Connaissance Vigne Vin, 1982, **16**, N° 1, 15-32.

ETUDE D'UNE MICROFLORE LEVURIENNE CHAMPENOISE

G. BUREAU *, O. BRUN **, A. VIGUES *,
A. MAUJEAN *, G. VESSELLE ** et M. FEUILLAT ***

* Laboratoire d'Œnologie, Faculté des Sciences de Reims,
B. P. 347, 51602 Reims Cédex (France)

** Groupement Champenois d'Exploitation Viticole,
11, Avenue de Champagne, 51200 Epernay (France)

*** Laboratoire d'Œnologie, Faculté des Sciences de Dijon,
21000 Dijon (France)

INTRODUCTION

Depuis 1977, à la demande du Groupement Champenois d'Exploitation Viticole (direction des vignobles Mumm, Perrier-Jouët et Heidsieck-Monopole) et avec sa collaboration étroite, nous avons analysé la microflore levurienne à partir des parcelles expérimentales de son vignoble (situé à Avize), depuis la baie de raisin jusqu'au vin tranquille.

Cette étude originale pour la Champagne visait à combler plusieurs lacunes :

— Comment évolue la microflore des baies pendant la maturation et quelle est l'influence des traitements antifongiques, des conditions climatologiques ?...

— Quelles sont les modifications quantitatives et qualitatives apportées par les opérations habituelles de vendange, pressurage et traitement du moût ?

— Quelles sont les conséquences sur la population levurienne réalisant la fermentation alcoolique ?

Des travaux analogues ont été publiés récemment en France (SAPIS-DOMERCQ et *al.*, 1976, 1977, 1978, 1980 ; CUINIER, 1979 et 1980 ; BELIN, 1981) et en Allemagne (BENDA, 1980). A notre connaissance seule une série d'identification de souches a été effectuée en Champagne (1968) : il était donc indispensable de conduire systématiquement une telle analyse et d'en dresser un premier bilan après quatre années d'observations.

MATERIEL ET METHODES

I. — PARCELLES EXPERIMENTALES.

La parcelle plantée en Chardonnay est située à Avize (Marne), elle couvre environ un hectare au lieu dit « Le Gros Mont ». L'ensemble de la parcelle a été divisée pour 1977 en quatre parcelles d'essais, puis en six pour 1978 et en sept pour 1979 et 1980 ; cette division permet de tester différents produits fongicides ou antipourriture, de contact ou systémiques, utilisés seuls ou en association (tableau I).

TABLEAU I

Programmes de traitements fongicides appliqués sur les parcelles expérimentales

(Les traitements insecticides sont identiques dans les essais)

PARCELLE	1977	1978	1979	1980
1	Témoin	Témoin	Témoin	Témoin
2	Cuprofix z	Cuprofix z	Cuprofix z	Cuprofix z
3	Sumisclex	Sumisclex	Sumisclex	Sumisclex
4	Microthiol Ronilan	Ronilan	Caltan Folpel Sumisclex	Caltan Folpel Sumisclex
5		Mikal	Mikal Sumisclex	Mikal Sumisclex
6		Acylon Ronilan	Acylon Sumisclex	Acylon Sumisclex
7			Bayleton	Bayleton

II. — VENDANGES ET PRESSURAGE.

Après avoir noté les rendements à l'hectare et le nombre de grappes par pied, les parcelles d'essai sont vendangées dans la même journée et pressées séparément dans un pressoir type Coquart.

Seule la cuvée est utilisée ; elle est extraite par un pressurage de 120 kg de raisins, chaque lot recueilli est sulfité, débourbé et mis à fermenter en cuve de 52 litres.

III. — ANALYSE CHIMIQUE DES MOUTS.

Les moûts obtenus subissent les analyses classiques de densité, degré alcoolique en puissance, sucres, acidité totale, pH, auxquelles nous avons ajouté un dosage de cations (Al, Ca, Cu, Fe ; P. FAURE-GEORS, 1979), soit par absorption atomique, soit par colorimétrie, en particulier pour le cuivre (réaction avec le 2,2-diquinolyle).

IV. — TECHNIQUES DE MICROVINIFICATION.

Les moûts obtenus à partir de sept parcelles d'essai sont sulfités à 30 mg par litre puis, après un débourbage statique, ils subissent séparément la fermentation alcoolique dans des cuves d'acier inoxydable de 52 litres : chaque parcelle d'essai fournit deux lots : un premier lot non levuré pour une fermentation spontanée ; un second lot ensemencé par un levain sélectionné de *S. bayanus* (1 million de cellules par ml).

L'évolution de la fermentation est suivie matin et soir, en prélevant des échantillons et en notant la densité, la température, l'évolution du SO_2, l'acidité totale, le pH, etc...

V. — PRELEVEMENT ET ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DES ECHANTILLONS DE BAIES.

L'étude de 1977 nous a permis de mettre au point le mode de prélèvement et d'échantillonnage pour chaque essai. La méthode la plus fiable et la plus représentative consiste à prélever stérilement des lots de dix baies, provenant du plus grand nombre de grappes possible prises au hasard dans différentes rangées. Chaque lot est conservé dans la glace pilée pendant la durée du prélèvement et du transport, puis analysé immédiatement au laboratoire après un broyage stérile. En effet, il nous est très vite apparu que la conservation par le froid et surtout par la congélation, apportaient des modifications sensibles à la microflore (lyses dues à la congélation par exemple). A partir de ces observations, nous avons décidé d'effectuer l'analyse microbienne immédiatement après le prélèvement.

Moûts et vin. Comme pour les baies, l'analyse microbiologique des moûts ou des vins est effectuée le plus rapidement possible ; en 1980, elle a été pratiquée sur place.

