Connaissance Vigne Vin 1976, **10**, N° 4, 369-389.

# INFLUENCE DES PRODUITS DE TRAITEMENT DE LA VIGNE SUR LA MICROFLORE LEVURIENNE (*)

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

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

## INTRODUCTION

A la suite de l'expérimentation préliminaire conduite lors des vendanges 1974, il était apparu nécessaire d'étudier non seulement la flore présente au moment de la récolte sur les raisins traités normalement par les fongicides mais encore la flore qui effectue réellement la fermentation au cours des différentes phases de son déroulement.

En 1975, nous avons donc effectué des prélèvements de raisins blancs dans deux propriétés, l'une à Barsac, l'autre à Madirac, c'est-à-dire dans une région de vins blancs liquoreux et dans une région de vins blancs et rouges des Premières-Côtes-de-Bordeaux. Dans ces deux propriétés, des parcelles de vigne avaient été traitées expérimentalement par deux organismes, selon le même processus d'application des différents produits fongicides, comparativement à un témoin non traité.

C'est cependant dans la seule propriété de Madirac que des vinifications séparées en petits volumes selon les produits de traitements ont pu être conduites et donc que l'évolution de la flore a pu être suivie pendant les 17 jours qu'a duré la fermentation.

Contrairement aux prélèvements faits en 1974, c'est dans les meilleures conditions météorologiques souhaitables que les raisins ont été cueillis en 1975, au cours d'une longue période de beau temps sec et chaud. Cependant si les raisins de Barsac (Sauvignon) étaient particulièrement sains, même le témoin, ceux de Madirac présentaient une pourriture importante.

Dans la volumineuse bibliographie consacrée aux fongicides, à leur rémanence dans le moût et dans le vin, à leur action sur la fermentation,

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

le travail considérable effectué par MINARIK et ses collaborateurs * depuis plus de dix ans, nous a paru particulièrement intéressant. Cette équipe de chercheurs a étudié systématiquement l'action des divers produits proposés sur le marché par l'industrie pendant toute cette période.

A la vigne, elle a effectué des prélèvements à différentes dates par rapport aux traitements d'application, à différentes doses, en tenant compte des conditions météorologiques. Par la suite, la flore des jus issus des raisins traités a été étudiée au début et à la fin de la fermentation. Les fermentations spontanées, en présence des résidus ont été observées et tous ces résultats ont été contrôlés sur trois années.

Parallèlement, au laboratoire, on étudiait l'action de toutes ces substances sur différentes espèces de levures.

C'est ce travail que nous avons effectué, en 1975, pour cinq fongicides appliqués à une seule dose, dans une ou deux propriétés, dans les conditions légales d'application ; pour les échantillons étudiés la flore a été suivie et méthodiquement contrôlée tout au long de la fermentation.

## MATERIEL ET METHODES

A Madirac, on a expérimenté les six produits suivants en présence d'un témoin :

| | |
|---|---|
| N° 1 | Vinchlozoline 35202 F |
| N° 2 | Rovral |
| N° 3 | Euparène |
| N° 4 | Benlate |
| N° 5 | DPX 114 |
| N° 6 | F 83675 |
| N° 7 | Témoin |

A Barsac, on a étudié l'effet de deux formules de Rovral (2068 et 2071) aux doses d'application de 1000 et 1500 g par ha, en présence de Benlate (1000 g par ha), d'Euparène (4000 g par ha) et d'un témoin.

Le champ d'essai de Madirac comportait six répétitions pour chaque produit tandis que celui de Barsac en comptait quatre ; nous en avons

* MINARIK E. — Institut de Recherches Vitivinicoles, Matuskova 21, Bratislava (Tchécoslovaquie).

utilisé deux à Madirac et trois à Barsac ; le Benlate ne présentant pas d'intérêt pour notre travail nous n'avons pas fait de prélèvement pour ce produit.

Dans chaque parcelle, nous avons prélevé environ 3 kg de raisins recueillis dans des sacs de plastique neufs ; les raisins non utilisés immédiatement ont été conservés au congélateur pour essais ultérieurs, mais les prélèvements pour numérations et identifications de levures ont été effectués le jour même ou le lendemain de la cueillette des raisins.

1. — **Numération et identification des levures vivantes.**

Sur chaque échantillon on prélève 25 baies stérilement, puis on les broie dans un broyeur Servall stérile. A partir de ce broyat on prépare les dilutions nécessaires à la numération et à l'isolement des colonies en vue de leur identification.

Deux techniques de préparation des boîtes de Petri ont été employées parallèlement : la technique des dilutions en milieu solide qui permet le développement des espèces fermentatives susceptibles de croître à l'intérieur d'un milieu gélosé et la technique d'étalement des dilutions à la surface des milieux solides qui permet le développement des espèces oxydatives et fermentatives.

Les résultats donnés par ces deux méthodes diffèrent beaucoup, la technique d'étalement donnant les chiffres les plus élevés. Toutefois, elle n'est pas plus exacte que l'autre car en début d'étalement les colonies sont groupées, agglutinées et ne se séparent qu'en fin d'étalement : elles permettent l'isolement de colonies mais non une numération exacte.

D'autre part, pour éviter le développement des moisissures, nombreuses sur le raisin, il convient d'ajouter du diphényl dans les boîtes de Petri. Les doses employées, 0,75 mg par boîte pour Barsac et 1,5 mg par boîte pour Madirac, se sont révélées insuffisantes de sorte que les boîtes de Petri ont été envahies de moisissures, recouvrant et dissimulant parfois des colonies de levures ou gênant leur isolement.

Lorsque les milieux sont en cours de fermentation, les difficultés entraînées par la présence de moisissures sur le raisin disparaissent et la numération des colonies se fait dans de bonnes conditions.

L'isolement des colonies en vue de leur identification a été réalisé sur les mêmes boîtes de Petri qui avaient été préparées pour la numération. Dans la mesure du possible, six colonies ont été systématiquement prélevées sur chaque boîte.

2. — **Fermentescibilité.**

Chaque échantillon de raisin, d'un poids voisin de 2 kg, est partagé en quatre lots. Chacun de ces lots est écrasé dans un mortier flambé à l'alcool et dans les meilleures conditions possibles de stérilité. On élimine les pellicules de deux de ces lots. On dispose alors de deux lots de jus additionnés de pellicules (1 et 2) et de deux lots de jus seul (3 et 4), que l'on introduit dans des erlens stériles munis de barboteurs. On ensemence les lots 2 et 4 avec un levain de **Saccharomyces ellipsoideus** en pleine activité et on met tous les lots à incuber à 25 °C ; on suit leur évolution par pesées pendant 15 à 20 jours. Les résultats sont présentés sous forme de courbes de fermentation.

