ISVV

INFLUENCE DE DEUX FONGICIDES SUR LA CROISSANCE ET LE MÉTABOLISME DE DEUX ESPECES DE LEVURES

BELIN J.-M., BESSIS R., MOUILLET L. et HENRY P.
Laboratoire de Botanique Appliquée, I.B.A.N.A.,
Faculté des Sciences, Institut Universitaire de Technologie, Dijon

Deux levures communes du vignoble de Bourgogne, choisies en raison de leurs métabolismes différents, **Saccharomyces cerevisiae et Rhodotorula mucilaginosa** cultivées en milieu artificiel stérile ont été mises en présence de deux fongicides : la Dichlofluanide (Euparène) et le Propinèbe (Antracol).

Les doses actives, précisées dans le travail, sont variables en fonction du fongicide, de l'espèce de levure et du ou des types de métabolismes permis ou imposés expérimentalement. L'analyse des résidus permet de préciser certains caractères du métabolisme.

L'étude a montré, en outre, qu'il était possible de séparer une action de ces fongicides d'une part sur la prolifération cellulaire et d'autre part, sur le métabolisme, notamment glucidique.

I. - OBJET DU PRESENT TRAVAIL.

Les pesticides utilisés pour les traitements anticryptogamiques de la Vigne peuvent avoir une influence sur la fermentation alcoolique lors de l'élaboration du vin. Les travaux réalisés dans les conditions naturelles avec des raisins préalablement traités sont fort nombreux. Les résultats obtenus, quoique très intéressants, sont trop souvent imprécis et parfois contradictoires. Il existe en effet deux écueils particuliers que nous avons cherché à éviter :

— La première de ces difficultés tient au fait que si l'on traite le raisin avec un pesticide, on ignore le plus souvent quelle concentration de ce pesticide on retrouvera dans le moût. Nous avons apporté notre pesticide directement dans le milieu de culture et nous avons suivi analytiquement l'évolution de sa concentration.

— La deuxième difficulté vient de ce qu'un grand nombre d'espèces de levures vivent sur le raisin (DOMERCQ, 1956 ; MINARIK, 1966 ; CASTELLI, 1967), et que ces espèces peuvent avoir des métabolismes différents et ne sont pas toujours également sensibles à une même concentration de pesticide. Or, la plupart des travaux réalisés antérieurement l'ont été à l'aide de l'ensemencement naturel ; même quand un levurage était effectué, le moût n'était pas au préalable stérilisé, ni l'apport de levure certainement monospécifique et maintenu en conditions stériles.

Pour éviter des interférences entre les différentes espèces de levures ou même le remplacement d'une flore fongique par une autre, qui pourrait se faire à notre insu, nous avons choisi la méthode des cultures stériles avec un ensemencement n'apportant qu'une seule espèce de levure. Une technique de ce type, mais appliquée à d'autres fongicides que ceux que nous étudions ici, a déjà été utilisée par de nombreux chercheurs et en particulier par DEMEAUX (1968).

Les études pratiques dans les conditions naturelles sont nécessaires, mais dès lors qu'on s'est aperçu qu'une influence existait, des méthodes plus précises doivent permettre de déterminer la sensibilité des différentes espèces de levures, c'est-à-dire particulièrement les doses limites tolérables et le niveau métabolique auquel interviennent ces fongicides.

II. - MATERIEL ET TECHNIQUES.

— Espèces de levures.

Les espèces étudiées ont été choisies parce qu'elles présentent deux types de métabolismes différents. **Saccharomyces cerevisiae** Hansen est une levure capable de réaliser un métabolisme fermentatif ou oxydatif selon les conditions de culture, alors que **Rhodotorula mucilaginosa** (Jörg) Harrisson ne peut réaliser que le métabolisme oxydatif. Ces deux espèces très communes ont été isolées dans le vignoble bourguignon sur la pellicule du raisin.

Ce choix de deux métabolismes fondamentalement différents permettra de tenter une première approche du problème de l'action des pesticides à certains niveaux du métabolisme cellulaire.

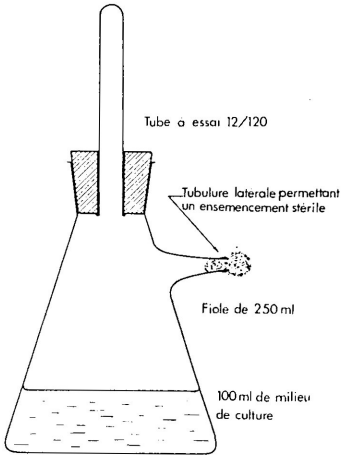


Fig. 1 — Fiole conique utilisée pour l'étude de la croissance des levures.

— **Fongicides utilisés.**

Deux fongicides ont été retenus : l'un est la dichlofluanide, fongicide polyvalent utilisé principalement pour lutter contre la pourriture grise du raisin ; c'est un dérivé chloré. Il risque de laisser des résidus au moment de la vendange ; sa solubilité dans le milieu de culture est de 31 mg par litre à 25° C. L'autre est le propinèbe, fongicide utilisé contre le mildiou de nombreuses plantes et particulièrement de la vigne ainsi que contre le **Botrytis** de certaines cultures maraîchères. C'est un fongicide organique du groupe des dithiocarbamates ; sa solubilité dans le milieu de culture est de 83 mg par litre à 25° C (1).

