Connaissance Vigne Vin, 1977, **11**, N° 3, 227-242.

INFLUENCE DES PRODUITS DE TRAITEMENT DE LA VIGNE SUR LA MICROFLORE LEVURIENNE. EXPERIMENTATION 1976 (*)

Simone SAPIS-DOMERCQ, A. BERTRAND, Françoise MUR et C. SARRE

Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux
Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II
351, cours de la Libération, 33405 Talence (France)

INTRODUCTION

L'expérimentation conduite en 1975 a montré que les produits de traitement de la vigne avaient une influence sur la microflore levurienne ; l'essai a été renouvelé en 1976, plus particulièrement en ce qui concerne deux produits, le *Rovral* (matière active : glycophène) et la *Vinchlozoline* (ou *Ronilan)* ; en raison du petit nombre d'échantillons, l'évolution de la flore des levures a pu être étudiée en détail au cours de la fermentation alcoolique des jus.

MATERIEL ET METHODES

L'application des antifongiques a été faite selon le même schéma qu'en 1975 ; mais nous avons disposé cette année uniquement d'un témoin et de deux échantillons, issus des parcelles traitées par la *Vinchlozoline* et le *Rovral.*

Ces échantillons étaient constitués, d'une part par des raisins recueillis dans des sacs de plastique neufs, d'autre part par les jus obtenus en début de pressurage, après aseptisation du matériel, à partir de raisins recueillis en lots plus importants dans les parcelles traitées.

Ces jus, qui n'avaient pas reçu d'addition d'anhydride sulfureux et n'étaient pas débourbés, ont été seulement séparés sommairement de leurs lies au laboratoire. Ils constituaient des échantillons d'un volume moyen de 1,6 litre ; ils ont été mis à fermenter à 25 °C dans des bouteilles de 2 litres fermées par des bouchons à barboteur.

Les prélèvements ont été effectués :

1° — sur 25 baies prises parmi les raisins issus des parcelles traitées et broyées dans un mixer stérile ;

2° — sur les bourbes séparées du jus clair le premier jour ;

(*) Travail effectué avec l'aide matérielle du Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux.

3° — sur les jus, tous les jours pendant la première semaine de fermentation, puis tous les 2 jours et tous les 3 jours, soit 11 prélèvements effectués entre le 1er et le 25e jour.

Sur ces différents échantillons, les levures, mais aussi les bactéries, ont été dénombrées, puis identifiées après isolement. En 1976, une seule technique d'isolement a été employée, celle des dilutions en milieu solide.

Les milieux de culture employés étaient sélectifs : a) moût de raisin pour les levures ; b) pour les bactéries moût de raisin dilué, enrichi en extrait de levure et porté à pH 4,6, avec addition d'inhibiteurs des levures (actidione + acide sorbique pour éliminer les levures de genres divers ; actidione seulement pour éliminer les *Saccharomyces sp.).*

Parmi les germes présents sur les raisins et dans les jus avant que la fermentation soit en pleine activité, les moisissures créent des difficultés en envahissant les boîtes de Pétri. Pour inhiber leur développement, une addition de diphényle a été faite directement dans chaque boîte de Petri avant de couler la gélose fondue.

D'autre part, parmi les bactéries, notre intérêt portait surtout sur l'effet possible des résidus de fongicides sur la fermentation malolactique ultérieurement subie par le vin. Pour cette raison nous avons cherché à favoriser le développement des bactéries lactiques, tout en empêchant celui des bactéries acétiques. Après leur préparation, les boîtes de Petri destinées à la numération et à l'étude des bactéries lactiques ont été mises à incuber, à 25 °C, dans une atmosphère de CO_2 à l'intérieur de bocaux de conserve dont l'air a été chassé avant fermeture par un jet de CO_2. Cette semi-anaérobiose favorise le développement des bactéries lactiques microaérophiles.

Dans les bouteilles de jus, la marche de la fermentation a été suivie par pesée du gaz carbonique dégagé jusqu'au vingt-cinquième jour. Après la fin de la fermentation, les produits formés ont été dosés par les méthodes chimiques classiques, tandis que les substances volatiles ont été dosées par chromatographie en phase gazeuse.

Pour le *Rovral,* un contrôle des résidus de glycophène des différentes fractions d'échantillons a été effectué en fin de fermentation.

RESULTATS

A. — BACTERIES

C'est la première fois que, au cours d'une fermentation alcoolique, nous avons essayé de suivre les variations de la population bactérienne.

