

# Etude de la flore levurienne de différents terroirs alsaciens

J.L. LEGRAS, J.P. MEYER, E. LEGNAME, A. SCHAEFFER

INRA, Station de recherches Vigne et Vin, laboratoire d'Oenologie - IPV  
8, rue Kleber B.P. 507, 68021 COLMAR Cedex

## 1 - INTRODUCTION :

L'utilisation de levures sélectionnées est généralement considérée comme le moyen d'éviter les problèmes fermentaires. Néanmoins de nombreux viticulteurs pensent que ces levures sont à l'origine d'une standardisation des vins et militent pour le respect d'une flore indigène (Bourguignon, 1992).

De nombreux travaux récents éclairent d'un jour nouveau le concept de flore indigène (Frezier et Dubourdieu, 1992 ; Versavaud *et al.*, 1993 ; Delteil *et al.*, 1996). Dans notre démarche de caractérisation des vignobles alsaciens, ce travail a pour objectifs de fournir des éléments de réponses à deux questions :

- Existe-t'il une flore levurienne "indigène" de *Saccharomyces cerevisiae* spécifique à chaque terroir ?
- Que devient cette flore au cours d'une vinification traditionnelle ?

## 2 - MATERIEL ET METHODES

Deux dispositifs expérimentaux ont été utilisés pour répondre à ces deux questions :

- des minivinifications en conditions d'aseptie contrôlées afin d'éviter l'effet du facteur humain ;
- des minivinifications "en flore indigène" dans notre cuverie expérimentale.

### 2.1 - Dispositifs expérimentaux :

	Conditions aseptiques	Vinification traditionnelle
<b>Réseau parcellaire</b>	- Quatre parcelles : 1NEU, 2BRA 1THI et 2MAM - traitement phytosanitaires harmonisés suivant le protocole n°143 de l'A.N.P.P.	- Huit parcelles : 1WIN, 1NEU, 1BRA, 2BRA, 1ALT, 1THI, 1MAM, 2MAM (E. LEBON, 1993)
<b>Vendanges</b>	- 20 kg de raisin récoltés à l'aide de gants et ciseaux stérilisés.	- 100 kg de raisin récoltés classiquement.
<b>Vinifications</b>	- Pressoir à paquets désinfecté complètement (toiles neuves) : - Débourage 16 heures (150-250 NTU) - Bonbonnes de 20 litres lavées et aseptisées	- Pressoir pneumatique lavé. - Débourage 16 heures (150-250 NTU) - Bonbonnes de 20 litres lavées et désinfectées
<b>Prélèvements</b>	3 stades : début (3%v/v), milieu (7%v/v), et fin de fermentation (11%v/v) alcoolique (F.A.)	fin de fermentation alcoolique (11%v/v)



## 2.2. Caractérisation des levures :

A chaque stade prélevé, 36 souches sont caractérisées par électrophorèse en champ pulsé (Geneline II, Beckman).

## 3 - RESULTATS

### 3.1 - Etude de la microflore en conditions d'asepsie contrôlées :

#### 3.1.1. Dynamique des flores au cours de la fermentation.

Au cours des essais 1993 et 1994, nous avons révélé une microflore fermentaire essentiellement constituée par les souches de *Saccharomyces cerevisiae*. Nous avons constaté une forte évolution des flores levuriennes au cours de la fermentations (fig. 1) avec :

- une diminution du nombre de souches différenciées en fin de fermentation ;
- le plus souvent la souche dominante en fin de fermentation l'était également au début de la fermentation ; mais parfois il y a changement de souche dominante (ex : 1THI en 1994).

#### 3.1.2. Comparaison des flores de différentes parcelles

1 - Au cours des campagnes 1993 et 1994 nous avons identifié pendant la fermentation sur trois parcelles (terroirs : 1NEU, 2BRA, 1THI), un profil dominant et majoritaire (Ia) associé à un certain nombre de profils présentant des différences mineures (Ib, Ic...) que l'on peut associer en une famille. Ce profil dominant a été également identifié en 1992 sur 1NEU et 2BRA lors d'essais préliminaires. Cette souche dominante était accompagnée d'un certain nombre d'autres souches très minoritaires (fig. 1). Nous avons ainsi obtenu des flores relativement homogènes et proches sur 1 NEU et 2BRA.

2 - Sur la parcelle 1THI, bien que le même profil I ait été retrouvé majoritairement en 1993 et en fin de fermentation en 1994, d'autres profils ont été relevés (majoritaire en début de fermentation en 1994 ) qui différencient la flore de cette parcelle de celle de 1NEU et 2BRA.

3 - Enfin sur la quatrième parcelle (2MAM), des profils majoritaires différents ont été mis en évidence en 1992, 1993 et 1994. suivant les années. Le profil I a également été relevé mais en très faibles proportions.

