ÉTUDE DE L'ENSEMENCEMENT DES VINS PAR LES BACTÉRIES DE LA FERMENTATION MALOLACTIQUE

S. LAFON-LAFOURCADE, S. DOMERCQ et E. PEYNAUD
Institut d'œnologie et Station agronomique et œnologique de Bordeaux

L'aboutissement logique des études sur les bactéries de la fermentation malolactique est la maîtrise de cette transformation. On peut espérer la contrôler grâce à une bonne connaissance des exigences bactériennes, à la condition bien entendu que la microflore spontanée ait les qualités requises. Or cette microflore naturelle est variée et dispersée en de multiples espèces qui ne semblent pas uniformément répandues. Dans ces conditions, on peut craindre que certains vins conservent de l'acide malique par insuffisance quantitative ou qualitative de l'ensemencement naturel.

Les bactéries malolactiques ont eu pendant longtemps la réputation d'être difficiles à cultiver, surtout les coques, à cause de leurs besoins en éléments nutritifs et des conditions très précises qu'elles exigent. Ces cultures sont devenues actuellement aisées, mais on rencontre les mêmes difficultés lorsqu'on veut les implanter dans un vin. Les premiers essais d'ensemencement direct du vin ont été négatifs. La difficulté a été tournée par traitement avec des poids importants de bactéries, provoquant la transformation de l'acide malique sans croissance, RADLER (1), FLESCH (2), ou mieux par ensemencement simultané du moût par des levures et des bactéries, PEYNAUD et DOMERCQ (3), WEBB et INGRAHAM (4), FELL (5), TARANTOLA et GANDINI (6). Dans ces dernières conditions, lorsque l'opération est bien réussie, la période de latence de la croissance des bactéries coïncide avec la durée de la fermentation alcoolique et la fermentation malolactique se poursuit et s'achève en quelques jours. Le danger réside dans l'arrêt possible de l'activité des levures, ou dans le développement bactérien trop rapide, circonstances qui conduisent à une piqûre lactique avec élévation de l'acidité volatile. Dans les cas les moins graves, la formation d'acide lactique à partir des sucres compense la diminution de l'acide malique et enlève tout intérêt à la désacidification biologique.

Le danger d'altération est encore possible si l'ensemencement bactérien s'effectue à l'écoulage, au moment où le vin a encore quelques dizaines de grammes de sucres réducteurs, comme le conseillent KUNKEE et coll. (7) et KUNKEE (8) (9) ; ces auteurs estiment que si l'inoculum bactérien est important, il est toujours possible d'obtenir la fermentation malolactique.

GALZY (10) (11) a tourné la difficulté du danger de piqûre lactique par l'utilisation d'une bactérie homolactique, n'attaquant ni les pentoses ni l'acide citrique. Les quelques résultats positifs obtenus sont encourageants pour la mise au point d'une technique pratique du déclenchement contrôlé de la fermentation malolactique.

Pour notre part, l'objectif poursuivi depuis plusieurs années est l'étude du comportement des bactéries lactiques introduites dans des vins ayant au plus 2 g de sucres réducteurs par litre et la sélection de souches résistantes pouvant se développer et produire la fermentation malolactique dans ces conditions (12).

PROTOCOLE DES ESSAIS

Classification des bactéries lactiques utilisées. — L'étude et la classification des bactéries lactiques isolées de vins doivent nécessairement précéder leur utilisation. Une étude d'ensemble était donc indispensable. On ne peut obtenir de résultats sûrs et reproductibles qu'avec des souches de bactéries bien définies. Or généralement les travaux réalisés portent pour chaque auteur sur un petit nombre de souches. Nous avons étudié dans le but de les classer 750 souches isolées de raisins, de moûts en fermentation, surtout de vins en cours de fermentation malolactique, également de vins subissant une altération microbienne. Ces souches provenaient de régions vinicoles des différentes parties du monde. Leur étude comparative a abouti à la classification que rapporte le tableau 1.

