Connaissance Vigne Vin, 1978, **12**, N° 4, 245-275.

ETUDE DE L'INFLUENCE DES PRODUITS DE TRAITEMENT DE LA VIGNE SUR LA MICROFLORE DES RAISINS ET DES VINS. EXPERIMENTATION 1977

COMPARAISON AVEC LES RESULTATS DE 1976 et 1975

Simone SAPIS-DOMERCQ, A. BERTRAND, Annick JOYEUX, Viviane LUCMARET et C. SARRE

Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II
351, cours de la Libération, 33405 Talence Cedex (France).

INTRODUCTION

L'expérimentation commencée en 1975 (SAPIS-DOMERCQ et *al.*, 1976) avec les produits de traitement **Ronilan, Rovral, Euparène, DPX114** et **F83675,** avait été poursuivie en 1976 (SAPIS-DOMERCQ et *al.*, 1977) avec seulement **Ronilan et Rovral.** Elle avait montré que sauf pour l'**Euparène,** l'effet de ces substances sur la microflore des levures était assez limité. Par contre, les conditions météorologiques très différentes qui avaient marqué les étés 1975 et 1976 semblaient avoir des répercussions beaucoup plus nettes sur cette microflore. Il était donc apparu nécessaire de poursuivre cette expérimentation pendant plusieurs années, afin de dégager l'action éventuelle des fongicides et celle, imprévisible, des variations climatiques d'une année à l'autre.

En 1977, nous avons donc étudié d'une part, l'action du **Ronilan** et du **Sumisclex** à deux doses (1,5 et 2 kg par ha) et de l'**Euparène** dans la région d'Appellation d'Origine Contrôlée « Graves-de-Vayres » (essai I) et, d'autre part, celle de traitements mixtes à base de **Cuprosan, Mycodifol** ou **Euparène,** dans la région d'Appellation d'Origine Contrôlée « Entre-deux-Mers » (essai II).

MATERIEL ET METHODES

L'application des traitements a été faite par l'Institut Technique de la Vigne et du Vin selon le même processus qu'en 1975 et 1976. Toutefois les parcelles traitées se trouvaient dans des régions différentes et les cépages choisis étaient également différents (tableaux I a et I b).

Comme les années précédentes, pour chaque produit de traitement on dispose d'un échantillon de raisins mûrs cueillis le jour des vendanges dans des conditions aseptiques, et d'un échantillon de jus, provenant d'un

lot plus important de raisins prélevés et pressés dans des conditions d'asepsie aussi rigoureuses que possible, afin de réaliser des microvinifications séparées.

TABLEAU I a

Protocole des traitements par divers fongicides effectués dans l'essai I (région Graves-de-Vayres, cépage Muscadelle)

Fongicide	Composition	Dose de traitement (kg/ha)	Nombre et Dates des traitements
Témoin	—	—	4 traitements successifs pour chaque fongicide :
Sumisclex 1		1,5	6 juillet 1977
Sumisclex 2		2	29 juillet 1977
Ronilan	50 p. 100 Vinchlozoline	1,5	29 août 1977
Euparène	50 p. 100 Dichlofluanide	4	8 septembre 1977

La récolte du raisin a commencé le 11 octobre 1977.

TABLEAU I b

Traitements par divers mélanges de fongicides effectués dans l'essai II (région Entre-Deux-Mers, cépage Sémillon).

Traitements anti-mildiou	Traitements anti-**Botrytis**	Nombre de traitements
Cuprosan **Cuprosan** **Mycodifol** **Cuprosan**	Néant **Mycodifol** **Mycodifol** **Euparène**	Le nombre de traitements a été de 10 contre le mildiou et de 4 contre le **Botrytis** (le dernier intervenant 3 semaines avant le début des vendanges)

La récolte du raisin a commencé le 10 octobre 1977.

Les échantillons de jus destinés à l'analyse microbiologique sont prélevés immédiatement après stérilisation du matériel entre chaque opération de pressurage. Ces jus non sulfités sont débourbés au laboratoire et mis à fermenter à 25 °C, dans des bouteilles de 2 l, munies de barboteurs, contenant 1,6 l de jus ; les bourbes, parallèlement, fermentent en flacons plus petits et dans les mêmes conditions anaérobies.

Les contrôles microbiologiques sont effectués dans les conditions suivantes :

1) Contrôle sur 30 baies prises stérilement dans l'échantillon de raisins (environ 1,500 kg) cueilli dans la parcelle traitée. Ces baies, d'un poids de 53 à 64 g dans l'essai I, de 60 à 71 g dans l'essai II, sont broyées dans un mixer stérile : à partir de ce broyat on effectue les dilutions en milieu solide destinées à la numération et à l'isolement des micro-organismes.

2) Contrôle sur les jus, tout au long de leur fermentation, suivie par pesée du gaz carbonique dégagé. Les échantillons de l'essai I sont ainsi suivis tous les jours pendant la première semaine, puis tous les 2 ou 3 jours ensuite : 12 prélèvements sont ainsi effectués jusqu'au vingt-huitième jour.

Pour les échantillons de l'essai II, la fermentation a été beaucoup plus lente et difficile ; les prélèvements ont été moins nombreux, donc plus espacés : 6 en 25 jours.

En 1976, nous avions dénombré et isolé les levures pour identification et tenté d'en faire autant pour les bactéries lactiques, mais sans succès. En 1977, nous avons essayé de mener parallèlement avec le dénombrement et l'isolement des levures ceux des bactéries acétiques et lactiques en utilisant des milieux sélectifs solides en boîtes de Petri.

Les milieux utilisés ont été les suivants :

Pour l'isolement des levures : moût de raisin.

Pour l'isolement des bactéries : moût de raisin dilué, enrichi en extrait de levure, de pH 4,6, additionné d'inhibiteurs de levures (actidione : 50 mg/l dans le milieu liquide 0,25 mg/boîte de Petri ou pimaricine : 0,2 ml par boîte d'une solution à 25 mg dans 20 ml d'eau).

Pour différencier les bactéries acétiques des bactéries lactiques, le milieu « Bactéries » est additionné, dans les boîtes de Petri :

— soit de polymyxine (0,1 ml par boîte d'une solution à 50 mg dans 10 ml) pour éliminer les bactéries acétiques,

— soit de pénicilline (0,1 ml par boîte d'une solution à 25 mg dans 10 ml) pour éliminer les bactéries lactiques.

Les boîtes de Petri destinées au développement des bactéries lactiques sont ensuite mises à incuber à l'abri de l'air, dans des bocaux de conserve recevant avant fermeture un peu d'azote liquide destiné, en se vaporisant, à chasser l'air ; enfin, pendant les premiers jours de la fermentation avant qu'elle soit en pleine activité, on ajoute dans toutes les boîtes de Petri un peu de diphényle (0,2 ml par boîte d'une solution alcoolique à 750 mg pour 100 ml) pour inhiber le développement des moisissures.

Pour les premiers prélèvements, les dilutions ont été faibles : 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} pour les trois sortes de microorganismes étudiés.

Après la fin de la fermentation, les produits formés sont dosés par les méthodes chimiques classiques ; les substances volatiles sont dosées, comme en 1975 et 1976, par chromatographie en phase gazeuse.

3) Enfin, après le prélèvement de 30 baies broyées en mixer stérile, nous disposions d'un échantillon de raisins (1 kg environ) pour chaque substance. Au bout d'un mois ces échantillons conservés congelés ont été repris, décongelés, éraflés, écrasés grossièrement et mis à fermenter avec leurs pellicules dans des erlens munis de bouchons à barboteurs. Les fermentations ont été suivies par pesée du CO_2 dégagé.

RESULTATS

A. — BACTERIES ACETIQUES.

Il a été très difficile de dénombrer les bactéries acétiques. En effet, les germes qui se trouvent à la surface de la gélose des boîtes de Petri se multiplient rapidement et forment des colonies faciles à reconnaître et à compter ; par contre, les cellules situées à l'intérieur de la gélose n'y trouvent pas un milieu suffisamment aérobie et se multiplient très lentement sous forme de minuscules colonies à peine visibles et souvent innombrables. Les dilutions effectuées ne donnent pas des résultats proportionnels, donc valables.

D'autre part, dès que la fermentation est en pleine activité, il a été impossible d'isoler des bactéries acétiques, même en réduisant le nombre des dilutions par rapport à celui qui est nécessaire pour les levures.

Par contre, dans l'essai II, les fermentations ont été si difficiles, au point de s'arrêter avant la disparition totale du sucre, que les bactéries acétiques ont toujours été présentes et actives (tableau X).

B. — BACTERIES LACTIQUES.

Pour isoler les bactéries lactiques, nous avons employé un milieu de culture contenant à la fois un inhibiteur des moisissures (diphényle), des inhibiteurs des levures (actidione et pimaricine) et un inhibiteur des bactéries acétiques (polymyxine). De plus, pour que ces germes soient dans les conditions microaérophiles qui leur conviennent le mieux, les boîtes de Petri ont été mises à incuber sous atmosphère d'azote.

Malgré toutes ces précautions, les bactéries Gram négatives étaient encore présentes dans certaines boîtes de Petri ; aussi a-t-il fallu vérifier l'identité des bactéries lactiques au moyen de la coloration de Gram.