3. — **Fermentation des jus de raisins traités.**

Les raisins issus de plusieurs répétitions de chaque produit de traitement sont pressés dans des conditions aussi stériles que possible. La première pressée de chaque échantillon est consacrée à notre expérimentation microbiologique. Les jus obtenus non sulfités sont mis à fermenter en bouteilles de 2 litres (contenant environ 1,6 litre de jus), fermées par barboteurs, à la température de 25 °C.

Les fermentations sont suivies par pesées et par numération des levures vivantes le 1$^{er}$, le 3$^{e}$, le 5$^{e}$, le 7$^{e}$, le 10$^{e}$ et le 17$^{e}$ jour. Les colonies isolées sur ces boîtes (6 par boîte), ensemencées sur moût de raisin, donnent des cultures qui sont identifiées ultérieurement après conservation à la température de 4 °C. Les résultats obtenus sont présentés sous forme de courbes et de tableaux.

Après 17 jours de fermentation, il ne reste plus de sucre dans ces jus. On soutire et soumet le vin à des analyses détaillées des produits de la fermentation, par dosage chimique ou par chromatographie en phase gazeuse.

4. — **Dosage des résidus de fongicides.**

Il serait intéressant de connaître l'importance des résidus pesticides à chaque stade de la fermentation. Mais les seuls fongicides susceptibles

d'être dosés, à l'Institut d'Œnologie, sont actuellement le dichlofluanide et les produits à noyau benzimidazole (DPX 114 et F 83675) et prochainement le Rovral.

On a donc dosé le dichlofluanide (formes I + II) sur les raisins (marc et jus), après fermentation des essais de fermentescibilité (échantillons 1, 2, 3, 4) et après fermentation des jus issus des raisins traités (vin clair et lies).

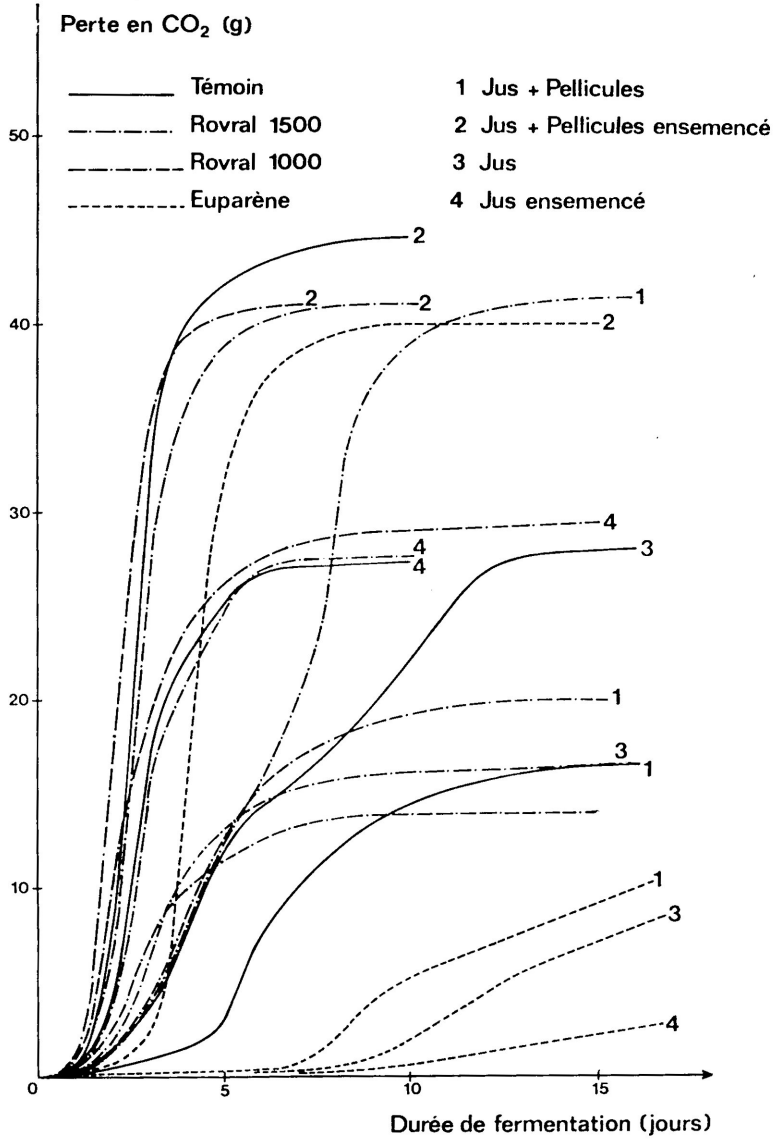



Fig. 1. — Influence des fongicides sur la fermentation alcoolique des jus provenant des raisins de Barsac.

## RESULTATS

1. — **Fermentescibilité** (fig. 1, 2 et 3).

Les courbes de fermentation obtenues pour les lots de raisins foulés, avec ou sans pellicules, ensemencés ou non avec **Saccharomyces ellipsoideus,** montrent que l'ensemencement permet à la fermentation de