Lorsqu'on étudie une seule souche bactérienne, en effet, on trouve toujours dans les catalogues spécialisés la description d'une souche de référence qui s'en approche. Lorsqu'on étudie la souche de référence en même temps, l'analogie est moins sûre, mais lorsqu'on désire classer 750 souches, la classification habituelle n'est pratiquement d'aucun secours.

La classification repose sur l'étude des propriétés des souches : caractères morphologiques, homo ou hétéro-fermentaires, fermentation

TABLEAU 1

Classification des bactéries lactiques isolées de vins

Caractère de la fermentation du glucose	Fermentation des pentoses	Nom des espèces	Nombre de souches
		BACILLES	
Hétéro	P —	**Lactobacillus fructivorans**	26
	A +	**Betabacterium caucasicum**	4
	X +	**Lactobacillus hilgardii**	155
	P +	**Lactobacillus brevis**	68
Homo	P —	**Lactobacillus plantarum**	9
	X +	**Lactobacillus casei var. casei**	2
		Lactobacillus casei var. alactosus	4
		Streptobacterium non classés	6
		COQUES	
Hétéro	P —	**Leuconostoc gracile**	142
	A +	**Leuconostoc oinos**	191
	X +	**Leuconostoc oinos**	8
	P +	**Leuconostoc oinos**	13
Homo	P —	**Pediococcus cerevisiae**	34

P— pentoses négatifs ; A+ arabinose positif ;

P+ pentoses positifs. X+ xylose positif ;

des divers sucres, notamment des pentoses, dégradation des acides organiques, désamination de l'arginine, pH-seuils, températures optimales et températures limites, influence de l'aération, besoins en aminoacides et en facteurs de croissance, nature de l'acide lactique formé, résistance à l'alcool, etc... La sélection de souches utilisables pour des ensemencements de vins dans la pratique porte plus spécialement sur la résistance aux degrés alcooliques assez élevés, sur la possibilité de multiplication à des pH assez bas. Nos premiers essais ont été conduits avec des bacilles, en raison de leur croissance plus rapide que celle des coques dans les milieux de culture, parce qu'ils attaquent plus rarement l'arabinose et que leur séparation est plus facile par filtration. Mais les coques ont donné finalement de meilleurs résultats. Le tableau 2 donne la liste des vingt-sept souches choisies qui ont servi à nos divers essais d'ensemencement. A deux exceptions près, il s'agit de souches hétérolactiques. Le caractère homolactique, en effet, n'est pas une garantie d'innocuité, car certaines bactéries homofermentaires peuvent former des acides volatils à partir du fructose, des pentoses. Leur présence dans les vins altérés est d'ailleurs fréquente.

Préparation du levain simple. — La culture des bactéries servant à l'ensemencement est préparée en bouteilles munies d'un bouchage mécanique dans un milieu constitué par du moût de raisin dilué deux fois et enrichi par 5 g d'extrait de levure par litre ; le milieu reçoit 10 % d'alcool éthylique et est ajusté à pH 4,8 avec de la soude. Après huit jours de culture à 25 °C, on recueille la masse bactérienne par centrifugation à 9.000 tours par minute dans une centrifugeuse réfrigérée à 4 °C ; on lave les bactéries avec une solution saline à 7 g de chlorure de sodium par litre. L'ensemencement est calculé approximativement d'après une mesure néphélométrique du trouble de la suspension bactérienne. Une numération des bactéries sur boîte de Pétri préparée aussitôt après mélange dans le vin ensemencé détermine la population initiale de cellules vivantes avec plus de précision.

Préparation du levain mixte. — Dans le but d'acclimater les bactéries à l'alcool, nous avons été amenés à cultiver simultanément des levures et des bactéries dans le milieu précédent. L'ensemencement en levures et bactéries se fait alors en même temps. Les levures utilisées appartenaient aux espèces **Saccharomyces ellipsoideus, Saccharomyces oviformis, Schizosaccharomyces pombe.** Après trois jours d'incubation à 25 °C, la fermentation alcoolique est terminée et la culture microbienne se poursuit en milieu alcoolisé. On peut utiliser après centrifugation et lavage la totalité du dépôt constitué de levures et de bactéries ou écarter la

TABLEAU 2

Souches de bactéries lactiques utilisées dans les essais d'ensemencement des vins