Enfin, malgré l'actidione et la pimaricine, certaines cultures de bactéries Gram positives ont été contaminées par des levures non fermentatives

à cellules parfaitement rondes. Dans la première culture, ces levures, passent inaperçues en raison de leur petit nombre, mais se développent beaucoup plus rapidement ensuite. Elles se développent mal dans le moût de raisin, mais le font beaucoup mieux dans le milieu de culture des bactéries (additionné d'extrait de levure et de pH plus élevé). En raison de ces difficultés de croissance, on n' a pu identifier ces levures qui ne forment pas de voile, mais pourraient appartenir au genre *Candida.*

Compte-tenu des erreurs possibles lors du dénombrement des colonies dont l'identification de chacune ne peut pas être systématiquement contrôlée, les résultats de la numération des bactéries lactiques (tableau II) sont probablement entachés d'erreurs par excès. Après repiquage des colonies et contrôle des cultures, coloration de Gram, examen microscopique, vérification de l'absence d'oxydation de l'éthanol en acide acétique (dissolvant $CaCO_3$), nous avons obtenu dans l'essai I, 38 souches et dans l'essai II, 31 souches de bactéries Gram positives caractérisées comme « bactéries lactiques ».

La plupart de ces souches sont constituées de petits coques groupés par deux, ou en chaînettes plus ou moins longues ; 24 d'entre elles ont été identifiées (LUCMARET, 1978) selon la répartition reproduite dans les tableaux III et IV. En raison des difficultés de culture, de purification et de survie de ces bactéries lactiques, le nombre de souches identifiées ne représente que le dixième environ des colonies isolées (235). On peut cependant observer la rareté des lactobacilles connus pour leurs exigences nutritionnelles.

La majorité de ces bactéries lactiques a été isolée dans les échantillons de raisins traités : le témoin de l'essai I n'a fourni aucune culture et deux souches seulement ont pu être identifiées dans celui de l'essai II *(Leuconostoc oinos).*

Enfin, les souches identifiées ont été prélevées seulement à la fin de la fermentation alcoolique (entre le 13e et le 26e jour), période pendant laquelle il y a eu une multiplication notable des bactéries lactiques. Leur action s'est d'ailleurs manifestée par une dégradation malolactique ainsi qu'en témoigne l'analyse chimique des vins obtenus avec les échantillons de **Sumisclex** et **Ronilan**, et à un moindre degré avec celui d'**Euparène.** Les pesticides utilisés ne semblent donc pas avoir d'action néfaste sur les bactéries lactiques, du moins vers la fin de la fermentation alcoolique.

C. — LEVURES

I. — **Numération**

a) *Essai I*

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau V et illustrés par la figure 1.

TABLEAU II

Numération et identification des bactéries lactiques isolées sur des raisins traités par divers fongicides et au cours de la fermentation alcoolique des jus correspondants.

[Les résultats expriment, d'une part le nombre de bactéries par millilitre de jus, d'autre part le nombre de colonies isolées en vue de l'identification (col.)].

	Traitements	Raisins	Nombre de jours de fermentation du jus								
			1	3	6	8	10	13	17	23	26
ESSAI I	Témoin	410 6 col.	200 6 col.	200 2 col.	< 100 0	< 10 0	< 10 0	< 10 0	< 10 0	< 100 0	< 100 0
	Sumisclex (1,5 kg/ha	400 6 col.	1 000 6 col.	300 3 col.	< 100 0	< 10 0	< 10 0	1 000 6 col.	60 000 6 col.	200 2 col.	< 100 0
	Sumisclex (2 kg/ha)	14 000 6 col.	1 000 3 col.	900 5 col.	< 100 0	< 10 0	< 10 0	400 6 col.	24 000 6 col.	6 400 000 0	< 100 0
	Ronilan	30 4 col.	600 6 col.	500 5 col.	< 100 0	< 10 0	< 10 0	100 6 col.	3 700 6 col.	90 000 6 col.	280 000 6 col.
	Euparène	< 10 0	400 6 col.	1 000 6 col.	800 0	< 10 0	< 10 0	10 1 col.	80 1 col.	200 2 col.	4 000 6 col.
		Raisins	1		5			12	15	20	25
ESSAI II	Témoin + **Cuprosan**	300 6 col.	10 6 col.		< 100 0			16 000 6 col.	* 3 col.	* 6 col.	120 000 4 col.
	Cuprosan + **Mycodifol**	100 1 col.	20 6 col.		1 800 6 col.			7 400 6 col.	800 000 6 col.	8 000 4 col.	1 400 000 6 col.
	Mycodifol + **Mycodifol**	< 10 0	10 6 col.		2 400 6 col.			2 800 0	* 0	* 0	* 2 col.
	Cuprosan + **Euparène**	< 10 0	10 6 col.		1 500 6 col.			10 000 6 col.	100 000 6 col.	16 000 6 col.	1 200 000 6 col.

TABLEAU III

Isolement et identification des bactéries au cours de la fermentation alcoolique des jus de raisins traités par divers fongicides

[Les résultats expriment d'une part le nombre de colonies isolées (col.), d'autre part le nombre de souches identifiés (→ ...)].

Traitements	Raisins	Nombre de jours de fermentation du jus						
		1 à 3	6 à 10	13	17	23	26	
Témoin	6 col. → 0	8 col. → 0	0 col.	0 col.	0 col.	0 col.	0 col.	
Sumisclex 1,5	6 col. → 0	9 col. → 0	0 col.	6 col. → 2 *Lact. fructivorans*, 1 *Leuc. oinos*	6 col. → 0	2 col. → 0	0 col.	
Sumisclex 2	6 col. → 0	4 col. → 0	0 col.	6 col. → 1 *Lact. fructivorans*, 1 *Leuc. oinos*, 1 *Leuc. gracile*	6 col. → 1 *Leuc. gracile*	0 col.	0 col.	
Vinchlozoline	4 col. → 0	8 col. → 0	0 col.	6 col. → 2 *Lact. desidiosus*	6 col. → 1 *Lact. desidiosus*, 1 *Leuc. oinos*	6 col. → 0	6 col. → 0	
Euparène	0 col.	6 col. → 0	0 col.	1 col. → 0	1 col. → 0	2 col. → 1 *Leuc. oinos*	6 col. → 1 *Leuc. oinos*	
Total	22 col. → 0	35 col. → 0	0 col.	19 col. → 8 bact. identifiées	19 col. → 3 bact. identifieés	10 col. → 1 bact. identifiée	12 col. → 1 bact. identifiée	
	Raisins	1 à 12		15	20	25		
Témoin + **Mycodifol**	6 col. → 0	12 col. → 0		3 col. → 1 *Leuc. oinos*	6 col. → 0	4 col. → 1 *Leuc. oinos*		
Cuprosan + **Mycodifol**	1 col. → 0	18 col. → 0		6 col. → 0	6 col. → 0	6 col. → 3 *Leuc. oinos*		
Mycodifol + **Mycodifol**	0 col.	12 col. → 0		0 col.	0 col.	2 col. → 1 *Leuc. gracile*		
Cuprosan + **Mycodifol**	0 col.	18 col. → 0		6 col. → 0	6 col. → 1 *Leuc. oinos*	6 col. → 2 *Lact. desidiosus*, 2 *Leuc. oinos*		
Total	7 col. → 0	60 col. → 0		15 col. → 1 bact. identifiée	18 col. → 1 bact. identifiée	18 col. → 9 bact. identifiées		
Total général	29 col. → 0	95 col.	→ 0	34 col. → 9 bact. identifiées				
	124 col. → 0			70 col. → 19 bact. identifiées				

TABLEAU IV

Identification des souches de bactéries lactiques isolées au cours de la fermentation alcoolique de jus de raisins traités par divers fongicides

	Traitements	Nombre de jours de fermentation des jus				
		13	17	23	26	Total
ESSAI I	**Sumisclex** (1,5 kg/ha)	2 *Lact. fructivorans* 1 *Leuc. oinos*				3 *Lact. fructivorans* (23 p. 100) 3 *Lact. desidiosus* (23 p. 100) 5 *Leuc. oinos* (38 p. 100) 2 *Leuc. gracile* (15 p. 100)
	Sumisclex (2 kg/ha)	1 *Lact. fructivorans* 1 *Leuc. oinos* 1 *Leuc. gracile*	1 *Leuc. gracile*			
	Ronilan	1 *Lact. desidiosus*	1 *Lact. desidiosus* 1 *Leuc. oinos*			
	Euparène			1 *Leuc. oinos*	1 *Leuc. oinos*	Total = 13 souches
		15	20	25		Total
ESSAI II	Témoin + **Cuprosan**	1 *Leuc. oinos*		1 *Leuc. oinos*		2 *Lact. desidiosus* (18 p. 100) 8 *Leuc. oinos* (72 p. 100) 1 *Leuc. gracile* (9 p. 100)
	Cuprosan + **Mycodifol**			3 *Leuc. oinos*		
	Mycodifol + **Mycodifol**			1 *Leuc. gracile*		
	Cuprosan + **Euparène**		1 *Leuc. oinos*	2 *Lact. desidiosus* 2 *Leuc. oinos*		Total = 11 souches

TABLEAU V

Numération des levures présentes sur les raisins traités par divers fongicides et au cours de la fermentation alcoolique des jus correspondants — Essai I