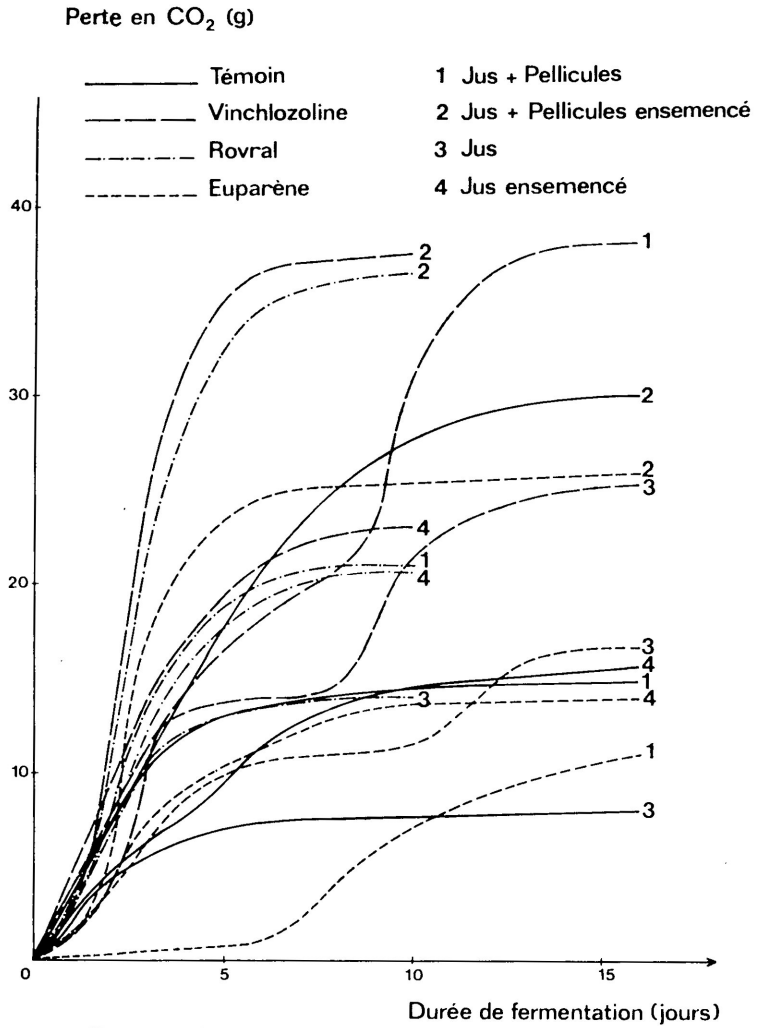



Fig. 2. — Influence des fongicides sur la fermentation alcoolique des jus provenant des raisins de Madirac I.

commencer plus tôt, mais les résidus fongicides ne sont pas en cause, car ceci est également valable pour les témoins.

Les courbes de fermentation spontanée, en présence de fongicides ont parfois des formes inhabituelles, comme si la fermentation se déroulait en deux phases (35202 F, Euparène, DPX 114). Le Rovral ne semble pas avoir d'action sur la fermentation qui est surtout affectée par les résidus d'Euparène, mais malgré le départ retardé, la fermentation se

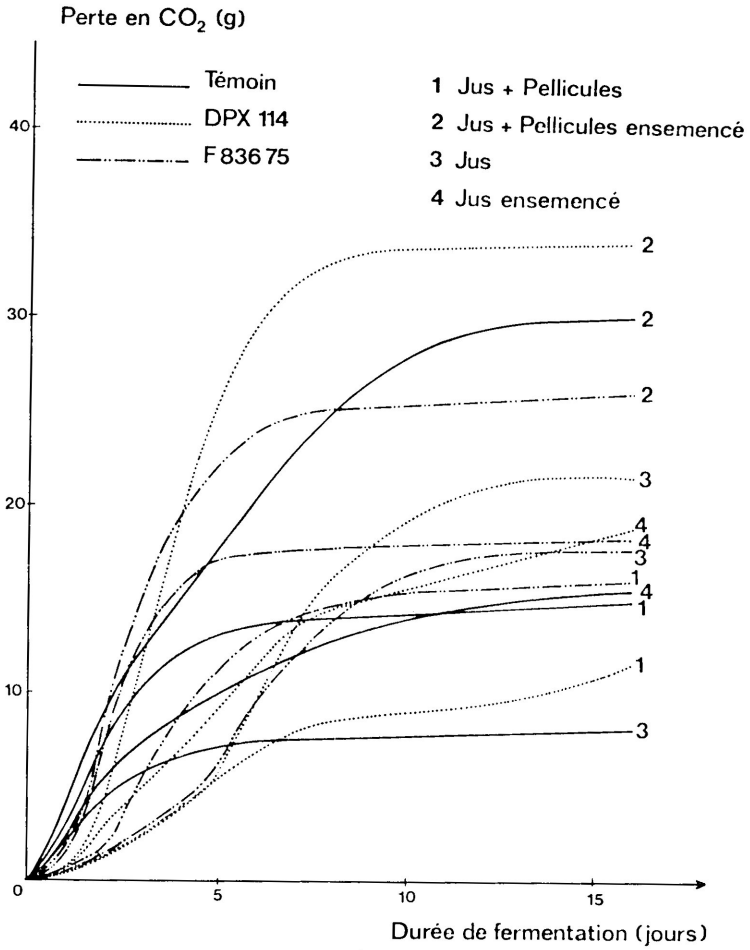



Fig. 3. — Influence des fongicides sur la fermentation alcoolique des jus provenant des raisins de Madirac II.

déroule ensuite normalement. Cependant, à Barsac, le jus de raisin, même ensemencé, n'a pas fermenté, alors que le jus additionné de pellicules a bien fermenté.

2. — **Numération des levures vivantes.**

A — **Sur les raisins.**

Ainsi qu'il a été dit plus haut, la présence des moisissures a rendu cette numération difficile et l'emploi des deux méthodes d'isolement n'a pas été d'un grand secours ; toutefois, il a été observé, avant toute identification, une très grande fréquence des colonies roses, développées surtout en surface. Elles sont particulièrement prépondérantes en présence de DPX 114 et surtout d'Euparène dont on pourrait croire à première vue qu'il sélectionne ces levures (tableau I).

**TABLEAU I**

**Influence des fongicides sur le nombre de levures vivantes des raisins**

Les résultats sont exprimés en nombre de cellules par ml

| Fongicide | Méthode par dilutions | Méthode par étalement |
|---|---|---|
| BARSAC | | |
| Rovral 1500 | 1200 + moisissures | |
| 1000 | ? + moisissures | |
| Euparène | Très nombreuses levures roses | |
| Témoin | 1300 + moisissures | |
| MADIRAC | | |
| Vinchlozoline (35202F) | 700 | — |
| Rovral | 500 | 2000 |
| Euparène | < 10 (roses) | 260 (roses) |
| DPX 114 | < 10 (roses) | < 1000 (roses) |
| F 83675 | < 10 | 1000 |
| Témoin | 1500 | 18000 |

B — **Au cours de la fermentation des jus.**

Les résultats sont présentés dans le tableau II et traduits par des courbes sur papier semi-logarithmique (fig. 4). On peut observer que quel que soit le fongicide employé, la population des levures vivantes atteint approximativement le même nombre maximum, de l'ordre de 5 à

