Connaissance Vigne Vin, 1980, **14**, N° 4, 219-238.

VARIABILITE DE LA MICROFLORE LEVURIENNE DE QUELQUES TERROIRS VITICOLES DU PAYS NANTAIS

A. POULARD *, L. SIMON ** et C. CUINIER ***

* Centre Technique Expérimental de l'Institut Technique de la Vigne et du Vin
46 bis, rue des Hauts-Pavés, BP 1141, 44024 Nantes Cedex (France)

** Laboratoire de Biologie et Cytophysiologie végétales
UER des Sciences de la Nature
Le Petit Port, 44300 Nantes (France)

*** Centre Technique Expérimental de l'Institut Technique de la Vigne et du Vin
12, rue E. Pallu, 37033 Tours Cedex (France)

Depuis une trentaine d'années, et suite aux premières recherches œnologiques et écologiques engagées par CASTELLI (1950), MINARIK (1950), DOMERCQ (1956) et BENDA (1962), un inventaire assez complet des espèces levuriennes qui interviennent au cours des processus fermentaires des moûts de raisin a été dressé pour les principales régions viticoles françaises et étrangères. L'un de nous a écrit un historique détaillé de ces recherches (POULARD, 1979).

Afin d'être bref, nous ferons seulement référence aux travaux relatifs à la microflore de zones viticoles précises : VERONA et *al.* (1956) Crête, ZARDETTO DE TOLEDO et *al.* (1959) région de Sao-Paulo, TIURINA (1962) Ukraine, GANDINI (1973) Piémont, PARK (1974) vignoble de Cognac, SAPIS-DOMERCQ et GUITTARD (1976) Roussillon, SOLI et *al.* (1977) Lambrusco...

D'autres recherches concernent, à une échelle territoriale réduite, la composition floristique d'une cave ou d'un cru particulier : Beaujolais (BRECHOT et *al.*, 1962), Chinon (CUINIER et GUERINEAU, 1978), Bourgogne (BELIN, 1979) mais peu d'études de ce type ont été réalisées, à la dimension intermédiaire de l'aire viticole constituée de quelques parcelles seulement. Le terroir dont la notion recouvre, en fait, un groupe d'exploitations caractérisées par un ensemble de données climatiques, pédologiques, agrologiques, technologiques très voisines nous a paru constituer cette unité intermédiaire dont la connaissance floristique méritait d'être appréciée. Au cours de l'année 1977, nous avons étudié la microflore des sols et des fermentations de moûts de Gros Plant dans 4 exploitations localisées sur la commune de CORCOUE : terroir « Coteaux de Logne et Boulogne». Par la suite, nous avons comparé la microflore identifiée avec

celle de 3 autres terroirs nantais : LE PELLERIN, pour le coteau d'Herbauges ; LES MOUTIERS, pour le Pays de Retz ; LE LANDREAU, pour le Sèvre et Maine.

I. — MATERIEL ET METHODES

A : **Les terroirs**

a) *Corcoué*

Situées dans la région de production des Coteaux de Logne et Boulogne, les 4 exploitations ont été choisies en raison de l'identité du cépage (Gros Plant) et de la technicité (même traitement fongicide à la bouillie bordelaise ; même jour de récolte 10-10-77 ; même type de vinification et absence de sulfitage des moûts).

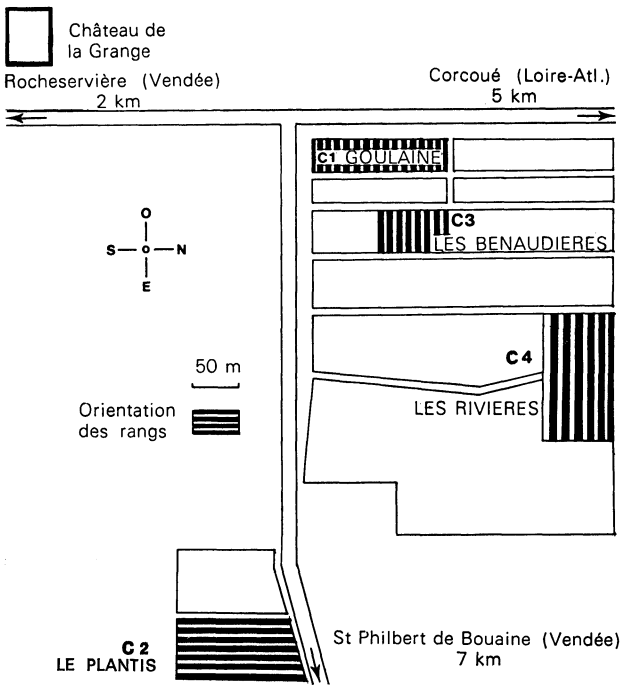


Fig. 1. — Plan des parcelles étudiées

L'aire viticole où sont implantées les 4 parcelles de vigne est située sur un coteau orienté sud-est et couvre une superficie moyenne de 15 hectares ; la situation géographique, la disposition des parcelles (C1, C2, C3, C4) et l'orientation des rangs sont indiquées sur la figure 1 où chaque parcelle est identifiée par son toponyme. La parcelle C2 est située en bas de coteau, tandis que les 3 autres sont disposées à mi-pente : la différence d'altitude entre les parcelles est de 20 mètres environ.

Pour trois stations (C2, C3, C4), les raisins récoltés ont subi un léger foulage à la vigne ; dans les 4 cas, la vendange a été pressée le soir même de la récolte. Les moûts obtenus étaient en général acides et pauvres en sucre. Le tableau I montre quel type de matériel a été employé durant les vinifications.