Dans le but d'éviter une éventuelle dégradation des fongicides à la chaleur, les solutions ou les suspensions qui les contiennent ne sont pas stérilisées mais préparées aseptiquement et apportées dans le milieu de culture à l'aide d'une seringue stérile.

— **Milieu de culture.**

Afin de rendre les résultats reproductibles, les cultures ont été réalisées dans des conditions parfaitement contrôlées. Le milieu de culture choisi est le liquide de Sabouraud stérilisé pendant 20 minutes à 120° C ; sa composition très simple (glucose 20 g par litre et peptone 10 g par litre) permet le dosage de substances nutritives résiduelles à la fin de la croissance des levures.

(1) Ces produits sous forme technique ainsi que leur méthode d'analyse nous ont été aimablement fournis par la Maison BAYER-PHYTOCHIM que nous remercions bien vivement ici. Ils sont commercialisés sous le nom d'Euparène pour la dichlofluanide et d'Antracol pour le propinèbe.

— **Conditions de culture.**

La culture a été effectuée dans des fioles coniques de 250 ml, une tubulure latérale fermée par un coton facilite l'ensemencement et assure une aération (fig. 1). L'orifice supérieur de la fiole est fermé par un bouchon traversé par un tube à essai qui sera utilisé pour suivre la croissance des levures par une méthode photométrique détaillée plus loin. Chaque fiole renferme 98 ml de milieu auquel on additionne stérilement 1 ml de solution contenant le fongicide à étudier et 1 ml de suspension de levures en activité renfermant environ 100.000 cellules c'est-à-dire qu'au départ, dans le milieu de culture on a 1.000 cellules par millilitre. La culture est maintenue à 25° C et constamment agitée.

— **Mesure de la croissance.**

Pour déterminer le nombre de cellules présentes dans le milieu, nous avons utilisé un électrophotomètre (GALZY, 1958) permettant de mesurer l'absorption de lumière par le milieu. En vue d'étalonner l'appareil, des dénombrements microscopiques directs sont effectués à l'aide d'une cellule hématimétrique de Thoma ; à chaque nombre de levures par millimètre cube correspond une valeur de la déviation néphélométrique. Le tube à essai situé à la partie supérieure des fioles de culture permet de faire ces mesures sans ouvrir le récipient donc sans risques de contamination et sans diminution de volume du milieu de culture. Une transformation de l'électrophotomètre permet d'effectuer les mesures, non plus dans une cuve à faces parallèles, mais dans un tube à essai. A cet effet, on utilise un bloc métallique qui maintient en place sur le trajet des rayons lumineux le tube à essai dont est munie la fiole renfermant la culture. Les lectures sont faites à 600 nm ; elles ne sont correctes que pour des densités optiques comprises entre 0 et 80 ; au-delà de 80 il n'y a plus proportionnalité entre concentration et densité optique, une courbe d'étalonnage est donc réalisée à l'aide de dilutions successives. Pour effectuer la mesure, la suspension de levures devrait être placée dans une cuve à faces parallèles de 1 cm d'épaisseur ; comme nous utilisons des tubes dont le diamètre est variable et difficile à déterminer avec exactitude, on pratique une correction déterminée en mesurant une même suspension de levures à la fois dans une cuve à faces parallèles et dans les tubes à étalonner ; les résultats obtenus pour un tube déterminé doivent être multipliés par le coefficient caractéristique du tube. En fait, cette correction ne modifie pas la valeur du taux de croissance et pourra donc être négligée dans cette étude.

Pour chaque souche de levures, il est nécessaire d'établir une nouvelle courbe du nombre de levures par millimètre cube en fonction des déviations de l'électrophotomètre.

— **Mesure des échanges gazeux.**

Une technique particulière permet de mettre en contact une quantité donnée de levures en phase de croissance exponentielle et de fongicide dans un milieu neuf.

L'activité d'un métabolisme oxydatif ou fermentatif peut être déterminée par la mesure de l'oxygène absorbé ou du gaz carbonique dégagé. Ces mesures sont faites par la méthode manométrique de Warburg qui consiste à mesurer le changement de pression de la quantité de gaz contenue dans une enceinte fermée à température et volume constants.

— **Auxanogrammes.**

Pour avoir une première idée de l'influence de ces fongicides sur la croissance des levures, nous avons utilisé la technique des auxanogrammes. Elle consiste à faire développer des levures mélangées à un milieu gélosé ; le produit à tester occupe au départ des régions déterminées de la culture (des cavités sont ménagées stérilement à l'emporte-pièce dans le milieu gélosé et remplies par des volumes identiques de suspension de fongicide à différentes concentrations) ; après incubation, on peut observer une auréole de non croissance des levures situées autour des régions où le fongicide a été déposé. Cette méthode s'est révélée assez imprécise avec les fongicides peu solubles que nous avons utilisés.

III - DEFINITION DES CRITERES UTILISES.