Fermentation des pentoses	Fermentation de l'acide citrique	Nom de l'espèce	Désignation des souches
BACILLES HOMOLACTIQUES			
P —	—	**Lactobacillus casei** var. **alactosus**	R 6
P —	—	**Lactobacillus casei** var. **casei**	Q 16
BACILLES HETEROLACTIQUES			
P —	—	**Lactobacillus fructivorans**	E 25, E 26, Y 1
P +	—	**Lactobacillus brevis**	BC 61
X +	—	**Lactobacillus hilgardii**	LL2, S1, An1, An4, Y4, Q11, Ch23, DD1 vz 5, PM 4, BC 2, BC 153
COQUES HETEROLACTIQUES			
P —	+	**Leuconostoc gracile**	Cf 34, It 2, It 3, It 8
A +	+	**Leuconostoc oinos**	P 6, It 4, It 5
X +	+	**Leuconostoc oinos**	SC 122
P +	+	**Leuconostoc oinos**	GP 1

majorité des levures grâce à une centrifugation différentielle. Une centrifugation de quelques minutes à 3.000 tours par minute élimine la majorité des levures ; les bactéries sont ensuite rassemblées à 9.000 tours par minute.

Essais de laboratoire. — Les essais d'ensemencement de vins sont pratiqués en bouteilles munies d'un bouchage mécanique. Les vins utilisés, blancs et rouges, ont été recueillis à la cuve après la fin de la fermentation alcoolique et avant la dégradation de l'acide malique. Les essais ont été renouvelés pour plusieurs récoltes.

Un lot témoin est conservé ; on s'assure après quelques semaines que ces vins ont subi une fermentation malolactique spontanée ; ils sont donc « fermentescibles ». Le lot qui sera ensemencé par les levains est chauffé à 55 °C. On s'assure de même qu'ainsi traités les vins sont effectivement stérilisés et ne subissent plus spontanément la fermentation malolactique. Enfin, pour vérifier que le chauffage à 55 °C ne diminue pas l'aptitude au développement bactérien, un autre lot chauffé est ensemencé par 20 % du même vin non chauffé. Bien que réduisant la population bactérienne initiale à un cinquième de sa valeur, le chauffage à 55 °C n'a pas gêné le déroulement de la fermentation malolactique spontanée ; le nombre total de bactéries atteint est finalement le même que dans le témoin.

Tous les vins sont conservés à la température de 22 °C. A intervalle régulier, on ouvre les bouteilles et on pratique un prélèvement permettant une numération de bactéries vivantes sur boîte de Pétri et un dosage de l'acide malique par la méthode utilisant **Schizosaccharomyces** (13). En fin d'expérience, l'acide L(+) lactique est dosé par voie enzymatique (14) ; on détermine également l'acidité volatile.

Nous avons étudié systématiquement de cette manière un certain nombre de facteurs : importance de l'ensemencement, pH, addition de substances présumées activatrices, sucres, acide pyruvique, acétaldéhyde, sels minéraux, acides aminés, facteurs de croissance, extraits divers. Nous avons étudié également le rôle de l'acide éthanolsulfonique (combinaison de l'anhydride sulfureux à l'acétaldéhyde).

RESULTATS OBTENUS

Facteurs dépendant de la souche bactérienne. — Bien que les souches étudiées aient été choisies parmi les plus résistantes à l'alcool et à l'acidité ionique, toutes ne se sont pas montrées aptes à produire une fermentation malolactique par ensemensement direct dans un vin.