TABLEAU I

Matériel de cave employé au cours des vinifications

	CORCOUE 1	CORCOUE 2	CORCOUE 3	CORCOUE 4
Type de pressoir	Horizontal 20 hl	Horizontal 20 hl	Vertical hydraulique	Vertical hydraulique
Récipient de fermentation	Cuve 40 hl	muid 600 l	muid 600 l	muid 600 l

Huit jours avant les vendanges et pour chacune des 4 exploitations, nous avons prélevé, à 5 cm de profondeur, des échantillons de sol qui ont été mis à incuber à 25 °C dans du moût de raisin stérile. Afin de suivre la succession des espèces levuriennes au cours du déroulement des fermentations, six prélèvements de jus et de moûts ont été opérés dans chacune des caves à différentes périodes de l'élaboration du vin :

— un prélèvement de jus de raisin à la sortie du pressoir,

— deux prélèvements au début de la phase fermentaire,

— un prélèvement au milieu de la phase fermentaire,

— deux prélèvements en fin de fermentation.

Les températures basses (moyenne d'octobre : 14 °C) ont favorisé un bon état sanitaire de la récolte (peu d'invasions par le *Botrytis cinerea)* et ont permis un déroulement puis un achèvement normaux des fermentations alcooliques.

b) *Autres terroirs*

Une seule station a été retenue pour chaque terroir. Les conditions d'étude n'ont pas été aussi homogènes que celles des stations du terroir de CORCOUE, notamment en raison de la diversité écologique des parcelles. Les différences, portant sur les dates de récolte et les techniques de vinification, ont été les suivantes :

— LE PELLERIN : vendange non sulfitée, récoltée le 25-10-77,

— LES MOUTIERS : vendange sulfitée à 3 g/hl, récoltée le 20-10-77,

— LE LANDREAU : vendange sulfitée à 3 g/hl, récoltée le 17-10-77.

B : **Identification des espèces levuriennes**

Les échantillons de sols ou de moûts ont été soigneusement homogénéisés au laboratoire le jour du prélèvement. L'isolement et le dénombrement des souches ont été effectués selon la méthode de DOMERCQ (1967). La méthode physiologique préconisée par LODDER (1970) a été utilisée pour l'identicafition des espèces ; dans le cas particulier de la levure noire, *Aureobasidium pullulans,* nous avons eu recours à l'ouvrage systématique de DE HOOG et *al.* (1977).

Nous avons été amenés au cours de notre étude à adopter la répartition des espèces en 3 groupes métaboliques définis par BRECHOT (1962) :

Groupe 1 : levures sporogènes à caractère fermentatif dominant, *Saccharomyces,*

Groupe 2 : levures apiculées sporogènes et asporogènes, *Hanseniaspora* et *Kloeckera,*

Groupe 3 : levures sporogènes et asporogènes à caractères oxydatif dominant, *Rhodotorula, Aureobasidium, Torulopsis* et *Metschnikowia.*

II. — RESULTATS EXPERIMENTAUX

A : **Terroir de Corcoué**

a) *Flore levurienne des sols*

Les prélèvements effectués, permettant, en fait, une première estimation de la microflore, ont permis d'isoler 37 souches correspondant à cinq genres et six espèces :

. *Metschnikowia pulcherrima*

. *Saccharomyces chevalieri*

. *Saccharomyces rosei*

. *Kloeckera apiculata*

. *Rhodotorula rubra*

. *Aureobasidium pullulans*

Le tableau II met en évidence la nature et la répartition de la microflore levurienne isolée dans les différents sols. La plupart des espèces identifiées (34/37) sont fermentatives *(Kloeckera sp., Metschnikowia sp., Saccharomyces sp.)* ; dans le cas du premier prélèvement réalisé sur le terroir CORCOUE 1 aucune levure n'a été détectée car des moisissures *(Cladosporium cladosporoides)* ont prématurément colonisé le milieu de culture.

Le tableau II montre l'importance numérique de *Saccharomyces rosei* (20 souches isolées sur 37) en particulier dans les échantillons de CORCOUE 3 et 4. *Saccharomyces chevalieri et Metschnikowia pulcherrima* ont également été observés dans ces deux dernières parcelles tandis qu'*Aureobasidium pullulans* et *Kloeckera apiculata* n'ont été identifiées que dans les échantillons CORCOUE 1, CORCOUE 3 et CORCOUE 4. Le prélèvement du sol correspondant à la parcelle CORCOUE 3 possède la flore levurienne la plus variée ; il totalise 5 espèces différentes dont quatre à caractère fermentatif. Dans l'échantillon de terre provenant de CORCOUE 4 deux espèces fermentatives, seulement, ont été isolées.

TABLEAU II

Identification et nombre de souches isolées à partir des sols

	CORCOUE 1	CORCOUE 2
3ème jour d'incubation	Moisissures *(Cl. cladosporoides)*	(4) *Sacch. rosei* (1) *Sacch. chevalieri* (1) *Rh. rubra*
7ème jour d'incubation	(3) *Sacch. rosei* (1) *Aur. pullulans*	(1) *M. pulcherrima* (5) *Sacch. rosei*
	CORCOUE 3	CORCOUE 4
3ème jour d'incubation	(2) *M. pulcherrima* (1) *Sacch. rosei* (1) *Sacch. chevalieri* (1) *Kl. apiculata*	(2) *Sacch. rosei* (3) *Kl. apiculata*
7ème jour d'incubation	(2) *Sacch. rosei* (1) *Sacch. chevalieri* (2) *Kl. apiculata* (1) *Aur. pullulans*	(3) *Sacch. rosei* (2) *Kl. apiculata*

b) *Flore levurienne des jus et moûts de raisin*

α. *Evolution quantitative de la flore levurienne au cours des fermentations*

Dans trois des quatre cas étudiés (CORCOUE 1, 3 et 4) la population maximale est atteinte après deux jours de fermentation (fig. 2). Le nombre de cellules de levures vivantes se stabilise ensuite puis décroît légèrement pour atteindre 10^7 cellules/ml après une douzaine de jours. Dans le cas particulier de CORCOUE 2 l'augmentation de la population s'est effec-

tuée en deux temps. Après une première période de croissance de deux jours comparable à celle des lots 1, 3 et 4, on observe une phase stationnaire de 48 h, puis une nouvelle période de croissance. Aussi la population maximale n'est-elle obtenue qu'au bout de 6 jours.