Différents critères nous ont permis de mesurer l'influence d'un fongicide sur la croissance des levures ; six d'entre eux, particulièrement importants, ont été retenus ici :

a) **Phase de latence**

C'est la période qui s'étend entre l'ensemencement et le moment où s'établit le taux de croissance constant et maximum qui caractérise la phase exponentielle.

b) **Taux de croissance pendant la phase de croissance exponentielle**

On appelle taux de croissance, le nombre de duplications de la quantité de matière sèche à l'heure ; on peut considérer que sa valeur

est très voisine du nombre de divisions cellulaires par heure ; il est fonction de la pente de la courbe pendant la phase exponentielle.

c) **Contrôle de vitalité**

Ce contrôle a été effectué par la coloration au Rouge Ponceau (MAAS et VAN STEVENINCK, 1966) ; elle permet de déterminer avec une erreur de l'ordre de 2 p. 100, le pourcentage de cellules mortes.

d) **Dosage des substances nutritives résiduelles**

Les protéines sont dosées par le réactif cuprotartrique de GORNALL et **al.** (1949) et le glucose par la liqueur de Fehling.

e) **Dosages des fongicides résiduels dans le milieu de culture**

La teneur en dichlofluanide est déterminée en saponifiant la matière active avec du méthylate de soude dans de l'alcool méthylique, les ions chlore formés sont titrés par potentiométrie. Pour le propinèbe, le dosage a lieu par scission du sulfure de carbone, lequel est recueilli dans une lessive de potasse ; le xanthate formé est titré avec une solution d'iode. Les techniques d'analyse nous ont été fournies par la Maison BAYER-PHYTOCHIM.

f) **Mesure des échanges respiratoires**

Ces mesures réalisées au microrespiromètre de Warburg permettent de se faire une idée précise de l'activité métabolique des levures maintenues en présence du fongicide.

IV - RESULTATS EXPERIMENTAUX.

1 - AUXANOGRAMMES

Les résultats fournis dans le tableau I montrent que les concentrations déterminant un début d'inhibition sont supérieures aux concentrations maximales de solubilité dans le milieu de culture à 25° C. (dichlofluanide : 31 mg par litre, propinèbe : 83 mg par litre). Les deux fongicides sont plus actifs sur **Saccharomyces cerevisiae** que sur **Rhodotorula mucilaginosa** et la dichlofluanide a une action inhibitrice plus marquée que le propinèbe. Il semble cependant que les résultats obtenus soient insuffisamment nets et trop fluctuants pour que cette méthode puisse être utilisée sans modification. On ne peut lui accorder qu'une valeur indicative.

TABLEAU I

Auxanogrammes. - Ordre de grandeur des concentrations de fongicides déterminant un début d'inhibition.

Levures	**Saccharomyces cerevisiae**		**Rhodotorula mucilaginosa**	
Fongicides	Dichlofluanide	Propinèbe	Dichlofluanide	Propinèbe
Ordre de grandeur des concentrations (mg par litre) déterminant un début d'inhibition.	50<C<75	250<C<500	250<C<500	500<C<1 000

2 - CULTURES STERILES EN MILIEU LIQUIDE.

a) **Influence de la dichlofluanide sur** Saccharomyces cerevisiae.

Les résultats d'ensemble sont présentés dans la figure 2. Certains faits marquants sont facilement observables. Des concentrations de l'ordre du mg par litre suffisent à influencer fortement la croissance de **Saccharomyces cerevisiae.** Plus la concentration de dichlofluanide augmente, plus l'activité des levures est retardée, c'est-à-dire que le temps de latence augmente ; parallèlement, le taux de croissance devient de plus en plus faible. Dans le même ordre d'idées, le tableau II montre que chez le témoin 4 p. 100 de cellules sont mortes pendant la phase exponentielle de croissance, contre 21 p. 100 avec 0,5 mg par litre de dichlofulanide et 49 p. 100 avec 1,25 mg par litre.

Les substances nutritives semblent inégalement utilisées ; en fin de croissance, le glucose est presque entièrement métabolisé, il n'en reste que 1,4 grammes dans le milieu contenant 1,25 mg par litre de dichlofluanide alors qu'il reste encore 7,5 grammes de protéines.

Etant donnée l'activité à très faible concentration de la dichlofluanide, les analyses des résidus de ce fongicide que nous avons réalisées en fin d'expérience sont trop imprécises pour être valables. Notre technique de dosage est insuffisante pour de telles concentrations.