Traitements	Raisins	Nombre de jours de fermentation du jus											
		1	2	3	4	5	6	8	10	13	17	23	26
Témoin	55×10^3	15×10^2	40×10^4	$4{,}3 \times 10^5$	28×10^6	70×10^6	70×10^6	40×10^6	44×10^5	54×10^4	20×10^4	50×10^4	50×10^4
Sumisclex (1,5 kg/ha)	5×10^3	30×10^2	16×10^4	1×10^5	60×10^6	55×10^6	30×10^6	9×10^6	3×10^5	12×10^4	4×10^4	4×10^4	15×10^4
Sumisclex (2 kg/ha)	40×10^3	12×10^2	9×10^4	$1{,}6 \times 10^4$	40×10^6	38×10^6	37×10^6	22×10^6	57×10^5	20×10^4	10×10^4	8×10^4	4×10^4
Ronilan	6×10^3	10×10^2	$2{,}4 \times 10^4$	4×10^3	40×10^6	53×10^6	40×10^6	35×10^6	55×10^5	32×10^4	10×10^4	12×10^4	18×10^4
Euparène	3×10^3	4×10^2	4×10^4	?	25×10^6	40×10^6	65×10^6	53×10^6	9×10^5	10×10^4	10×10^4	17×10^4	13×10^4

On observe que sur les raisins, la population des levures vivantes est de l'ordre de 10^3, sauf dans le témoin et en présence de **Sumisclex** à la dose supérieure (2 kg par ha) où elle atteint 10^4.

Au départ de l'essai, dans les jus sommairement décantés, les populations vivantes sont de l'ordre de 10^3 dans tous les échantillons, sauf pour l'**Euparène** (10^2).

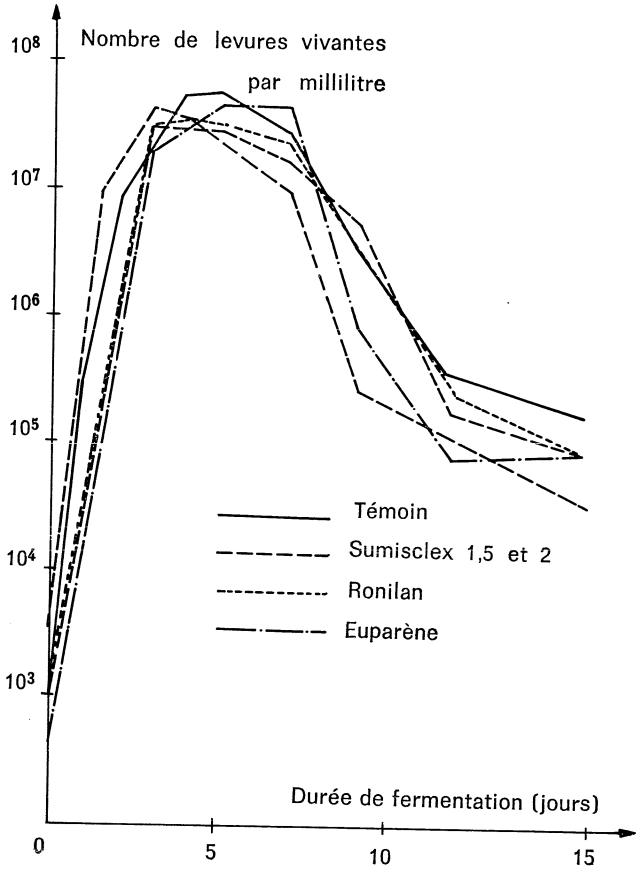


Fig. 1. — Influence de quelques fongicides reçus par des raisins sur le nombre de levures vivantes au cours de la fermentatioon alcoolique des jus correspondants.

Au quatrième jour, dans tous les échantillons, la population atteint 10^7, même en présence d'**Euparène.**

Après le cinquième jour, la population vivante décroît rapidement. A partir du 17e jour, la remise en suspension des amas de levures sédimentés au fond des bouteilles devient difficile. Les nombres de levures vivantes subissent des fluctuations irrégulières qui ne permettent pas la prolongation des courbes.

b) *Essai II*

Les résultats des numérations de levures au cours de la fermentation sont réunis dans le tableau VI.

Il faut noter le très faible ensemencement des raisins sauf dans le témoin qui a une population nettement plus nombreuse que dans l'essai I.

TABLEAU VI

Numération des levures présentes sur les raisins traités par divers fongicides et au cours de la fermentation alcoolique des jus correspondants — Essai II

Traitements	Raisins	Nombre de jours de fermentation du jus					
		1	5	12	15	20	25
Témoin + **Cuprosan**	34×10^4	1170	17×10^6	< 1000	170	4	—
Cuprosan + **Mycodifol**	< 10	8	2000	< 1000	—	—	—
Mycodifol + **Mycodifol**	< 10	10	4600	< 1000	—	—	—
Cuprosan + **Euparène**	< 10	11	*	15×10^6	9×10^6	3×10^5	6×10^4

Par la suite, le jus témoin a fermenté rapidement avec, au cinquième jour, un nombre assez élevé de levures vivantes (10^6) mais qui a décru très rapidement.

Au contraire, l'échantillon **Euparène** n'a atteint qu'au douzième jour sa population maximum (10^6) qui restait encore élevée au vingt-cinquième jour (10^4).

II. — **Courbes de fermentation**

a) *Essai I*

a^1) — **Jus**

Les courbes de fermentation établies à partir des pertes de poids par dégagement de CO_2, sont présentées dans la figure 2 : les fermentations des cinq échantillons sont très comparables. Seul l'échantillon **Euparène** avait un léger retard de deux jours sur le témoin, mais par la suite, il fermente aussi bien.

a^2) — **Bourbes**

Les lies séparées du jus clair au début de l'essai n'ont pas été éliminées, mais mises à fermenter de la même façon que les jus dans des erlens munis de bouchons à barboteurs. Les pertes de CO_2 ont été contrô-

lées régulièrement par pesée, et ont permis de tracer les courbes de fermentation de la figure 3.

Ces courbes sont très différentes de celles des jus. Le témoin a fermenté très vite et totalement. Le **Ronilan** et les **Sumisclex** se sont arrêtés à la moitié environ du sucre fermenté dans le témoin ; l'échantillon **Euparène** n'a commencé à fermenter qu'au quinzième jour et s'est arrêté au vingtième jour.

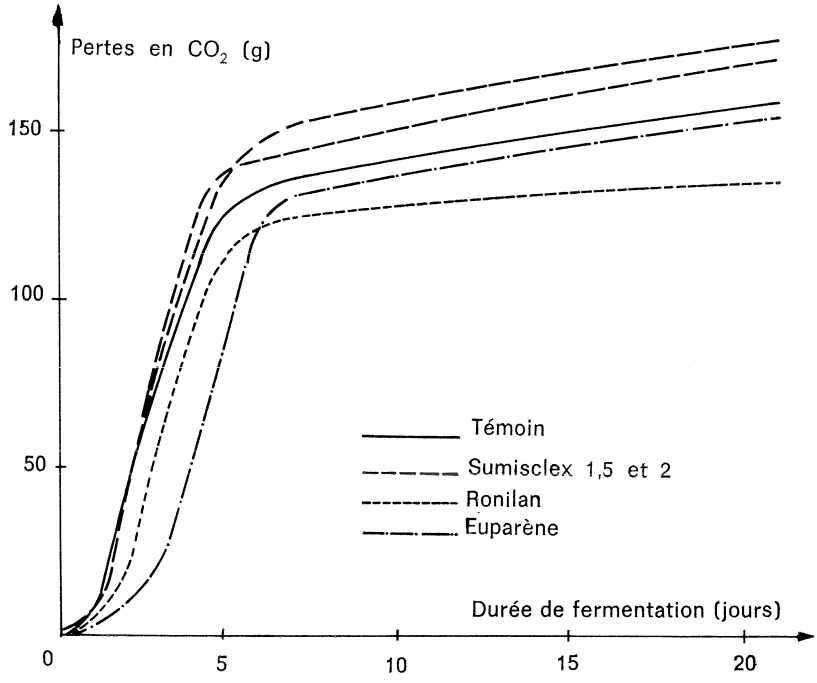


Fig. 2. — Influence de quelques fongicides reçus par les raisins sur la fermentation alcoolique des jus correspondants (Essai I, région Graves-de-Vayres).

Cette fraction des échantillons issus de raisins traités par des fongicides a donc été très nettement affectée par les résidus des produits de traitement.

A un été froid et pluvieux a succédé une période ensoleillée et sèche qui a commencé lors du dernier traitement appliqué à la vigne. Il est vraisemblable que les produits sont restés à peu près intégralement sur les raisins. Après pressurage, ils se sont trouvés concentrés dans les bourbes. Habituellement, cette fraction riche en levures fermente facilement ; cette année, au contraire, elle était très peu fermentescible en raison des doses élevées de fongicides qui s'y trouvaient concentrées, alors que les jus fermentaient très normalement.

a[3]) — **Vinifications en présence des pellicules.**

Les fermentations ont débuté dans les trois jours, sauf pour l'échantillon **Euparène** qui a eu environ quatre jours de retard (fig. 4) mais a rejoint le témoin et l'échantillon **Ronilan** au treizième jour. Les échantillons **Sumisclex** encadrent ces trois fermentations.