TABLEAU 3

Evolution des populations bactériennes après ensemencement d'un vin

Cas de régression sans croissance - Bactéries par µl

	Cf 34 Vin blanc	BC 2 Vin rouge
Ensemencement	4 160	8 200
1 j	2 360	4 100
2 j	2 300	4 000
4 j	1 940	4 300
8 j	1 860	4 000
16 j	500	160
18 j	400	—
29 j	20	21

TABLEAU 4

Evolution des populations bactériennes après ensemencement d'un vin

Cas d'une croissance après 16 jours - Bactéries par µl
Bactérie Cf 34 sur vin rouge

Ensemencement	3 600
1 j	1 860
3 j	1 800
4 j	1 600
8 j	1 800
16 j	11 500
18 j	17 000
29 j	10 000

Dès l'addition des bactéries dans un vin, la population des bactéries vivantes pouvant donner des colonies sur boîte de Pétri régresse rapidement. Le phénomène est général à toutes les souches. Il se manifeste dès les premières heures. Suivant les cas, 25 à 90 % des cellules perdent leur vitalité en 48 heures. Cette régression se poursuit ensuite plus lentement et, suivant la souche, la nature du vin et les conditions, la population au bout de quinze jours à un mois se trouve abaissée au dixième de sa valeur initiale ou peut même devenir nulle. Le tableau 3 montre deux cas d'une telle évolution régressive.

Seulement pour certaines souches, le développement bactérien dans le vin peut survenir après une période plus ou moins longue de latence, huit jours, quinze jours ou un mois ou davantage, à partir d'une population fortement diminuée. Le tableau 4 donne un cas de croissance apparue après seize jours.

Donc la plupart des bactéries introduites dans un vin, même si elles sont résistantes à l'alcool et aux conditions d'acidité, ne peuvent y vivre longtemps ou perdent en tout cas le pouvoir de s'y reproduire. Quelques cellules résistantes s'adaptent à ce milieu après un certain délai de latence et réussissent à s'y multiplier.

TABLEAU 5

Evolution des populations bactériennes après ensemencement d'un vin. Influence du pH et de l'ensemencement

Cas de régression sans croissance avec diminution de l'acide malique. Bacille BC 61 - Taux d'acide malique initial : 44 méq par litre - Bactéries par ml

	pH 3,0	pH 3,2	pH 3,4	pH 3,4
Ensemencement	2 000	2 000	2 000	180
Après 2 j	1 200	1 200	1 600	160
Après 8 j	30	440	990	60
Après 15 j	0,7	120	220	60
Après 30 j	0	0,9	4,8	1,1
Après 60 j	0	0,1	2,3	0
Acide malique restant	44	24	13	21

La disparition progressive des bactéries n'empêche pas cependant une dégradation partielle de l'acide malique. Cette fermentation malolactique sans croissance, plus poussée pour certaines souches, pour les forts ensemencements, aux pH plus élevés, s'explique sans doute par le stock enzymatique apporté par l'inoculum (tableau 5). Quand il y a croissance, la dégradation de l'acide malique est rapide et complète.

Les bacilles se multiplient rapidement et abondamment dans les milieux de culture normaux, mais leur résistance est généralement faible lorsqu'on les inocule dans les vins. Des dix-sept souches essayées, deux seulement (Q 11 et PM 4) ont pu se développer dans des vins de pH égal ou supérieur à 3,4 et seulement à partir d'ensemencements importants, de l'ordre de 10.000 par ml. La période de latence est au minimum d'un mois. La fermentation malolactique a été complète.

Parmi les dix souches de coques hétérofermentaires mises à l'essai, cinq ont donné régulièrement de bons développements bactériens sur vin et ont produit la fermentation malolactique. Elles appartiennent aux espèces **Leuconostoc gracile** et **Leuconostoc oinos.** L'ensemencement optimum est variable avec la souche, la nature du vin, son pH. Le temps de latence peut varier de quatre à trente jours. Il est fonction de l'importance de l'ensemencement, lequel peut être compensé en partie par un pH favorable.

Facteurs dépendant du vin dont on recherche la désacidification biologique. — Par son alcool et son acidité, par sa relative pauvreté en substances minérales et en aminoacides, le vin réalise un milieu de culture d'emblée peu favorable à la croissance des bactéries lactiques. En fait, comme l'a fait remarquer DUPUY (15), le vin offre aux bactéries lactiques des conditions limites de multiplication et il est d'ailleurs heureux pour la conservation du vin qu'il en soit ainsi. De ce fait, une variation infime d'un des multiples facteurs en jeu peut favoriser la croissance et la rendre possible, ou l'inhiber et la rendre impossible. Nous avons étudié ces différents facteurs et notamment l'activation qui pourrait être obtenue par ajout au vin de différentes substances.