Les isolements et les numérations de la microflore totale sont réalisés sur gélose de Sabouraud. Nous n'avons pas voulu bloquer les moisissures par le diphényle de façon à pouvoir estimer leur abondance naturelle ; pour réduire néanmoins leur prolifération par rapport aux colonies

levuriennes, les boîtes sont examinées après incubation à 27 °C pendant 48 heures.

Les identifications des principaux genres levuriens ou espèces d'intérêt œnologique, sont effectuées sur galerie API 20C ordinaire (8 tests zymographiques, 12 tests auxanographiques), ou pour plus de précision sur galerie API 20C auxanogramme. Cette méthode, que nous utilisons régulièrement depuis 1975, nous donne entière satisfaction moyennant quelques précautions signalées par LAFON-LAFOURCADE (1979) et CUINIER (1979).

Pour obtenir une meilleure observation des *S. bayanus* et *S. cerevisiae,* nous avons mis au point un milieu gélosé qui différencie les colonies de ces deux espèces : en effet, il est toujours difficile et laborieux de pouvoir les distinguer et les dénombrer avec certitude ; notre milieu électif présente donc un avantage appréciable de temps et de coût, sa fiabilité est excellente, nous l'avons confirmée par des vérifications sur galerie API.

La composition par litre établie par G. BUREAU est la suivante : extrait de viande, 1 g ; peptone, 10 g ; NaCl, 5 g ; galactose, 20 g ; gélose, 20 g. La présence de galactose défavorise la multiplication de *S. bayanus,* de telle sorte que ses colonies demeurent de taille restreinte ; un mélange des deux espèces fait donc apparaître sur la même boîte de Petri des « grandes » et des « petites » colonies.

VI. — ANALYSE DES ALCOOLS SUPERIEURS ET ESTERS.

A côté des habituelles dégustations de vins clairs, nous avons cette année analysé les principaux alcools supérieurs et esters. Ces composés volatils sont préparés après démixion selon la méthode décrite par TERRIER (1972), puis séparés et dosés par chromatographie en phase gazeuse, (appareil PACKARD-BECKER 417) dans les conditions suivantes (MANDRA, 1981).

— Colonnes utilisées, pour les esters : DEGS (diéthylène glycol succinate 10 p. 100), ∅ 1/4 pouce, longueur 3 mètres ; pour les alcools supérieurs : Carbowax ∅ 1/8 pouce, longueur 7 mètres.

— détection à ionisation de flamme (air et hydrogène) gaz vecteur azote.

— programmation de température : départ à 80 °C pendant 10 minutes, puis montée de 3 °C par minute jusqu'à 170 °C.

Le dosage des diverses substances est effectué par la méthode de l'étalon interne (méthyl 4-pentanol 2) après détermination des coefficients de réponse.

RESULTATS

I. — EVOLUTION DE LA MICROFLORE LEVURIENNE TOTALE SUR LES BAIES.

La figure 1 montre l'évolution de la microflore pour quelques exemples les plus significatifs de 1977 à 1980. On constate que, dans l'ensemble, cette flore se développe sur les baies peu de temps avant la vendange (bien visible en 1977 et 1979). Avant cette date, des variations sont parfois enregistrées (1978), sans qu'il soit possible de les relier avec certitude aux conditions météorologiques ou à la véraison par exemple.

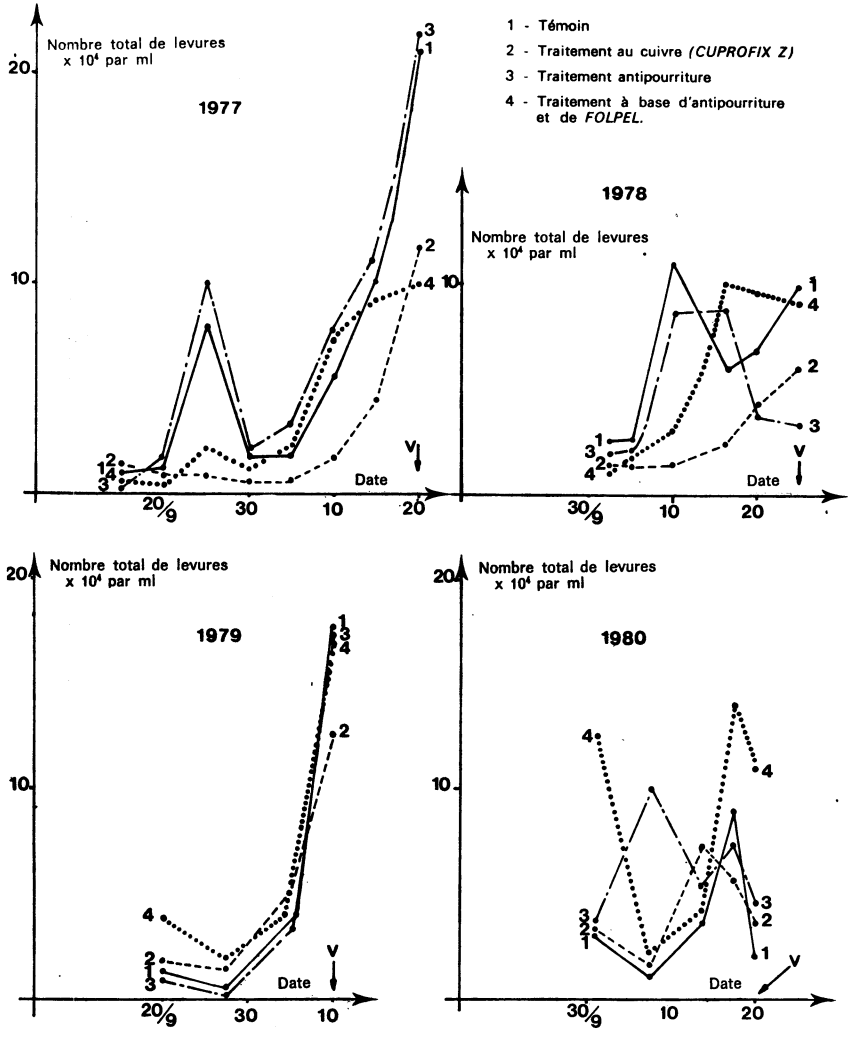


Fig. 1. — Evolution de la population levurienne des baies avant la vendange
V = Jour de la vendange