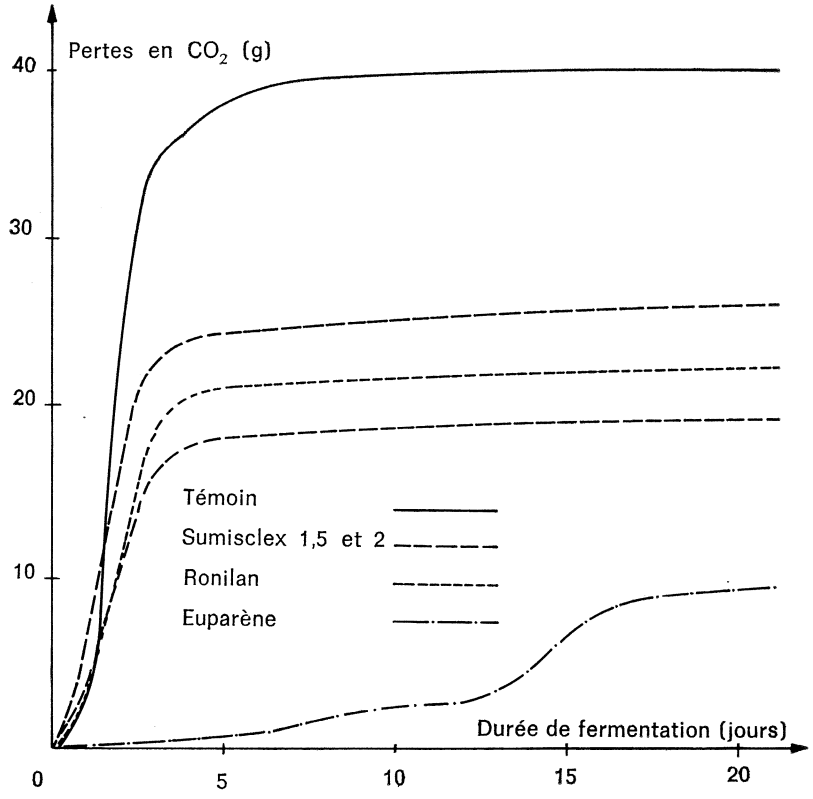


Fig. 3. — Influence de quelques fongicides reçus par les raisins sur la fermentation alcoolique des jus de bourbes correspondants (Essai I, région Graves-de-Vayres).

La comparaison des figures 2, 3, 4 montre que les doses résiduelles de fongicides n'ont d'effet inhibiteur sur les fermentations qu'à la concentration maximum enregistrée dans les bourbes ; dans le mélange jus + pellicules, seul l'effet retard de l'**Euparène** a pu être constaté tandis que dans les jus il était à peine sensible.

b) *Essai II*

b[4]) — **Jus** (fig. 5)

Les courbes de fermentation montrent que l'échantillon témoin traité seulement par le **Cuprosan** a une fermentation rapide qui se déclare dès le troisième jour. L'échantillon **Cuprosan** + **Euparène** subit un retard de

5 jours mais dès le douzième jour la fermentation est à peu près terminée.

Par contre, pour les échantillons **Mycodifol** + **Mycodifol** et **Cuprosan** + **Mycodifol,** les courbes observées ne sont pas des courbes de fermentation.

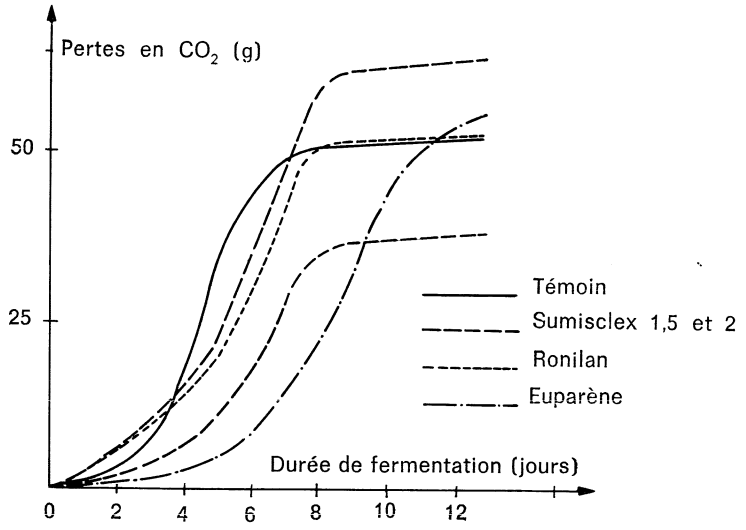


Fig. 4. — Influence de quelques fongicides reçus par les raisins sur la fermentation alcoolique des jus correspondants en présence des pellicules (Essai I, région Graves-de-Vayres).

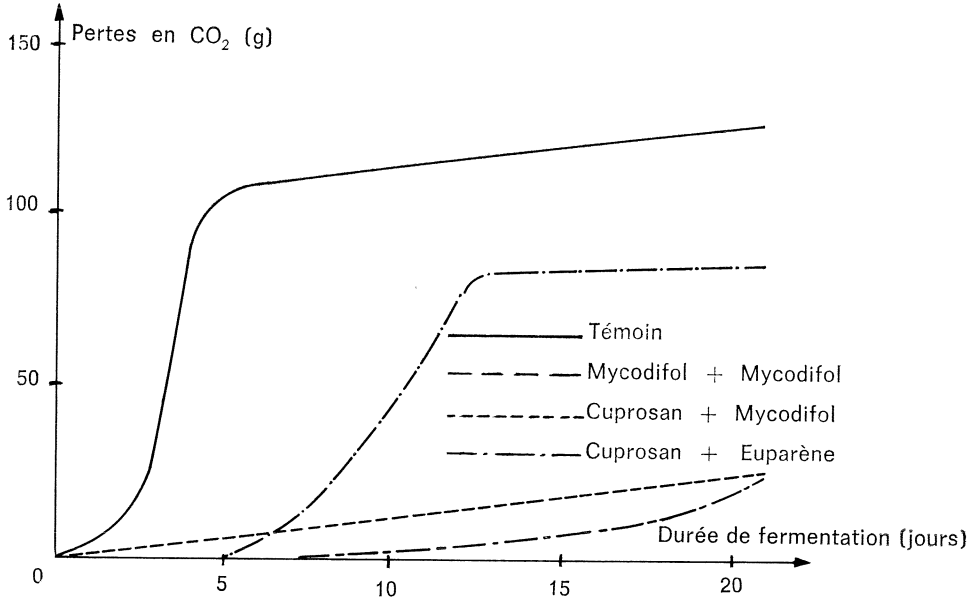


Fig. 5. — Influence de quelques fongicides reçus par les raisins sur la fermentation alcoolique des jus correspondants (Essai II, région Entre-deux-Mers).

b²) — **Bourbes**

Avec les bourbes (fig. 6) de l'essai II, le phénomène est encore plus net que dans l'essai I ; seul le témoin avec **Cuprosan** a fermenté (en 5 jours). L'échantillon **Cuprosan** + **Euparène** présente à partir du dixième jour une perte de poids lente et progressive, tandis que les deux autres échantillons gardent un poids constant.

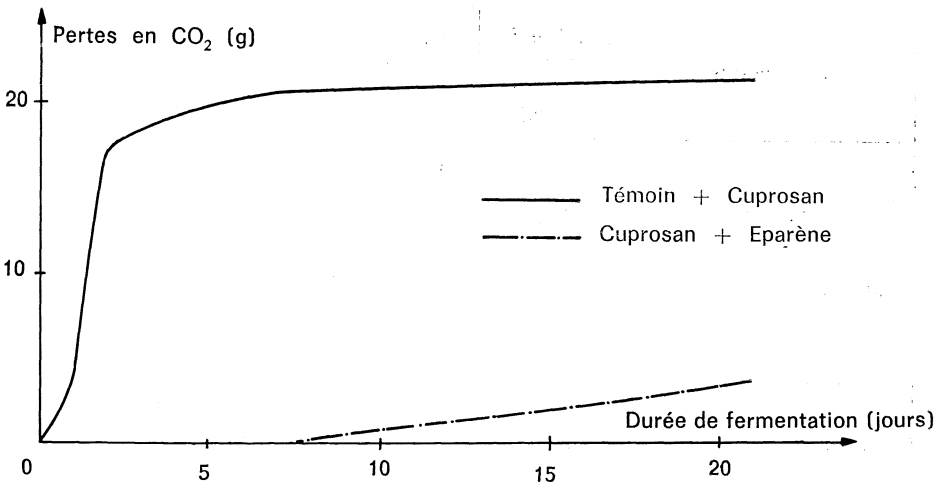


Fig. 6. — Influence de quelques fongicides reçus par les raisins sur la fermentation alcoolique des jus de bourbes correspondants (Essai II, région Entre-deux-Mers).

b³) — **Vinifications en présence des pellicules.**

La seule courbe qui aurait pu être tracée est celle de la fermentation du témoin + **Cuprosan**, les trois autres échantillons ayant un poids constant.

Les doses résiduelles des produits appliqués dans l'essai II sont soit plus élevées, soit plus inhibitrices que dans l'essai I. Dans ce dernier essai, et contrairement au premier, les levures sont plus sensibles au **Mycodifol** qu'à l'**Euparène.**

III. — **Identification des levures.**

1) Sur les raisins.