Avec l'emploi de diphényle pour inhiber les moisissures, l'utilisation des milieux sélectifs contenant actidione et acide sorbique pour inhiber les diverses levures, et une incubation en atmosphère de CO_2

pour restreindre le développement des bactéries acétiques, nous pensions pouvoir compter et isoler les bactéries lactiques.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau I et appellent les remarques suivantes :

1° — Le nombre des bactéries présentes sur les raisins et dans les jus en début de fermentation est très faible.

2° — Dans les échantillons du premier jour de fermentation, la flore présente dans les bourbes est beaucoup plus nombreuse que celle du jus clair.

3° — Les antifongiques ne paraissent pas avoir d'effet sur la flore des bactéries.

TABLEAU I

Influence de deux pesticides sur les bactéries au cours de la fermentation alcoolique

(Nombre de bactéries vivantes par ml)

Traitement	Raisins	Bourbes 1er jour	Jus 1er jour	2e jour	3e jour	4e jour
Témoin	< 1	300.000	5.000	< 1	100	< 1000
Vinchlozoline	< 1	360.000	11.900	12 (1 bacille)	60 (1 bacille)	< 1000
Rovral	1000	65.000	20.000	52 (2 bact. acétiques)	< 10	< 1000

4° — Sur les raisins, dans les bourbes et dans les jus, jusqu'au quatrième jour de fermentation, parmi les 64 cultures isolées, seules ont été obtenues deux cultures de bacilles lactiques et deux cultures de bactéries acétiques. Il est vraisemblable que les autres étaient des bactéries acétiques qui avaient pu résister à la première anaérobiose, relative, en boîtes de Pétri.

5° — Les numérations et prélèvements ont été poursuivis jusqu'au vingt-cinquième jour ; les cultures isolées en présence d'actidione se sont révélées être des levures résistantes à l'actidione et non pas des bactéries.

Les résultats de cette première étude sur les bactéries lactiques des raisins traités par les antifongiques, sont très limités. Des améliorations seront apportées à la technique d'isolement, mais il semble que le nombre des bactéries lactiques présentes sur le raisin et dans les jus du début de la fermentation alcoolique soit très faible, les conditions offertes par ces substrats leur étant trop défavorables : aération, antagonismes éventuels d'autres germes, milieux trop sucrés, trop acides, etc...

B. — LEVURES

1. — **Numération**

a) *sur les raisins.*

Contrairement à ce qui avait été observé en 1975, la population de levures sur les raisins a été beaucoup plus nombreuse, 23.000 par ml sur le témoin, 20.000 en présence de *Vinchlozoline,* mais 55 seulement pour le *Rovral* au lieu de 1.500, 700 et 500 par ml en 1975.

D'autre part, dès le premier examen des boîtes de Petri faites à partir des raisins et à partir des jus le premier jour de la fermentation, on avait pu noter, en 1975, un nombre très important de colonies roses identifiées ultérieurement comme *Rhodotorula sp.* En 1976, par contre, une seule colonie a pu être observée.

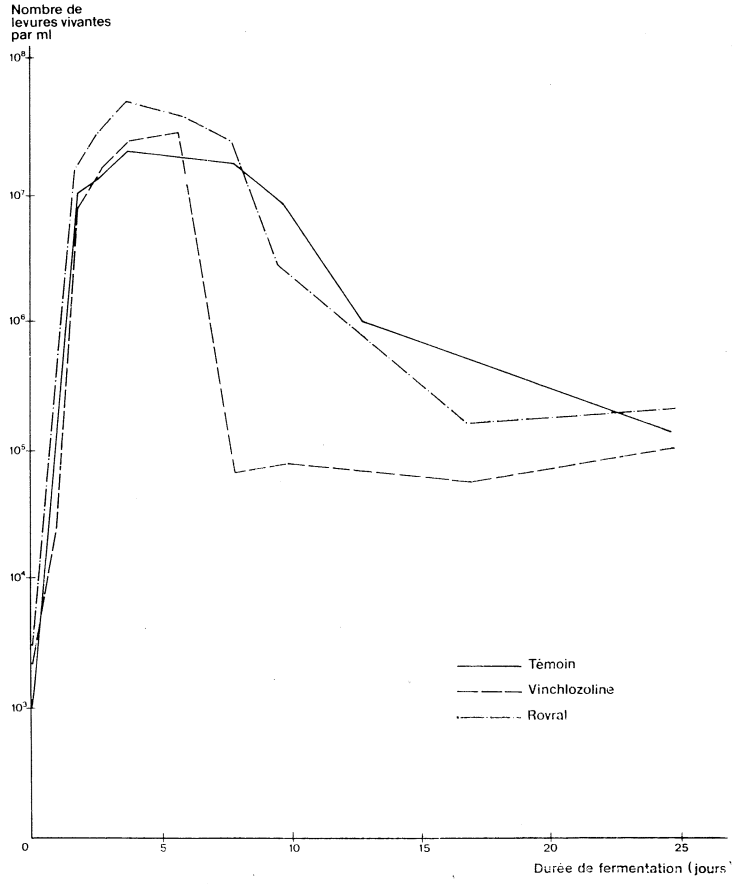


Fig. 1 — Influence de la *Vinchlozoline* et du *Rovral* sur le nombre des levures vivantes au cours de la fermentation alcoolique.

b) *sur les jus.*

Les résultats des numérations de levures sont réunis dans le tableau II et traduits sous forme de courbes dans la figure 1 en coordonnées semi-logarithmiques.