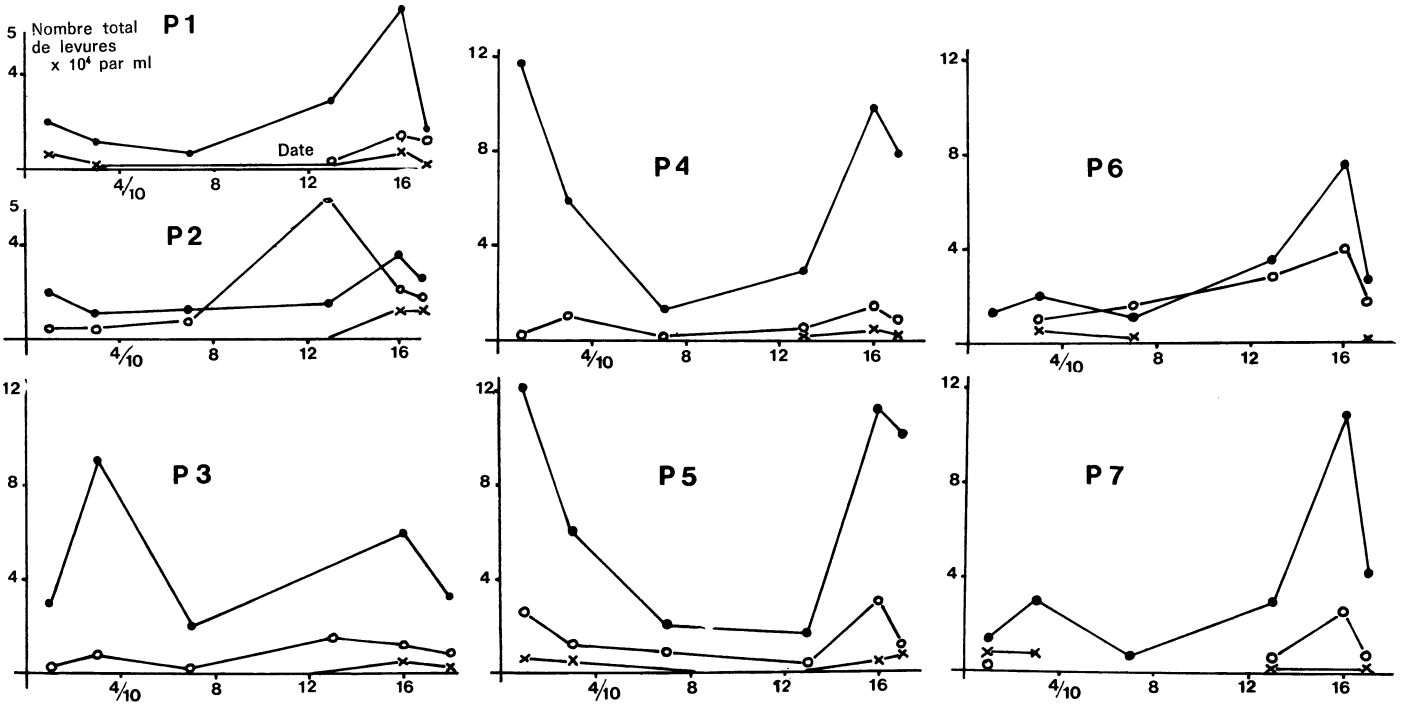


Fig. 2. — Evolution de la population des principales familles levuriennes prélevées sur les baies dans les 7 parcelles d'essai avant les vendanges au cours de l'année 1980

L'influence des différents programmes de traitements sur la microflore n'est pas constante d'une année à l'autre : le phénomène est sous la dépendance de nombreux paramètres, qui rendent l'évolution quantitative difficile à interpréter.

Par ailleurs, nous observons (tableau II) que les degrés alcooliques en puissance sont un peu plus élevés pour les moûts provenant des parcelles traitées par les produits anti-pourriture ; en outre, ces traitements permettent un gain moyen de 20 p. 100 du rendement de l'hectare (en particulier pour la parcelle traitée au Mikal qui, de ce point de vue, est régulièrement classée en tête).

TABLEAU II

Influence des programmes de traitements sur quelques critères analytiques des moûts

PARCELLES	1978				1979		1980		
	DEGRE ALCOOLIQUE (%)	CUIVRE (mg/l)	ALUMINIUM (mg/l)	FER (mg/l)	DEGRE ALCOOLIQUE (%)	CUIVRE (mg/l)	DEGRE ALCOOLIQUE (%)	CUIVRE (mg/l)	FER (mg/l)
1	9,77	0,25	0,38	0,61	10,15	0,50	9,15	0,30	3,75
2	9,17	1,72	0,54	0,83	10,15	1,70	9,16	2,35	3,75
3 AP	10,00	0,30	0,40	0,64	10,20	0,60	9,15	0,30	3,10
4 AP	10,05	0,37	0,56	0,84	10,15	0,60	9,30	0,10	2,50
5 AP	10,20	0,28	0,57	0,61	10,45	0,50	9,45	0,10	3,10
6 AP	10,20	0,99	0,58	1,30	10,10	1,50	9,00	1,90	0,30
7	-	-	-	-	10,05	0,60	9,15	0,30	2,50

AP = Traitement antipourriture

II. — EVOLUTION DES FAMILLES LEVURIENNES SUR LES BAIES.

La répartition des principaux genres (ou familles) levuriens met en évidence un certain nombre de faits constants d'une année à l'autre (figure 2).

