Connaissance Vigne Vin, 1980, **14**, N° 2, 111-126.

ORIGINE DES LEVURES ASSURANT L'ELABORATION D'UN VIN BLANC DE TOURAINE. IDENTIFICATION DES ESPECES

C. CUINIER

Institut Technique de la Vigne et du Vin
12, rue Etienne Pallu, 37033 Tours Cedex (France)

INTRODUCTION

L'origine des levures qui assurent la fermentation spontanée des jus de raisin n'est pas parfaitement connue.

RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (1960) ont abordé ce problème. Ils rapportent les travaux de PASTEUR, qui a montré que les levures se trouvent, non pas à l'intérieur des baies de raisins, mais sur leur pellicule, où elles apparaissent au moment de la maturation. Une étude conduite à l'aide d'un microscope électronique à balayage a précisé depuis, la localisation des levures sur les baies (BELIN et HENRY, 1972). Ces auteurs résument également les résultats de SERGENT et ROUGEBIEF. Ils estiment que la dissémination des levures est assurée par les insectes et non par les poussières. Ils pensent que le sol constitue l'habitat d'hiver des levures. Des travaux conduits par DOMERCQ (1956) à Bordeaux et par GALZY (1958) à Montpellier, montrent que la population levurienne est faible sur les raisins : 10^3 à 10^5 cellules par millilitre de moût et que leur développement commence au cours du transport du raisin au chai ; la croissance est accélérée si les raisins sont foulés dans les comportes. Mais la multiplication est surtout importante au cours du travail au chai au moment du foulage en particulier.

Cependant ces travaux ne répondent pas à la question : « quelle part de la flore est originaire des raisins et quelle part vient de l'équipement de la cave de vinification ? » que posent KUNKEE et AMERINE (1970).

Ce travail a pour objet d'essayer d'élucider ce problème dans le but de mieux maîtriser les fermentations. De la réponse découlent des conséquences pratiques très importantes au niveau : de l'incidence des effets des pesticides employés au vignoble sur les levures — de la spécificité des levures des terroirs viticoles — de l'hygiène des caves et de la pratique du levurage.

Au cours de l'élaboration d'un vin blanc en 1977, les levures sont isolées du raisin et du vin ainsi que des principaux points de contami-

nation rencontrés de la vigne au chai de vinification. Les techniques mises en œuvre ont pour objectif essentiel d'isoler les levures de fermentation même dans les situations où elles sont peu représentées, les levures oxydatives étant alors majoritaires.

MATERIEL ET METHODES

I. — LE TERROIR VITICOLE

Le terroir viticole est situé à Pouillé, sur les coteaux de la rive sud du Cher, entre Saint-Aignan et Montrichard, dans le Loir-et-Cher. Notre étude a porté sur une vigne ayant une superficie d'un hectare ; nous avons distingué trois parcelles : A, B et C.

Le cépage est le Pineau de la Loire.

II. — LE CHAI ET LA VINIFICATION

Le chai est un bâtiment de surface. Le raisin est transporté dans une benne à vendange. La récolte est transférée à l'aide d'une pompe à vendange fixée sur la benne dans un pressoir horizontal. Le moût obtenu est séparé en jus de goutte, jus de première presse et jus de fin de presse. Ce dernier lot fermente séparément. Le jus de goutte et le jus de première presse sont assemblés, sulfités à 5 g de SO_2 par hectolitre et placés en tonneaux de bois d'une capacité de 6 hl. Les tonneaux sont placés dans un chai où la température moyenne est de l'ordre de 10 °C. La température maximum du moût en fermentation est de 20 °C. On cherche à obtenir une fermentation alcoolique complète et à éviter la fermentation malolactique.

III. — PRELEVEMENTS ET ISOLEMENTS DES LEVURES

Les prélèvements effectués sont acheminés rapidement au laboratoire, dans une glacière, pour limiter la croissance des microorganismes.

A. — **Prélèvements et isolements des levures sur les produits : raisins, moûts et vins.**

Raisins sur la vigne. Pour chaque parcelle A, B ou C un échantillon de baies est prélevé aseptiquement. Les baies sont détachées aseptiquement des grappes à l'aide de ciseaux stériles et recueillies dans un sac neuf en matière plastique. 200 grammes environ de raisins sont ainsi prélevés sur 10 ceps. Au laboratoire, les baies de raisin sont pressées aseptiquement dans le sac. Les baies écrasées et le jus de raisin sont transférés dans un flacon erlenmeyer qui est obturé avec un bouchon en caoutchouc muni d'un tube effilé garni d'un coton. L'incubation est conduite à 20 °C. Les levures sont isolées soit à la fin de la fermentation alcoolique soit après un mois d'incubation.