TABLEAU II

Influence de deux pesticides sur le nombre de levures vivantes au cours de la fermentation

(Nombre de levures vivantes par ml)

Traitement	Raisins	Bourbes 1er jour	Jus 1er jour	Jus 2e	Jus 3e	Jus 4e	Jus 5e	Jus 7e	Jus 9e	Jus 11e	Jus 14e	Jus 18e	Jus 25
Témoin	23.000	50.000	1.200	75.000	10×10^6	14×10^6	22×10^6	4×10^6	16×10^6	8×10^6	10×10^5	48×10^4	17×10^4
Vinchlozoline	20.000	50.000	2.000	23.000	8×10^3	17×10^6	25×10^6	30×10^6	6×10^4	7×10^4	11×10^3	50×10^3	90×10^3
Rovral	55	50.000	3.200	400.000	15×10^6	30×10^6	50×10^6	39×10^6	26×10^6	24×10^5	5×10^4	15×10^4	20×10^4

La croissance de la population de levures est très rapide puisqu'elle est au premier jour de l'ordre de 10^3 cellules vivantes par ml, au deuxième jour de 10^4, et dès le troisième jour de l'ordre de 10^6 à 10^7. Elle s'y maintient jusqu'au neuvième jour sauf pour la *Vinchlozoline* en présence de laquelle elle ne se maintient ainsi que jusqu'au septième jour.

La population de levures vivantes décroît ensuite, mais au vingt-cinquième jour elle est encore de l'ordre de 10^4 à 10^5 cellules par ml.

Un prélèvement comparatif ayant été fait le premier jour sur les bourbes et sur le liquide clair, on peut constater la différence qui existe entre ces deux fractions d'un même échantillon : le jus contient environ 10 fois moins de cellules vivantes que les bourbes.

Si l'on compare les trois échantillons entre eux, les différences sont peu marquées.

L'échantillon des raisins traité par le *Rovral* montre un nombre très faible de levures vivantes (55 par ml au lieu de 20.000 par ml dans les deux autres) mais il peut s'agir d'erreurs d'échantillonnage car, par la suite, les populations de levures sont du même ordre pour les trois échantillons.

La seule différence notable serait la chute de la population vivante dès le huitième jour pour la *Vinchlozoline.* Par la suite cette différence s'atténue et au vingt-cinquième jour les populations sont du même ordre dans les trois échantillons. Quand la fermentation commence à ralentir et les levures à sédimenter en amas plus ou moins gros et compacts, il est particulièrement difficile de remettre en suspension et d'homogénéiser les échantillons, ce qui peut expliquer des écarts dans certaines courbes.

2. — **Identification**

a) *sur les raisins*

Douze colonies ont été prélevées pour chaque échantillon. Un certain nombre d'entre elles ne se sont pas développées. Les résultats sont réunis dans le tableau III.

En 1976, 72 p. 100 des souches isolées sur les raisins se sont révélées être des levures fermentatives appartenant à la seule espèce *Hanseniaspora uvarum.*

Ce résultat est très différent de ce qui avait été observé en 1975 : sur le même nombre de colonies isolées (36), 13 *Hanseniaspora uvarum* seulement, soit 36 p. 100 et un *Metschnikowia pulcherrima* avaient été identifiés Les sept autres levures isolées n'étaient pas fermentatives : 6 *Rhodotorula sp.* et un *Candida sp.*

TABLEAU III

Influence de la *Vinchlozoline* et du *Rovral* sur la microflore des raisins traités

Traitement	Nombre de levures vivantes par ml	Nombre de colonies isolées	Souches identifiées
Témoin	23.000	12	9 **Hanseniaspora uvarum**
Vinchlozoline	20.000	12	8 **Hanseniaspora uvarum**
Rovral	55	12	9 **Hanseniaspora uvarum**
		36	26 **Hanseniaspora uvarum** (72 p. 100)

Apparemment, la microflore du raisin peut donc se montrer très différente d'une année à l'autre, les conditions climatiques étant vraisemblablement à l'origine de ces différences.