— les essais 2 et 6 correspondant aux traitements cupriques possèdent toujours une microflore importante en *Saccharomyces* et en *Candida ;*

— inversement, les traitements à base de Folpel (parcelles 4 à 5) se distinguent par l'abondance en colonies pigmentées *(Rhodotorula) ;* cette observation confirme les résultats de CUINIER (1979) ;

— enfin, l'efficacité des produits antipourriture (estimée ici par le dénombrement des diverses moisissures) est évidente.

III. — EVOLUTION DE LA POPULATION LEVURIENNE AUX DIFFERENTES ETAPES DE LA VENDANGE.

Au cours des différentes étapes des opérations de vendange, de pressurage et de traitement du moût, l'évolution de la microflore est suivie. Nos prélèvements sont effectués de la façon suivante :

— sur des baies prélevées avant cueillette, puis dans les « mandelettes » (paniers des vendangeurs), dans les caisses avant le transport et finalement sur le pressoir ;

— sur le moût en début et en fin d'obtention de la cuvée ; puis deux heures après le sulfitage (3 g/hl) et, après quatorze heures, au moment du débourbage et de la chaptalisation (les moûts sont amenés à 11 ° d'alcool en puissance).

En outre, pour information, on recueille également des échantillons dans les caisses vides et dans les « aignes » (résidus du pressurage avec les pellicules, rafles, etc...).

TABLEAU III

Evolution globale de la microflore aux principales étapes de la vendange et du pressurage (1980)

	NOMBRE DE LEVURES TOTALES (1)			NOMBRE DE *SACCHAROMYCES* (1)		
	moyen	minimum	maximum	moyen	minimum	maximum
Baies sur les ceps	141	20	560	7	5	20
Baies sur le pressoir	1486	500	2800	183	20	500
Moût début de cuvée	763	100	2000	81	20	200
Moût fin de cuvée	536	100	2250	64	10	150
"Aignes"	1729	800	2750	407	150	750
Moût sulfité (2 h)	5	2	7	1,5	0,5	2,5
Moût traité (14 h)	6	2	12	2	1,5	3,0
Moût traité (48 h)	7	1,5	22	6,5	1,5	21,5

(1) x 10^3 cellules par millilitre.

Dans le tableau III, nous n'avons noté que les étapes les plus significatives, en calculant les nombres moyens assortis de leurs extrêmes, soit pour l'ensemble de la flore levurienne, soit pour l'ensemble des levures du genre *Saccharomyces.* Il se dégage trois faits principaux :

— *sur les baies,* la population levurienne totale est ici multipliée par 10 au cours de la vendange, alors que la population de *Saccharomyces*

se multiplie par 26 environ ; la répartition des familles levuriennes est d'ailleurs différente : par exemple et comme le notent BOUIX et *al.* (1981) le nombre de levures augmente avec les manipulations (cueillette, remplissage des caisses, etc...), alors que l'abondance des genres asporogènes et des moisissures semble favorisée par les délais dus au transport, à l'attente de pressurage, etc...

— *au cours du pressurage,* le niveau moyen de la population baisse de 50 p. 100 (début) à 60 p. 100 (fin), indiquant le rôle filtrant du pressurage champenois traditionnel ; la microflore prélevée dans les moûts est à ce stade pratiquement identique, quelle que soit la parcelle d'origine ;

— *le traitement du moût,* en particulier le sulfitage, exerce un effet sévère et sélectif sur la microflore, qui se trouve à la fois fortement réduite en quantité (rôle aseptisant de l'anhydride sulfureux), mais aussi modifiée en qualité avec un pourcentage élevé de *Saccharomyces.*

IV. — EVOLUTION GLOBALE DE LA FERMENTATION DANS LES MOUTS NON LEVURES ET LEVURES.

Les courbes de l'évolution de la densité des moûts enregistrée depuis 1978 (figure 3) font apparaître un certain nombre de points constants, (nous ne présentons ici, à titre d'exemple, que les résultats de 1980).

— dans le cas des essais non levurés, on enregistre, pour le départ en fermentation un temps de latence variable selon l'année, de trois à cinq jours ; par la suite le déroulement de la fermentation est rapide et régulier ; on remarque la très bonne fermentescibilité des moûts provenant des raisins soumis aux traitements cupriques (2 et 6), et le retard d'une journée pris par le moût provenant de raisins traités par le Folpel (essai 4).

— dans le cas des essais levurés, la comparaison avec les essais précédents est éloquente : suppression de la latence intiale, ainsi que les différences notées ci-dessus, quelle que soit l'origine des moûts ; les produits de traitement n'ont apparemment pas d'influence.

V. — EVOLUTION DE LA MICROFLORE LEVURIENNE VIABLE DANS LES MOUTS NON LEVURES.

a) **Microflore totale**

Le dénombrement sur gélose nutritive nous permet de comprendre l'évolution des fermentations ; sur la figure 4 nous constatons que les essais 6, 2 (cuivre) et 7 (Bayleton) ont atteint rapidement des populations très élevées ; par contre, les essais 5 et surtout 4 (Folpel) présentent un temps de latence sensible qui n'affecte pas cependant le niveau maximum de population. Notons encore que dans les moûts 1 (témoin) et 3 (Mikal) une bonne fermentation est assurée avec une population maximum sensiblement inférieure à celle des autres essais.