## TABLEAU II

### Influence des fongicides sur le nombre de levures vivantes au cours de la fermentation alcoolique

| Fongicide | Nombre de jours de fermentation | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 3 | 5 | 7 | 10 | 17 |
| Vinchlozoline (35202F) | 1000 | $60\times10^6$ | $60\times10^6$ | $56\times10^5$ | $50\times10^6$ | $23\times10^6$ |
| Rovral | 200 | $70\times10^6$ | $60\times10^6$ | $36\times10^6$ | $60\times10^6$ | $11\times10^6$ |
| Euparène | 300 | 45.000 | $2\times10^6$ | $60\times10^6$ | $57\times10^6$ | $27\times10^5$ |
| DPX 114 | 1000 | $57\times10^5$ | $85\times10^6$ | $50\times10^6$ | $30\times10^6$ | $8\times10^5$ |
| F 83675 | 1000 | 5.000 | $50\times10^6$ | $80\times10^6$ | $80\times10^6$ | $5\times10^6$ |
| Témoin | 350 | $50\times10^6$ | $70\times10^6$ | $60\times10^6$ | $50\times10^6$ | $6\times10^6$ |

8 x $10^7$ levures par ml. Les différences entre les produits de traitement apparaissent surtout dans le temps nécessaire pour obtenir cette population. Avec le F 83675 il faut 2 jours de plus, avec l'Euparène 4 jours de plus qu'avec le Témoin, le DPX 114 et le 35202 F.

La diminution du nombre de cellules vivantes à partir du dixième jour dépend aussi du produit : il semble qu'en présence de DPX 114 et d'Euparène, elle soit plus rapide que pour le témoin et les autres produits.

La fermentation étant terminée au bout de 17 jours, il n'y avait pas lieu de prolonger les numérations de cellules vivantes dans cette expérience, mais cela pourrait être poursuivi ultérieurement dans un autre essai pour savoir si les résidus qui persistent après la fermentation peuvent encore agir sur les levures des lies.

## IDENTIFICATION DES LEVURES

### A — **Sur les raisins.**

Les boîtes de Petri pour la numération des levures des raisins n'ont pas permis d'isoler et d'identifier un nombre intéressant de colonies, d'une part en raison du nombre des colonies de moisissures et, d'autre part, parce que parmi les colonies isolées certaines n'étaient pas fermentatives ou ne se développaient pas en tubes de moût de raisin.

Le tableau III réunit les résultats obtenus sur les raisins de Madirac et de Barsac.

Les espèces isolées appartiennent aux genres **Rhodotorula, Candida** et, pour les espèces fermentatives, aux genres **Hanseniaspora** et **Metschnikowia.** On constate donc que d'une manière générale les levures fermentatives sont rares sur le raisin : elles ne représentent même pas la

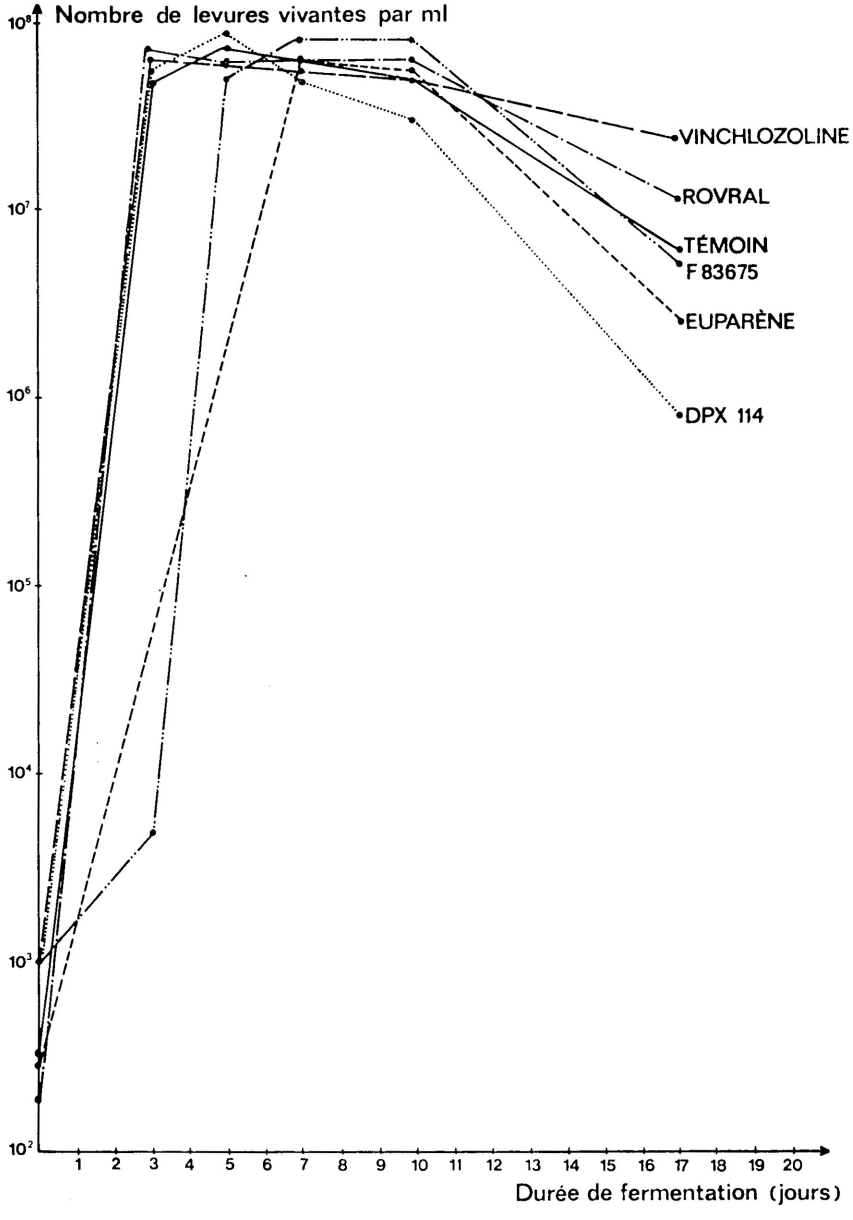



Fig. 4. — Influence des fongicides sur le nombre de levures vivantes au cours de la fermentation alcoolique.

moitié de la population des levures ; ce sont, en outre, des levures à pouvoir fermentaire faible.

Il est donc normal de constater qu'un levurage avec **Saccharomyces ellipsoideus** facilite toujours le départ en fermentation et même sur les témoins de raisins non traités, comme on l'a observé dans l'essai de fermentescibilité.