Par rapport au témoin, on n'a observé sur la microflore des raisins aucun effet particulier des deux fongicides utilisés.

b) *sur les jus.*

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux IV et V. Diverses observations peuvent être faites.

— Nombre de cultures identifiées.

6 colonies ont été prélevées chaque jour pour chaque échantillon soit 18 colonies par jour, pendant la première semaine. Or, le nombre des

TABLEAU IV

Identification des levures assurant la fermentation alcoolique en présence de *Vinchlozoline* et de *Rovral*

Traitement	Bourbes 1er jour	Jus 1er jour	Jus 2e	Jus 4e	Jus 5e	Jus 7e	Jus 9e	Jus 11e	Jus 14e	Jus 18e	Jus 25e
Témoin	6 **H' sp. uv.**	1 **T. bacill.**	5 **H' sp. uv.**	1 **H' sp. uv.**	O	5 **S. cerev.** 1 **S. bay.**	5 **S. cerev.** 1 **S. chev.**	5 **S. cerev.** 1 **S. bay.**	5 **C. cerev.** 1 **S. bay.**	6 **S. cerev.**	6 **S. cerev.**
Vinchlozoline	1 **H' sp. uv.** 3 **Pichia**	1 **H' sp. uv.**	2 **H' sp. uv.** 3 **T. bacill.**	1 **S. cerev.**	4 **S. cerev.**	6 **S. cerev.**	6 **S. cerev.**	6 **S. cerev.**	2 **S. cerev.** 4 **S. bay.**	1 **S. cerev.** 5 **S. bay.**	6 **S. bay.**
Rovral	2 **H' sp. uv.** 3 **T. bacill.** 1 **Pichia**	1 **T. bacill.**	3 **H' sp. uv.**	1 **H' sp. uv** 3 **S. cerev.**	4 **S. cerev.** 1 **S. ital.**	6 **S. cerev.**	6 **S. cerev.**	6 **S. cerev.**	4 **S. cerev.** 1 **S. chev.**	5 **S. cerev.** 1 **S. chev.**	5 **S. cerev.** 1 **S. bay.**
levures identifiées par rapport aux souches isolées	9 **H' sp. uv.** 3 **T. bacill.** 4 **Pichia** 16/18	1 **H' sp. uv.** 2 **T. bacill.** 3/18	10 **H' sp. uv.** 3 **T. bacill.** 13/18	2 **H' sp. uv.** 4 **S. cerev.** 6/18	8 **S. cerev** 1 **S. ital.** 9/18	17 **S. cerev.** 1 **S. bay.** 18/18	17 **S. cerev.** 1 **S. chev.** 18/18	17 **S. cerev.** 1 **S. bay.** 18/18	11 **S. cerev.** 5 **S. bay.** 1 **S. chev.** 17/18	12 **S. cerev.** 5 **S. bay.** 1 **S. chev.** 18/18	11 **S. cerev.** 7 **S. bay.** 18/18

TABLEAU V

RECAPITULATION

Identification des levures assurant la fermentation alcoolique en présence de *Vinchlozoline* et de *Rovral*

Traitement	Raisins	Jus 1er au 4e jour	Jus 5e au 25e jour	Total des souches isolées		(p. 100)
Témoin	9 Hanseniaspora uvarum	12 Hanseniaspora uvarum 1 Torulopsis bacillaris		12 Hanseniaspora uvarum 1 Torulopsis bacillaris	22,4 2,2	
			32 Saccharomyces cerevisiae 3 Saccharomyces bayanus 1 Saccharomyces chevalieri	32 Saccharomyces cerevisiae 3 Saccharomyces bayanus 1 Saccharomyces chevalieri	65 6,1 2,2	73,3
				49		
Vinchlozoline	8 Hanseniaspora uvarum	4 Hanseniaspora uvarum 3 Torulopsis bacillaris 3 Pichia sp. 1 Saccharomyces cerevisiae		4 Hanseniaspora uvarum 3 Torulopsis bacillaris 3 Pichia sp.	7,8 5,9 5,9	
			25 Saccharomyces cerevisiae 15 Saccharomyces bayanus	26 Saccharomyces cerevisiae 15 Saccharomyces bayanus	51 29,4	80,4
				51		
Rovral	9 Hanseniaspora uvarum	6 Hanseniaspora uvarum 4 Torulopsis bacillaris 1 Pichia sp. 3 Saccharomyces cerevisiae		6 Hanseniaspora uvarum 4 Torulopsis bacillaris 1 Pichia sp.	11,1 7,4 1,8	
			36 Saccharomyces cerevisiae 1 Saccharomyces bayanus 2 Saccharomyces chevalieri 1 Saccharomyces italicus	39 Saccharomyces cerevisiae 1 Saccharomyces bayanus 2 Saccharomyces chevalieri 1 Saccharomyces italicus	72 1,8 3,7 1,8	77,5
				54		

cultures qui se sont développées est très faible et irrégulier (nul le 3e jour). Ce fait est difficile à interpréter parce que le nombre des levures vivantes n'a pas fléchi pendant cette période et que sur les raisins, et dans les bourbes, les levures fermentatives ont une fréquence normale.