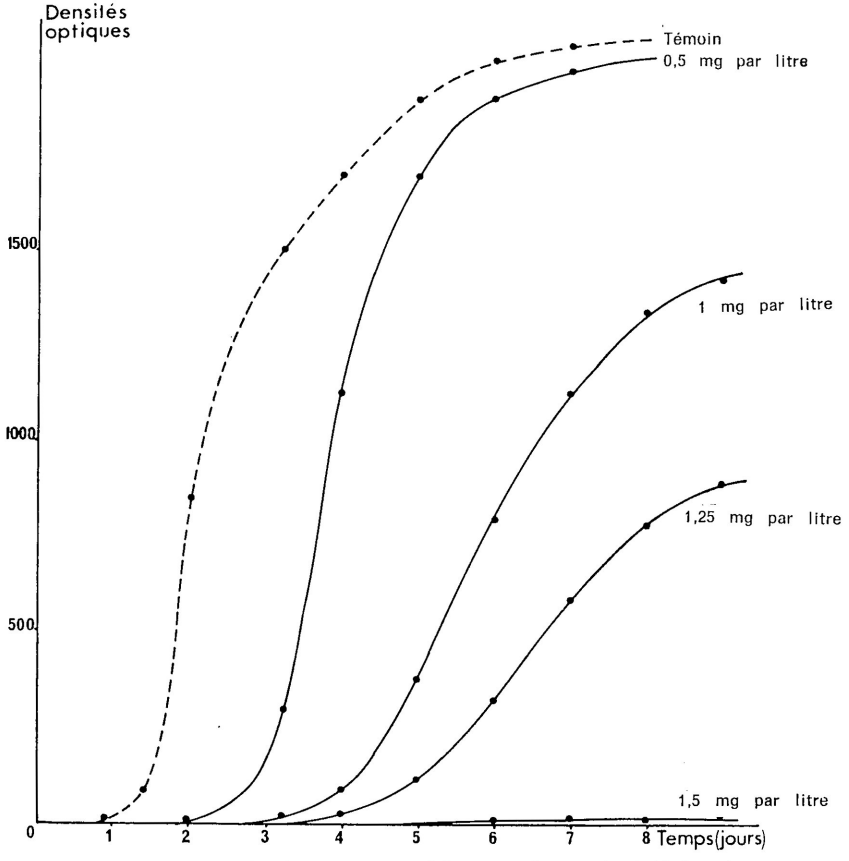


Fig. 2 — Croissance de **Saccharomyces cerevisiae** en présence de dichlofluanide.

TABLEAU II

Tableau récapitulatif de l'action de la dichlofluanide sur Saccharomyces cerevisiae.

Teneur en dichlofluanide (mg par l)	0	0,5	1	1,25
Temps de latence (heures)	32	66	89	118
Taux de croissance	0,17	0,1	0,045	0.039
Cellules mortes (p 100)	4	21	47	49
Protéines résiduelles (g par l)	2	3,3	5,3	7,5
Glucose résiduel (g par l)	< 0,5	< 0,5	< 0,5	1,4

Des mesures effectuées au microrespiromètre de Warburg sur des levures que l'on met brusquement en contact avec le fongicide alors qu'elles sont en phase de croissance exponentielle, montrent que l'inhibition de la respiration se produit pour des concentrations en dichlofluanide beaucoup plus importantes que celles qui bloquent la croissance. En effet, avec 100 mg par litre de ce fongicide dans le milieu de culture, la respiration n'est pas encore complètement arrêtée, alors que 1,5 mg par litre suffisait à bloquer complètement la croissance (fig. 3).

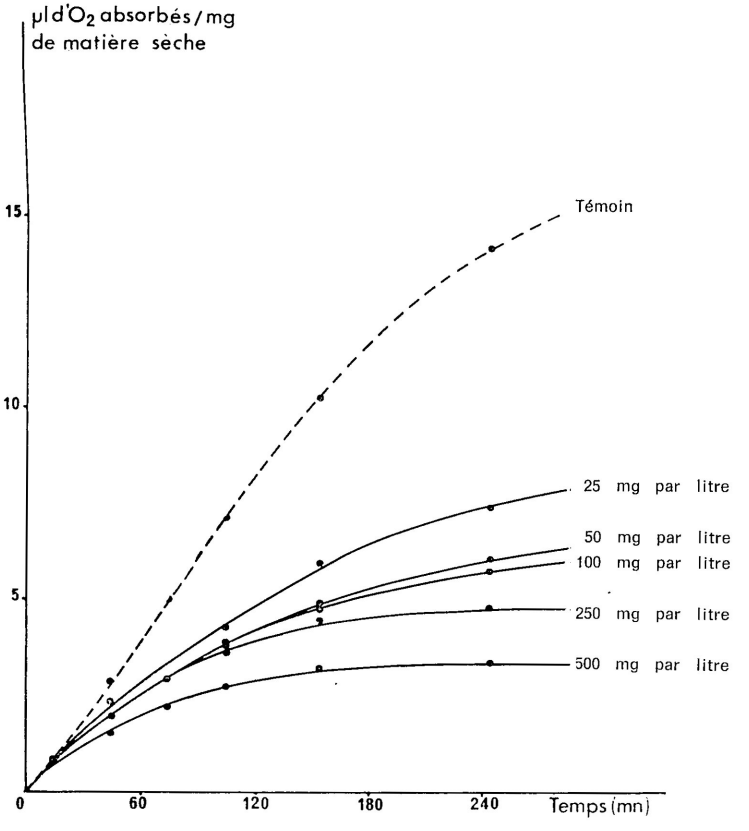


Fig. 3 — Respiration de **Saccharomyces cerevisiae** en présence de dichlofluanide.

Les processus fermentaires paraissent encore moins sensibles à la présence de dichlofluanide dans le milieu, avec 25 mg par litre, le dégagement de CO_2 est très voisin de celui obtenu pour le témoin (fig. 4).