**TABLEAU III**

**Influence des fongicides sur la flore levurienne des raisins.**

| Echantillon | Nombre de colonies isolées | Souches identifiées |
|---|---|---|
| BARSAC | | |
| Rovral | 3 | 1 souche : **Rhodotorula sp.**<br>2 souches : **Hanseniaspora uvarum** |
| Euparène | 3 | 1 souche : **Metschnikowia pulcherrima**<br>2 souches : **Rhodotorula sp.** |
| Témoin | 2 | 1 souche : **Candida sp.**<br>1 souche : **Rhodotorula sp.** |
| Nombre total de souches identifiées | 8 | 3 souches fermentatives<br>5 souches non fermentatives |
| MADIRAC | | |
| Vinchlozoline | 6 | 1 souche : **Hanseniaspora uvarum** |
| Rovral | 6 | 5 souches : **Hanseniaspora uvarum** |
| Euparène | 2 | 0 |
| DPX114 | 2 | 0 |
| F83675 | 6 | 2 souches : **Rhodotorula glutinis** |
| Témoin | 6 | 5 souches : **Hanseniaspora uvarum** |
| Nombre total de souches identifiées | 28 | 11 souches fermentatives<br>2 souches non fermentatives |

**Rhodotorula sp.** est largement répandu surtout si l'on considère le nombre de colonies roses ou rosées présentes sur les boîtes de Petri, susceptibles ou non de se développer en tubes de milieu liquide.

Apparemment, l'Euparène et le DPX 114 inhibent les espèces fermentatives sur le raisin.

## TABLEAU

## Nombre de souches isolées au cours de la

| Fongicide | Nombre de souches isolées sur les raisins | 1er jour de fermentation | 3e jour de fermentation | 5e jour de fermentation | 7e jour de fermentation |
|---|---|---|---|---|---|
| Vinchlozoline (35202 F) | 1 H' sp. uvarum | 4 H' sp. uvarum<br>1 T. stellata<br>1 P.membranaef. | 5 S. ellipsoideus | 5 S. ellipsoideus<br>1 S. bayanus | 5 S. ellipsoideus<br>1 S. bayanus |
| Rovral | 5 H' sp. uvarum | 1 H' sp. uvarum<br>1 Rhodotorula<br>1 P.membranaef.<br>2 S. ellipsoideus | 1 H' sp. uvarum<br>3 S. ellipsoideus<br>1 S. bayanus<br>1 S. italicus | 6 S. ellipsoideus | 5 S. ellipsoideus |
| Euparène | | 2 H' sp. uvarum<br>1 H. anomala<br>1 T. etchellsii<br>1 M. pulcherrima | 5 H' sp. uvarum | 4 H' sp. uvarum<br>1 S. ellipsoideus | 6 S. ellipsoideus |
| DPX114 | | 3 H' sp. uvarum<br>1 P. fermentans | 6 S. ellipsoideus | 5 S. ellipsoideus<br>1 S. bayanus | 5 S. ellipsoideus<br>1 S. bayanus |
| F 83675 | 2 Rhodotorula | 3 H. anomala<br>1 T. etchellsii<br>2 S. ellipsoideus | 1 H' sp. uvarum<br>1 S. ellipsoideus<br>2 M. pulcherrima | 6 S. ellipsoideus | 6 S. ellipsoideus |
| Témoin | 5 H' sp. uvarum | 1 Torulopsis sp.<br>1 S. ellipsoideus | 1 H' sp. uvarum<br>5 S. ellipsoideus | 6 S. ellipsoideus | 6 S. ellipsoideus |
| Total | 2 Rhodotorula<br>11 H' sp. uvarum<br>13 | 10 H' sp. uvarum<br>5 S. ellipsoideus<br>1 Rhodotorula<br>3 Pichia<br>4 Hansenula<br>4 Torulopsis<br>1 M. pulcherrima<br>28 | 8 H' sp. uvarum<br>20 S. ellipsoideus<br>1 S. bayanus<br>1 S. italicus<br>2 M. pulcherrima<br>32 | 4 H' sp. uvarum<br>29 S. ellipsoideus<br>2 S. bayanus<br>35 | 33 S. ellipsoideus<br>2 S. bayanus<br>1 S. uvarum<br>36 |

AW

## fermentation alcoolique des moûts correspondants

| 10e jour de fermentation | 17e jour de fermentation | Nombre total des souches isolées | Nombre total de souches de **S. ellipsoideus** isolées (p. 100) | Nombre total de souches de **Saccharomyces sp.** isolées (p. 100) | Nombre total de souches de **H'sp. uvarum** isolées (p. 100) |
|---|---|---|---|---|---|
| s 3 **S. ellipsoideus**<br>1 **S. bayanus** | 6 **S. ellipsoideus**<br>1 **S. bayanus**<br>1 **S. pretoriensis** | 4 **H' sp. uvarum**<br>24 **S. ellipsoideus**<br>3 **S. bayanus**<br>1 **S. pretoriensis**<br>1 **T. stellata**<br>1 **P. membranaef.**<br>**34** souches | 70 | 82 | 11 |
| s 6 **S. ellipsoideus**<br>1 **S. uvarum** | 6 **S. ellipsoideus** | 2 **H' sp. uvarum**<br>28 **S. ellipsoideus**<br>1 **S. bayanus**<br>1 **S. uvarum**<br>1 **S. italicus**<br>1 **Rhodotorula**<br>1 **Pichia**<br>**35** souches | 80 | 88 | 5 |
| s 5 **S. ellipsoideus**<br>1 **S. bayanus** | 6 **S. ellipsoideus** | 11 **H' sp. uvarum**<br>18 **S. ellipsoideus**<br>1 **S. bayanus**<br>1 **Hansenula**<br>1 **Torulopsis**<br>1 **Metschnikowia**<br>**33** souches | 54 | 57 | 33 |
| s 6 **S. ellipsoideus** | 6 **S. ellipsoideus** | 3 **H' sp. uvarum**<br>28 **S. ellipsoideus**<br>2 **S. bayanus**<br>1 **P. fermentans**<br>**34** souches | 82 | 88 | 8 |
| s 6 **S. ellipsoideus** | 6 **S. ellipsoideus** | 1 **H' sp. uvarum**<br>27 **S. ellipsoideus**<br>3 **Hansenula**<br>1 **Torulopsis**<br>2 **Metschnikowia**<br>**34** souches | 79 | 79 | 3 |
| s 5 **S. ellipsoideus**<br>1 **S. bayanus** | 4 **S. ellipsoideus**<br>2 **S. bayanus** | 1 **H' sp. uvarum**<br>27 **S. ellipsoideus**<br>3 **S. bayanus**<br>1 **Torulopsis**<br>**32** souches | 84 | 93 | 3 |
| s 1 **S. ellipsoideus**<br>3 **S. bayanus** | 34 **S. ellipsoideus**<br>2 **S. bayanus**<br>1 **S. pretoriensis** | 22 **H' sp. uvarum**<br>152 **S. ellipsoideus**<br>10 **S. bayanus**<br>1 **S. pretoriensis**<br>1 **S. uvarum**<br>1 **S. italicus**<br>1 **Rhodotorula**<br>3 **Pichia**<br>4 **Hansenula**<br>4 **Torulopsis**<br>3 **Metschnikowia** | 75 | 81 | 11 |
| 5 | 36 | **202** souches | | | |

En dépit du petit nombre de colonies isolées, on peut remarquer que l'échantillon traité par le Rovral s'est comporté exactement comme le témoin.