### 3.2 - Etude de minivification en flore spontanée en cuverie expérimentale

Au cours des trois campagnes 1992, 1993 et 1994, nous avons observé un très grand polymorphisme parmi les souches caractérisées par électrophorèse en champ pulsé (fig. 2). Les flores identifiées en fin de fermentation alcoolique sont quasi-exclusivement constituées par l'espèce *Saccharomyces cerevisiae* et sont très variables quant à leur degré d'homogénéité.

Nous avons en effet rencontré des situations où la flore de fin de fermentation était réduite à une seule souche, alors que dans d'autres cas, nous avons différencié une quinzaine de caryotypes.

Bien que certaines souches ont été isolées sur plusieurs parcelles, nous n'avons pas mis en évidence de souche majoritaire dans un grand nombre de parcelles tel que cela avait déjà été décrit en champagne par Vezinhet *et al.* (1992) ou en Corse par le C.I.V.A.M. (1993).

Par ailleurs, nous avons rarement trouvé en fin de fermentation l'un des profils dominant obtenu dans les conditions maximales d'asepsie.

Malgré les précautions prises, les profils d'un certain nombre de levures sélectionnées (C19 et Eg8) ont été retrouvés dans les prélèvements effectués en fin de F.A., parfois même en majorité, ce qui montre la difficulté à préserver et à utiliser cette flore indigène des raisins.

## CONCLUSION

1 - Il semble exister une flore levurienne présente sur les raisins qui puisse se maintenir d'une année à l'autre dans la parcelle, et bien que nous ayons obtenu des flores semblables pour certaines parcelles géographiquement proches, il existe une certaine variabilité des flores selon les parcelles.



2 - Dans la pratique, les flores retrouvées en cuverie présentent un polymorphisme clonal élevé. Elles sont peu le reflet des flores obtenues à partir de raisin dans des conditions maximales d'aseptie et contiennent par contre fréquemment les levures utilisées dans la cave.

A l'avenir, les microflores de parcelles très éloignées (Haut et Bas Rhin...) seront analysées de façon à déterminer si la flore est liée à un terroir ou à une zone géographique.

Il conviendra évidemment de confirmer l'identité des souches en utilisant une seconde technique d'identification (PCR, profil de restriction de l'ADN mitochondrial).

Les facteurs de dominance des souches au sein des groupes devront également être recherchés, (présence de caractères Killer...) de façon à mieux comprendre les mécanismes qui déterminent la dynamique des populations de levure.

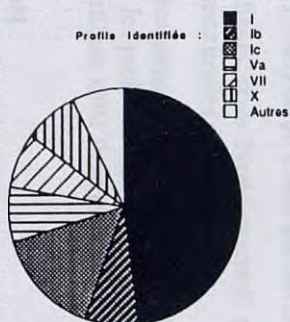
## REFERENCES

- BOURGUIGNON, C., (1992). Vers une approche microbiologique du terroir et de la typicité., *Rev. Oenol.* 64, 36-36
- C.I.V.A.M. CORSE, (1993). Flore levurienne et phenotype killer sur vermentinu en Corse, *C.I.V.A.M. de la région Corse, BASTIA*
- DELTEIL, D., LOZANO, L., FLEURENT, J., DULAU, L., (1996). Caractérisation génétique et fermentaire de la microflore levurienne d'une cave de côte rôtie ; *Oenologie 95, 5ème symposium d'Oenologie de Bordeaux, 269-271, Lavoisier, Paris*
- FREZIER, V., DUBOURDIEU, D., (1992). Ecology of yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* during spontaneous fermentation in a Bordeaux winery. *Am. J. Enol. Vitic.* 43, 375-380
- LEBON, E., (1993) : *De l'influence des facteurs pedo- et meso-climatiques sur le comportement de la vigne et les caractéristiques du raisin.* Thèse de doctorat en sciences de la terre, Université de Bourgogne, DIJON.165p.
- VERSAVAUD, A., DULAU, L., HALLET, J.N., (1993). Etude écologique de la microflore levurienne spontanée du vignoble des Charentes et approche moléculaire de la diversité intraspécifique chez *Saccharomyces cerevisiae*. *Rev. Fr. Oenol.* 142, 20-28
- VEZINHET, F., HALLET, J.N., VALADE, M., POULARD, A., (1992). Ecological Survey of wine yeast strains by molecular methods of identification. *Am. J. Enol. Vitic.* 43, 83-86

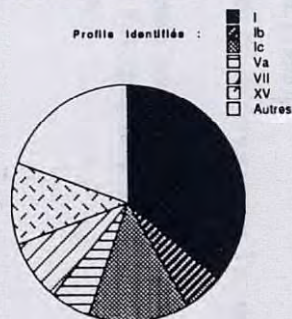


## 1 NEU

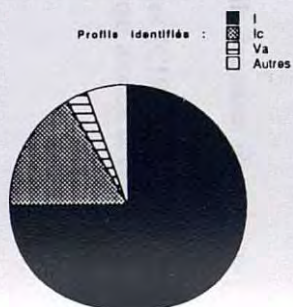
Début de fermentation :



Milieu de fermentation :



Fin de fermentation :