Nous avons rassemblé dans le même tableau (tableau VII) les résultats d'identification des souches de levures isolées sur les raisins au cours des deux essais par rapport aux nombres de levures vivantes et au nombre des souches isolées.

Dans l'essai I, sur 30 colonies isolées, 56 p. 100 des souches seulement ont pu être cultivées et identifiées et n'appartiennent qu'à deux genres, *Hanseniaspora uvarum* (40 p. 100) et *Metschnikowia pulcherrima* (16,5 p. 100), qui constituent la flore banale des raisins.

Dans l'essai II, en raison de la faible population présente sur les raisins traités (< 10 par ml) seul le témoin a permis d'isoler des colonies constituées à 100 p. 100 d'*Hanseniaspora uvarum.*

TABLEAU VII

Composition de la flore levurienne de raisins traités par divers fongicides.

Traitements	Nombre de levures vivantes par ml	Nombre de colonies isolées	Souches identifiées
	ESSAI I		
Témoin	55 000	6	3 *Hanseniaspora sp.*
Sumisclex (1,5 kg/ha)	5 000	6	1 *Hanseniaspora sp.* 4 *Metschnikowia pulcherrima*
Sumisclex (2 kg/ha)	40 000	6	3 *Hanseniaspora sp.* 1 *Metschnikowia pulcherrima*
Ronilan	6 000	6	3 *Hanseniaspora sp.*
Euparène	3 000	6	2 *Hanseniaspora sp.*
		30	12 *Hanseniaspora sp.* (40 p. 100) 5 *Metschnikowia pulcherrima (17 p. 100)*
	ESSAI II		
Témoin + **Cuprosan**	340 000	6	6 *Hanseniaspora sp.*
Cuprosan + **Mycodifol**	< 10	0	
Mycodifol + **Mycodifol**	< 10	0	
Cuprosan + **Mycodifol**	< 10	0	
		6	6 *Hanseniaspora sp.* (100 p. 100)

Aucune souche de *Rhodotorula* n'a été isolée en 1977 alors qu'en 1975, on en avait observé un grand nombre, surtout dans l'échantillon **Euparène.**

2) Sur le jus.

Cette partie de l'expérimentation a été conduite de la même manière qu'en 1976 : chaque prélèvement a donné lieu à l'isolement de 6 colonies par boîte de Petri pour chacun des échantillons ; le nombre des prélèvements a été de douze entre le 1er et le 28e jour pour l'essai I, de six seulement entre le 1er et le 25e jour pour l'essai II.

Cependant, en début de fermentation, les 6 colonies isolées n'ont pas toujours donné 6 cultures dont l'étude a pu aller jusqu'à l'identification : certaines ne se sont pas développées tandis que d'autres n'étaient pas fermentatives.

Il existe ainsi quelques irrégularités entre les échantillons ; cependant, 336 souches ont été isolées dans l'essai I et 95 dans l'essai II. Leur identification a été conduite selon les méthodes de LODDER ; pour les genres de levures d'importance œnologique limitée, la caractérisation n'a pas été poussée jusqu'à la détermination de l'espèce (*Hanseniaspora, Pichia* et même quelques *Saccharomyces* isolés en petit nombre).

a) *Essai I*

Le tableau VIIIa donne les résultats détaillés de l'identification des 336 souches isolées au cours des 28 jours de fermentation. Le tableau VIIIb met en évidence les proportions relatives des organismes qui participent aux fermentations.

Quelques remarques peuvent être faites sur les points particuliers suivants :

— Nombre des cultures identifiées.

Sur l'ensemble des cinq échantillons trente colonies ont été isolées chaque jour pour identification ; les deux premiers jours cependant 13 et 18 colonies seulement (soit 46 p. 100 et 60 p. 100) ont été identifiées, car aucune colonie n'a été obtenue le deuxième jour dans l'échantillon témoin et dans l'échantillon **Sumisclex** 2 kg par ha.

— Composition de la flore pendant les deux premiers jours de la fermentation alcoolique.

Les levures identifiées au début de la fermentation alcoolique sont des levures peu ou pas fermentatives, qui forment des voiles : *Pichia sp., Hansenula sp., Candida.* Le deuxième jour apparaissent des levures fermentatives : *Hanseniaspora uvarum* et *Torulopsis bacillaris ;* cependant la fréquence de cette dernière par rapport aux souches identifiées (10 p. 100) est nettement inférieure à celle qui avait été observée en 1976 (25 p. 100) et en 1974 (14 p. 100).

— Evolution de *Hanseniaspora uvarum* et *Saccharomyces cerevisiae.*

Hanseniaspora uvarum apparaît dès le deuxième jour dans trois échantillons **Sumisclex** (1,5 kg par ha), **Ronilan, Euparène,** est présent le

TABLEAU VIII a

Identification des levures assurant la fermentation alcoolique des jus de raisins traités par divers fongicides — Essai I

Traitements	Raisins	Nombre de jours de fermentation du jus											
		1	2	3	4	5	6	8	11	14	18	24	28
Témoin	3 *H'spora sp.*	1 *C. vini* 3 *H. anomala* 1 *P. ferment.*		2 *H'spora sp.* 4 *S. cerevisiae*	1 *H'spora sp.* 4 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri*	6 *S. cerevisiae*	4 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri* 1 *S. bayanus*	2 *S. cerevisiae* 4 *S. bayanus*	1 *S. chevalieri*
Sumisclex (1,5 kg/ha)	1 *H'spora sp.* 4 *M. pulch.*	2 *Pichia sp.* 1 Non ferm.	2 *H'spora sp.* 1 *Pichia sp.* 3 *T. bacill.*	2 *H'spora sp.* 3 *S. cerevisiae* 1 *S. sp.*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. bayanus*	6 *S. bayanus*	6 *S. bayanus*	2 *S. bayanus* 4 *S. rosei (?)*
Sumisclex (2 kg/ha)	3 *H'spora sp.* 1 *M. pulch.*	1 *Pichia sp.*		4 *H'spora sp.* 1 *S. cerevisiae* 1 *S. sp.*	6 *S. cerevisiae*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri*	6 *S. cerevisiae*	4 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri* 1 *S. bayanus*	1 *S. rosei (?)* 5 *S. bayanus*	4 *S. rosei (?)* 2 *S. bayanus*
Ronilan	3 *H'spora sp.*	1 *M. pulch.* 1 *Pichia sp* 1 *C. vini*	4 *H'spora sp* 1 *C. vini* 1 *S. sp. (?)*	2 *H'spora sp.* 1 *T. bacill.* 2 *S. cerevisiae* 1 *S. sp.*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. bayanus*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri*	3 *S. cerevisiae* 3 *S. bayanus*
Euparène	2 *H'spora sp.*	1 *C. vini*	5 *H'spora sp.* 1 *C. vini*	2 *H'spora sp.* 1 *Pichia sp.* 1 *T. bacill.*	1 *H'spora sp.*	1 *H'spora sp.* 5 *S. cerevisiae*	7 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri*	6 *S. cerevisiae*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri*
Total	12 *H'spora sp.* 5 *M. pulch.*	1 *M. pulch.* 3 *C. vini* 5 *Pichia sp.* 3 *H. anomala* 1 Non ferm.	11 *H'spora sp.* 1 *Pichia sp.* 2 *C. vini* 3 *T. bacill.* 1 *S. sp (?)*	12 *H'spora sp.* 1 *Pichia sp.* 2 *T. bacill.* 3 *S. sp. (?)* 10 *S. cerevisiae*	2 *H'spora sp.* 21 *S. cerevisiae* 2 *S. chevalieri*	1 *H'spora sp.* 27 *S. cerevisiae* 2 *S. chevalieri*	31 *S. cerevisiae*	29 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri*	28 *S. cerevisiae* 2 *S. chevalieri*	29 *S. cerevisiae* 1 *S. bayanus*	18 *S. cerevisiae* 3 *S. chevalieri* 9 *S. bayanus*	13 *S. cerevisiae* 1 *S. chevalieri* 15 *S. bayanus* 1 *S. rosei (?)*	8 *S. cerevisiae* 2 *S. chevalieri* 7 *S. bayanus* 8 *S. rosei (?)*
Nombre de souches identifiées par rapport au nombre de souches isolées	17/30	13/30	18/30	28/30	25/30	30/30	31/31	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	25/30

troisième jour dans tous les échantillons, disparaît dès le quatrième jour en présence de **Sumisclex** et de **Ronilan** et se maintient encore le cinquième jour en présence d'**Euparène.**

Par contre *Saccharomyces cerevisiae* a été trouvé dès le troisième jour dans tous les échantillons sauf dans l'**Euparène** où il n'apparaît que le cinquième jour.

— Apparition des autres espèces de *Saccharomyces.*

On note la présence de *Saccharomyces chevalieri* tout au long des fermentations, du 4e au 28e jour, pratiquement dans tous les échantillons mais en petit nombre.

Saccharomyces bayanus apparaît le quatorzième jour, seulement dans l'échantillon **Sumisclex** 1,5 kg par ha ; il se maintient dans quatre échantillons du dix-huitième au vingt-huitième jour, mais est totalement absent de l'échantillon **Euparène** tout au long des vingt-huit jours de sa fermentation. Le taux maximum de sa présence se place le vingt-quatrième jour où il représente 50 p. 100 des souches isolées. L'effet observé en 1976 en présence de **Ronilan** ne s'est pas renouvelé (5 p. 100 au lieu de 29 p. 100). En 1977, c'est avec le **Sumisclex** 1,5 kg par ha que la proportion de *Saccharomyces bayanus* observée est la plus élevée (20 p. 100).