Pour les très fortes concentrations de 250 et 500 mg par litre on peut noter que les échanges gazeux sont pratiquement arrêtés, mais cet arrêt ne suit pas immédiatement l'incorporation du fongicide au milieu de

culture ; l'influence du fongicide est d'autant plus rapide que la concentration est plus élevée. Avec 500 mg par litre le dégagement de CO_2 fermentaire s'arrête quelques minutes après l'apport de fongicide alors qu'avec 250 mg par litre, une heure après l'apport ce dégagement n'est pas encore complètement suspendu. Une telle relation entre la vitesse d'action et la teneur en fongicide a pu être constatée lors de toutes nos expériences sur la mesure des échanges gazeux.

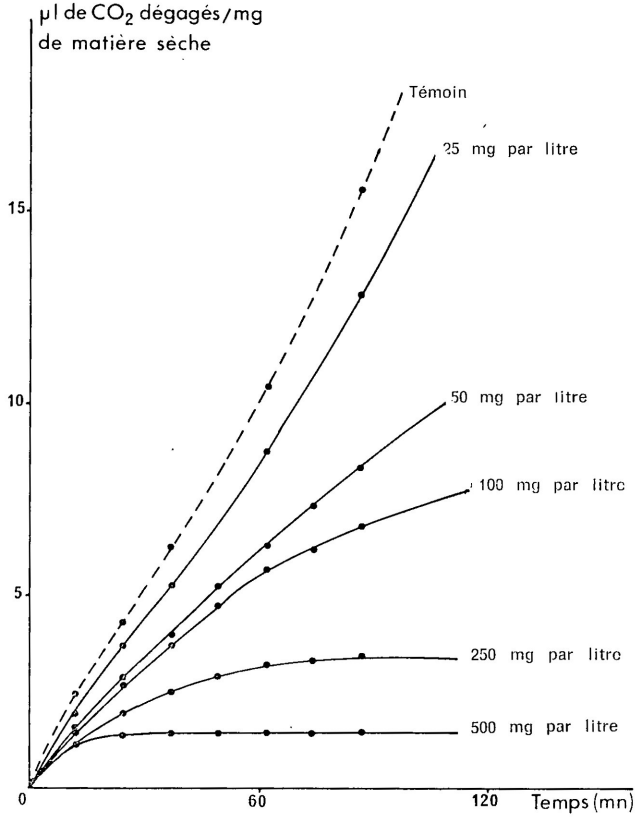


Fig. 4 — Fermentation de **Saccharomyces cerevisiae** en présence de dichlofluanide.

Il semble donc qu'à faible dose, de l'ordre du mg par litre, l'action de la dichlofluanide soit seulement, mais très fortement fongistatique, inhibant la prolifération cellulaire, mais n'ayant qu'une influence très réduite sur les processus de respiration ou de fermentation des cellules présentes dans le milieu ; c'est seulement pour les très fortes concentrations que cette influence sur le métabolisme devient importante.

b) **Influence de la dichlofluanide sur** Rhodotorula mucilaginosa

Les résultats d'ensemble présentés dans la figure 5 montrent que si l'aspect général des courbes de croissance est très voisin de celui décrit dans le cas précédent (augmentation du temps de latence et diminution du taux de croissance à mesure que la teneur en fongicide croît) les doses de fongicides doivent être beaucoup plus élevées pour être actives. Alors que sur **Saccharomyces cerevisiae** une inhibition quasi totale de la croissance était atteinte dès 1,5 mg par litre, il est nécessaire d'atteindre 10 mg par litre pour que **Rhodotorula mucilaginosa** commence d'être inhibée et avec 25 mg par litre cette inhibition n'est pas encore totale.

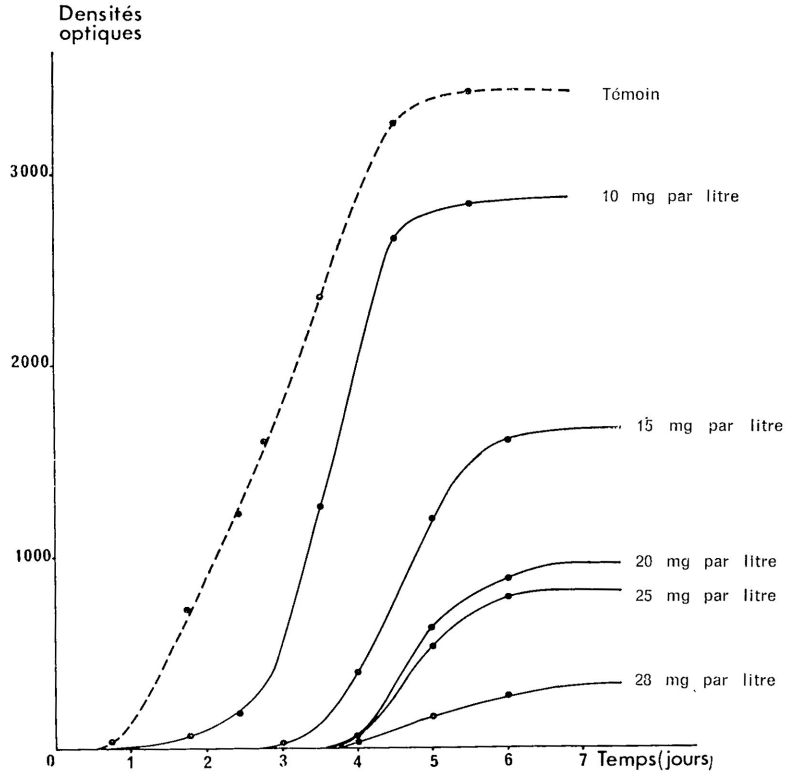


Fig. 5 — Croissance de **Rhodotorula mucilaginosa** en présence de dichlofluanide.