Comme il est bien connu, le pH est le premier facteur à considérer. Les bactéries sont sensibles même à des différences de pH très faibles, de 0,1 par exemple. Dans nos essais, les ensemencements de vins de pH 3,0 et au-dessous n'ont jamais permis d'observer de croissance, alors que dans la pratique la fermentation malolactique spontanée est possible, quoique difficile, à pH 2,9 ou 3,0. Les bactéries lactiques qui se trouvent naturellement dans les vins sont plus « actives » que les bactéries cultivées, pourtant sélectionnées. C'est une observation qui a été faite sou-

vent et qui s'explique sans doute par la sélection et la durée de la phase de latence.

Les bactéries ajoutées à des vins de pH 3,0 perdent toujours leur vitalité en quinze à vingt jours. Elles se maintiennent vivantes d'autant plus longtemps que le pH est plus élevé. La dégradation de l'acide malique qui accompagne l'ensemencement, même sans croissance, est également plus importante quand le pH est élevé.

On sait qu'une augmentation de pH favorise toujours le déclenchement du développement bactérien. La désacidification devrait donc pouvoir accompagner l'ensemencement dans la pratique, tout au moins sur un premier levain très partiel.

Cependant le pH n'est pas le seul facteur commandant la possibilité de multiplication dans un vin. Lorsqu'on essaie d'ensemencer de nombreux vins ajustés à la même valeur de pH, on constate une grande irrégularité de la croissance bactérienne dans ces vins ; certains subissent facilement la fermentation malolactique, d'autres y sont rebelles.

Le degré alcoolique est un autre facteur important, bien qu'il ait été observé des développements bactériens au cours de la conservation de vins de dessert titrant 18 à 20° d'alcool. En effet la résistance à l'alcool varie considérablement suivant les souches. Il semble que l'action inhibitrice de l'alcool soit complexe. L'inhibition est régulière et progressive lorsqu'on augmente le degré jusqu'à 11° d'alcool environ. Pour des degrés supérieurs, l'inhibition devient brusquement plus importante et un pourcentage faible de souches peuvent en réalité s'adapter.

L'adaptation à l'alcool par des repiquages successifs ne nous a pas donné de résultats positifs. Il semble que la meilleure formule pour adapter une souche au « choc » que constitue le passage du milieu de culture au vin, est de préparer le levain par ensemencement mixte avec des levures ; dans ce cas l'élévation continue du degré au cours de la multiplication des générations successives permet une adaptation progressive.

L'addition de 0,5 à 2 g de sucres par litre prolonge légèrement la survie des cellules, mais ne permet pas mieux leur développement. L'addition d'un gramme d'arabinose n'a pas davantage d'effet. Par contre 100 mg de ribose par litre ont permis à certains coques hétérofermentaires de se développer.

Il semble que la multiplication optimale des bactéries nécessite des concentrations en sels minéraux beaucoup plus importantes que celles

rencontrées dans les vins, ce qui confirme les conclusions de BOCKER (16). Une addition expérimentale à des vins de 200 mg de potassium, 100 mg de magnésium et 5 mg de manganèse par litre a prolongé simplement la survie bactérienne. Par contre, une addition de 500 mg de potassium, 200 mg de magnésium et 5 mg de manganèse a permis le déclenchement de la fermentation malolactique pour quatre coques sur les dix essayés. De tels enrichissements seraient bien entendu impossibles dans la pratique.

L'addition des facteurs de croissance (thiamine, pyridoxine, acide nicotinique, acide pantothénique, riboflavine, mésoinositol, biotine, acide p. aminobenzoïque) aux doses habituelles, a permis seulement de prolonger la vitalité des bactéries, mais n'a pas eu d'effet décisif pour provoquer la fermentation de l'acide malique. Il en est de même de l'enrichissement en aminoacides.

L'addition d'acide pyruvique à la dose de 200 mg par litre constitue un facteur favorable qui a suffi dans deux cas à lancer cette fermentation. L'acide pyruvique ajouté est complètement métabolisé par les bactéries et disparaît. Par contre, l'acétaldéhyde, même à faible dose, gêne les bactéries et diminue leur résistance.