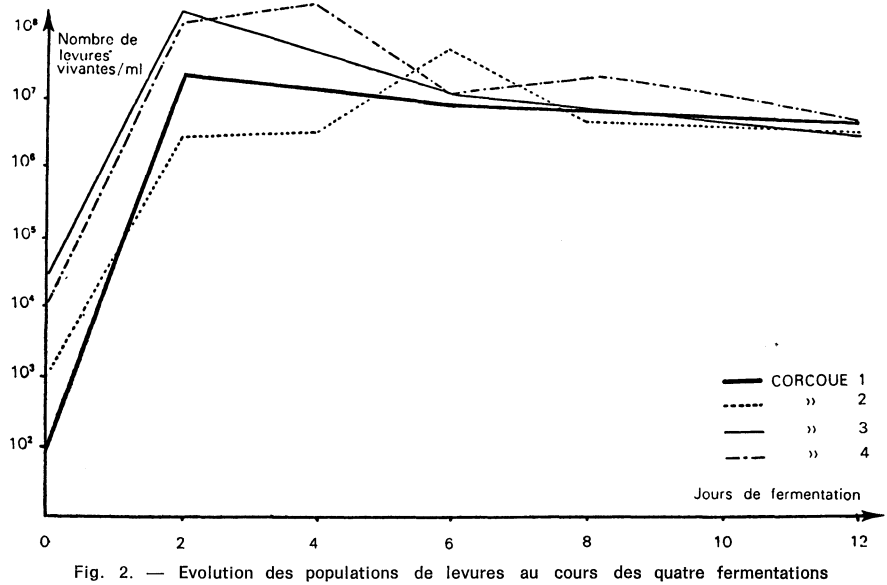


Fig. 2. — Evolution des populations de levures au cours des quatre fermentations

Le tableau III présente la composition des moûts en fin de phase fermentaire (15e jour). A ce stade, les sucres fermentescibles sont complètement dégradés.

β. *Identification des levures des 4 séries de fermentation*

L'identité des espèces, le nombre et la répartition des souches correspondant aux 4 stations sont consignés dans le tableau IV.

CORCOUE 1

36 souches appartenant à 11 espèces et 6 genres différents ont été identifiées. Dans le moût de raisin frais, on remarque déjà la présence de levures à métabolisme fermentaire soit dominant : *Saccharomyces ellipsoideus,* soit faible : *Metschnikowia pulcherrima.*

La fermentation est amorcée par les levures apiculées *Hanseniaspora uvarum, Kloeckera apiculata* et *Kl. africana.* Certaines d'entre elles sont identifiées jusqu'au 3e prélèvement. Pendant la phase fermentaire, les diverses espèces de *Saccharomyces* envahissent progressivement le milieu du 2e au 5e prélèvement. Les levures les plus résistantes à l'alcool *(Saccharomyces ellipsoideus, Saccharomyces bayanus)* permettent l'achèvement normal de la fermentation alcoolique.

CORCOUE 2

34 souches réparties en 10 espèces et 6 genres différents ont été isolées. Parmi celles-ci les espèces *Saccharomyces rosei, Sacch. chevalieri, Metschnikowia pulcherrima* et *Rhodotorula rubra* étaient également présentes dans les échantillons du sol de la parcelle. Dans le premier prélèvement, la présence de levures apiculées est observée. *Saccharomyces bayanus* n'est détecté qu'au 3e prélèvement où il participe avec *Sacch. ellipsoideus, Sacch. chevalieri* et *Sacch. diastaticus* à la fin des processus fermentaires.

CORCOUE 3

Les prélèvements effectués pour cette station mettent en évidence 39 souches correspondant à 9 espèces et 5 genres différents. Certaines des espèces identifiées dans le moût de raisin frais *(Kloeckera apiculata, Metschnikowia pulcherrima, Aureobasidium pullulans* et *Saccharomyces rosei)* et dans les moûts *(Saccharomyces chevalieri)* étaient représentées dans le prélèvement de terre de la parcelle. La fermentation est assurée par les levures apiculées (1er et 2e prélèvements) et par trois espèces de *Saccharomyces : Sacch. ellipsoideus, Sacch. chevalieri* et *Sacch. bayanus.* Au second prélèvement, *Candida zeylanoides,* levure peu commune, a été isolée.

TABLEAU III

Composition des 4 échantillons après le 15e jour de fermentation

	CORCOUE 1	CORCOUE 2	CORCOUE 3	CORCOUE 4
Sucres réducteurs (g/l)	1,5	1,3	0,96	1,4
Acidité totale (g/l H_2SO_4)	8,4	7,5	7,8	8,6
Degré alcoolique (° G. L.)	11,2	11,4	11,1	11,3

CORCOUE 4

Sur les 36 souches isolées, 9 espèces appartenant à 5 genres différents ont été dénombrées. Dans la flore du moût de raisin frais, on reconnaît deux espèces rencontrées dans l'échantillon de terre : *Saccharomyces rosei* et *Metschnikowia pulcherrima.* Le début de la fermentation est assuré par *Hanseniaspora uvarum, Kloeckera apiculata* et *Kl. africana,* espèces présentes jusqu'au 3e prélèvement. *Saccharomyces bayanus* a été identifiée dans le second prélèvement et achève la fermentation alcoolique