Le milieu utilisé pour isoler les levures est le Yeast-Malt Agar acidifié avec une solution d'acide tartrique à 10 p. 100 (0,5 ml pour 15 ml de milieu). L'acidification a pour but de limiter le développement des bactéries. Pour chaque échantillon on prépare trois boîtes de Petri avec respectivement : 1 ml de moût dans la masse, 0,1 ml et 0,02 ml en surface. La même technique est utilisée pour les autres types de prélèvement.

Raisins vidés de la benne dans le pressoir. La technique est la même que celle décrite pour les raisins prélevés sur la vigne.

Jus issus du pressurage, moût sulfité, moût en fermentation et vin. Ils sont prélevés aseptiquement en flacon. Les levures sont immédiatement isolées sans incubation.

B. — **Prélèvements et isolements au niveau des points de contamination.**

Sol du vignoble. Le sol est prélevé entre —2 et —10 cm, à l'aide d'une spatule flambée, et placé dans un flacon stérile. 300 grammes environ de sol sont recueillis sur l'ensemble de chaque parcelle. Au laboratoire, le sol est immédiatement homogénéisé, si possible tamisé aseptiquement (tamis à trois ronds d'un diamètre de 2 mm). 20 g de sol sont placés avec 120 ml de jus de raisin stérile dans un flacon erlenmeyer, le flacon est obturé par un bouchon en caoutchouc muni d'un tube effilé garni de coton ; il est placé à 20 °C, le flacon est agité deux fois par jour, pour limiter la croissance des moisissures. A la fin de la fermentation, suivie par pesée du flacon, les levures sont isolées. Dans le cas où la fermentation alcoolique ne s'est pas déclarée les levures sont isolées après un mois d'incubation.

Mains des vendangeurs. A la vigne au cours des vendanges, les mains des vendangeurs sont lavées avec de l'eau distillée stérile recueillie dans un flacon stérile.

Un premier isolement de levures est effectué immédiatement à l'arrivée au laboratoire. L'eau de lavage des mains est ensuite additionnée de 50 p 100 de jus de raisin stérile et placée à 20 °C. Après fermentation, ou après une durée d'un mois d'incubation, les levures sont à nouveau isolées. Dans ces conditions, les levures de fermentation peuvent être isolées même si leur nombre est faible au niveau des mains.

Seaux à vendange. Au moment où les seaux à vendange sont vidés de leur contenu dans la hotte, ils sont lavés à l'eau stérile. Cette eau de rinçage est recueillie en flacons stériles. Les isolements sont effectués selon la méthode décrite dans le cas des mains des vendangeurs.

Vendange stagnant dans le tuyau de la benne. Le prélèvement porte sur les raisins stagnant dans le tuyau situé en aval de la pompe utilisée pour le déchargement de la vendange. Ces raisins proviennent de l'apport de raisins précédents, ils sont foulés et sont restés au contact de l'air pendant plusieurs heures.

Marc du pressurage précédent. Le marc provenant du pressoir est recueilli aseptiquement, placé dans un flacon erlenmeyer et additionné de moût stérile. Les levures sont isolées après fermentation à 20 °C.

Sol, mur et pressoir. Le sol, les murs et le pressoir peuvent être des supports de levures Les surfaces sont grattées à l'aide de cotons humides et stériles qui sont placés dans des flacons erlenmeyer, contenant du jus de raisin stérile. Cette technique favorise l'isolement des levures fermentatives.

Atmosphère du chai. Des boîtes de Petri, contenant le milieu de culture, sont placées à différents endroits du chai. Elles sont ouvertes pendant des durées variant de 3 minutes à 1 heure. Les levures de l'atmosphère sont isolées à partir de ces boîtes après incubation à 20 °C.

Sucre. Le sucre utilisé pour l'enrichissement du moût est prélevé aseptiquement dans le sac. Il est dissous à raison de 20 grammes pour 200 millilitres de jus de raisin stérile. Un isolement de levures est effectué immédiatement. Puis le jus enrichi en sucre est mis à incuber à 20 °C. Après fermentation ou après une durée d'un mois d'incubation un nouvel isolement est effectué.