Enfin des additions de jus de tomate 1 ml par litre ont permis de légères améliorations.

Les conclusions de ces essais, si elles confirment la pauvreté du vin comme milieu de culture bactérien, ne sauraient cependant préconiser l'emploi d'additifs comme formule d'activation de la fermentation malolactique ; les doses à ajouter seraient d'ailleurs trop élevées et incompatibles avec la constitution normale du vin.

Quelques exemples de réalisations pratiques. — Un vin rouge écoulé le 6 octobre après la fin de la fermentation alcoolique en fûts de chêne de 225 litres est ensemencé, une semaine après, avec un levain mixte centrifugé de levures et de bactéries. On a essayé plusieurs souches. Le centrifugeat a été d'abord mis en suspension dans un demi-litre du même vin, transporté au chai et versé par l'orifice de la bonde du fût. Après ensemencement la population de bactéries vivantes atteignait suivant les cas 1 à 2 millions de bactéries par ml.

La température de conservation était de l'ordre de 15 °C en octobre, plus basse par la suite. Dans ces conditions la fermentation malolactique a été très lente et s'est terminée après plus de deux mois (tableau 6).

Dans un autre cas, on a utilisé un ensemencement du même ordre avec la bactérie Cf 34, pour un fût de vin, une quinzaine de jours après l'écoulage. La population de départ atteignait 1,5 million par ml. Le vin, amené à pH 3,4 par une légère désacidification au carbonate de calcium (50 g par hl), a été conservé dans un local à la température de 22 °C. La fermentation malolactique dans le fût a été terminée en six jours. Par coupages répétés, la fermentation malolactique a pu être propagée à l'ensemble de la récolte dans un délai de six semaines.

La température joue un rôle primordial dans ce genre de réalisations. Plusieurs échecs ont eu pour cause l'utilisation tardive de l'ensemencement, la température trop basse, ou le fait d'un sulfitage laissant une teneur en anhydride sulfureux libre supérieure à 16 mg par litre.

TABLEAU 6

Déclenchement de la fermentation malolactique dans un vin jeune

Ensemencement le 13 octobre

Acidité totale 5,36 acide malique : 4, pH : 3,25

		Témoin non ensemencé	Ensemencé It 2	Ensemencé Cf 34
Après 27 j	Acidité totale	5,36	5,16	4,98
9 nov.	Acide malique	4,00	2,50	2,00
Après 40 j	Acidité totale	5,30	4,85	4,40
22 nov.	Acide malique	4,00	2,00	1,50
Après 74 j	Acidité totale	5,26	4,10	3,94
	Acide malique	4,00	0,90	0
26 déc.	Acidité volatile	0,41	0,41	0,45

CONCLUSIONS

Les essais de déclenchement de la fermentation malolactique avaient été conduits jusqu'ici par introduction des bactéries dans la vendange, avant ou au début de la fermentation alcoolique, ou encore au moment de l'écoulage avant la complète disparition du sucre. A notre avis ces

techniques d'apport bactérien en milieu sucré ne peuvent être recommandées aux praticiens en raison du danger de piqûre lactique qu'elles présentent.

Pour éviter les risques d'une formation d'acidité volatile, nous avons cherché à implanter des bactéries sélectionnées dans des vins terminés au point de vue fermentation alcoolique, c'est-à-dire ne présentant pas plus de 2 g de sucres réducteurs. Parmi les vingt-sept souches bactériennes choisies en fonction de leur résistance et soumises à des essais d'ensemencement direct, cinq coques ont permis des déclenchements malolactiques et ont été retenus pour des essais pratiques.

Leur développement dans les vins, déjà difficile en raison du degré alcoolique et du pH, est conditionné en fait par leur possibilité d'adaptation à ce milieu. Le grand avantage des bactéries naturelles, c'est-à-dire se trouvant naturellement dans les vins, sur les bactéries cultivées, réside dans leurs meilleures facultés d'adaptation. Dans les cas favorables de la pratique, la fermentation malolactique spontanée est plus rapide que celle obtenue par ensemencement du vin stérilisé.