TABLEAU IV

Identification et répartition des levures au cours des 4 séries de fermentation

	CORCOUE 1	CORCOUE 2	CORCOUE 3	CORCOUE 4
Moût frais avant enrichissement	2 *Sacch. ellipsoideus* 2 *M. pulcherrima*	2 *Sacch. rosei* 3 *M. pulcherrima* 1 *Rh. rubra*	3 *Kl. apiculata* 1 *M. pulcherrima* 1 *Sacch. rosei* 1 *A. pullulans*	4 *M. pulcherrima* 1 *Sacch. rosei* 1 *Sacch. ellipsoideus* 1 *A. pullulans*
Moût 1er prélèvement (d=1082)	3 *H'spora uvarum* 2 *Kl. apiculata* 1 *Kl. africana* 1 *T. candida*	1 *H'spora uvarum* 1 *Kl. apiculata* 1 *Sacch. ellipsoideus* 1 *Sacch. rosei*	3 *Kl. apiculata* 1 *Kl. africana* 1 *Sacch. chevalieri* 1 *Sacch. ellipsoideus*	1 *H'spora uvarum* 3 *Kl. apiculata* 1 *Kl. africana* 1 *Sacch. ellipsoideus*
2e prélèvement (d = 1060)	2 *Sacch. ellipsoideus* 1 *Sacch. chevalieri* 1 *Sacch. uvarum* 1 *Sacch. rosei* 1 *Sacch. bayanus* 1 *A. pullulans*	4 *Sacch. ellipsoideus* 1 *A. pullulans*	1 *Kl. apiculata* 4 *Sacch. ellipsoideus* 1 *Sacch. bayanus* 1 *C. zeylanoides*	4 *Sacch. ellipsoideus* 1 *Sacch. bayanus* 1 *Sacch. chevalieri*
3e prélèvement (d = 1030)	1 *H'spora uvarum* 3 *Sacch. ellipsoideus* 2 *Sacch. bayanus*	4 *Sacch. ellipsoideus* 2 *Sacch. bayanus*	5 *Sacch. ellipsoideus* 1 *Sacch. bayanus* 1 *A. pullulans*	1 *H'spora uvarum* 1 *Kl. apiculata* 3 *Sacch. ellipsoideus*
4e prélèvement (d = 1010)	6 *Sacch. ellipsoideus*	3 *Sacch. ellipsoideus* 1 *Sacch. bayanus* 1 *Sacch. chevalieri* 1 *Sacch. diastaticus* 1 *A. pullulans*	5 *Sacch. ellipsoideus* 1 *Sacch. bayanus* 1 *A. pullulans*	5 *Sacch. ellipsoideus* 1 *Sacch. bayanus*
5e prélèvement (d = 997)	3 *Sacch. ellipsoideus* 3 *Sacch. bayanus*	3 *Sacch. ellipsoideus* 2 *Sacch. bayanus* 1 *Sacch. chevalieri*	6 *Sacch. ellipsoideus*	4 *Sacch. ellipsoideus* 1 *Sacch. bayanus* 1 *Sacch. chevalieri*

en compagnie de *Saccharomyces ellipsoideus* et *Sacch. chevalieri.* Dans cette station, *Aureobasidium pullulans* n'a pas été décelé au cours de la phase tumultueuse.

c) *Comparaison des microflores des 4 stations du terroir*

Si l'on adopte la classification proposée par BRECHOT et *al.* (1962) les huit genres de levures identifiées au cours de cette étude sont répartis comme suit :

Groupe 1 : *Saccharomyces,*

Groupe 2 : *Hanseniaspora, Kloeckera,*

Groupe 3 : *Candida, Rhodotorula, Torulopsis, Aureobasidium, Metschnikowia.*

Le pourcentage des espèces appartenant à ces trois groupes a été reporté dans le tableau V. Il apparaît que plusieurs analogies peuvent être dégagées pour les quatre fermentations :

Sept espèces de levures sont communes aux quatre stations étudiées :

— *Saccharomyces ellipsoideus*

— *Sacch. bayanus*

— *Sacch. chevalieri*

— *Sacch. rosei*

— *Kloeckera apiculata*

— *Metschnikowia pulcherrima*

— *Aureobasidium pullulans*

Les mieux représentées d'entre elles appartiennent au groupe 1 : *Saccharomyces ellipsoideus* et *Sacch. bayanus ;* la première est plus abondante, son pourcentage varie peu d'une station à l'autre (43 p. 100 à 52,5 p. 100), celui de *Saccharomyces bayanus* est moins élevé dans les moûts : CORCOUE 1 (16,2 p. 100), CORCOUE 2 (14,5 p. 100), CORCOUE 3 (8,1 p. 100), CORCOUE 4 (8,8 p. 100).

Saccharomyces chevalieri et *Sacch. rosei* sont des levures d'appoint (2,7 p 100 à 9 p. 100 selon les lots fermentaires considérés). L'intervention de *Saccharomyces rosei* en début de fermentation est un phénomène constant dans les moûts des quatre stations ; pour les stations de CORCOUE 1, 3 et 4 les pourcentages de cette espèce sont très comparables (3 p. 100, 2,7 p. 100 et 3 p 100).

Kloeckera apiculata, seule levure du groupe 2 observée dans les 4 parcelles est plus abondante dans les prélèvements des stations 3 et 4 (respectivement 17,8 p. 100 et 10,8 p. 100) que dans les stations 1 et 2 (6 p. 100 et 3 p. 100).

TABLEAU V

Nombre d'individus isolés au cours des 4 séries de fermentation

		CORCOUE 1		CORCOUE 2		CORCOUE 3		CORCOUE 4		P. 100 total pour les 4 stations
		Nbre de souches	%	Nbre de souches	%	Nbre de souches	%	Nbre de souches	%	
GROUPE 1	*Saccharomyces ellipsoideus*	16	43	15	43,5	21	52,5	18	48,6	48,2
	Saccharomyces bayanus	6	16,2	5	14,5	3	8,1	3	8,8	11,8
	Saccharomyces chevalieri	1	3	2	6	1	2,7	2	6	4,2
	Saccharomyces rosei	1	3	3	9	1	2,7	1	3	4,2
	Saccharomyces uvarum	1	3	0	0	0	0	0	0	0,7
	Saccharomyces diastaticus	0	0	1	3	0	0	0	0	0,7
GROUPE 2	*Kloeckera apiculata*	2	6	1	3	7	17,8	4	10,8	9,6
	Kloeckera africana	1	3	0	0	1	2,7	1	3	2,1
	Hanseniaspora uvarum	4	10,8	1	3	0	0	2	6	4,8
GROUPE 3	*Candida zeylanoides*	0	0	0	0	1	2,7	0	0	0,7
	Metschnikowia pulcherrima	2	6	3	9	1	2,7	4	10,6	6,8
	Rhodotorula rubra	0	0	1	3	0	0	0	0	0,7
	Torulopsis candida	1	3	0	0	0	0	0	0	0,7
	Aureobasidium pullulans	1	3	2	6	3	8,1	1	3	4,8
TOTAL		36	100	34	100	39	100	36	100	100