B — **Jus en fermentation.**

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau IV.

1. — **Observations générales.**

Au premier jour après le pressurage, comme sur le raisin, toutes les colonies isolées ne sont pas capables de se développer : 28 sur 34 seulement ont pu être cultivées. Elles constituent une flore assez variée : la moitié environ sont des levures fermentatives **(Hanseniaspora uvarum, Sacch. ellipsoideus) ;** les autres sont peu ou pas fermentatives ou forment des voiles : **Torulopsis sp., Pichia sp., Hansenula anomala, Metschnikowia pulcherrima, Rhodotorula sp.**

Par la suite (à partir du 3e jour), la diversité des espèces représentées diminue : on ne retrouve plus que **Hanseniaspora uvarum** qui disparaît ensuite rapidement et surtout **Saccharomyces sp.**

On note la présence épisodique de quelques souches de **Saccharomyces** divers **: italicus, pretoriensis, uvarum. Saccharomyces bayanus** est plus répandu, non seulement à la fin de la fermentation, mais même dès le troisième jour sur l'échantillon traité par le Rovral.

2. — **Influence des fongicides.**

Plusieurs caractéristiques de la flore peuvent être prises en considération pour comparer l'action éventuelle des fongicides.

a - **La diversité des espèces présentes.**

Elle n'est intéressante que pour les deux premiers prélèvements du 1er et du 3e jour. Mais les différences éventuelles entre les produits ne semblent pas significatives, d'autant plus que le nombre de colonies isolées est irrégulier et insuffisant, surtout pour le premier jour.

Dès le troisième jour, sauf exception des deux souches de **Metschnikowia pulcherrima** isolées sur l'échantillon F 83675, toutes les levures se répartissent entre les deux genres **Hanseniaspora uvarum** et **Saccharomyces sp.**

b - **La permanence de** *Hanseniaspora uvarum.*

Dans les trois échantillons, Témoin, Rovral, F 83675, cette espèce persiste jusqu'au troisième jour.

En présence de Vinchlozoline et de DPX 114, elle ne dépasse pas le premier jour, tandis qu'en présence d'Euparène elle se maintient jusqu'au cinquième jour.

c - **L'apparition de** *Saccharomyces ellipsoideus*

Comme pour le caractère précédent, les trois échantillons témoin, Rovral et F 83675 se comportent identiquement et présentent **Sacch. ellipsoideus** dès le premier jour. Cette espèce apparaît le troisième jour dans les échantillons traités par la Vinchlozoline et par le DPX 114.

En présence d'Euparène, elle n'apparaît que le cinquième jour et avec discrétion, au moment où les signes de fermentation commencent à devenir évidents.

Les caractères b et c semblent être corollaires l'un de l'autre.

d - **L'apparition de** *Saccharomyces bayanus.*

Cette espèce était connue pour son activité habituelle en fin de fermentation. Cependant, dans l'expérience présente, elle a été isolée beaucoup plus tôt, c'est-à-dire dès le troisième jour dans les échantillons témoin et traité par le Rovral, au cinquième jour dans ceux traités par la Vinchlozoline et le DPX 114 et au dixième jour seulement dans ceux traités par l'Euparène.

e - **L'importance de** *Sacch. ellipsoideus et des Saccharomyces.*

Si l'on considère les souches de levures isolées au cours de la fermentation dans chaque échantillon et, parmi ces souches, le pourcentage de **Saccharomyces ellipsoideus** et celui de l'ensemble des souches de **Saccharomyces sp.** on obtient le tableau V ; les résultats font apparaître la sensibilité du genre **Saccharomyces sp.** à l'Euparène, alors que les autres fongicides ne modifient guère le pourcentage de ces levures parmi la flore.

## TABLEAU V

### Influence des fongicides sur les espèces de *Saccharomyces*

| Fongicide | Nombre de souches isolées | **Sacch. ellipsoideus** (p. 100) | **Saccharo-myces sp.** (p. 100) |
|---|---|---|---|
| Vinchlozoline (35202 F) | 32 | 75 | 92,5 |
| Rovral | 35 | 80 | 88,5 |
| Euparène | 33 | 54,5 | 57,5 |
| DPX 114 | 34 | 82,5 | 88 |
| F 83675 | 34 | 79 | 79 |
| Témoin | 32 | 84 | 94 |
| Nombre total de souches isolées pour l'ensemble de l'expérience | 202 | 75 | 81,5 |

## IV. — COURBES DE FERMENTATION

Les échantillons de Vinchlozoline et de Rovral (fig. 5) se comportent exactement comme le témoin ; les courbes de fermentation sont pratique-

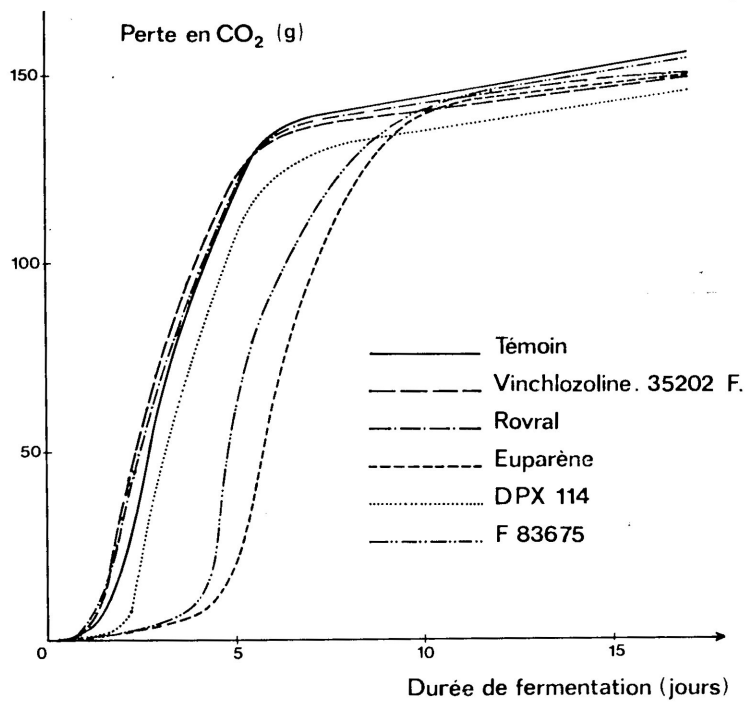



Fig. 5. — Influence des fongicides sur la fermentation alcoolique de jus de raisins provenant de quelques parcelles traitées.