— Importance des *Saccharomyces cerevisiae* et des *Saccharomyces sp.* dans les fermentations (tableau VIIIb).

Sur les 78 colonies isolées pour chaque échantillon, le nombre des souches identifiées varie de 63 à 74 ce qui implique des différences non négligeables entre certains d'entre eux.

Le taux de *Hanseniaspora uvarum* varie de 6,7 à 12,7 p. 100 dans quatre échantillons ; le taux maximum (17,5 p. 100) est observé dans l'échantillon **Euparène** comme en 1975.

La proportion globale des *Saccharomyces sp.* varie de 76 à 85 p. 100, le taux le plus faible étant observé à la fois pour **Euparène** et **Sumisclex** 1,5 kg par ha. On n'a donc pas observé en 1977 le déficit net en *Saccharomyces sp.* qui, en présence d'**Euparène**, avait retenu l'attention en 1975 (57 p. 100). Cependant pour le **Ronilan**, le taux de *Saccharomyces sp.* est resté constant en 1976 et 1977 (79 p. 100).

A l'intérieur du groupe *Saccharomyces sp., Saccharomyces cerevisiae* occupe une place prépondérante, 51 à 73 p. 100 selon les échantillons ; or, ce taux maximum de 73 p. 100 est observé dans l'échantillon **Euparène** dont la flore serait comme simplifiée et ne comporterait que les espèces principales, *Hanseniaspora sp.* et *Saccharomyces cerevisiae* représentant à elles seules 90 p. 100 de la flore isolée.

Après *Saccharomyces cerevisiae,* c'est *Saccharomyces bayanus* qui, avec 31 souches soit 9 p. 100 de la flore, occupe la deuxième place parmi

TABLEAU VIII b

Composition générale de la microflore levurienne assurant la fermentation alcoolique des jus de raisins traités par divers fongicides — Essai I

Traitements	Nombre de souches autres que *Saccharomyces*	Nombre de *Saccharomyces sp.*	p. 100
Témoin 63 souches identifiées	6 *Hanseniaspora sp.* 1 *Candida vini* 3 *Hansenula anomala* 1 *Pichia sp.*	42 *Sacch. cerevisiae* 5 *Sacch. chevalieri* 5 *Sacch. bayanus*	9,5 67 7,9 7,9 } 82,8
Sumisclex (1,5 kg/ha) 74 souches identifiées	5 *Hanseniaspora sp.* 3 *Pichia sp.* 3 *Torulopsis bacillaris* 4 *Metschnikowia pulch.* 1 Non fermentative	38 *Sacch. cerevisiae* 15 *Sacch. bayanus* 4 *Sacch. rosei* 1 *Sacch. sp.*	16,7 51 20 5 } 76
Sumisclex (2 kg/ha) 65 souches identifiées	7 *Hanseniaspora sp.* 1 *Pichia sp.* 1 *Metschnikowia pulch.*	39 *Sacch. cerevisiae* 3 *Sacch. chevalieri* 8 *Sacch. bayanus* 6 *Sacch. rosei (?)*	10,8 60 4,6 12,4 9,2 } 85
Ronilan 71 souches identifiées	9 *Hanseniaspora sp.* 1 *Pichia sp.* 1 *Metschnikowia pulch.* 2 *Candida vini* 2 *Sacch. sp.*	49 *Sacch. cerevisiae* 3 *Sacch. chevalieri* 4 *Sacch. bayanus*	12,7 69 4,2 5,6 } 78,8
Euparène 63 souches identifiées	11 *Hanseniaspora sp.* 1 *Pichia sp.* 1 *Torulopsis bacillaris* 2 *Candida vini*	46 *Sacch. cerevisiae* 2 *Sacch. chevalieri*	17,5 73 3,2 } 76
Total 336 souches identifiées	38 *Hanseniaspora sp.* 6 *Metschnikowia pulch.* 5 *Candida vini* 7 *Pichia sp.* 3 *Hansenula anomala* 4 *Torulopsis bacillaris* 3 (?) 1 Non fermentative	214 *Sacch. cerevisiae* 13 *Sacch. chevalieri* 31 *Sacch. bayanus* 10 *Sacch. rosei (?)*	11,3 63,5 3,9 9,2 3,3 } 79,9

les *Saccharomyces sp. Saccharomyces bayanus,* totalement absent en présence d'**Euparène,** atteint 20 p. 100 en présence de **Sumisclex** 1,5 kg par ha et seulement 5,6 p. 100 en présence de **Ronilan ;** ce résultat est très différent de celui observé en 1976 (29 p. 100).

Ensuite, vient *Saccharomyces chevalieri* (3,9 p. 100) que l'on retrouve partout, en petites quantités, tout au long de la fermentation.

Enfin, on a trouvé 11 souches de *Saccharomyces sp.* à cellules plutôt rondes fermentant le glucose, le saccharose et le raffinose ; après étude plus approfondie, on les a identifiées à *Saccharomyces rosei.* Elles n'ont été observées qu'en présence de **Sumisclex** et surtout à la fin de la fermentation.

Malgré le nombre élevé de souches de levures et de substances étudié en 1977, les conditions météorologiques, très différentes de celles de 1976 et de 1975, ont probablement influé à nouveau sur la composition de la microflore et rendent la comparaison des résultats difficile à interpréter : trois années d'expérimentation sont encore insuffisantes pour rencontrer deux fois des conditions météorologiques identiques. Alors qu'en 1976 le **Ronilan** avait sélectionné *Saccharomyces bayanus,* ce résultat est obtenu en 1977 avec la faible dose de **Sumisclex.**

b) *Essai II*

Les fermentations expérimentales conduites au laboratoire avec les jus de raisins de cet essai ont été très perturbées par les résidus de fongicides comme le montrent les courbes de fermentation. La composition de la flore s'est révélée tout à fait anormale.

En raison de la faiblesse du dégagement de CO_2 et de la lenteur de la fermentation, les prélèvements de levures ont été beaucoup plus espacés que dans l'essai I donc moins nombreux (6 au lieu de 12).

Une seule souche d'*Hanseniaspora uvarum* a été isolée, au 20^{e} jour dans l'échantillon **Cuprosan** + **Mycodifol** alors qu'aucune souche n'a été isolée dans l'échantillon **Cuprosan** (tableaux IXa et IXb).
Les levures non fermentatives ou peu fermentatives et à voile, sont représentées par *Candida vini* et *Pichia sp.*

On observe une prépondérance de *Torulopsis bacillaris* surtout dans les trois échantillons qui ont mal fermenté (15, 52 et 100 p. 100) ainsi que la présence inhabituelle de *Saccharomycodes ludwigii* dans le témoin (20 p. 100 de sa flore).

Saccharomyces cerevisiae ne représente que 28 p. 100 de la flore du témoin contre 70 p. 100 de celle de l'échantillon **Cuprosan** + **Euparène ;** il est totalement absent en présence de **Mycodifol.** Ces deux derniers échantillons, rappelons-le, n'ont subi qu'une fermentation incomplète laissant environ 80 g de sucre par litre ; le nombre de bactéries acétiques a paral-

lèlement augmenté ce qui s'est traduit par des acidités volatiles de 3,03 et 2,63 g d'acide sulfurique par litre.

Cependant, même l'échantillon **Cuprosan + Euparène,** qui a fermenté totalement grâce à une flore très riche en *Saccharomyces cerevisiae* qui a pris possession du milieu entre le 5e et le 12e jour, possède une acidité volatile élevée (1,5 g H_2SO_4 par litre) qui témoigne aussi de l'activité des batéries acétiques. Cette expérience a permis d'isoler et d'identifier 95 souches de levures, mais il serait vain d'apprécier la répartition globale de ces microorganismes puisque chaque échantillon s'est comporté de façon très anormale.

IV. — **Analyse des vins**

Comme au cours des années précédentes, après la fin des fermentations, les vins ont été analysés, les substances volatiles ayant été dosées par chromatographie en phase gazeuse.

Les résultats sont donnés dans les tableaux XI et XII. Les moûts d'origine, avant fermentation, ont également été analysés (tableau X).

1) *Analyse chimique*

a) *Essai I* (tableau XI)

Pour les cinq échantillons, les fermentations ont abouti à la disparition totale des sucres réducteurs ; le témoin, un peu plus riche en sucre que les autres, a atteint un degré alcoolique légèrement plus élevé.

Devant les importantes variations de l'acidité totale entre les cinq échantillons (variations qu'on n'avait pas observées en 1975 et 1976), on a vérifié la teneur en acide malique restant. Il est apparu alors que la fermentation malolactique s'était produite totalement dans les échantillons **Sumisclex** et **Ronilan,** partiellement dans l'échantillon **Euparène,** et pas du tout dans le témoin ce qui correspond aux résultats de numération et d'identification de bactéries lactiques.