Parmi les levures du groupe 3, *Metschnikowia pulcherrima* n'a été identifiée que dans les moûts de raisin frais : *Aureobasidium pullulans,* levure à caractère oxydatif, est présente durant toute la fermentation ; son pourcentage est le plus élevé dans les moûts de CORCOUE 2 et 3 (6 p. 100 et 8,1 p 100).

Deux espèces sont communes à trois séries de fermentations : *Kloeckera africana* et *Hanseniaspora uvarum ;* la première ne représente qu'un faible pourcentage des espèces identifiées pour CORCOUE 1, 3 et 4 (3 p. 100 environ). *Hanseniaspora uvarum* isolée dans les stations 1, 2 et 4 est surtout bien représentée dans les prélèvements de CORCOUE 1 (10,8 p. 100).

Enfin cinq espèces différentes n'ont été mises en évidence qu'une seule fois dans l'une ou l'autre des stations : *Saccharomyces uvarum* et *Torulopsis candida* pour CORCOUE 1, *Saccharomyces diastaticus* et *Rhodotorula rubra* pour CORCOUE 2 et *Candida zeylanoides* pour CORCOUE 3.

d) *Examen quantitatif de la flore levurienne classée par groupe*

Dans chaque série de fermentation, nous avons précisé les pourcentages respectifs des espèces réparties selon les 3 groupes de BRECHOT, par rapport au nombre total de souches identifiées. Ces données sont présentées dans le tableau VI : Pour chaque pourcentage a été calculé l'intervalle de confiance.

Les levures du groupe 1 sont les mieux représentées ; pour les quatre stations étudiées, leurs pourcentages sont très comparables et varient de 68,7 p. 100 à 85 p. 100. Les pourcentages des levures du groupe 2 sont nettement plus faibles (5,9 p. 100 à 20,5 p. 100). Bien que non significativement différentes entre elles, les valeurs observées pour les parcelles CORCOUE 1, 3 et 4 (respectivement 19,8 p. 100, 20,5 p. 100 et 19,8 p. 100) sont notablement plus élevées que celles qui correspondent aux prélèvements de CORCOUE 2 (5,9 p. 100). Cette différence, qui mériterait d'être confirmée par une étude quantitative plus poussée, nous paraît dès à présent pouvoir être attribuée à la localisation particulière de la parcelle 2 (orientation des rangs nord-ouest et altitude peu élevée).

Il paraît difficile de tirer des enseignements précis des chiffres obtenus pour les levures du groupe 3 à métabolisme oxydatif. D'une façon générale, les faibles valeurs enregistrées sont à mettre en relation avec le bon état sanitaire de la vendange et ceci malgré l'absence de sulfitage.

B : **Terroirs du Landreau, du Pellerin et des Moutiers**

Les durées de fermentation, variables selon les caves, ont été plus courtes pour les moûts du LANDREAU et des MOUTIERS que pour ceux de CORCOUE (8 jours) ; par contre, la fermentation alcoolique des moûts du PELLERIN, s'est prolongée plus longtemps qu'à CORCOUE (15 jours).

TABLEAU VI

Répartition des 3 groupes de levures pour les 4 séries de fermentation

	CORCOUE 1			CORCOUE 2		
	Nbre de souches	%	Intervalle de confiance	Nbre de souches	%	Intervalle de confiance
Groupe 1	27	74,2	61 - 89	29	85	73,4 - 97,2
Groupe 2	7	19,8	6,51 - 32,3	2	5,9	0,7 - 19
Groupe 3	2	6	0,6 - 17	3	9	0,2 - 25
	CORCOUE 3			CORCOUE 4		
	Nbre de souches	%	Intervalle de confiance	Nbre de souches	%	Intervalle de confiance
Groupe 1	27	68,7	54,7 - 83,7	28	77,2	64,2 - 91,4
Groupe 2	8	20,5	7,8 - 33,2	7	19,8	6,5 - 32,3
Groupe 3	4	10,7	3 - 24	1	3	0,06 - 14

TABLEAU VII

Populations de levures durant les stades de fermentation (cellules/ml)

	LES MOUTIERS	LE LANDREAU	LE PELLERIN
Moût de raisin frais	7.10^3	10^4	56.10^3
1er jour de fermentation			2.10^7
2e jour		8.10^7	
3e jour			8.10^7
4e jour	5.10^7	11.10^7	
6e jour	5.10^6	10.10^7	35.10^6
8e jour	2.10^6		27.10^6
10e jour			33.10^6
15e jour			33.10^5

a) *Evolution quantitative de la flore au cours des fermentations*

Le tableau VII indique le nombre de cellules de levures vivantes dans les divers prélèvements effectués au cours de la fermentation des trois types de moûts de raisin.

Les populations de levures colonisant les moûts frais sont voisines de celles qui ont été enregistrées dans les quatre caves de CORCOUE. Les populations maximales sont atteintes rapidement dans les moûts (2e au 4e jour), mais les valeurs numériques varient selon les fermentations. Dans la cave du LANDREAU où la phase tumultueuse a été très rapide, le 4e jour la population des levures vivantes est supérieure à 10^8 cellules/ml, tandis que pour les deux autres moûts, elle ne dépasse pas 5.10^7 cellules/ml (Les MOUTIERS) et 8.10^7 cellules/ml (LE PELLERIN).