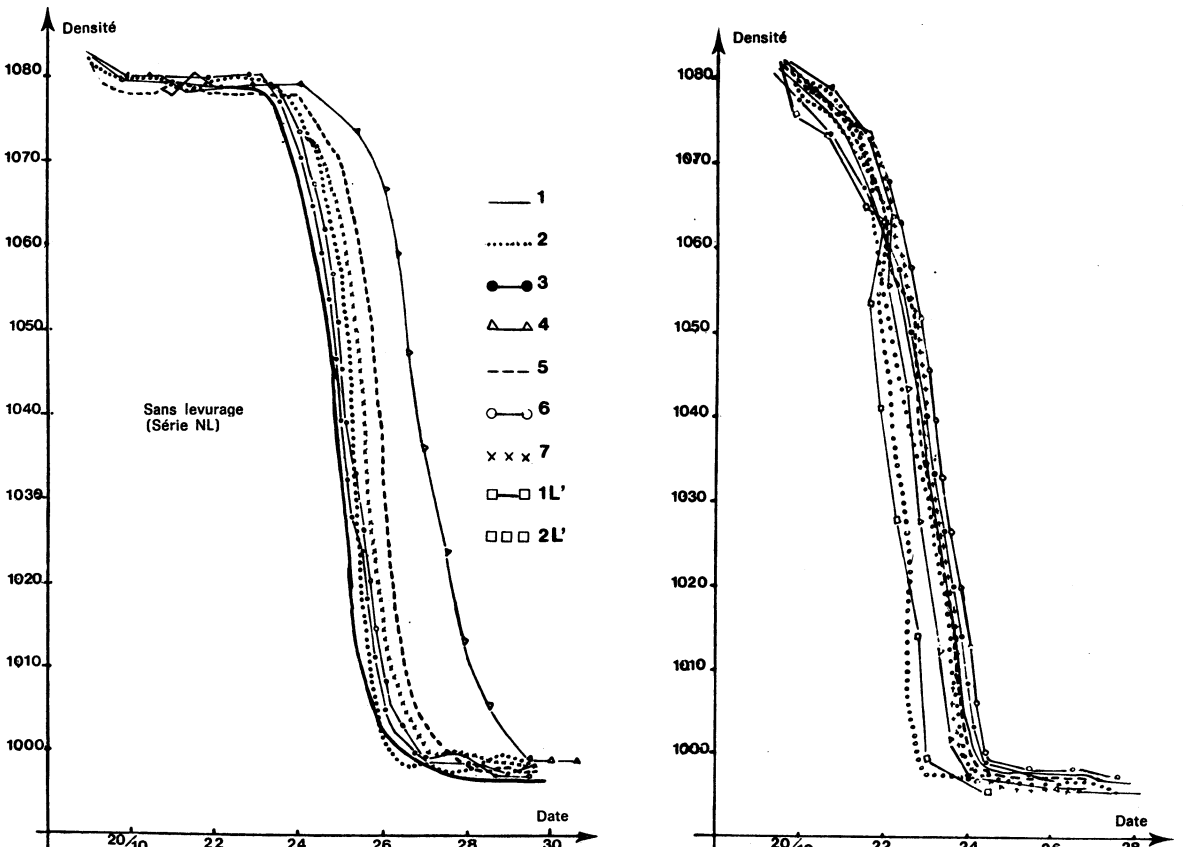


Fig. 3. — Evolution de la fermentation dans les essais conduits en microvinifications

L'examen des figures 3 et 4 permet en outre de constater que la chute initiale de densité obtenue par une population levurienne d'environ 10^6 cellules par millilitre.

b) **Analyse qualitative et quantitative de chaque essai.**

Dans chaque cuve, nous avons étudié les microflores assurant les différents stades de la fermentation, en recherchant par exemple les levures asporogènes *(Kloeckera, Torulopsis,* etc...) dans les premières phases, puis les *Saccharomyces* dans les phases suivantes et terminales.

Sur la figure 4, nous avons regroupé les courbes d'évolution enregistrées. Un fait apparaît clairement : les fermentations ne sont réalisées que par deux espèces levuriennes, *S. bayanus* et *S. cerevisiae,* seules présentes à tous les stades.

En effet, nous n'avons jamais détecté ici de levures asporogènes assurant les premières phases de la fermentation de façon significative ; de plus, il n'y a pas, semble-t-il, de compétition ou de relais entre les deux espèces *Saccharomyces,* comme on l'observe dans d'autres régions viticoles.

De même la figure 4 montre deux types d'évolution : dans les cuves 1, 3, 4 et 5 c'est *S. bayanus* qui est dominant, tandis que dans les cuves 2, 6 et 7, *S. bayanus* et *S. cerevisiae* coexistent en nombre pratiquement égal. Cette observation est à mettre en relation avec les programmes de traitement, en particulier avec les traitements cupriques qui semblent assurer une prolifération rapide et régulière des populations et, notamment, favoriser *S. cerevisiae.*

VI. — INFLUENCE DU CUIVRE SUR LA MICROFLORE ET SUR LA FERMENTATION.

Les résultats des dosages des cations dans les moûts sont donnés dans le tableau II. On note, logiquement, l'importance du cuivre dans les moûts, des essais 2 et 6, prélevés au moment du pressurage.

Pour tenter de comprendre le rôle de ce cation, nous avons décidé de réaliser quelques expériences de laboratoire en réalisant des microfermentations (100 millilitres de moût) avec des concentrations de cuivre variables (donné sous forme de Cu^{++} en présence ou non de sulfite). Nous avons aussi suivi la croissance des levures viables, se développant en aérobiose.

Les premiers résultats obtenus montrent que l'activité fermentaire est stimulée, en particulier dans les phases actives de la fermentation en présence de sulfite ; la fin de la fermentation se trouve également facilitée.