Aucune bactérie lactique n'a pu être isolée pour identification dans l'échantillon témoin (tableau III) et peu en présence d'**Euparène,** alors que les souches qui ont été étudiées provenaient des échantillons **Sumisclex** et **Ronilan.**

b) *Essai II* (tableau XI)

Les quatre moûts d'origine étaient de compositions assez voisines, le témoin étant cette fois le moins riche en sucre. Au bout de 24 jours les fermentations étaient terminées dans le témoin et dans l'échantillon **Euparène,** mais laissaient au moins la moitié du sucre dans les deux autres échantillons.

Le degré alcoolique atteint par le témoin est un peu supérieur à celui de l'échantillon **Euparène.**

TABLEAU IX a

Identification des levures assurant la fermentation alcoolique des jus de raisins traités par divers fongicides — Essai II

Traitement	Raisins	Nombre de jours de fermentation du jus					
		1	5	12	15	20	25
Témoin + **Cuprosan**	6 *H'spora sp.*	1 *C. vini* 1 *T. bacillaris*	5 *S. cerevisiae* 1 *S. bayanus*	1 *S. cerevisiae*	2 *C. vini*	1 *S. cerevisiae* 2 *S. chevalieri*	5 *Saccharomycodes*
Cuprosan + Mycodifol		2 *Pichia sp.*	1 *T. bacillaris*	2 *T. bacillaris*	2 *C. vini* 4 *T. bacillaris*	1 *H'spora sp.* 1 *T. bacillaris* 2 *Pichia sp.*	3 *T. bacillaris* 3 *Pichia sp.*
Mycodifol + Mycodifol					4 *T. bacillaris*	6 *T. bacillaris*	6 *T. bacillaris*
Cuprosan + Euparène		5 *Pichia sp.* 1 *T. bacillaris*	3 *T. bacillaris*	1 *T. bacillaris* 5 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*	6 *S. cerevisiae*
Total	6 *H'spora sp.*	1 *C. vini* 7 *Pichia sp.* 2 *T. bacill.*	4 *T. bacillaris* 5 *S. cerevisiae* 1 *S. bayanus*	3 *T. bacillaris* 6 *S. cerevisiae*	4 *C. vini* 6 *S. cerevisiae* 8 *T. bacillaris*	1 *H'spora sp.* 7 *S. cerevisiae* 2 *S. chevalieri* 7 *T. bacillaris* 2 *Pichia sp.*	9 *T. bacillaris* 6 *S. cerevisiae* 5 *Saccharomycodes* 3 *Pichia sp.*
95 souches	6	10	10	9	18	19	23

TABLEAU IX b

Composition générale de la microflore levurienne assurant la fermentation alcoolique des jus de raisins traités par divers fongicides — Essai II

Traitement	Nombre de souches autres que *Saccharomyces*	Nombre de souches de *Saccharomyces sp.*	p. 100
Témoin + **Cuprosan** 25 souches identifiées	6 *Hanseniaspora sp.*		24
		7 *Sacch. cerevisiae*	28
		2 *Sacch. chevalieri*	8 (40)
		1 *Sacch. bayanus*	4
	3 *Candida vini*		
	1 *Torulopsis bacillaris*		4
	5 *Saccharomycodes ludwigii*		20
Cuprosan + **Mycodifol** 21 souches identifiées	1 *Hanseniaspora sp.*		4,7
	11 *Torulopsis bacillaris*		52
	7 *Pichia sp.*		33
	2 *Candida vini*		9,5
Mycodifol + **Mycodifol** 16 souches identifiées	16 *Torulopsis bacillaris*		100
Cuprosan + **Euparène** 33 souches identifiées	5 *Pichia sp.*		15
	5 *Torulopsis bacillaris*		15
		23 *Sacch. cerevisiae*	70

TABLEAU X

Composition des moûts provenant de raisins traités par divers fongicides et des vins correspondants (vins issus de la seule fermentation du jus)

	Traitements	MOUTS			VINS				
		Sucre (g/l)	Acidité totale (g H_2So_4/l)	Acidité volatile (g H_2So_4/l)	Degré alcoolique acquis (°GL)	Acidité totale (g H_2So_4/l)	Acidité volatile (g H_2So_4/l)	Sucres résiduels (g/l)	Acide malique (g/l)
ESSAI I	Témoin	172	5,78	0,7	10,15	5,29	0,15	< 1	> 4
	Sumisclex 1,5 kg/ha	165	5,39	0,4	9,79	3,72	0,31	< 1	0
	Sumisclex 2 kg/ha	164	5,59	0,4	9,58	3,63	0,28	< 1	0
	Ronilan	161	5,38	0,4	9,67	3,82	0,24	< 1	0
	Euparène	162	5,68	0	9,33	4,51	0,15	< 1	2,5
ESSAI II	Témoin + **Cuprosan**	135	5,10	0	7,96	3,14	0,55	< 1	—
	Cuprosan + **Mycodifol**	148	5,68	0	2,80	7,55	3,03	76	—
	Mycodifol + **Mycodifol**	147	5,59	0	2,30	10,19	2,63	84	—
	Cuprosan + **Euparène**	147	5,49	0	7,58	6,37	1,50	< 1	—

D'après la valeur de l'acidité totale, le témoin a sans doute subi la fermentation malolactique. L'échantillon **Euparène**, avec une acidité totale de 6,3 g H_2SO_4 par l et une acidité volatile de 1,5 g H_2SO_4 par l, a proba-

TABLEAU XI

Composition des vins issus de la fermentation des jus en présence de pellicules

	Traitements	Degré alcoolique acquis (°GL)	Sucres résiduels (g/l)	Acidité totale (g H_2So_4/l)	Acidité volatile (g H_2So_4/l)
ESSAI I	Témoin	10,6	1,7	3,92	0,24
	Sumisclex (1,5 kg/ha)	9,2	1,4	3,33	0,92
	Sumisclex (2 kg/ha)	9,6	1,9	2,74	0,46
	Ronilan	10,1	1,4	2,94	0,64
	Euparène	10,5	1,9	2,74	0,27
ESSAI II	Témoin + **Cuprosan**	7,0	1	4,41	0,61
	Cuprosan + **Mycodifol**	0	141	5,10	0,12
	Mycodifol + **Mycodifol**	0	138	6,86	0,92
	Cuprosan + **Euparène**	0	146	4,70	0,24

blement subi une attaque bactérienne ; celle-ci s'est produite de façon certaine dans les échantillons **Mycodifol,** envahis par les bactéries acétiques et complètement altérés.

c) *Vinifications en présence de pellicules.*

Dès la fin apparente de la fermentation des échantillons « jus + pellicules » constitués à partir des raisins congelés, les analyses chimiques ont été effectuées (tableau XII).

En présence de pellicules, dans l'essai I, les fermentations se sont déroulées normalement et totalement : les degrés alcooliques sont compris entre 9,2 et 10,6, les acidités totales sont très faibles et, sauf pour l'échantillon **Sumisclex** 1,5 kg par ha, les acidités volatiles le sont également. Il se peut que les fermentations malolactiques se soient effectuées comme dans les jus.

Dans l'essai II le sucre n'ayant totalement disparu que dans le témoin (7 °GL), le dosage des sucres réducteurs seul a été effectué dans les trois autres échantillons qui en gardaient 138 à 146 g par l ; les jus d'origine provenant de lots plus importants issus des mêmes parcelles contenaient environ 147 g de sucre par litre, il n'y a donc eu aucune fermentation dans ces trois échantillons de raisins traités.

2) *Analyse des substances volatiles.*

Seuls les jus fermentés ont été soumis à l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. Les résultats sont donnés dans le tableau XII. Ils

TABLEAU XII

Composition des vins provenant de raisins traités par divers fongicides
(les résultats sont exprimés en milligrammes par litre)

	Témoin	**Sumisclex** 1,5 kg/ha	**Sumisclex** 2 kg/ha	**Ronilan**	**Euparène**
Acétate d'éthyle	70	58	69	46	114
Méthanol	107	98	101	113	111
Butanol-2	0	0	0	0	0
Propanol-1	19	23	25	25	33
Méthyl-2 propanol-1	54	50	61	62	60
Butanol-1	0	0	0	0	0
Méthyl-2 butanol-1	16	12	14	15	12
Méthyl-3 butanol-1	176	130	132	146	108
Hexanol	1	1	1	2	2
Phényl-2 éthanol	75	36	41	41	28
Σ Alcools supérieurs	341	252	274	291	243
Glycérol	5700	6200	7100	6900	6700
Butanediol-2,3	300	316	389	400	370
Lactate d'éthyle	17	266	124	79	150
Succinate de diéthyle	0,69	0,60	0,75	0,71	1,69
Acétate d'isoamyle	1,32	2,05	1,35	1,46	2,05
Acétate de phényl-2 éthyle	0,29	0,27	0,37	0,17	0,72
Acétate d'hexyle	0,02	0,06	0,03	0,05	0,11
Caproate d'éthyle	0,41	0,61	0,55	0,68	0,49
Caprylate d'éthyle	1,17	1,57	1,42	1,22	2,30
Caprate d'éthyle	0,47	0,64	0,55	0,53	1,16
Laurate d'éthyle	0,06	0,07	0,06	0,06	0,13
Myristate d'éthyle	0	0,03	0,02	0	0

ne concernent que l'essai I car les jus de l'essai II ayant subi des fermentations perturbées par contaminations, il est apparu inutile de poursuivre l'analyse jusqu'aux produits secondaires.

1 — Alcools supérieurs.