ment superposées. Par contre, le DPX 114 retarde le départ de la fermentation de 1 jour, le F 83675 de 3 jours et l'Euparène de 4 jours. Mais ensuite, les courbes parallèles montrent que les fermentations se poursuivent à la même vitesse jusqu'à épuisement du sucre.

Le DPX 114 présente un cas un peu particulier. Alors que pour tous les autres produits la courbe de fermentation est le reflet de l'évolution du nombre de cellules vivantes, pour le DPX 114 il n'y a plus de coïncidence : la multiplication des cellules vivantes se fait au même rythme que dans le témoin, mais le départ de la fermentation a un jour de retard. Le F 83675 a un retard de 2 jours, à la fois dans la courbe de fermentation et dans la courbe de multiplication des levures.

## ANALYSES

Les résultats sont groupés dans le tableau VI.

Les fermentations se sont poursuivies dans de très bonnes conditions jusqu'à la disparition totale du sucre. Les titres alcoométriques diffèrent peu. Ils sont compris entre 10 °2 et 11 ° soit 10 °5 $\pm$ 0 °40, le témoin ayant 10 °8. Les acidités totales sont comprises entre 5,00 et 5,49 soit 5,2 $\pm$ 0,25, le témoin ayant 5,19.

Les acidités volatiles sont comprises entre 0,21 et 0,31 (témoin : 0,28). Par rapport à ces caractères courants, les échantillons ne présentent donc pas de différences significatives.

Les quantités d'acétate d'éthyle formées dans tous les échantillons sont faibles.

Le dosage des produits secondaires fait apparaître des variations entre les teneurs en différentes substances. Mais ce sont les fermentations en présence d'Euparène et de F 83675 qui présentent le plus d'écart avec le témoin.

Avec l'Euparène, les formations de méthyl-3 propanol-1, de méthyl-2 butanol-1 et méthyl-3 butanol-1 sont inférieures à celles du témoin. Par contre, elles sont beaucoup plus importantes, environ le double, pour le F 83675. La variation de la somme des alcools supérieurs est ainsi très nette : 343 mg par litre pour le témoin, 261 mg par litre pour l'Euparène et 631 mg par litre pour le F 83675.

## TABLEAU VI

### Composition des vins issus de raisins traités par différents fongicides

| | Témoin | Vinchlozoline (35202F) | Rovral | Euparène | DPX114 | F83675 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Degré alcoolique | 10°8 | 10°2 | 10°5 | 10°2 | 10°6 | 11°0 |
| Sucres réducteurs (g par l) | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 |
| Acidité totale (g $H_2SO_4$ par l) | 5,19 | 5,49 | 5,10 | 5,00 | 5,00 | 5,19 |
| Acidité volatile (g $H_2SO_4$ par l) | 0,28 | 0,21 | 0,24 | 0,31 | 0,34 | 0,31 |
| Acétate d'éthyle (mg par l) | 61 | 55 | 69 | 89 | 35 | 29 |
| Méthanol (mg par l) | 36 | 31 | 35 | 32 | 39 | 33 |
| Butanol-2 (mg par l) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Propanol-1 (mg par l) | 16 | 15 | 16 | 23 | 15 | 16 |
| Méthyl-3 propanol-1 (mg par l) | 107 | 87 | 89 | 74 | 89 | 201 |
| Butanol-1 (mg par l) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Méthyl-2 butanol-1 (mg par l) | 47 | 57 | 49 | 34 | 49 | 74 |
| Méthyl-3 butanol-1 (mg par l) | 173 | 216 | 201 | 130 | 197 | 340 |
| Σ Méthyl-2 + Méthyl-3 butanol-1 (mg par l) | 220 | 273 | 250 | 164 | 246 | 414 |
| Σ Alcools supérieurs (mg par l) | 343 | 375 | 355 | 261 | 350 | 631 |
| $\frac{\text{Méthyl-3 butanol-1}}{\Sigma \text{ Méthyl-2 + Méthyl-3 butanol-1}}$ | 0,486 | 0,319 | 0,356 | 0,451 | 0,362 | 0,486 |
| $\frac{\text{Méthyl-2 butanol-1}}{\text{Méthyl-3-butanol-1}}$ | 0,272 | 0,264 | 0,244 | 0,262 | 0,249 | 0,218 |
| $\frac{\text{Propanol-1}}{\text{Méthyl-3-butanol-1}}$ | 0,150 | 0,172 | 0,180 | 0,311 | 0,169 | 0,080 |

## DOSAGE DES RESIDUS DE FONGICIDES

Il serait intéressant de connaître la teneur en résidu du fongicide considéré, correspondant à tous les stades de la fermentation. Nous nous sommes efforcés d'obtenir ces renseignements dans les limites de nos possibilités analytiques.

Ainsi, c'est pour le dichlofluanide (formes I + II) que nous avons obtenu le plus de résultats (tableau VII). Les résidus de ce fongicide sont donc loin d'être négligeables et permettent d'expliquer les diffi-

### TABLEAU VII

**Dosage des résidus d'Euparène**

(Les résultats sont exprimés en mg par litre de moût)

| BARSAC | | | MADIRAC | |
|---|---|---|---|---|
| **Raisins** | Parcelle n° 1 marc | 3,3 | **Raisins** | |
| | jus | 6,4 | **Essais de fermentescibilité** | |
| | Parcelle n° 2 marc | 3,0 | 1 jus + pellicules | |
| | jus | 8,0 | 2 jus + pellicules ensemencés | 2 |
| | Parcelle n° 3 marc | 3,6 | 3 jus | |
| | jus | 6,1 | 4 jus ensemencé | |
| **Essais de fermentescibilité** | | | **Après fermentation** | |
| 1 jus + pellicules | | 11,07 | jus clair | 2,7 |
| 2 jus + pellicules ensemencés | | 11,22 | lies | 2,7 |
| 3 jus | | 9,00 | | |
| 4 jus ensemencé | | 10,58 | | |

cultés de fermentation, au laboratoire, des échantillons de Barsac. En réalité, dans la pratique, l'ensemencement par les levures du chai a empêché ces difficultés de se manifester, car la vendange issue des parcelles d'expérimentation a été mélangée au reste de la vendange.