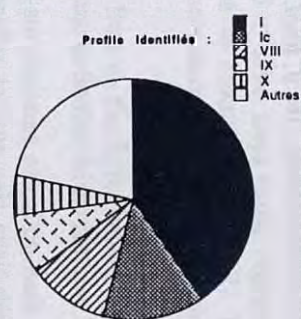


## 2BRA

Début de fermentation :



Milieu de fermentation :



Fin de fermentation :

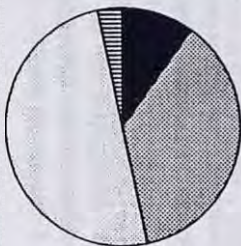


1THI

Début de fermentation :

Profilas Identifiées :

- I
- IV
- IVa
- V

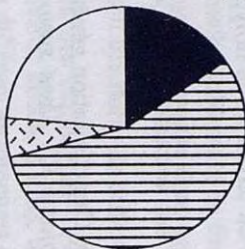


2MAM

Début de fermentation :

Profilas Identifiées :

- I
- Va
- XV
- Autres



Milieu de fermentation :

Profilas Identifiées :

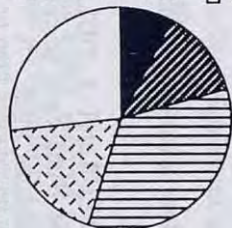
- I
- b
- IV
- IVa
- V
- Autres



Milieu de fermentation :

Profilas Identifiées :

- I
- b
- Va
- XV
- Autres



Fin de fermentation :

Profilas Identifiées :

- I
- b
- IV
- IVa
- V
- VI
- Autres



Fin de fermentation :

Profilas Identifiées :

- Va
- Autres





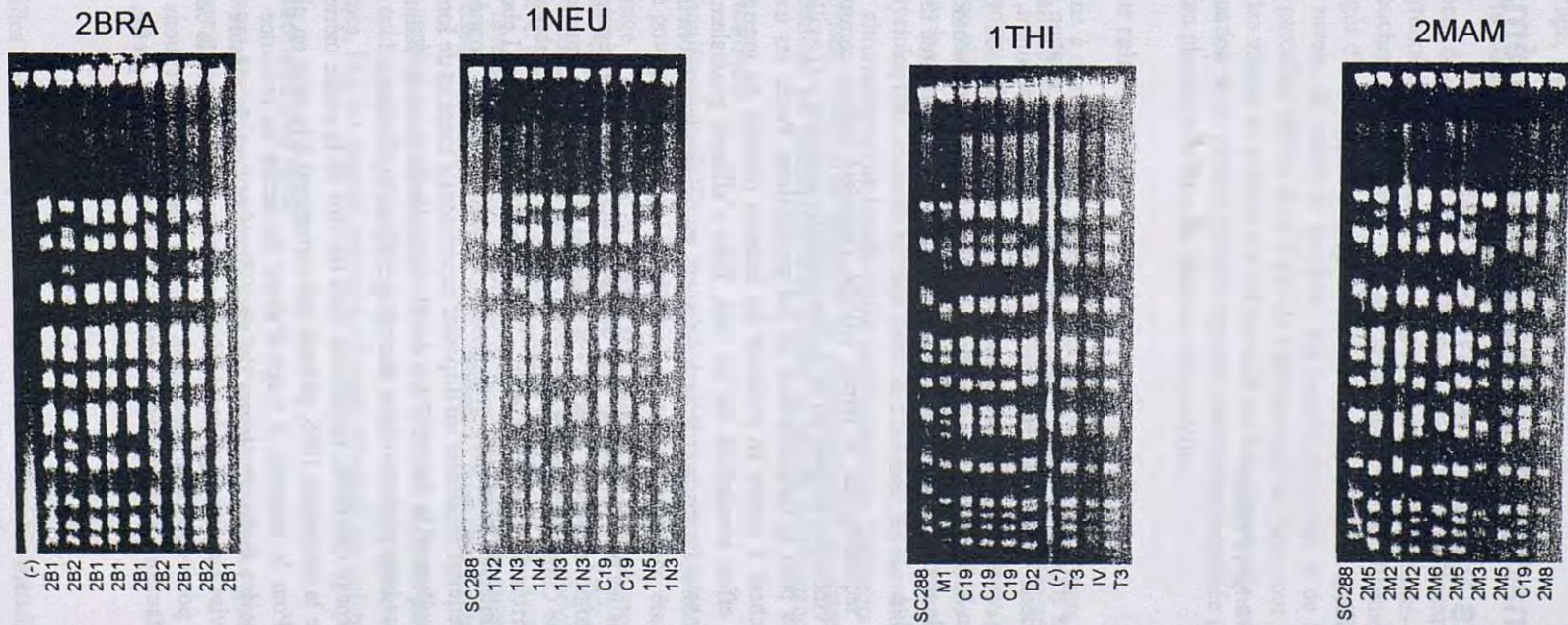


Fig.2 : Aperçu de la diversité des caryotypes obtenus en minivinification traditionnelle (vendanges 1994)