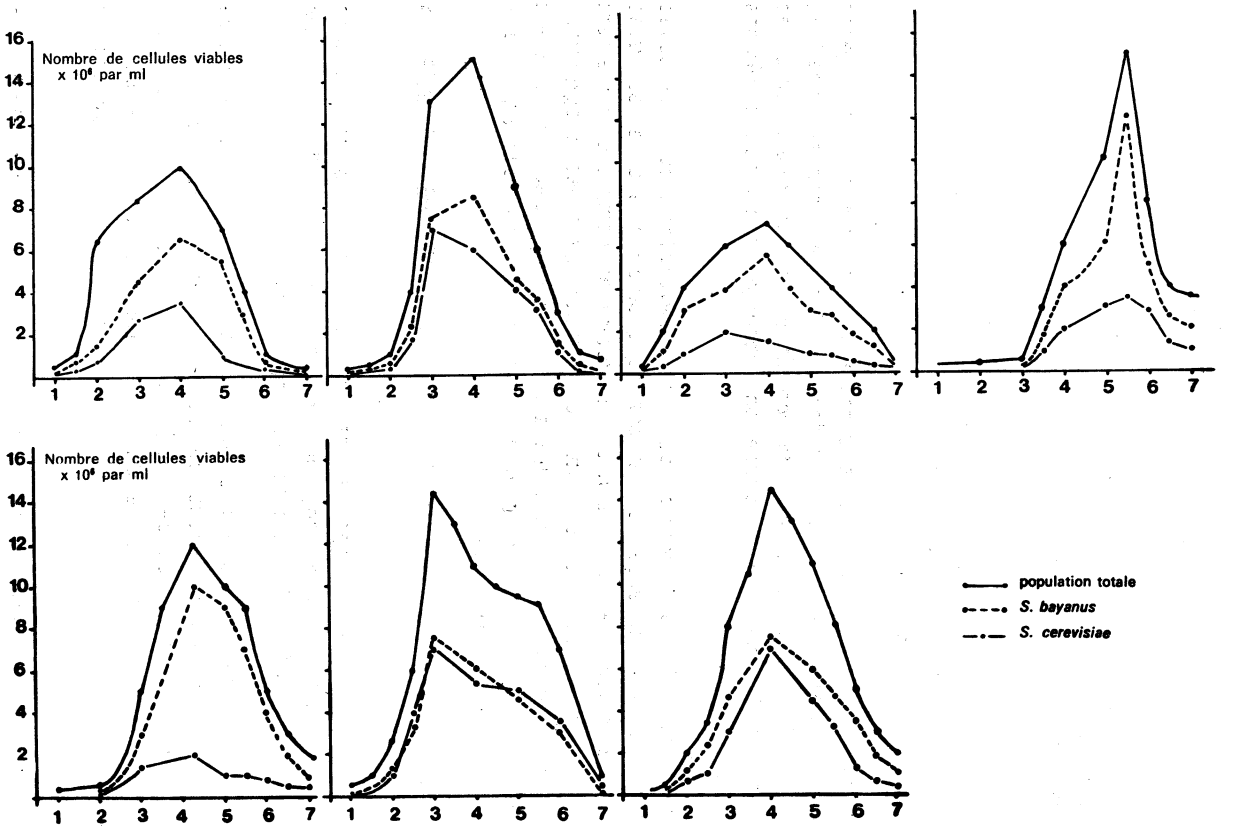


Fig. 4. — Evolution des populations levuriennes dans les essais de microvinifications non levurées

Les courbes de la figure 5 soulignent deux phénomènes : le cuivre semble stimuler la phase de prolifération initiale, mais indiscutablement restreint la phase de survie des populations.

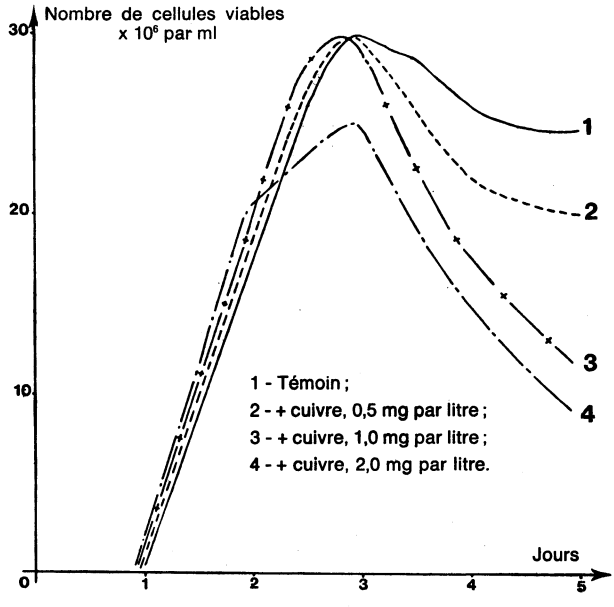


Fig. 5. — Influence du cuivre sur la croissance de *S. bayanus*

VII. — TENEURS DES VINS EN ALCOOLS SUPERIEURS ET EN ESTERS.

Le tableau IV donne les valeurs obtenues dans les essais non levurés (NL) et levurés par *S. cerevisiae* (L', souche aromatique INRA COLMAR) ou par *S. bayanus* (L, souche champenoise), prélevés avant fermentation malolactique. Dans l'ensemble, la série NL possède plus d'esters et d'alcools supérieurs que la série L, en particulier l'échantillon 2NL (Cuprofix). Pour les cuves non levurées il semble exister une relation entre le nombre maximum de cellules atteint pendant la fermentation (figure 4) et la somme des substances volatiles formées : 2NL, 4NL, 6NL et 7NL se trouvent dans les quatre premiers, alors que 1NL, 5NL et 3NL sont les derniers. Cette observation n'est pas retrouvée dans la série levurée.