IV. — PURIFICATION, CONSERVATION ET IDENTIFICATION DES LEVURES

Pour chaque prélèvement environ dix souches de levures sont isolées. Elles sont purifiées sur Yeast-Malt-Agar puis conservées sur ce même milieu à + 4 °C. Elles sont repiquées tous les 6 mois. L'identification est effectuée selon la méthode décrite par LODDER (1971).

RESULTATS EXPERIMENTAUX

Au cours de cette étude, 326 souches de levures ont été identifiées au niveau des produits et au niveau des points de contamination.

I. — LEVURES ISOLEES AU NIVEAU DU PRODUIT

A. — **Levures des raisins** (Tableau I).

Parmi les levures fermentaires qui restent minoritaires dans les quatre prélèvements de raisin effectués à la vigne nous n'avons isolé que des *Saccharomyces sp.,* l'espèce principale est *Sacch. cerevisiae ;* on trouve quelques *Sacch. italicus.* Il faut remarquer que ces deux espèces sont très souvent rencontrées au cours de la fermentation des moûts de raisin.

Un seul prélèvement de raisin a été réalisé au cours du chargement du pressoir. Nous avons isolé des *Sacch. cerevisiae* mais également des *H. anomala* qui est une levure défavorable car elle produit en particulier beaucoup d'acétate d'éthyle.

B. — **Levures isolées du moût au cours du pressurage** (Tableau II).

Le moût de goutte qui s'écoule spontanément du pressoir possède une microflore levurienne constituée principalement par *Kl. apiculata* et par *M. pulcherrima,* espèces capables d'assurer le démarrage de la fermentation alcoolique. A côté de ces espèces, est isolée *H. anomala* déjà identifiée dans les raisins au moment du chargement du pressoir, et une levure oxydative *Rh. glutinis var. glutinis.*

Dans le moût de première presse nous avons aussi isolé principalement *Kl. apiculata* et *M. pulcherrima* mais également trois espèces très intéressantes d'un point de vue œnologique : *Sacch. bayanus, Sacch. cerevisiae* et *Sacch. chevalieri.*

TABLEAU I

Levures isolées des raisins

Points et dates de prélèvements	Espèces de levures	Fréquence (en %)
Raisins - parcelle A 20-10-77	*Sacch. cerevisiae*	100
Raisins - parcelle B 20-10-77	*Sacch. cerevisiae*	100
Raisins - parcellle C 20-10-77	*Sacch. cerevisiae*	100
Raisins - parcelle B 24-10-77	*Sacch. italicus*	100
Raisins vidés de la benne dans le pressoir 24-10-77	*H. anomala var. anomala*	71
	Sacch. cerevisiae	29

Dans le moût de fin de première presse et dans le moût de fin de presse on trouve toujours en quantité importante *Kl. apiculata* et *M. pulcherrima ;* parmi les *Saccharomyces sp.* seul *Sacch. cerevisiae* est isolé. *C. sake* levure à faible pouvoir fermentatif est présent dans le moût de fin de presse.

Les moûts issus du pressurage, à l'exclusion du moût de fin de presse, sont rassemblés et sulfités à la dose de 5 g de SO_2 par hectolitre, pour éviter les oxydations et faciliter le débourbage. La microflore levu-

TABLEAU II

Levures isolées du moût au cours du pressurage, du moût en fermentation et du vin

Points et dates de prélèvement	Espèces de levures	Fréquence (en %)
Moût de goutte 24-10-77	*H. anomala var. anomala*	14
	M. pulcherrima	29
	Kl. apiculata	43
	Rh. glutinis var. glutinis	14
Moût de première presse 24-10-77	*M. pulcherrima*	14
	Sacch. bayanus	14
	Sacch. cerevisiae	14
	Sacch. chevalieri	14
	Kl. apiculata	44
Moût de fin de première presse 24-10-77	*M. pulcherrima*	17
	Sach. cerevisiae	17
	Hl. apiculata	66
Moût de fin de presse 24-10-77	*M. pulcherrima*	12
	C. sake	12
	Kl. apiculata	76
Moût sulfité 24-10-77	*Sacch. bayanus*	13
	Sacch. capensis	13
	Sacch. cerevisiae	48
	Sacch. chevalieri	13
	Sacch. rosei	13
Moût en fermentation 28-10-77	*Sacch. cerevisiae*	100
Moût en fermentation 2-11-77	*Sacch. cerevisiae*	100
Moût en fermentation 7-11-77	*Sacch. bayanus*	13
	Sacch. capensis	13
	Sacch. cerevisiae	49
	Sacch. chevalieri	25
Vin 14-11-77	*Sacch. bayanus*	13
	Sacch. capensis	13
	Sacch. cerevisiae	61
	Sacch. chevalieri	13