TABLEAU VIII

Répartition et pourcentage des espèces de levures isolées dans les trois séries de moûts

	LE LANDREAU		LE PELLERIN		LES MOUTIERS	
	Nbre souches	%	Nbre souches	%	Nbre souches	%
Sacch. ellipsoideus	10	43	20	44,8	18	55,2
Sacch. bayanus	3	13,4	1	2,4	0	0
Sacch. chevalieri	1	4,3	1	2,4	10	32
Sacch. uvarum	3	13,4	0	0	0	0
Kl. apiculata	1	4,3	9	21,6	0	0
Kl. africana	0	0	1	2,4	0	0
Kl. javanica	0	0	1	2,4	0	0
H' spora uvarum	1	4,3	4	9,6	1	3,2
M. pulcherrima	0	0	1	2,4	0	0
P. vini	0	0	1	2,4	0	0
A. pullulans	2	8,7	3	7,2	0	0
Tr. penicillatum	1	4,3	0	0	0	0
T. candida	1	4,3	0	0	0	0
Rh. glutinis	0	0	0	0	2	6,4
Rh. rubra	0	0	1	2,4	0	0
Ex. jeanselmei	0	0	0	0	1	3,2
TOTAL	23	100	43	100	32	100

b) *Les flores fermentaires des trois terroirs*

Le tableau VIII indique la composition, la répartition et le pourcentage des espèces de levures isolées dans les trois zones viticoles. Pour la

station du LANDREAU, la microflore des groupes 1 et 3 est bien représentée : *Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. bayanus, Sacch. uvarum* et *Aureobasidium pullulans* sont les espèces dominantes. *Trichosporon penicillatum,* espèce levuriforme rare dans le vignoble nantais, a été isolée au début de la fermentation alcoolique (second prélèvement).

Au PELLERIN, *Saccharomyces ellipsoideus* est également la levure la plus fréquente, les deux autres espèces du genre *Saccharomyces (Sacch. bayanus* et *chevalieri)* ne représentent chacune que 2,4 p. 100 des souches isolées. Les levures apiculées constituent, par contre, une fraction importante de la flore (4 espèces) représentant 36 p. 100 des souches.

La microflore de la station des MOUTIERS est beaucoup plus pauvre ; cinq espèces seulement ont été isolées : *Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. chevalieri, Hanseniaspora uvarum, Rhodotorula glutinis, Exophiala jeanselmei ;* les *Saccharomyces* représentent à eux seuls 87,2 p. 100 des souches.

c) *Etude comparative des microflores classées par groupes*

Le tableau IX montre la répartition des espèces par groupes métaboliques. Le pourcentage des levures du groupe 1 est élevé dans les stations du LANDREAU et des MOUTIERS où les *Saccharomyces* représentent respectivement 74,1 p. 100 et 87,2 p. 100 des espèces isolées ; le pourcentage des espèces de ce groupe est nettement moins important au PELLERIN (49,6 p. 100).

On observe également des différences marquées au niveau de la répartition des levures apiculées : dans les stations du LANDREAU et des MOUTIERS le pourcentage de ces levures est faible (8,6 p. 100 et 3,2 p. 100) tandis qu'au PELLERIN les espèces de ce groupe sont mieux représentées (36 p. 100).

La microflore du groupe 3 est importante dans les trois stations.

L'observation des intervalles de confiance calculés pour un coefficient de sécurité de 95 p. 100 (Tableau IX) montre que les valeurs obtenues pour les groupes 1 et 2 à la station du PELLERIN (respectivement 36,3 — 61,1 et 20,7 — 49,1) sont significativement différentes de celles des MOUTIERS (76 — 99 et 0,08 — 17,2); ces différences remarquables s'expliquent par la présence (LES MOUTIERS) ou l'absence (LE PELLERIN) d'un sulfitage lors de la vinification.

En ce qui concerne les levures du groupe 3, l'influence d'une addition de SO_2 ne semble pas déterminante ; peut-être faut-il mettre en cause la mauvaise homogénéisation de l'antiseptique employé, une hygiène défectueuse du matériel vinaire, ou encore la présence de levures résistant bien à de fortes doses de SO_2 comme *Aureobasidium pullulans.*

TABLEAU IX

Répartition des différents groupes levuriens dans les flores des trois séries de moûts (valeurs établies à partir du tableau VIII)

	LE LANDREAU			LE PELLERIN			LES MOUTIERS		
	Nombre de souches	%	Intervalle de confiance	Nombre de souches	%	Intervalle de confiance	Nombre de souches	%	Intervalle de confiance
GROUPE 1	17	74,1	54,1 - 91,3	22	49,6	36,3 - 66,1	28	87,2	76 - 99
GROUPE 2	2	8,6	0,012 - 31,7	15	36	20,7 - 49,1	1	3,2	0,08 - 17,2
GROUPE 3	4	17,3	0,57 - 43,7	6	14,4	0,06 - 29,8	3	9,6	0,21 - 26,5

IV. — DISCUSSION - CONCLUSION

Dans les fermentations de CORCOUE on remarque une bonne homogénéité de la microflore où 34 à 39 souches réparties en 5 ou 6 genres et 9 ou 11 espèces ont été isolées par station. Sept espèces sont régulièrement retrouvées, et donc communes aux 4 séries de fermentations : *Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. chevalieri, Sacch. rosei, Sacch. bayanus, Kloeckera apiculata, Aureobasidium pullulans, Metschnikowia pulcherrima.* Les mieux représentées d'entre elles appartiennent au groupe 1 de BRECHOT : *Saccharomyces ellipsoideus* (43 à 52,5 p. 100 des souches isolées dans les 4 terroirs) et *Sacch. bayanus* (8,1 à 16,2 p. 100 des souches). *La microflore des moûts issus des différentes parcelles de ce terroir est donc particulièrement spécifique,* caractère vraisemblablement lié aux facteurs microclimatique, pédologique et géologique ; certaines espèces fermentatives et oxydatives sont retrouvées dans la flore des sols et dans les moûts de raisin ; ceci est particulièrement net en ce qui concerne la microflore de la station CORCOUE 2 où *Saccharomyces rosei, Sacch. chevalieri, Rhodotorula rubra* et *Metschnikowia pulcherrima* ont été identifiées dans les deux types de substrats.