Les dégustations effectuées sur ces mêmes vins après fermentation malolactique ne font pas apparaître de différences significatives ; les caractères aromatiques aisément détectables pendant la fermentation alcoolique (en particulier dans les essais L') paraissent avoir été nivelés et atténués par la fermentation malolactique.

Il faut également noter que la comparaison entre les résultats de la dégustation et ceux du dosage des alcools supérieurs et des esters demeure difficile interpréter.

TABLEAU IV

Teneurs en alcools supérieurs et en esters des différents vins

Les chiffres représentent des mg par litre

	MOUTS NON LEVURES							MOUTS LEVURES							
								CEREVISIAE		*BAYANUS*					
	1NL	2NL	3NL	4NL	5NL	6NL	7LN	1L'	2L'	1L	2L	3L	4L	5L	6L	7L
1 Méthanol	13,4	6	1,2	11,4	13,1	17,2	6	0	16,8	8,9	18,9	12	20	10,6	16,8	15,5
2 Propanol	34,5	51	39,8	39,1	38	47,3	33,8	38,4	35,5	35,6	28,4	28,4	39,1	32	35,5	28,4
3 Méthyl-2 propanol-1	22,8	35,5	14,1	32,2	14,8	23,3	27,8	35,1	40	41,4	30,5	30,5	9,4	21,2	28,2	23,5
4 Alcools amyliques	130	201,5	96,4	142,6	113,7	134,4	120,5	137	135	115,5	106	100	107,9	82,9	100,2	102,2
5 Phényl-2 éthanol	41,3	62,6	33,3	57,3	28,7	38,7	53,3	32	10	35,3	20	0	0	20	10	13,3
6 Acétate d'éthyle	0	0	0	12,4	4,4	1,8	1,3	1,3	0	0	0	0	0	0	0	0
7 Lactate d'éthyle	7,2	11,8	4,6	9,9	6,2	7,8	5,6	4,4	7,6	2,9	4,5	5	4,5	4,5	6,1	7,6
Somme 2+3+4+5+7	235	362	188	281	201	251	241	247	228	231	189	164	161	141	180	175

DISCUSSION

Les résultats obtenus au cours de cette étude dans le cadre Champenois concernent surtout l'évolution des principales populations levuriennes, depuis la baie de raisin jusqu'au vin tranquille.

1°) De nombreux facteurs influencent l'évolution de cette microflore des baies :

— *sur le plan qualitatif,* nous avons mis en évidence l'effet particulier des traitements cupriques favorisant le genre *Saccharomyces ;* nos essais en laboratoire confirment que le cuivre a une influence sur la croissance aérobie des *Saccharomyces.* Les moûts issus des parcelles 2 et 6 (tableau II) contiennent en moyenne 2 mg de cuivre par litre, alors que les valeurs mesurées par ailleurs ne dépassent pas 0,5 mg par litre. Les traitements à base de Folpel donnent un résultat inverse avec une abondance remarquable de levures asporogènes où le genre *Rhodotorula* est prédominant ;

— *sur le plan quantitatif,* les conditions climatologiques jouent un rôle important mais souvent difficile à interpréter, alors que les opérations de vendanges sont déterminantes pour l'enrichissement des baies en levures (par prolifération, par contamination, etc....) et surtout en *Saccharomyces.* Ces opérations minimisent donc les différences mesurées sur les raisins avant la cueillette.

2°) La population levurienne subit encore des remaniements profonds après le pressurage et surtout après le sulfitage : si la population totale diminue considérablement, celle des *Saccharomyces* apparaît moins affectée ; les espèces asporogènes sont en effet très sensibles à ce traitement. Dans les moûts prêts à fermenter spontanément, la qualité et la quantité des levures a donc été globalement uniformisée (tableau III, moût traité 48 h), les écarts mesurés d'un essai à l'autre (selon la parcelle d'origine) ne variant pas de façon significative. On remarque néanmoins que les moûts provenant de raisins soumis aux traitements cupriques ont souvent des populations en *Saccharomyces* qui se classent parmi les plus élevées.

3°) L'effet des différents programmes de traitement sur nos microvinifications peut se résumer de la manière suivante :

— dans les fermentations naturelles, le Folpel (essai 4NL) exerce un effet retardateur sans affecter cependant la multiplication levurienne ; pour sa part le cuivre (essais 2NL et 6NL) favorise la croissance des *Saccharomyces* comme oligoélément, mais semble diminuer leur survie ; comparativement, le levurage nivelle toutes ces différences.

— nous n'avons pas observé, dans la population levurienne naturelle, des relais de genres ou d'espèces, avec des levures de début, de milieu ou finisseuses de la fermentation ; en règle générale *S. bayanus* et *S. cerevisiae* coexistent sans qu'il y ait véritable compétition ; les traitements

cupriques, ainsi que le Bayleton, donnent des populations sensiblement égales, pour les autres cuves, *S. bayanus* est toujours prédominant.

Ce résultat, qui peut surprendre, est-il un cas particulier de nos essais, ou de l'année, ou résulte-t-il de la pratique champenoise ? A l'échelon industriel, une observation identique a été obtenue (RAIMOND, 1981) ; il sera toutefois nécessaire de poursuivre et d'étendre les analyses, en précisant particulièrement l'origine des *S. bayanus* et *S. cerevisiae* qui assurent les fermentations spontanées.

— au niveau organoleptique, les analyses préliminaires d'alcools supérieurs et esters ne possèdent, pour l'instant, qu'une valeur indicative ; le classement, des vins clairs après dégustation, effectué régulièrement depuis 1978, ne fait guère apparaître d'une année à l'autre des différences significatives : l'incidence des traitements et du levurage s'avère difficile à discerner. En première approximation, nous constatons pour les trois années le bon classement général de l'essai 4 (Folpel), la moyenne régulière du 6 (Acylon) ou du 3 (Mikal) et surtout la constance de l'essai 1 (témoin) placé toujours en queue de classement.