rienne du moût sulfité ne comporte que des *Saccharomyce sp.*, cette caractéristique est due à l'apport de l'anhydride sulfureux, auquel les autres espèces isolées, au cours du pressurage, sont sensibles. La microflore du moût sulfité est donc composée d'espèces favorables du point de vue œnologique. *Sacch. cerevisiae* est l'espèce la mieux représentée à ce stade.

C. — **Levures isolées du moût en fermentation** (Tableau II).

Au cours de la fermentation alcoolique des *Saccharomyces sp.* sont seuls isolés. Tout au long de la fermentation alcoolique, *Sacch. cerevisiae* est l'espèce dominante. C'est la seule espèce isolée au début et au milieu de la fermentation. A la fin de la fermentation et dans le vin, à côté de *Sacch. cerevisiae,* sont également isolés : *Sacch bayanus, Sacch. capensis* et *Sacch. chevalieri,* espèces déjà isolées avant fermentation, au cours du pressurage et dans le moût sulfité.

II. — LEVURES ISOLEES AU NIVEAU DES POINTS DE CONTAMINATION

A. — **Levures isolées au niveau du vignoble** (Tableau III).

Les quelques isolements effectués au niveau du sol révèlent une grande variabilité d'un prélèvement à l'autre. Le sol contient des levures d'altération *(C. vini* et *H. saturnus var. saturnus),* des levures à pouvoir alcoogène moyen *(Kloeckera sp.)* ou élevé *(Sacch. rosei* et *Sacch. uvarum).*

TABLEAU III

Levures isolées du sol du vignoble

Points et dates de prélèvement	Espèces de levures	Fréquence (en %)
Sol - parcelle A 20-10-77	*Sacch. rosei* *C. vini*	62 38
Sol - parcelle B 20-10-77	*Sacch. uvarum*	100
Sol - parcelle C 20-10-77	*H. saturnus var. saturnus*	100
Sol - parcelle B 24-10-77	*Kl. apiculata* *Kl. javanica var. lafarii*	80 20

B. — **Levures isolées des mains des vendangeurs.**

Immédiatement après lavage des mains des vendangeurs, la microflore est caractérisée dans tous les prélèvements par la présence de *M. pulcherrima, Kl. apiculata, Rh. rubra* et *Tr. pullulans (= Aureobasidium*

pullulans) sont des espèces souvent isolées à ce niveau. D'autres espèces sont également identifiées : *H. anomala var. anomala, Sacch. capensis, Sacch. rosei, T. domercqii.*

Après fermentation des liquides de lavage des mains, nous ne trouvons que des *Saccharomyces sp., Sacch. cerevisiae* est présent dans chaque prélèvement. Les autres espèces sont *Sacch. bayanus, Sacch. chevalieri* et *Sacch. uvarum.*

C. — **Levures isolées des seaux à vendanges** (Tableau IV).

La microflore levurienne des seaux à vendanges comporte les espèces déjà isolées sur les mains des vendangeurs. Mais leurs fréquences sont différentes. *Kl. apiculata* devient la levure principale. *M. pulcherrima* occupe la deuxième position. *H. anomala var. anomala* levure néfaste est également isolé.

Après fermentation alcoolique des moûts ensemencés avec l'eau de lavage des seaux, *Sacch. cerevisiae* occupe la première place mais *Sacch. bayanus* est également présent dans chaque prélèvement. *H. anomala var. anomala* est aussi isolé à côté de levures à faible pouvoir alcoogène : *P terricola* et *T. norvegica.*

D. — **Levures isolées de la vendange stagnant dans le tuyau de la benne.**

A ce niveau, les levures isolées sont principalement des *Saccharomyces sp., Sacch. bayanus* et *Sacch. cerevisiae ;* mais ont trouve également une levure à faible pouvoir alcoogène, *T. castellii* et une levure à voile *P. membranaefaciens.* Cette dernière levure est une levure d'altération des vins.