— Composition de la flore le premier jour.

Le premier jour, les jus clairs dont la flore était peu nombreuse ont été séparés de leurs bourbes qui contenaient environ dix fois plus de levures.

Dans l'ensemble des deux fractions, on retrouve les mêmes espèces de levures dans les trois échantillons : *Hanseniaspora uvarum, Torulopsis bacillaris* et *Pichia sp.* Cette flore est banale, mais la présence de *Torulopsis bacillaris* est plus fréquente qu'en 1975 (26 p. 100 au lieu de 15 p. 100). *Hanseniaspora uvarum* représente 52 p. 100 des souches qui se sont développées.

— Evolution de *Hanseniaspora uvarum* et *Sacch. cerevisiae. Hanseniaspora uvarum* se maintient jusqu'au quatrième jour, sauf en présence de *Vinchlozoline,* tandis que *Saccharomyces cerevisiae* apparaît dès le quatrième jour sauf dans le témoin. Mais le petit nombre de souches isolées les 3e, 4e et 5e jours est particulièrement regrettable car cela correspond à une période de changement dans la flore qui avait été déjà observée en 1975.

— Apparition de *Saccharomyces bayanus.*

Saccharomyces bayanus apparaît le septième jour dans l'échantillon témoin, le quatrième jour en présence de *Vinchlozoline* et le vingt-cinquième jour en présence de *Rovral.*

Ces décalages dans le temps paraissent importants mais ne concordent pas avec ceux de 1975 (apparition le 10,e le 5e et le 3e jour respectivement).

— Importance de *Saccharomyces cerevisiae* et des *Saccharomyces sp.* dans la fermentation (tableau V).

Quarante-neuf souches de levures ont été isolées sur le témoin, cinquante-et-une en présence de *Vinchlozoline* et cinquante-quatre en présence de *Rovral.* Les trois échantillons sont donc comparables.

Hanseniaspora uvarum représente 22,4 p. 100 de la flore du témoin, 8 p. 100 de l'échantillon *Vinchlozoline* et 11 p. 100 de l'échantillon *Rovral.*

En 1975, les pourcentages étaient les suivants respectivement : 3 p. 100, 12,5 p. 100, 5,7 p. 100, le cas de l'*Euparène* se détachant avec 33 p. 100.

Inversement la proportion de *Saccharomyces cerevisiae* passe de 65 p. 100 dans le témoin à 51 p. 100 en présence de *Vinchlozoline* et 72 p. 100 en présence de *Rovral,* tandis que l'ensemble des espèces *Saccharomyces* représente 73 p. 100 pour le témoin, 80 p. 100 pour la *Vinchlozoline* et 79 p. 100 pour le *Rovral,* c'est-à-dire un taux du même ordre pour les trois échantillons.

— *Saccharomyces bayanus.*

En 1975, *Saccharomyces bayanus* ne représentait que 5 p. 100 de la flore totale identifiée, constituée de 202 souches.

En 1976, les 19 souches de *Sacch. bayanus* isolées représentent 12,5 p. 100 de la flore totale (154 souches).

Il est intéressant de noter que c'est le nombre de souches de *Sacch. bayanus* isolées en présence de *Vinchlozoline* qui est remarquable : 29,4 p. 100 contre 5 p. 100 dans le témoin et 1,8 p. 100 en présence de *Rovral.*

c) *Conclusion*

La flore levurienne isolée en 1976 est assez différente de celle qui avait été observée en 1975. Déjà en 1975, il était apparu que la *Vinchlozoline* et surtout le *Rovral* avaient très peu d'action sur la microflore, surtout par rapport aux différences que l'on pouvait observer avec l'*Euparène.*

En 1976, sans la comparaison possible avec l'*Euparène,* on peut estimer que les différences observées sont peu significatives. La seule caractéristique susceptible de jouer un rôle dans la fermentation consiste dans la proportion élevée de *Saccharomyces bayanus* enregistrée en présence de *Vinchlozoline,* mais qui n'avait pas été observée en 1975.

Il apparaît souhaitable de renouveler cette expérimentation en 1977, dans des conditions climatiques certainement différentes, pour pouvoir reconnaître ce qui demeure constant dans la microflore levurienne des raisins.