Manuscrit reçu le 2 décembre 1981 ; accepté pour publication le 28 janvier 1982.

RÉSUMÉ

Pendant quatre années consécutives, on a suivi en Champagne, l'évolution de la microflore levurienne depuis la baie de raisin jusqu'au vin clair. Les résultats montrent une influence sensible sur la microflore, d'une part de certains traitements phytosanitaires et d'autre part des opérations liées à la vendange et au traitement des moûts. Grâce à un milieu de culture électif spécial, les auteurs ont amélioré la séparation des colonies de **S. cerevisiae** et de **S. bayanus.**

SUMMARY

For four consecutive years the evolution of yeasts from grape to clear wine was studied in the Champagne region. The results skow that specific phytosanitary treatments on the one hand, and operations involving the harvest and treatment of the must on the other hand have a measurable influence on the microorganisms. A special selective culture medium permitted the authors to improve the separation of **S. cerevisiae** and **S. bayanus** colonies.

ZUSAMMENFASSUNG

Während 4 aufeinanderfolgendan Jahren, wurde im Anbaugebiet der Champgne, die Entwicklung der Hefenmicroflora von der Beere bis zum geklärten Wein verfolgt. Die Austoren zeigen den Einfluss verschiedener phytomedizinischer Behandlungen der Rebe sowie Angepasster Behandlungen des Lesegutes und des Mostes die Mikroflorai mit Hilfe eines spezial elektiven Kulturmilieu erreitcheten die Autoren eine bessere Trennung der Kolonien von **cerevisiae** und **bayanus.**

RESUMEN

Durante 4 años consecutivos, se ha estudiado, en Champagne, la evolución de la microflora de levaduras desde la uva hasta el vino limpio. Los resultados muestran una sensible influencia sobre la microflora, por una parte de los tratamientos fitosanitarios y por otra del tratamiento de la vendimia y de los mostos. Gracias a un medio especial de cultivo selectivo los autores han mejorado la separación de las colonias de S. cerevisiae y S. bayanus.

RIASSUNTO

Durante quattro anni consecutivi, abbiamo visto nella regione di Champagne, l'evoluzione della microflora di lieviti, dalla bacca d'uva al vino chiaro. I risultati mostrano un'influenza sensibile sulla microflora d'una parte di certi trattamenti fitosanitari e d'altra parte di operazioni legate alla vendemmia e al trattamento dei mosti. Grazie a un ambiente di coltura elettiva speziale, gli autori hanno migliorato la separazione delle colonie di cerevisiae e di bayanus.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BELIN J.M., 1981. Biologie des levures liées à la Vigne et au vin. *Thèse docteur ès Sciences Naturelles*, Université de Dijon.

BENDA I., 1980. Mikrobiologische Untersuchungen über den Einfluss des Fungizids Sumisclex auf das Gärverhalten der Hefeflora von Traubenmost. *Wein-Wissenschaft, 1,* 63-67.

BOUIX M., LEVEAU J.Y. et CUINIER C., 1981. Détermination de l'origine des levures de vinification par une méthode de différenciation fine des souches. *Connaissance Vigne Vin,* **15**, n° 1, 41-52.

CUINIER C., 1979. Influence des fongicides sur les levures de la vigne et du vin. *Vignes et Vins,* n° 285, 42-48.

CUINIER C. et LEVEAU J.Y., 1979. L'identification des levures des vignobles et des vins. Méthode rapide à l'aide de la galerie API 20C. *Vignes et Vins,* n° 283, 40-46.

CUINIER C. et BRELET M., 1980. Effet des fongicides sur les levures. *Vignes et Vins,* n° 293, 40-46.

Com. Interprof. Vin de Champagne, 1968. Identification des levures de moûts de champagne au cours de la fermentation. *Services Techniques du C.I.V.C.,* 14 pages.

FAURE-GEORS, 1979. Influence des produits de traitement de la vigne sur les cations dans les moûts. *Rapport de stage d'Œnologie,* Faculté des Sciences de Reims, 91-127.

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**, n° 4, 295-309.

MANDRA D., 1981. Formation et évolution des alcools supérieurs et des esters au cours du vieillissement des vins champagnisés. *Rapport de stage d'Œnologie,* Faculté des Sciences de Reims, 9-48.

RAIMOND D., 1981. Evolution des populations levuriennes, de l'azote assimilable et des alcools supérieurs, pendant la vinification champenoise. *Rapport de stage d'Œnologie,* Faculté des Sciences de Reims, 3-12 et 31-34.

SAPIS-DOMERCQ S., BERTRAND A., MUR F. et SARRE C., 1976. Influence des produits de traitement de la vigne sur la microflore levurienne. *Connaissance Vigne Vin,* **10**, n° 4, 269-289.

SAPIS-DOMERCQ S., BERTRAND A., MUR F. et SARRE C., 1977. Influence des produits de traitement de la vigne sur la microflore levurienne. *Connaissance Vigne Vin,* **11**, n° 3, 227-242.

SAPIS-DOMERCQ S., BERTRAND A., JOYEUX A., SARRE C. et LUCMARET V., 1978. Etude de l'influence des produits de traitement de la vigne sur la microflore des raisins et des vins. *Connaissance Vigne Vin,* **12**, n° 4, 245-275.

SAPIS-DOMERCQ S., 1980. Etude de l'influence des produits de traitement de la vigne sur la microflore des raisins et des vins. *Connaissance Vigne Vin,* **14**, n° 3, 155-181.

TERRIER A., 1972. Les composés terpéniques dans l'arôme des raisins et des vins de certaines variétés de *Vitis vinifera. Thèse docteur-ingénieur*, Bordeaux.