La présence du fongicide dans le milieu augmente notablement le pourcentage de cellules mortes aussi bien pendant la phase de latence que lors de la croissance exponentielle ; à ce moment, le taux de cellules

mortes est très faible chez les témoins (1 p. 100), il passe à 7 p. 100 pour 10 mg par litre de dichlofluanide et dépasse 40 p. 100 pour 28 mg par litre de cette substance.

A la fin de l'expérience des dosages ont montré qu'une grande partie de la dichlofluanide avait disparu (tableau III).

TABLEAU III

Dégradation de la dichlofluanide par Rhodotorula mucilaginosa

Teneur en dichlofluanide (mg par litre)	0	10	15	20	25	28
Dichlofluanide résiduelle (mg par litre)	0	0	3.5	7	8,75	13
Dichlofluanide dégradée (mg par litre)	0	10	11,5	13	16,25	15

La mesure des échanges respiratoires fournit des valeurs de la respiration de **Rhodotorula mucilaginosa** très voisines de celles obtenues avec **Saccharomyces cerevisiae.** Cette levure étant à métabolisme uniquement oxydatif, il est bien sûr impossible de tester sa réaction en l'absence d'oxygène.

c) **Influence du propinèbe sur** Saccharomyces cerevisiae.

Les courbes obtenues (fig. 6) illustrent les effets de ce fongicide sur la croissance de la souche de levures. Le temps de latence passe d'une vingtaine d'heures pour le témoin à 160 heures pour la culture effectuée avec 58 mg par litre de propinèbe, mais le taux de mortalité des levures n'est que très peu influencé par le fongicide ; il reste toujours très bas, de l'ordre de 3 p. 100 pendant la phase exponentielle. Les substances nutritives du milieu sont inégalement utilisées, le glucose est pratiquement tout consommé mais il reste en fin de culture, une quantité non négligeable de protéines et cette quantité est croissante à mesure que la teneur en fongicide augmente (tableau IV).

La concentration en propinèbe résiduel montre que pour les teneurs inférieures à 25 mg par litre, il est entièrement dégradé, mais au-delà d'un certain seuil, plus la concentration en fongicide augmente, moins sa

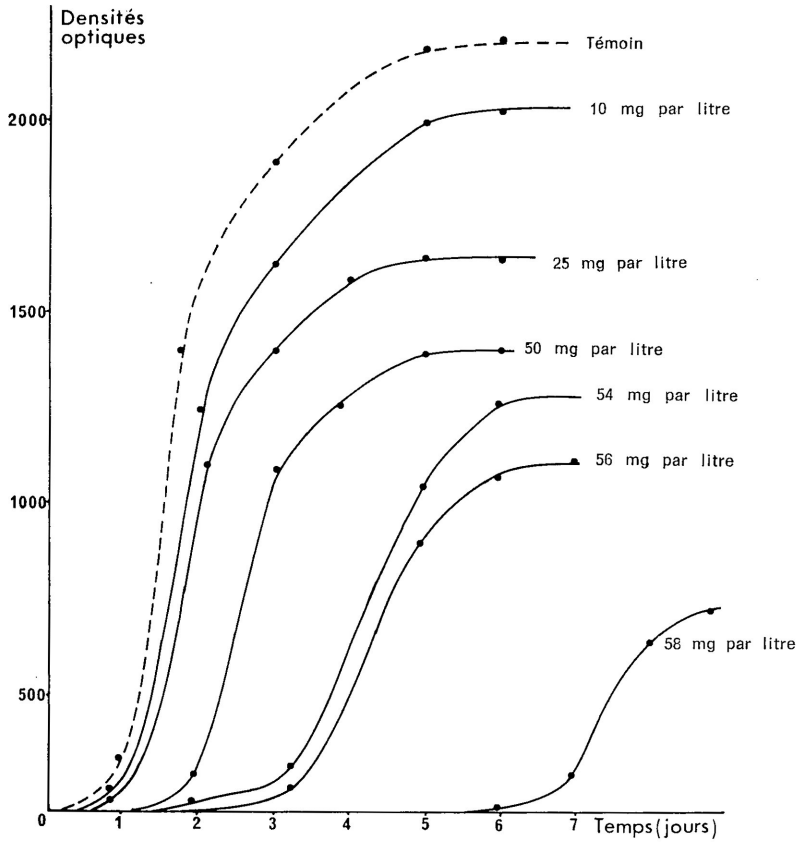


Fig. 6 — Croissance de **Saccharomyces cerevisiae** en présence de propinèbe

TABLEAU IV

Tableau récapitulatif de l'action du propinèbe sur Saccharomyces cerevisiae

Teneur en propinèbe (mg par litre)	0	10	25	50	54	58
Protéines résiduelles (g par litre)	2	2,6	4	4,8	6,6	9,3
Glucose résiduel (g par litre)	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,8
Propinèbe résiduel (mg par litre)	0	0	Traces	23	30	47
Propinèbe dégradé (mg par litre)	0	10	25	27	24	11

dégradation est intense. L'existence de cette dégradation permet de proposer une explication à l'augmentation de l'activité pour des doses supérieures à la solubilité maximale du produit ; on peut penser qu'à mesure que le produit se dégrade, de nouvelles quantités entrent en solution et que la saturation peut durer ainsi pendant tout le temps de la culture malgré la dégradation.