3. — **Courbes de fermentation.**

Les courbes de fermentation établies avec les quantités de CO_2 dégagé (fig. 2), font apparaître que le témoin a fermenté un peu plus lentement et un peu moins bien que les échantillons issus des raisins traités par la *Vinchlozoline* et le *Rovral.* Celui-ci a même un départ en fermentation nettement plus rapide que le témoin.

4. — **Analyses.**

Les résultats des analyses chimiques classiques effectuées sur les jus après fermentation sont réunis dans le tableau VI.

TABLEAU VI

Influence de la *Vinchlozoline* et du *Rovral* sur la composition des vins

	Témoin	**Vinchlozoline**	**Rovral**
Degré alcoolique (°GL)	7,7	8,5	8,2
Sucres réducteurs (g par litre)	< 1	< 1	< 1
Acidité totale (g H_2SO_4 par litre)	5,49	5,29	5,19
Acidité volatile (g H_2SO_4 par litre)	0,28	0,18	0,28

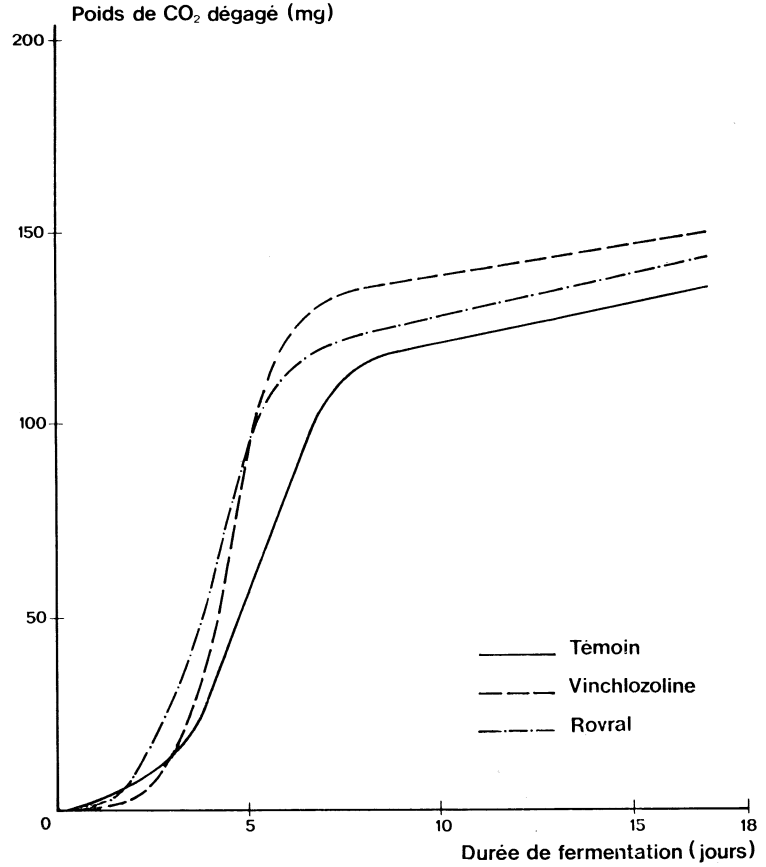


Fig 2. — Influence de la *Vinchlozoline* et du *Rovral* sur la fermentation alcoolique des jus de raisins traités.

La comparaison de ces résultats confirme que dans les trois échantillons, la fermentation des sucres réducteurs a été totale ; les acidités

volatiles sont également faibles, les acidités totales sont du même ordre dans les trois échantillons.

Si on compare les résultats de 1976 à ceux de 1975, on constate que pour une formation d'alcool un peu plus élevée en 1975 (2 ° de plus) la formation d'acétate d'éthyle était plus faible, mais toujours du même ordre dans les trois échantillons considérés.

Ces résultats ont été complétés par l'analyse en chromatographie en phase gazeuse de divers produits secondaires volatils : alcools supérieurs, esters, beaucoup plus nombreux qu'en 1975 (tableau VII).

TABLEAU VII

Composition des vins issus de raisins traités par la *Vinchlozoline* et le *Rovral*