Par rapport à la valeur trouvée dans l'échantillon témoin on note une nette diminution de la somme des teneurs en alcools supérieurs dans les échantillons provenant de raisins traités. Cette différence est la plus nette pour l'échantillon **Euparène** qui, en 1975, présentait déjà ce caractère.

La somme des teneurs en alcools supérieurs est maximale dans l'échantillon **Ronilan** ; ce résultat avait été également observé précédemment.

Si on étudie les variations individuelles des teneurs de chacun des alcools, on constate que c'est principalement le phényl-2 éthanol qui diminue dans les échantillons de raisins traités, puis dans une moindre mesure les alcools amyliques (méthyl-2 butanol-1 et méthyl-3 butanol-1). A l'inverse, dans ces échantillons, les teneurs en propanol-1 augmentent par rapport au témoin. Nous avons fréquemment vérifié (BERTRAND, 1975) cette théorie de NORDSTROM et CARLSSON (1965) selon laquelle toute variation de la teneur en méthyl-2 butanol-1 entraîne une variation inverse de celle du propanol-1.

La synthèse du méthyl-2 propanol-1 ne semble pas affectée par les produits de traitement.

2 — Les polyols.

Le glycérol et le butanediol-2,3 sont formés en quantité plus importante dans les échantillons provenant des raisins traités. Seul l'échantillon **Sumisclex 1,5** présente des teneurs en polyols voisines de celles du témoin.

3 — Les esters.

L'acétate d'éthyle est plus abondant dans l'échantillon **Euparène** ; il en était de même en 1975, et comme en 1975, c'est l'échantillon dans lequel le pourcentage de levures isolées appartenant à l'espèce *Hanseniaspora sp.* est le plus élevé. Or, cette levure forme beaucoup d'acétate d'éthyle (PARK et BERTRAND, 1974 ; SOUFLEROS, 1978).

A l'inverse, l'échantillon **Ronilan**, pour la troisième année, présente les teneurs en acétate d'éthyle les plus faibles.

En ce qui concerne les acétates de méthyl-3 butyle et phényl-2 éthyle, les teneurs les plus élevées sont observées pour les échantillons **Euparène** et **Sumisclex** 1,5.

Pour les esters éthyliques d'acides gras en C_6, C_8, C_{10} et C_{12} les teneurs les plus élevées sont encore observées pour l'échantillon **Euparène.** Pour les trois autres produits de traitement, les résultats sont voisins du témoin.

En conclusion, c'est incontestablement l'**Euparène** qui, cette année encore, semble entraîner le plus de modifications dans les teneurs en produits secondaires de la fermentation. A l'inverse, le **Sumisclex** à la dose de 1,5 kg par ha semble entraîner relativement peu de modifications de la composition chimique au niveau des produits volatils.

CONCLUSIONS

L'expérimentation conduite en 1977 comportait un essai particulier destiné à étudier les effets œnologiques du **Mycodifol** qui peut être utilisé à la fois dans la lutte contre le mildiou et le *Botrytis.* Pour des raisons peut-être imputables à l'ensoleillement et à la sécheresse pendant les trois semaines entre le dernier traitement et le jour des vendanges, les doses résiduelles de produits de traitement sur les raisins, au moment de la récolte, devaient être particulièrement élevées. Les fermentations en laboratoire, en petits volumes, se sont mal déroulées, ont été anormales et parfois inexistantes. Ce fait a été également constaté par ailleurs ; cependant, avec des volumes plus grands, les fermentations se déroulaient nomalement après un ensemencement, même si le départ en fermentation avec les levures indigènes ne se faisait pas. *Cet essai aura donc souligné les inconvénients et les risques que comportent les traitements avec des produits puissants en années sèches.*

Quant à l'essai I, conduit dans les mêmes conditions que les expérimentations de 1975 et 1976 sur d'autres parcelles et avec des fongicides identiques ou différents, il a permis de préciser certains faits :

— *La plupart des produits n'ont qu'une influence très limitée sur la microflore des raisins et sur celle qui conduit la fermentation.* L'**Euparène** expérimenté en 1975 et 1977, s'est toujours montré celui qui affecte le plus le départ de la fermentation. Cependant, par la suite, celle-ci se déroule rapidement et normalement, en subissant malgré tout quelques modifications des produits secondaires volatils.

— Le **Ronilan,** expérimenté pendant les trois années, ne semble pas avoir d'effet sur la fermentation ainsi que le **Rovral.**

— Une seule année d'expérimentation (1977), même avec deux doses, n'est probablement pas suffisante pour vérifier l'effet du **Sumisclex.**

— Quant aux bactéries dont l'étude a donné pour la première fois des résultats intéressants, on peut espérer qu'en perfectionnant les techniques sélectives d'isolement on obtiendra une meilleure idée de leur répartition sur le raisin et en cours de fermentation alcoolique.

Au cours de ces trois années d'expérimentation une certitude s'est imposée : *les conditions météorologiques dans lesquelles se déroule la maturation des raisins et particulièrement celles dans lesquelles les vendanges sont réalisées, ont une importance primordiale.* Ce sont elles, en

fait, qui conditionnent d'abord l'état sanitaire des raisins puis l'état de la microflore au moment de la récolte, microflore sur laquelle agiront les résidus de fongicides éventuellement laissés par les intempéries. Il y a donc imbrication de plusieurs facteurs dépendant des conditions climatiques existant localement dans chaque région, propriété, parcelle ... Cela met en évidence une complexité de situation qui n'avait pas été soupçonnée au début de cette étude. A mesure qu'elle s'est poursuivie, s'est dégagée l'idée qu'il faudrait la prolonger pendant un nombre d'années suffisant et avec les mêmes produits de traitement (de préférence sur les mêmes parcelles et les mêmes cépages), afin de maintenir constant le maximum de facteurs, puisque l'un d'eux et sans doute le principal, le climat, est très variable en cette région.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre reconnaissance à l'Institut Technique de la Vigne et du Vin, en la personne de MM. CASSIGNARD et DUCASSE et de Mme BARRERE, Centre d'Etudes Techniques et d'Expérimentation d'Œnologie de Bordeaux, qui nous ont permis d'utiliser leurs champs d'essais, et nous ont aimablement fourni les échantillons de jus de raisins préparés par leurs soins.

Manuscrit reçu le 6 novembre 1978.

RESUME

Dans ce travail on étudie l'influence de quelques produits anti-*Botrytis* sur la microflore des raisins et des vins (levures et bactéries).

Utilisés seuls, le **Ronilan** et le **Sumisclex** n'ont que peu d'influence alors que l'**Euparène** perturbe la fermentation et modifie les teneurs des vins en substances volatiles.

Utilisés en association, le **Cuprosan,** le **Mycodifol** et **l'Euparène** gênent la fermentation, peut-être en raison de la sécheresse lors des vendanges 1977 qui a laissé intacte la rémanence des produits ; de telles conditions climatiques apparaissent d'importance majeure en ce qui concerne l'influence des fongicides utilisés pour traiter la vigne sur la microflore des raisins et des vins.

SUMMARY

This work is a study of the influence of several anti-Botrytis products on the grape and wine microflora (yeasts and bacteria).

Ronilan and **Sumisclex** alone have only a slight influence whereas **Euparène** affects the fermentation and the quantities of volatile substances of the wine.

Used together, **Cuprosan, Mycodifol** and **Euparène** inhibite fermentation possibly besause the drynesse of the 1977 vintage had left the remainder of these products intact. Such climatic conditions appear of major importance from the points of view of the influence of the fungicides used to treat vines on the microflora of grapes and wines.

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Studie wird der Einfluss einiger Produkte, die zur Bekämpfung der Graufäule verwendet werden, auf die Reben- und Weinmikroflora untersucht (Hefen und Bakterien).

Im Einzelgebrauch üben **Ronilan** und **Sumisclex** bloss einen geringen Einfluss aux wogegen **Euparène** den Gärungsprozess stört und den Gehalt flüchtiger Substanzen in Weinen ändert.

Werden **Cuprosan, Mycodifol** und **Euparène** zusammengemischt, so wird die Gärung gehindert, dies möglicherweise als Folge der Dürre während der 1977-er Weinlese. Diese Pordukte blieben des niedrigen Niederschlags wegen im Boden remanent. Solche klimatische Bedeingungen scheinen äusserst wichtig zu sein im Hinblick auf den Einfluss der Fungizide auf die Reben- und Weinmikroflora, nach dem sie zur Pilzbekämpfung in den Weinbergen eingesetzt wurden.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BERTRAND A., 1975. Recherches sur l'analyse des vins par chromatographie en phase gazeuse. *Thèse de Doctorat d'Etat,* Bordeaux.

LUCMARET V., 1978. Métabolisme fermentaire des levures et des bactéries lactiques dans les moûts de raisins riches en sucre. Formation de l'acide acétique. *Diplôme d'Etudes Approfondies,* Bordeaux.

NORDSTROM K. et CARLSSON B.O., 1965. Yeast growth and formation of fusel alcohols. *J. Inst. Brewing,* **72**, 171-174.

PARK Y.H. et BERTRAND A., 1974. Contribution à l'étude des levures de Cognac. II. — Etude des produits volatils formés au cours de la fermentation par les levures de Cognac. *Connaissance Vigne Vin,* 343-373.

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,* n° **4,** 369-289.

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,* n° **3**, 227-242.

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