dont la fermentation malolactique vient de s'achever.

La fermentation malolactique des vins de Naoussa s'effectue généralement sans problèmes lorsque l'on respecte les conditions indispensables : taux de SO_2 libre faible, maintien de la température de conservation du vin élevée (20°C), inoculation des vins par d'autres vins déjà en fermentation, séjour prolongé des vins sur lie.

Le pH bas des vins de Naoussa constitue un facteur positif afin que la fermentation malolactique, effectuée par les coques hétérofermentaires, ne dévie pas (fermentation des sucres par exemple).

La réalisation de la fermentation malolactique dans les vins de Naoussa provoque une désacidification biologique de l'ordre de 1,5 g/l exprimée en H_2SO_4, correspondant à la transformation d'une quantité importante (approximativement 4 g/l) d'acide malique en acide lactique.

Les conditions de vinification dans la région de Naoussa sont favorables au développement de *Leuconostoc oenos*. On peut donc supposer, qu'en cas de nécessité, des préparations commerciales de cette même espèce pourraient être utilisées avec succès.

En effet, dans certains cas, on constate que la fermentation malolactique dure très longtemps jusqu'à son achèvement. L'utilisation des bactéries lactiques sélectionnées du commerce pourraient rendre de grands services.

Les résultats obtenus nous permettrons d'entreprendre prochainement des recherches dans la région d'Amynteo (Macédoine occidentale). L'acidité des vins rouges qui y sont produits est encore plus élevée que celle des vins de Naoussa ; ils nécessiteraient la réalisation de la fermentation malolactique pour être améliorés gustativement.

Remerciements : J'exprime de vifs remerciements à Messieurs Yiannis Voyatzis et Georges Argyrakis, œnologues de la société I. Boutaris et fils, ainsi qu'au caviste de la cave coopérative de Naoussa, Monsieur Thomas Marrras pour le suivi des vins étudiés, l'application parfaite de nos décisions et la collaboration harmonieuse que nous avons eue. Je remercie également le personnel technique de notre laboratoire d'œnologie pour leur assistance.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY, 1974. 8e édition.

CARR J.C., 1975. VI. 3. Lactics of the world unite in lactic acid bacteria in beverages and food. *Fourth Long Ashton Symp.*, 1973. Ed. J.G. Carr, C.V. Cutting and G.C Whiting. Academic press London New York, San Francisco.

GENEIX C., LAFON-LAFOURCADE S. et RIBÉREAU-GAYON P., 1983a. Effet des acides gras sur la viabilité des populations de *Saccharomyces cerevisiae*. *C.R. Acad. Sc.* Paris série III, 296, 943-947.

GENEIX C., LAFON-LAFOURCADE S. et RIBÉREAU-GAYON P., 1983b. Les causes, la prévention et le traitement des arrêts de la fermentation alcoolique. *Connaissance Vigne Vin*, **17**, 205-217.

JOYEUX A., 1983. Analyse microbiologique des raisins, des moûts et des vins. Application à l'étude des bactéries acétiques. *Thèse* d'université de Bordeaux II.

LAFON-LAFOURCADE S., 1975. Factor of the malolactic fermentation at wines in lactic acid bacteria in beverages and food. *Fourth Long Ashton Symp.*, 1973. Ed. J.G. Carr, C.V. Cutting and G.C Whiting. Academic press London New York, San Francisco.

LAFON-LAFOURCADE S., 1976. Recherches sur la microbiologie des vins. *Thèse* doctorat d'État, Université de Bordeaux II.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

LAFON-LAFOURCADE S. et JOYEUX A., 1979. Techniques simplifiées pour le dénombrement et l'identification des microorganismes vivants dans les moûts et les vins. *Connaissance Vigne Vin*, **13**, 295-309.

LAFON-LAFOURCADE S., GENEIX C. et RIBÉREAU-GAYON P., 1984. Inhibition of alcoholic fermentation of grape must by fatty acids produced by yeast and their elimination by yeast ghosts. *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 1246-1249.

LANARIDIS P., 1985. La microflore des vins grecs. Evolution au stade de la production et du stockages. *Ann. Hellénique Vin*, **4**, 141-162.

LARUE F., GENEIX C., LAFON-LAFOURCADE S., BERTRAND A. et RIBÉREAU-GAYON P., 1984. Premières observations sur le mode d'action des écorces de levure. *Connaissance Vigne Vin*, **18**, 155-162.

LEFKIDOU M., 1985. Étude de l'évolution de la microflore des boissons non-gazeuses aux fruits et aux légumes au cours de leur fabrication. *Rapp. D.E.A.*, Université de Bordeaux I

LONVAUD-FUNEL A., DESENS C. et JOYEUX A., 1985. Stimulation de la fermentation malolactique par l'addition au vin d'enveloppes cellulaires de levure et de différents adjuvants de nature polyssacharide et azotée. *Connaissance Vigne Vin*, **19**, 229-240.

LONVAUD-FUNEL A., 1992. Évolution des populations bactériennes pendant la vinification. Métabolisme. *In Les acquisitions récentes en microbiologie du vin*, Ed. Tec et Doc, Paris, 141 p.

MARET R. et SOZZI T., 1977. Flore malolactique de moûts et de vins du Canton de Valais (Suisse). I. Lactobacilles et pédiocoques. *Ann. Technol. Agric.*, **27**, 255-273.

MARET R. et SOZZI T., 1979. Flore malolactique de moûts et de vins du Canton du Valais (Suisse). II. Évolution des populations de lactobacilles et de pédiocoques au cours de la vinification d'un vin blanc (un Fendant) et un vin rouge (une Dôle). *Ann. Technol. Agric.*, **28**, 31-40.

RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., RIBÉREAU-GAYON P. et SUDRAUD P., 1975. *In Sciences et Techniques du Vin*. Tome I. Ed. Dunod, Paris.

RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., RIBÉREAU-GAYON P. et SUDRAUD P., 1976. *In Sciences et Techniques du Vin*. Tome II. Ed. Dunod, Paris.

SHARPE E., FRYER T.F. et SMITH D.G., 1966. Identification of the lactic acid bacteria. *In identification methods for microbiologists*. Part A. Ed. B.M. Gibls and F.A. Skinner. Acad. Press London and New York.

SKINNER F.A. et LOVELOCK D.W., 1979. *Identification methods for microbiologist*s. 2e ed. Acad Press London and New York.

SOUFLEROS E., 1978. Les levures de la région viticole de Naoussa (Grèce). Identification et classification, études des produits volatils formés au cours de la fermentation. *Thèse Docteur-Ingénieur, Université Bordeaux II.*

SOUFLEROS E., 1988. La fermentation malolactique dans les vins de Naoussa (Grèce). Premiers résultats de recherche. *Symp. Technologie Alimentaire*, Athènes.

SOUFLEROS E., PANERAS E. et SAPIS-DOMERCQ S., 1979. Étude écologique de la microflore levurienne de la région vinicole de Naoussa. *Connaissance Vigne Vin*, **13**, n°2, 137-148.

VALADE M., MOULIN J.P., LAURENT M. et NAIL T., 1985. Utilisation de bactéries lyophilisées ou congelées pour l'ensemencement de la fermentation malolactique en Champagne. *Rev. Fr. Œnol.*, **99**, 21-28.

Manuscrit 6 janvier 1996 ;
accepté pour publication le 25 novembre 1996

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)