Substances		Témoin	**Vinchlozoline**	**Rovral**
Acétate d'éthyle	(mg par litre)	130	105	135
Méthanol	»	31	35	27
Butanol-2	»	0	0	0
Propanol-1	»	35	31	37
Méthyl-2 propanol-1	»	24	30	46
Butanol-1	»	1	1	1
Méthyl-2 butanol-1	»	15	15	17
Méthyl-3 butanol-1	»	64	64	64
Phényl-2 éthanol	»	12,5	7,5	9,9
Σ alcools supérieurs	»	152,5	148,5	174,9
Glycérol	(g par litre)	3,3	3,9	4,2
Butanediol-2,3	(mg par litre)	327	243	248
Acide acétique	»	441	287	419
Acide propionique	»	4	7	4
Lactate d'éthyle	»	15	24	12
Succinate de diéthyle	»	0,43	0,33	0,43
Acétate d'isoamyle	»	1,28	0,79	0,48
Acétate d'hexyle	»	0,09	0,08	0,03
Acétate de phényléthyle	»	0,131	0,033	0,045
Caproate d'éthyle	»	0,24	0,39	0,23
Caprylate d'éthyle	»	0,41	0,79	0,42
Caprate d'éthyle	»	0,11	0,26	0,14
Laurate d'éthyle	»	0,21	0,47	0,46
Myristate d'éthyle	»	—	—	—

En 1975, seule la somme des alcools supérieurs avait fait apparaître des écarts entre le témoin et deux échantillons seulement *(Euparène* et F 83675). Pour le témoin, la *Vinchlozoline* et le *Rovral,* les résultats étaient respectivement 343, 375 et 355 mg par litre. En 1976, les valeurs de la somme des alcools supérieurs sont toujours du même ordre pour les trois échantillons, mais environ la moitié de celles qui avaient été obtenues en 1975.

L'échantillon *Rovral* a la plus forte teneur en méthyl-2 propanol-1. Il semble que ce soit une caractéristique de *Sacch. chevalieri,* mais il semble difficile d'attribuer cette valeur à la présence des deux souches isolées dans cet échantillon.

En ce qui concerne les esters, l'acétate d'éthyle est présent en quantité plus faible dans l'échantillon *Vinchlozoline,* ce qui avait été observé en 1975. Cet échantillon présente également moins d'acétate de méthyl-3 butyle et de phényl-2 éthyle, que le témoin.

Ces différences, qui sont à rapprocher d'une plus faible teneur en acide acétique, peuvent être expliquées par la moins grande fréquence de *Hanseniaspora uvarum* (trois fois moins que dans le témoin) car cette espèce forme beaucoup d'acétates (RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD, 1975).

Les teneurs élevées en esters supérieurs (caproate, caprylate et caprate d'éthyle) dans ce même échantillon de *Vinchlozoline* peuvent être attribuées à la présence de *Saccharomyces bayanus* en nombre important car cette levure forme beaucoup d'esters supérieurs (PEYNAUD et *al.,* 1974).

TABLEAU VIII

Evolution des résidus de *Rovral* au cours de la fermentation alcoolique

(Résultats exprimés en mg de glycophène par litre)

Avant fermentation		Après fermentation		
Jus	2	Jus		1
		Lies	jus	0
			lies	30
Bourbes	12 < < 15	Jus		2
		Bourbes	jus	5
			lies	40

C. — DOSAGE DES RESIDUS DE PESTICIDES

Le dosage des résidus de glycophène provenant des traitements au *Rovral* a été fait dans toutes les fractions limpides et bourbeuses avant et après fermentation. Les résultats sont présentés dans le tableau VIII. On constate que le glycophène s'accumule dans les bourbes, puis dans les lies, ce qui est logique puisqu'il est insoluble dans l'eau, donc normalement éliminé avec les lies. Seule une dose minime peut rester dans le liquide.

CONCLUSIONS

L'expérimentation conduite en 1975 avait montré que parmi les six produits testés, la *Vinchlozoline* et le *Rovral* paraissaient avoir peu d'influence sur la microflore des levures. Le seul produit paraissant avoir une action était l'*Euparène,* pour lequel on avait constaté une perturbation dans les proportions relatives de *Hanseniaspora uvarum* et des espèces *Saccharomyces.*

En 1976, en l'absence de l'*Euparène* comme terme de comparaison, les différences entre le témoin et les échantillons de *Vinchlozoline* et de *Rovral* sont peu significatives. On peut donc confirmer, semble-t-il, que ces produits n'ont pas une action néfaste sur la flore des raisins ni sur celle qui effectue les fermentations. Cependant il faut noter un taux particulièrement remarquable de *Saccharomyces bayanus* (29 p. 100) dans la flore isolée en présence de *Vinchlozoline,* taux qui sera à vérifier dans les années à venir car en 1975 il n'était que de 10 p. 100.

Les différences analytiques entre les trois échantillons ont une faible amplitude et sont peu significatives, mais celles qui concernent l'échantillon de *Vinchlozoline* (teneur en alcool légèrement plus élevée, teneurs en acidité volatile et en acétates plus faibles, teneurs en esters supérieurs légèrement plus élevées) pourraient être imputables aux proportions de *Hanseniaspora uvarum* d'une part et de *Saccharomyces bayanus* d'autre part.