Il y a peu à attendre de l'amélioration de la constitution des vins par incorporation de produits activateurs, mise à part une légère élévation du pH qui pourrait être envisagée sur un faible volume du premier vin ensemencé.

Des résultats encourageants ont été obtenus à l'aide de levains préparés par ensemencements mixtes de levures et de bactéries. Ce mode de préparation a pour avantage, d'une part, d'accoutumer progressivement les bactéries à l'alcool et aux produits de la fermentation, d'autre part de leur adjoindre un apport d'activateurs que la masse des levures abandonne au vin.

Cependant la méthode d'ensemencement sous la forme d'un centrifugeat de microorganismes frais, que nous avons utilisée, n'est pas applicable aisément par les vinificateurs. L'utilisation d'un lyophilisat ayant conservé les propriétés des cellules fraîches serait la forme la plus pratique ; elle sera expérimentée aux prochaines vendanges.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) RADLER F. — Untersuchungen über die experimentelle Durchführung des biologischen Säureabbaues. **Vitis,** 1957, **1,** 42.

(2) FLESCH P. — Die Durchführung des biologischen Säureabbaues in Wein mit « ruhenden » Gracile-Bakterien. **Mitteilungen,** 1961, **11,** 173.

(3) PEYNAUD E. et DOMERCQ S. — Possibilité de provoquer la fermentation malolactique en vinification à l'aide de bactéries cultivées. **C.R. Acad. agric.,** 1959, **45,** 355.

(4) WEBB R.B. et INGRAHAM J.L. — A survey of the incidence of the malolactic fermentation in California table wines. **Amer. Journ. Enol. Vitic.,** 1960, **11,** 63.

(5) FELL F. — Etude sur la fermentation malolactique du vin et les possibilités de la provoquer par ensemencement. **Annuaire agric. Suisse,** 1961, **10,** 249.

(6) TARANTOLA C. et GANDINI A. — Esperienze di disacidificazione biologica dei vini nel corso del processo fermentativo. **Vini d'Italia,** 1967, **9,** 451.

(7) KUNKEE R.E., OUGH C.S. et AMERINE M.A. — Induction of malolactic fermentation by inoculation of must and wine with bacteria. **Amer, Journ. Enol. Vitic.,** 1964, **15,** 178.

(8) KUNKEE R.E. — Control of malo-latic fermentation induced by. **Leuconostoc citrovorum. Amer. Journ. Enol. Vitic.,** 1967 a, **18,** 71.

(9) KUNKEE R.E. — Malo-latic fermentation. **Adv. applied. Microb.,** 1967 b, **9,** 235.

(10) GALZY P. et PLAN C. — Essais de déclenchement contrôlé de la fermentation malolactique. **C.R. Acad. Agric.,** 1967, **53,** 188.

(11) GALZY P., PLAN C. — Essais de déclenchement contrôlé de la fermentation malolactique. **Vignes et Vins,** 1967, n° 158.

(12) PEYNAUD E. — Etudes récentes sur les bactéries lactiques du vin. **C.R. IIe Symposium International d'œnologie,** Bordeaux, 1967.

(13) PEYNAUD E., LAFON-LAFOURCADE S. — Etude d'un dosage simple de l'acide malique appliqué aux vins à l'aide de **Schizosaccharomyces pombe. Ann. Technol. Agric.,** 1965, **16,** 49.

(14) PEYNAUD E., BLOUIN J. et LAFON-LAFOURCADE S. — Review of applications of enzymatic methods to the determination of some organic acids in wines. **Amer. Journ. Enol. Vitic.,** 1966, **17,** 218.

(15) DUPUY P., MELAMED N. — La croissance de **Lactobacillus arabinosus** dans le jus de raisin. **84e Congrès des Sociétés Savantes,** Dijon, 1959, p. 263.

(16) BOCKER H. — Untersuchungen über die Bedeutung mineralischer Faktoren für den biologischen Säureabbau im Wein. **Zbl. Bakter. Parasit Infekt. Krank. Hygiene,** 1964, **118,** 249.