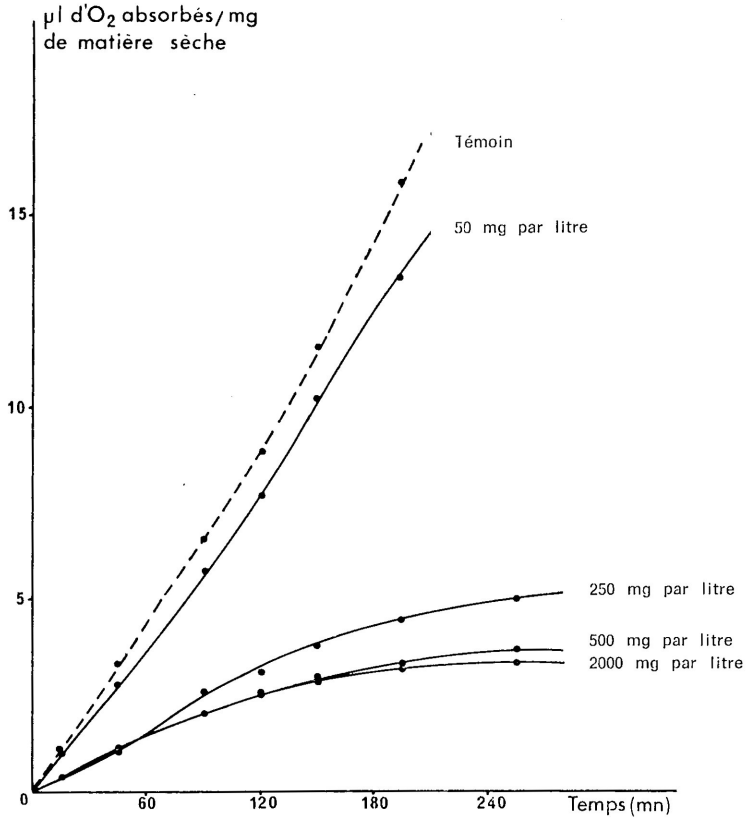


Fig. 7. — Respiration de **Saccharomyces cerevisiae** en présence de propinèbe.

La méthode de Warburg permet de mettre en évidence que les processus de respiration de **Saccharomyces cerevisiae** sont beaucoup plus sensibles à la présence de propinèbe que les processus de fermentation (fig. 7 et 8). il semble donc, dans ce cas, que le métabolisme fermentatif constitue une forme de résistance à la présence du fongicide dans le milieu. Un tel phénomène, quoique moins accentué, était déjà notable avec cette levure en présence de dichlofluanide.

d) **Influence du propinèbe sur** Rhodotorula mucilaginosa

Le propinèbe n'a d'action sur cette levure qu'à de fortes concentrations de l'ordre de 100 mg par litre. Comme sur **Saccharomyces cerevisiae,** le taux de mortalité n'a pas augmenté, il reste ici aussi, toujours inférieur à 5 p. 100 pendant la phase exponentielle. Les matières nutritives ne sont pas entièrement métabolisées ; c'est-à-dire que la prolifération cellulaire s'arrête avant leur épuisement. L'effet du propinèbe est donc assez puissant.

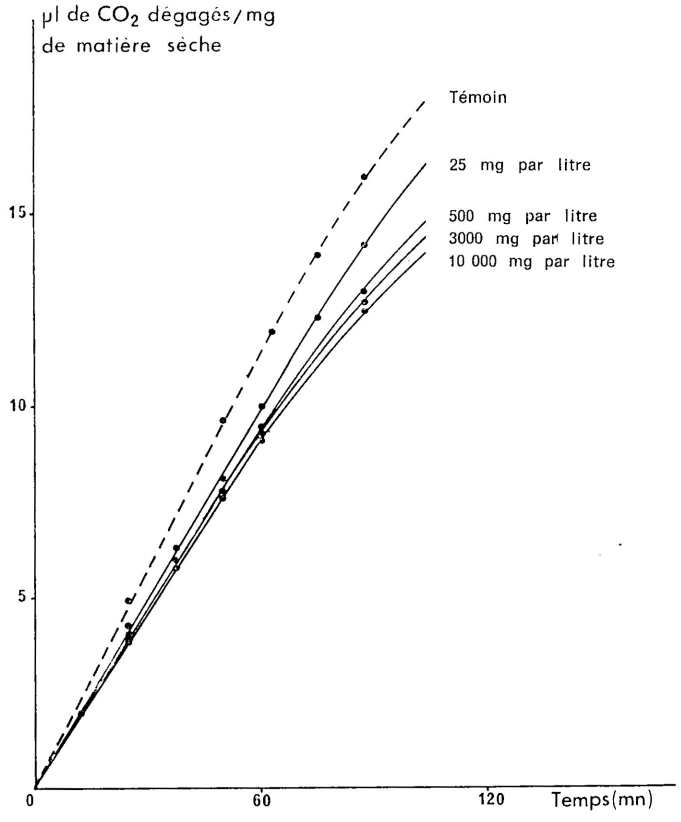


Fig. 8 — Fermentation de **Saccharomyces cerevisiae** en présence de propinèbe.