Il importe de renouveler cette expérimentation afin de vérifier les indications obtenues au cours des vendanges 1976 dans des conditions météorologiques particulières.

Le dosage des résidus de glycophène au cours de la fermentation montre un appauvrissement constant des fractions liquides au-fur-et-à-mesure de la sédimentation des bourbes et des lies qui entraînent le glycophène, insoluble dans l'eau. Ainsi les doses qui persistent dans le vin sont infimes ou non dosables.

Les résultats obtenus en 1975 et 1976 sont en accord avec ceux qu'a donnés SCHOPFER (1977), mais les conditions de réalisation en petits volumes au laboratoire permettent de constater les différences qui n'apparaissent pas dans la pratique ou au stade semi-industriel.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre gratitude à l'Institut Technique de la Vigne et du Vin, Centre d'Etudes Techniques et d'Expérimentation d'Œnologie de Bordeaux, en la personne de M. CASSIGNARD, Mme BARRÈRE et M. DUCASSE qui nous ont permis d'utiliser leurs champs d'essais pour cette expérimentation.

RESUMÉ

L'expérimentation conduite en 1976 a confirmé les résultats de 1975 : la **Vinchlozoline** et le **Rovral** ne paraissent pas avoir d'action néfaste sur la flore

du raisin ni sur celle qui assure la fermentation alcoolique ; on constate seulement, en présence de **Vinchlozoline,** une proportion de **Saccharomyces bayanus** beaucoup plus importante que dans le témoin et qu'en présence de **Rovral ;** le facteur climatique semblant avoir une importance prépondérante sur la microflore du raisin, l'expérimentation sera poursuivie en 1977.

SUMMARY

Experiments conducted in 1976 have been confirm results of 1975 : **Vinchlozoline** and **Rovral** have no action on yeasts of grapes and of alcoholic fermentation, but with **Vinchlozoline,** the number of **Saccharomyces sp.** is much higher than in check sample or with **Rovral.** Climatic conditions seems to have a great influence.

ZUSAMMENFASSUNG

Die 1976 durchgefuehrten Versuche bestaetigen die Ergebnisse von 1975, wonach die Pestizide **Vinchlozoline** und **Rovral** weder die Mikroflora der Trauben noch auf die Erreger der alkoholischen Gaerung einen nachteiligean Einfluss ausueben. Bei Anwendung von **Vinchlozoline** hat man allerdings einen Anteil von **Sacch. bayanus** an der Gesamtflora festgestellt, der weit ueber jenem der Kontrollprobe und derjenigen mit **Rovral** liegt. Da die klimatischen Bedingungen eine ausschlaggebende Wirkung auszuuebn scheinen, werden die Untersuchungen 1977 fortgesetzt.

RESUMEN

La experimentación realizada en 1976 confirmó los resultados obtenidos en 1975. La **Vinchlozoline** y el **Rovral** no parecen tener una acción nefasta sobre la flora de la uva, ni sobre la que asegura la fermentación alcohólica. Solamente se constata que en presencia de **Vinchozoline** la proporción de **Saccharomyces bayanus** es mucho más importante que en el testigo y que en presencia de **Rovral.**

El factor climático parece tener una importancia preponderante sobre la microflora de la unva. La experimentación se continuará en 1977.

RIASSUNTO

La sperimentazione condotta nel 1976 ha confirmato i risultati dell'anno 1975 : la **Vinchlozoline** e il **Rovral** non sembrano avere un'azione dannosa sulla flora dell'uva nè su quella che assicura la fermentazione alcoolica ; si nota soltanto, al cospetto di **Vinchlozoline,** una proporzzione di **Saccharomyces bayanus** molto più importante che nel testimone e che al cospetto di **Rovral.**

Il fattore climatico sembra avere un' importanza prevalente sulla microflora dell'uva, per questo, la sperimentazione sara proseguita nel 1977.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

PEYNAUD E., PARK Y.H. et BERTRAND A., 1974. Sur la formation de substances volatiles pour diverses espèces de levures de la région de Cognac., *Ann. Microbiol.,* **24,** 75-86.

RIBÉREAU-GAYON J. et P., PEYNAUD E., SUDRAUD P., 1975, *Sciences et Techniques du Vin,* tome 2, 240.

SAPIS-DOMERCQ S., BERTRAND A., MUR F. et SARRE C., 1976. Influence des produits de traitement de la vigne sur la microflore levurienne. *Connaissance Vigne Vin,* **10**, n° 4, 369-389.

SCHOPFER J.F., 1977. Conséquences œnologiques des résidus de pesticides. Leur contrôle analytique. *III^e Symposium International d'Œnologie,* Bordeaux.