E. — **Levures contaminant le chai de vinification** (Tableau V).

Les prélèvements effectués dans le chai révèlent la présence de *Saccharomyces* sp., *Sacch. cerevisiae* en particulier se trouve au niveau de tous les points de contamination. D'autres levures sont également isolées *P. terricola, P. membranaefaciens* et *H. anomala var. anomala,* qui d'un point de vue œnologique sont néfastes. Enfin, des levures à faible pouvoir alcoogène sont identifiées, *Kl. apiculata* et *T. candida.*

F. — **Levures isolées du sucre** (Tableau VI).

Il n'a pas été possible d'isoler de levures avant le test de fermentation. Ce résultat signifie que le sucre contient très peu de levures. Après fermentation, des levures ont été isolées, elles appartiennent aux espèces : *Sacch. cerevisiae* et *Sacch. uvarum* intéressantes du point de vue œnologique et à *P. delftensis* qui est une levure à voile, donc néfaste.

III. — ENSEMBLE DES LEVURES ISOLEES

Le Tableau VII montre que les 326 souches identifiées appartiennent à 25 espèces rassemblées en 9 genres.

TABLEAU IV

Levures isolées des mains des vendangeurs et des seaux

Points de prélèvement	Levures isolées avant fermentation du prélèvement	Fréquence (en %)	Levures isolées après fermentation du prélèvement	Fréquence (en %)
Mains A	*M. pulcherrima*	29	*Sacch. bayanus*	62
	Kl. apiculata	42	*Sacch. cerevisiae*	25
	Tr. pullulans	29	*Kl. apiculata*	13
Mains B	*M. pulcherrima*	33	*M. pulcherrima*	38
	Kl. apiculata	17	*Sacch. cerevisiae*	50
	T. domercqii	33	*Sacch. uvarum*	12
	Tr. pullulans	17		
Mains C	*H. anomala var. anomala*	11	*M. pulcherrima*	25
	M. pulcherrima	22	*Sacch. cerevisiae*	75
	Sacch. rosei	12		
	Kl. apiculata	11		
	Rh. rubra	22		
	Tr. pullulans	22		
Mains D	*H. anomala var. anomala*	29	*Sacch. cerevisiae*	87
	M. pulcherrima	71	*Sacch. chevalieri*	13
Mains E	*M. pulcherrima*	43	*Sacch. bayanus*	25
	Sacch. capensis	14	*Sacch. cerevisiae*	62
	Sacch. rosei	14	*C. krusei*	13
	Rh. rubra	29		
Seau A	*H. anomala var. anomala*	17	*Sacch. bayanus*	13
	M. pulcherrima	33	*Sacch. cerevisiae*	87
	Kl. apiculata	50		
Seau B	*M. pulcherrima*	25	*Sacch. bayanus*	25
	Kl. apiculata	75	*Sacch. cerevisiae*	75
Seau C	*M. pulcherrima*	14	*H. anomala var. anomala*	52
	Sacch. rosei	57	*P. terricola*	12
	Kl. apiculata	29	*Sacch. bayanus*	12
			Sacch. cerevisiae	12
			T. norvegica	12
Vendange stagnant dans le tuyau de la benne			*P. membranaefaciens*	37
			Sacch. bayanus	13
			Sacch. cerevisiae	37
			T. castellii	13

TABLEAU V

Levures isolées de différents points du chai

	Espèces de levures	Fréquence (en %)
Marc du pressurage précédent	*P. terricola*	86
	Sacch. cerevisiae	14
Marc + sol du chai	*P. terricola*	86
	Sacch. bayanus	14
Sol du chai	*P. terricola*	25
	Sacch. bayanus	25
	Sacch. cerevisiae	50
Mur proche du pressoir	*P. membranaefaciens*	62
	Sacch. cerevisiae	38
Pressoir	*P. terricola*	63
	Sacch. bayanus	13
	Sacch. cerevisiae	24
Atmosphère proche du pressoir	*Sacch. rosei*	17
	Kl. apiculata	83
Atmosphère haut de cuve 3	*H. anomala var. anomala*	14
	Sacch. bayanus	14
	Sacch. cerevisiae	14
	Sacch. rosei	14
	Kl. apiculata	14
	T. candida	30
Atmosphère haut de cuve	*Sacch. chevalieri*	33
	Sacch. rosei	34
	T. candida	33