D'un terroir à l'autre, par contre, apparaissent des analogies et des différences (Tableau X) ; 2 espèces seulement sont régulièrement présentes dans toutes les fermentations : *Saccharomyces ellipsoideus* et *Hanseniaspora uvarum ;* les autres apparaissent de manière plus irrégulière : *Saccharomyces uvarum* et *Torulopsis candida* dans les terroirs de CORCOUE et du LANDREAU, *Metschnikowia pulcherrima* et *Kloeckera africana* à CORCOUE et au PELLERIN, *Saccharomyces rosei* à CORCOUE. Plusieurs stations présentent entre elles des analogies de composition floristique : dans le cas du PELLERIN, par exemple, on observe 6 ou 7 espèces communes aux 4 stations de CORCOUE et, si l'on excepte *Saccharomyces rosei,* on retrouve une microflore identique à CORCOUE 4. De même, les 7 espèces isolées au LANDREAU se retrouvent dans les populations de levures des prélèvements de CORCOUE 1. Malgré quelques analogies de composition floristique, *une certaine hétérogénéité qualitative et quantitative existe donc entre différents terroirs ;* CUINIER et *al.* (1979) ont signalé ce fait pour 3 terroirs de Touraine plantés en Pineau de la Loire. D'une manière générale, la représentation des divers *Saccharomyces,* et en particulier de *Sacch. ellipsoideus,* est élevée et comparable à celle qui a été remarquée dans les moûts d'autres vignobles : Champagne (BRECHOT et *al.,* 1968), Cognac (PARK, 1974), Gironde (DOMERCQ, 1956), Beaujolais (BRECHOT et *al.,* 1962)... mais il convient de souligner le pourcentage important de *Sacch. bayanus* dans les terroirs de CORCOUE et du LANDREAU (POULARD, 1979).

Plusieurs espèces levuriformes à caractère oxydatif, Aureobasidium pullulans (SIMON et POULARD, 1979), *Trichosporon penicillatum* et *Exo-*

phiala jeanselmei (POULARD et SIMON, 1979) peu connues dans les écosystèmes viticoles, *sont signalées pour la première fois dans le vignoble nantais.*

TABLEAU X

Répartition et pourcentage des espèces communes aux sept séries expérimentales

	C 1	C 2	C 3	C 4	L	M	P
Sacch. ellipsoideus	○	○	○	○	○	○	○
Sacch. chevalieri	○	○	○	○		○	○
Sacch. rosei	○	○	○	○			
Sacch. bayanus	○	○	○	○	○		○
Sacch. uvarum	X				X		
H' spora uvarum	X	X		X	X	X	X
Kl. apiculata	○	○	○	○	○		○
Kl. africana	X		X	X			X
A. pullulans	○	○	○	○	○		○
M. pulcherrima	○	○	○	○			○
T. candida	X				X		
Pourcentage représenté par les souches communes	80,2	91	94,6	91	69,4	87,2	80,8

C 1 : CORCOUE 1
C 2 : CORCOUE 2
C 3 : CORCOUE 3
C 4 : CORCOUE 4

L : LE LANDREAU
M : LES MOUTIERS
P : LE PELLERIN

○ Espèces communes aux 7 séries de fermentations.
X Autres espèces présentes

L'influence des apports de SO_2, effectués après le pressurage, sur la microflore des fermentations est particulièrement nette pour les terroirs du LANDREAU et des MOUTIERS où le pourcentage des levures du groupe 1 *(Saccharomyces)* est nettement plus élevé (LE LANDREAU, 74,1 p. 100 ; LES MOUTIERS, 87,2 p. 100). Au PELLERIN, où la vendange n'a pas été sulfitée, la proportion des espèces de ce groupe est nettement moins importante (49,6 p. 100) ; une différence inverse existe pour les levures du groupe 2 : dans les deux premiers terroirs le pourcentage est faible (8,6 p. 100 et 3,2 p. 100) tandis qu'il est plus élevé au PELLERIN (36 p. 100).

Pour une station donnée, nous avons mis en évidence des analogies entre les levures du sol, des épicarpes de raisin et des moûts en fermentation ; ces observations sont intéressantes à considérer, en effet, les nouvelles techniques de détermination fine des levures (BOUIX, 1979), devraient apporter des informations concernant la filiation clonale éventuelle entre les espèces du sol et celles qui réalisent effectivement les fermentations.

Manuscrit reçu le 28 janvier 1981.

RÉSUMÉ

Les auteurs ont étudié la microflore fermentaire et oxydative du sol et des moûts de raisin dans différents terroirs du vignoble nantais. Ils montrent que, si la microflore est homogène d'un point de vue qualitatif et quantitatif à l'intérieur d'un terroir donné, elle présente par contre une certaine hétérogénéité entre terroirs différents. Ils confirment le rôle du sulfitage sur la microflore des moûts de raisin.

SUMMARY

The authors studied fermentative and oxydative micro-organisms of soil and of grape musts in different soils of the Nantes region. They showed that if the micro-organisms are quantitatively and qualitatively homogenous with a given type of soil, to the contrary there exists a certain heterogeneity among the micro-organisms of different soils. The authors confirm the role of sulphiting on the micro-organisms of grape-musts.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Atoren haben die Gär-und Oxydationsmikroflora der Böden und der Moste in verschiedenen Teilen des Weinbaugebietes von Nantes untersucht. Sie haben festgestellt, dass wenn die Mikroflora qualitatif und quantitatif homogen im Innern eines Teilgebietes ist, so zeigt sich eine gewisse Heterogeneität von Teilgebiet zu Teilgebiet. Die Autoren bestätigen die Rolle des Schwefelns auf die Mikroflora der Moste.