Comme dans le cas précédent, on remarque que la dégradation du propinèbe très intense pour les concentrations inférieures à 100 mg par litre diminue d'autant plus fortement que la concentration s'élève (tableau V).

TABLEAU V

Dégradation du propinèbe par Rhodotorula mucilaginosa

Teneur en probinèbe (mg par litre)	0	100	150	200	220	240
Propinèbe résiduel (mg par litre)	0	25	82	130	190	215
Propinèbe dégradé (mg par litre)	0	75	68	70	30	25

Cette levure n'étant capable que d'un seul type de métabolisme, les résultats obtenus par la mesure des échanges gazeux n'ont que peu d'intérêt, ils sont du même type que les précédents, nous ne les détaillerons pas ici.

V - CONCLUSION.

Il apparaît ainsi qu'un fongicide à très faible dose peut avoir une action sur la croissance d'une culture de levure, c'est-à-dire sur la **multiplication cellulaire,** alors qu'à cette même dose il reste pratiquement sans effet sur certains caractères du métabolisme, **les échanges gazeux** par exemple. Ceci est le cas de la dichlofluanide à des concentrations de l'ordre du mg par litre dans les cultures de **Saccharomyces cerevisiae.**

Pour le propinèbe, des résultats du même type ont été obtenus, mais avec des concentrations beaucoup plus élevées : la multiplication cellulaire de **Saccharomyces cerevisiae** est fortement inhibée à partir d'une cinquantaine de mg par litre de matière active alors que les processus fermentaires ne sont qu'à peine ralentis en présence de concentrations de 500 mg par litre.

D'autre part, l'action d'un même fongicide est différente sur des levures d'espèces différentes : **Rhodotorula mucilaginosa,** levure à métabolisme oxydatif s'est montrée plus résistante que **Saccharomyces cerevisiae** vis-à-vis des deux fongicides que nous avons utilisés.

Cependant, chez **Saccharomyces cerevisiae,** qui est capable de réaliser les deux types de métabolismes, il apparaît que le métabolisme fermentaire est moins sensible à la présence de fongicide que le métabolisme oxydatif. Cette remarque est valable pour les deux substances qui ont été l'objet de notre expérimentation.

Il peut être utile d'établir une comparaison de l'activité de la dichlofluanide sur **Saccharomyces cerevisiae** et sur **Botrytis cinerea.** Les résultats obtenus avec ce dernier champignon nous sont fournis par un travail de CHANCOGNE et CHARIFI (1968). La multiplication des levures et la croissance du mycélium de **Botrytis cinerea** sont des phénomènes de même nature, leur inhibition se produit de manière intense pour des concentrations de l'ordre de 1 mg par litre pour la levure et de 300 mg par litre pour la pourriture grise.

Pour ce qui est des échanges gazeux, la respiration de **Saccharomyces cerevisiae** est fortement ralentie en présence de 500 mg par litre, et celle de **Botrytis cinerea** en présence de 1.000 mg par litre.

Il ressort de ce travail, que la présence d'un fongicide dans un milieu du culture, ou par extension dans un moût, entraîne de multiples conséquences relativement aux processus biologiques et biochimiques qui se produiront dans le milieu. Nous avons montré que des espèces différentes réagissent différemment, cela revient à dire que dans un moût qui contiendrait un fongicide, certaines espèces seraient sélectionnées. D'autre part, un fongicide peut agir à un ou plusieurs niveaux de la vie cellulaire, il peut, par exemple, inhiber les multiplications cellulaires, c'est-à-dire agir comme un antimitotique, ou perturber certains caractères du métabolisme, c'est-à-dire de l'utilisation et de la transformation du substrat.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CASTELLI T., 1967. Ecologie et systématique des levures de vin. **2e Symposium international d'œnologie,** Bordeaux. 89-105.

CHANCOGNE M. et CHARIFI M., 1968. Action de quelques fongicides sur **Botrytis cinerea. Phytiat. - Phytopharm. 17,** n° 4, 311-315.

DEMEAUX M., 1968. **Influence de quelques pesticides sur diverses souches de levures de vin.** Thèse 3e cycle. Fac. Sc. Caen.

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

GALZY P., 1958. Observations sur l'utilisation d'un électrophotomètre pour l'étude de la croissance des levures. **Ann. Techn. Agri.,** n° 4, 454-462.

GORNALL A.G., BARDAWILL C.S. et DAVID M.M., 1949. Détermination of serum proteins by means of the biuret reactions. **J. Biol. Chem. 177,** 751-766.

MAAS M. et VAN STEVENINCK J., 1966. A method for selective staining of damaged yeast cells. **Experientia, 23,** n° 5, 405-406.

MINARIK E., 1966. **Ecology of natural wine - yeast species in Czechoslovakia.** Thèse. Bratislava.