TABLEAU VI

Levures isolées du sucre après fermentation

Espèces de levures	Fréquence (en %)
P. delftensis	30
Sacch. cerevisiae	30
Sacch. uvarum	40

TABLEAU VII

Récapitulation des levures identifiées avec indication du point d'isolement

	Raisin	Pressurage	Moût et vin	Sol de vigne	Mains	Seaux	Benne	Chai
Levures sporogènes								
H. anomala var. anomala		×			×	×		×
H. saturnus var. saturnus				×				
M. pulcherrima		×			×	×		
P. delftensis								×
P. membranaefaciens							×	×
P. terricola						×		×
Sacch. bayanus		×	×		×	×	×	×
Sacch. capensis		×	×		×			
Sacch. cerevisiae	×	×	×		×	×	×	×
Sacch. chevalieri		×	×		×			×
Sacch. italicus	×							
Sacch. rosei		×		×	×	×		×
Sacch. uvarum				×	×			×
Levures asporogènes								
C. krusei					×			
C. sake		×						
C. vini				×	×			
Kl. apiculata		×		×	×	×		×
Kl. javanica var. lafarii				×				
Rh. glutinis var. glutinis		×						
Rh. rubra					×			
T. candida								×
T. castellii							×	
T. domercqii					×			
T. norvegica						×		
Tr. pullulans					×			

La microflore assurant la fermentation alcoolique est composée de 4 espèces : *Sacch. bayanus, Sacch. capensis, Sacch. cerevisiae* et *Sacch. chevalieri.* Ce groupe de *Saccharomyces* a été également isolé, avant la fermentation du moût, au cours du pressurage, mais également à la vigne sur les mains des vendangeurs. A part *Sacch. capensis,* ces espèces font également partie de la microflore qui contamine le chai. *Sacch. cerevisiae,* l'espèce la mieux représentée, a été isolé à tous les stades de l'élaboration du vin et à tous les points de contamination, sol de vigne excepté. Cette espèce est donc omniprésente, toutefois elle est rare sur le raisin et ne devient dominante qu'à partir du pressurage.

Sacch. bayanus, levure intéressante comme agent d'achèvement de la fermentation alcoolique, est présent au cours du pressurage dans le moût mais également sur les mains et dans les seaux des vendangeurs et dans le chai.

La microflore levurienne nuisible est constituée des levures appartenant aux genres suivants :

— *Hansenula* sp. et *Candida* sp. isolés au cours du pressurage, au niveau des sols de vigne, des mains, des seaux et du chai.

— *Pichia* sp. isolé dans les seaux, la benne et le chai.

L'effet du sulfitage après pressurage élimine une partie importante des espèces de levures et réduit la microflore dominante aux seuls *Saccharomyces* sp.

DISCUSSION

Au cours de cette étude nous avons identifié les levures, tout au long de la chaîne d'élaboration du vin, au niveau du produit (raisin, moût, vin) et au niveau des points de contamination (sol de vigne, chai de vinification ...). La microflore colonisant ces milieux s'est avérée différente.

Dans ce travail, nous n'avons pas étudié la microflore prépondérante du raisin, car il est connu que les levures présentes sont surtout des levures oxydatives ou à faible pouvoir alcoogène. Dans la vallée de la Loire, *Tr. pullulans (= A. pullulans)* occupe une place prépondérante à côté de levures appartenant aux genres *Cryptococcus* sp., *Rhodotorula* sp. et à l'espèce *M. pulcherrima* (CUINIER et BRELET, 1979).

Au cours de la vendange, les raisins sont ensemencés par les mains des vendangeurs et les seaux à vendange où dominent *M. pulcherrima* et *Kl. apiculata* respectivement.