RESUMEN

Los autores han estudiado la microflora fermentaria y oxidativa del suelo y de los mostos de uva en diferentes parcelas de viña del viñedo Nantes. Demuestran que si la microflora es homogenea desde el punto de vista cualitativo y cantitativo dentro de una misma parcela de viña, presenta, al contrario, cierta heterogeneidad entre parcelas diferentes. Confirman el papel desempeñado por el sulfitado sobre la microflora de los mostos de uva.

RIASSUNTO

Gli autori hanno studiato la microflora fermentescibile ed ossidativa del suolo e dei mosti d'uva in diversi terreni di produzione nella regione di Nantes. Dimostrano che se la microflora è omogenea da un punto di vista qualitativo e quantitativo all' interno d'un terreno di produzione dato, presenta invece, una certa eterogeneità tra terreni diversi. Confermano il ruolo del solfitaggio sulla microflora dei mosti d'uva.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BELIN J.M., 1979. Contribution à l'étude des levures des chais. Taxonomie, répartition des levures. *Mycopath.*, **67**, 2, 67-81.

BENDA I., 1962. Okologische Untersuchungen uber die Hefeflora im Fränkischen Weinbaugebiet. *Bayer. landwirts. Jahr.*, **39**, 595-614.

BENDA I., 1964. Die Hefeflora des Fränkischen Weinbaugebietes. *Weinberg und Keller*, **11**, 67-80.

BOUIX M., 1979. *L'électrophorèse, l'immunoélectrophorèse et l'immunofluorescence appliquées à la différenciation fine et rapide des levures. Application à l'œnologie et à la brasserie.* Thèse Doct. Ing., Douai, 259 p.

BRECHOT P., CHAUVET J. et GIRARD H., 1962. Identification des levures d'un moût de Beaujolais au cours de sa fermentation. *Ann. technol. agr.*, **11**, 235-244.

BRECHOT P., GEOFFROY P. et GIRARD H., 1968. Identification des levures de moûts de Champagne au cours de la fermentation. *II^e Cong. intern. Levures, Bratislava*, 14 pp.

CASTELLI T., 1950. I lieviti della fermentazione vinaria nella suilia occidentale. *Riv. vitic. enol.*, **6**, 181-193.

CUINIER C. et GUERINEAU L., 1978. Evolution de la microflore au cours de la vinification des vins de Chinon. *Vignes et vins*, **269**, 29-41.

CUINIER C. et PUISAIS J., 1978. Identification des levures de trois terroirs viticoles plantés en Pineau de la Loire. *C.R. I.T.V., Montmélian*, 7 p.

DE HOOG G.S. and HERMANIDES-NIJHOF E.S., 1977. The black yeasts and allied hyphomycetes. *Studies in Mycology*, **15**, 222 p.

DOMERCQ C., 1956. *Etude et classification des levures de vin de la Gironde.* Thèse Doct. ing., Bordeaux, 114 p.

DOMERCQ S., 1967. Isolement et identification des levures. *Conn. Vigne et Vin*, **2**, 39-50.

GANDINI A., 1973. Influenza dell' infezione botritica delle uve sulla blastoflora dei mosti e sulla composizione dei vini dolci da questi ottenuti. *Vini Italia*, **82**, 3-12, **83**, 13-27.

LODDER J., 1970. *The Yeasts, a taxonomic study.* North Holland Publishing Company. Amsterdam, 1385 p.

MINARIK E., 1960. Prispevok K zlozeniu Kuasnicng flory vin malokar patskej vinohradnicky oblasti. *Biol. Tchecosl.*, **4**, 272-279.

PARK Y.H., 1974. Contribution à l'étude des levures de Cognac. I. Etude et classification des levures de Cognac. *Conn. Vigne et Vin,* **83**, 253-278.

POULARD A., 1979. Recherches sur la microflore fermentaire et oxydative du vignoble nantais. *Thèse Doct. d'Univ.,* Nantes, 196 p.

POULARD A. et SIMON L., 1979. Etude écologique et métabolique de quelques levures rares du vignoble nantais. *Bull. Sc. nat. O. Fr.,* **4**, 185-196.

SAPIS-DOMERCQ S. et GUITTARD A., 1976. Etude de la microflore levurienne du Roussillon. *Conn. Vigne et Vin,* **1**, 1-21.

SIMON L. et POULARD A., 1979. Présence de l'*Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud dans le vignoble nantais. Etude microbiologique et écologique. *Bull. Soc. Sc. nat. O. Fr.,* **1**, 57-68.

SOLI M.G., ROMANO P., GAZIA L. et ZAMBONELLI C., 1977. Studio e selezione dei lieviti da Lambrusco. Caratterizazione dei ceppi isolati da mosti solfitati. *Vignevini,* **11-12**, 17-20.

TIURINA L.V., 1962. (en russe). Etude de la flore des levures de jus de raisin dans la région subkarpathique de la RSS d'Ukraine et le choix des meilleures races. *Vinodelie, XI,* 42-59.

VERONA O., PICCI G., MELAS-IONNIDIS Z. et CARNI I., 1956. Prime ricerche zimologiche sopra mosti d'uva fermentati della Grecia. *Ann. Fac. Agrar. Univ. Pisa,* **17**, 47-49.

ZARDETTO DE TOLEDO O., GONZALVES TEIXERA C. et VERONA O., 1959. Prime ricerche sopra i lieviti sulle uve e nei mosti della regione viticola di Sao-Paulo (Brasile). *Ann. microbiol. enzimol. Ital.,* **1**, 22-34.

Nous remercions Mademoiselle REBERTEAU de sa collaboration technique.