Les produits DPX 114 et F 83675 étant des mélanges à base de Folpel et de BCM, on a pu doser les résidus de fongicides à noyau benzimidazole. Les résultats obtenus, 0,75 mg par kg de BCM pour DPX 114 et 0,70 mg par kg de BCM pour F 84675, sont assez voisins. La mise au point du dosage du Rovral est en cours.

## CONCLUSIONS

L'expérimentation poursuivie aux vendanges 1975 confirme que la flore naturelle des raisins traités ou non par les pesticides est assez mal adaptée à la fermentation. Elle est constituée à moins de 50 p. 100 par des levures à faible pouvoir fermentaire **(Hanseniaspora uvarum** et **Metschnikowia pulcherrima)** les autres espèces étant peu ou pas fermentatives, formant ou non des voiles.

L'action des résidus de fongicides sur les jus en fermentation est plus intéressante. Mais l'effet sélectif de la plupart des produits essayés est de très courte durée, sauf pour l'Euparène qui permet de constater des différences notables. Le Rovral semble sans action sur la composition de la flore, les autres substances peuvent la modifier légèrement dans les premiers jours seulement.

Les fermentations se sont poursuivies jusqu'à la disparition totale du sucre, mais ce résultat a été obtenu, en présence d'Euparène, dans le même délai de 17 jours, avec une flore dont la composition a été très perturbée puisque le pourcentage des espèces de **Saccharomyces** n'était que de 57,5 p. 100 alors que pour les autres produits et le témoin il est de 79 à 94 p. 100. Inversement, **Hanseniaspora uvarum** représente 33 p. 100 de la flore au lieu de 3 à 12 p. 100 pour les autres produits.

Au point de vue analytique, degré alcoolique, acidité totale, acidité volatile ne présentent pas de différences significatives entre les divers produits et le témoin. La formation d'acétate d'éthyle a été très faible dans tous les cas. Seule ,la somme des alcools supérieurs formés permet de noter des écarts importants entre le témoin et l'Euparène d'une part, ce qui paraît justifié par les nombreuses différences observées dans la flore et entre le témoin et le F 83675 qui pourtant a eu parfois un comportement voisin.

Il sera nécessaire maintenant de reproduire au laboratoire des fermentations en présence de ces substances, afin de préciser quelle est leur action sur la cellule de levure et sur son métabolisme.

Manuscrit reçu le 26 juillet 1976.

## RÉSUMÉ

Parmi les produits de traitement essayés à la vigne en 1975, c'est l'Euparène qui modifie le plus profondément la flore des levures. Pendant les 17 jours de contrôle de la fermentation, cette flore a été composée, en présence d'Euparène, de 57 p. 100 de

**Saccharomyces sp.** et de 33 p. 100 d'**Hanseniaspora uvarum ;** pour le témoin et les autres produits (DPX114, Vinchlozoline, Rovral, F 83675) les proportions ont été de 79 à 94 p. 100 de **Saccharomyces sp.** et de 3 à 12 p. 100 d'**Hanseniaspora uvarum.**


## SUMMARY

**Euparene** was found to have the greatest effect on yeast flora of five chemical treatments applied to vines in 1975. During 17 days of monitored fermentation, the flora, in the presence of **Euparene,** was composed of 57 per cent **Saccharomyces sp.** and 33 per cent **Hanseniaspora uvarum**. However, for the control and other treatments (DPX 114, Vinchlozoline, Rovral, F 83675) the distributions were 79 - 94 per cent **Saccharomyces sp.** and 3 - 12 per cent **Hanseniaspora uvarum.**

## ZUSAMMENFASSUNG

Unter den Behandlungsprodukten, die 1975 in den Weinbergen erprobt worden sind, hat Euparene am tiefgreifendsten die Hefeflora verändert. Während der 17 Tage dauernden Gärungskontrolle bestand diese Flora in Gegenwart von Euparene zu 57 p. 100 aus **Saccharomyces sp.** und 33 p. 100 **Hanseniaspora uvarum ;** bei der Vergleichsprobe und mit den anderen Produkten (DPX114, Vinchlozoline, Rovral, F 83675) waren die Vergleishszahlen 79 - 94 p. 100 **Saccharomyces sp.** und 3 - 12 p. 100 **Hanseniaspora uvarum.**

## RESUMEN

El Euparene es el que modifica más profundamente la flora de las levaduras entre los productos de tratamiento de la vid ensayados en 1975. Durante los 17 dias de control de la fermentación, la flora ha estado formada, en presencia de Euparene, de 57 p. 100 de **Saccharomyces sp.** y de 33 p. 100 de **Hanseniaspora uvarum ;** para el testigo y los otros productos (DPX114, Vinchlozoline, Rovral, F 83675) las proporciones han sido de 79 a 94 p. 100 de **Saccharomyces sp.** y de 3 a 12 p. 100 de **Hanseniaspora uvarum.**

## RIASSUNTO

Tra i prodotti di trattamento provati alla vigna nel 1975, vi è l'Euparene, il quale modifica molto profondamente la flora dei fermenti.

Durante i 17 giorni di controllo della fermentazione, questa flora è stata composta, in presenza di Euparene, di 57 p. 100 di **Saccaromiceti sp.** e di 33 p. 100 di **Hanseniaspora uvarum ;** per il campione-prova e gli altri prodotti (DPX114, Vinchlozoline, Rovral, F 83675) le proporzioni sono state di 79 a 94 p. 100 di **Saccaromiceti sp.** e di 3 a 12 p. 100 di **Hanseniaspora uvarum.**


## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES


MINARIK E et RAGALA P., 1975. Etude de l'influence des fongicides sur la microflore levurienne des raisins et des moûts en fermentation. **Mitteilungen, 3,** 187-204.

TARANTOLA C., 1975. Consequenze enologiche dei trattamenti antiparassitari alla vite. **Atti Acc. It. Vite Vino. 27.**