La microflore du moût de goutte, première fraction de moût obtenue au cours du pressurage est très voisine de celle isolée des seaux à vendange, en effet *Kl. apiculata* y est également l'espèce principale. Mais au cours du pressurage, si *Kl. apiculata* demeure l'espèce la mieux repré-

sentée, apparaissent des levures du genre *Saccharomyces* sp. en particulier *Sacch. cerevisiae.* Ce résultat est comparable à ceux obtenus par POULARD (1979) qui a montré que, au cours du pressurage, il y a augmentation de la fréquence des levures fermentatives et déclin des levures oxydatives. Il est possible, qu'au cours de l'extraction des jus, à l'intérieur du pressoir, des conditions d'anaérobiose partielles et la libération du moût sucré favorisent la prolifération des *Saccharomyces* sp. au détriment des levures oxydatives.

Le sulfitage sélectionne ensuite les seuls *Saccharomyces* sp. Du moût sulfité ont été isolées 5 espèces appartenant à ce genre. Au cours des premières phases de la fermentation *Sacch. cerevisiae* est la seule levure isolée. A la fin de celle-ci et dans le vin apparaissent *Sacch. bayanus, Sacch. capensis* et *Sacch. chevalieri,* levures déjà isolées dans le moût sulfité.

La succession des espèces de levures de la vigne au vin observée dans ce cas particulier présente des analogies importantes avec celle décrite à l'issu de différents travaux

Dans la Vallée de la Loire il a été montré à Chinon (CUINIER, 1978) et dans le Vignoble Nantais (POULARD, 1979) que la succession observée est la suivante : *M. pulcherrima ; Kl. apiculata, Sacch. cerevisiae* associé à d'autres *Saccharomyces* sp. et *Sacch. bayanus.*

En Franconie, BENDA (1962) observe la même succession de levures et note sur les raisins une forte proportion de *Tr. pullulans (= Dematium pullulans = Aureobasidium pullulans).*

En Beaujolais, BRECHOT et *al.* (1962) n'ont pas isolé *Tr. pullulans* ni *M. pulcherrima.* Mais ils observent, en début de fermentation, quelques *Kl. apiculata* et des *Candida* sp., ensuite *Sacch. cerevisiae* associé à d'autres *Saccharomyces* sp. mais peu de *Sacch. bayanus.*

En Bordelais, DOMERCQ (1956) observe, en début de fermentation, surtout *Kl. apiculata* et *T. stellata* dans le cas des raisins blancs atteints de pourriture noble et note le rôle dominant de *Sacch. cerevisiae* au milieu de la fermentation alcoolique, *Sacch. bayanus* étant isolé à la fin de cette dernière surtout au cours de la vinification en blanc.

Comme pour ces exemples, dans le cas étudié en Touraine, la microflore levurienne évolue au cours de l'élaboration du vin. Les levures asporogènes ou à faible pouvoir alcoogène envahissent d'abord le milieu, mais sont rapidement supplantées par les levures sporogènes à pouvoir alcoogène élevée, par les *Saccharomyces* sp., en particulier parmi lesquels *Sacch. cerevisiae* joue le rôle généralement principal, mais non exclusif. Toutefois des différences apparaissent entre ces études réalisées dans des lieux et au cours d'années très différentes. Elles portent sur la composition de la microflore oxydative et sur la fréquence de *Sacch. bayanus.*

En particulier, dans le cas de cette étude, la représentation de *Tr. pullulans* et de *M. pulcherrima* est importante, la présence de *Sacch. bayanus,* non seulement à la fin de la fermentation alcoolique mais également au cours des phases préfermentaires, doit être remarquée. Un tel fait a déjà été observé dans le Vignoble de Loire-Atlantique (CUINIER et BRELET, 1979).

D'un point de vue pratique, les résultats obtenus montrent qu'il existe une microflore levurienne, susceptible d'altérer les moûts et les vins, composée des genres suivants : *Hansenula sp., Pichia sp., Candida sp.* Cette microflore colonise en particulier le chai et le matériel de récolte. Pour en limiter la croissance de ces levures, il convient d'appliquer une hygiène stricte, trop souvent négligée.

CONCLUSION

Dans ce cas, toutes les espèces responsables de la fermentation du moût ont été isolées au vignoble. Mais la levure principale de la fermentation *Sacch. cerevisiae* est également présente dans le chai.

La microflore du vignoble se développe au cours des vendanges, sur les raisins, au contact des mains des vendangeurs et du matériel de récolte. Au cours du pressurage elle colonise progressivement le moût pour en assurer la fermentation. Mais la microflore du chai peut contaminer le moût et participer à la fermentation.

Il convient de poursuivre la différenciation des souches à un niveau plus fin que celui de l'espèce pour montrer si les souches du moût en fermentation appartiennent à des clones isolés dans le chai ou au vignoble.

Manuscrit reçu le 7 mai 1980.

RÉSUMÉ

L'auteur isole et identifie les levures, d'une part au niveau du produit (raisin, moût, vin) et d'autre part aux principaux points de contamination (vigne, chai). Il montre que la fermentation alcoolique est principalement assurée par ***Sacch. cerevisiae*** et d'autres ***Saccharomyces*** sp. toutes isolées au vignoble et certaines dans le chai.

SUMMARY

The author isolates and identifies yeast varieties from the grape and its products (must, wine) as well as from the major contamination areas (vine, winery). It is shown that alcoholic fermentation is for the most part carried out by ***Sacch. cerevisiae*** and other ***Saccharomyces*** s.p., all were isolated at the vineyard and a few within the winery.

ZUSAMMENFASSUNG

Der verfasser isoliert und identifiziert die Hefen, einerseits am stand des produkts (Traube, Most oder Wein) und anderseits, in den Hauptansteckungspunkten (Weinlager, Weingarten).

Er zeigt, dass die alkoholishe Gärung hauptsächlich von *Saccharomyces cerevisiae* und anderen Saccharomyces, die alle in dem Weinlager oder in dem Weingarten isoliert werden, geführt wird.

RESUMEN

El autor separa e identifica las levaduras, segun el tipo de producto (uva, mosto, vino) y tambien de acuerdo a los principales lugares de contaminacíon (viñedo, bodega). El demuestra que la fermentacion alcoolica es principalmente asegurasa por *Sacch. cerevisiae* y otra especies de *Saccharomyces* s.p., todas estas aisladas en los viñedos y en algunas bodegas.

RIASSUNTO

L'autore separa ed identifica i lieviti, d'una parte al livello del prodotto (uva, mosto, vino) e d'altra parte, identifica i lieviti nei principali luoghi di contaminazione (vite, cantina).

Mostra che la fermentazione alcoolica è sopratutto fatta da *Saccharomyces Cerevisiae* ed altri *Saccharomyces* s.p. ognuni separati nel vigneto e certi nella cantina.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BELIN J.M. et HENRY P., 1972. Contribution à l'étude écologique des levures dans le vignoble. Répartition des levures à la surface du pédicelle et de la baie de raisin. *C.R. Acad. Sc.*, **274** D, 16, 2318-2320.

BRECHOT P., CHAUVET J. et GIRARD H., 1962. Identification des levures d'un moût de Beaujolais au cours de la fermentation. *Ann. Techn. Agric.*, **11**, N° 3, 235-244.

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

CUINIER C. et BRELET M., 1979. Observations sur les levures de quelques parcelles viticoles de Loire-Atlantique. Effet des fongicides cupriques et organiques. *Vignes et Vins* (sous presse).

DOMERCQ S., 1956. Etude et classification des levures de vin de la Gironde. *Thèse de Docteur-Ingénieur*, Bordeaux, 114 pages.

GALZY P., 1958. Origine de la microflore des vins. *Progr. Agric. Vitic.*, **75**, N° 3, 58-65.

KUNKEE R.E. and AMERINE M.A., 1970. Yeast in Wine making p 19 in ROSE A.H. and HARRISSON J.S. *The Yeasts - Vol. 3 Yeast Technology.*, 590 pages. Academic Press. London and New-York.

LODDER J., 1971. *The yeasts. A taxonomic study*, 1385 pages, North Holland Publ. Comp. Amsterdam, London.

POULARD A., 1979. Recherches sur la microflore levurienne fermentaire et oxydative du vignoble nantais. *Thèse de Doctorat d'Université,* Nantes, 196 pages.

RIBÉREAU-GAYON J. et PEYNAUD E., 1960. *Traité d'Œnologie,* Tome I, 753 pages. Lib. Polytechnique Ch. Beranger.

LABORATOIRE DEPARTEMENTAL ET REGIONAL D'ANALYSES ET DE RECHERCHES, 12, rue Etienne Pallu, 37033 Tours Cédex. *Directeur : J: PUISAIS.*

Ce travail fait partie d'une étude qui a bénéficiée de l'aide financière d'un contrat D.G.R.S.T. n° 77 7 18 18.