



> Edition 2024

Fermentations alcooliques indigènes

État des connaissances et conseils pratiques pour les vignerons

AVEC LE SOUTIEN FINANCIER DE







Pierrick LAVAU

Vigneron Bio
à Saint-Etienne-de-Lisse (33330)

*Président de la Commission Technique
de Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine*

ÉDITO

« Mes chers collègues,

La question de la réduction des intrants est au cœur du quotidien de filière vin Bio. Le vigneron Bio souhaite sans cesse progresser au niveau de sa technicité afin de respecter les phénomènes naturels tels que la fermentation, tout en obtenant le profil produit désiré. Le thème des fermentations indigènes est un sujet toujours actuel. La Commission Technique de Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine a été sollicitée pour continuer à diffuser des résultats et conseils pratiques. Avec l'aide de nos partenaires (OENO-ISVV, Microflora, IFV, Chambres d'Agricultures) et des témoignages de vignerons (merci à eux !), vous trouverez dans cette plaquette des réponses et idées pouvant nourrir votre stratégie de vinification.

Bonne lecture ! »

table des matières

Introduction	9
Diversité des levures et dynamiques de populations	10
Dynamiques de populations entre la vigne et le chai.....	10
Quelles levures sont présentes en phase pré-fermentaire ?.....	12
Zoom sur les levures non-Saccharomyces.....	13
Quels outils d'analyses microbiologiques pour dénombrer ou caractériser ces micro-organismes ?.....	15
Les outils pour des fermentations indigènes	20
Les indispensables à connaître avant de se lancer.....	20
Comment réaliser un pied de cuve ? Résultats de recherche.....	21
Comment choisir entre fermentation spontanée et pied de cuve ?.....	25
Comment gérer une fermentation indigène ?.....	26
Conclusion	30
Pour aller plus loin	30

A l'attention du lecteur : cette plaquette se concentre sur la fermentation alcoolique.

Comité de rédaction : Marina Bély (UMR OENO-ISVV), Morvan Coarer (IFV), Marie-Charlotte Colosio (IFV), Cécile Houdayer (VBNA), Anne Hubert (VBNA), Isabelle Masneuf (UMR OENO-ISVV/BSA), Julie Maupeu (Microflora), Camille Pagie Dumonteuil (CA33), Stéphane Seurin (CA33), Emmanuel Vinsonneau (IFV).

Comité de relecture : Warren Albertin (UMR OENO-ISVV), Stéphane Becquet (VBNA/ITAB), Laure Cayla (IFV), Philippe Cottereau (IFV), Séverine Dupin (CA33), Cécile Miot-Sertier (UMR OENO-ISVV), Amélie Vallet-Courbin (Microflora).

Nous adressons tous nos remerciements aux domaines, vignerons, chercheurs et l'ensemble des professionnels de la filière ayant participé à ce travail en mettant à disposition leur matériel, leurs vins, leurs données, leur savoir-faire et leur temps !

LES PARTENAIRES



VIGNERONS BIO
NOUVELLE AQUITAINE

Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine est un syndicat professionnel créé en 1995 par des vignerons Bio, pour des vignerons Bio. Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine représente les intérêts de 200 structures viticoles Bio auxquelles s'ajoutent une centaine de coopérateurs par notre partenariat avec Interbio Nouvelle-Aquitaine. La volonté du Syndicat est de développer une viticulture biologique certifiée, plurielle et viable économiquement autour de 4 grands pôles : la défense syndicale, l'expertise œnologique et économique, la promotion des vins Bio et la recherche et l'expérimentation. **Tous les vignerons certifiés Bio ou en conversion de Nouvelle-Aquitaine peuvent adhérer, contactez-nous !**



L'Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV) favorise l'agilité technique de la filière vitivinicole en s'appuyant sur des démarches régionales de co-innovation et en utilisant l'ensemble des vecteurs de savoirs (formation, diffusion...), en vue de contribuer à la compétitivité économique et la durabilité de la filière vitivinicole. **Il apporte des solutions et des références techniques à la filière vitivinicole française pour l'accompagner dans ses défis : l'agroécologie et l'adaptation au changement climatique à travers un vaste champ pluridisciplinaire scientifique.** L'IFV contribue ainsi par son activité de recherche et développement à accompagner la transformation de la filière pour bâtir la viticulture du futur. Depuis 2023, l'IFV est labellisé RSE niveau confirmé.



La Chambre d'agriculture de la Gironde est chargée de représenter et de fédérer l'ensemble des acteurs de la filière agricole du département. Elle joue un rôle d'information et d'aide aux agriculteurs et assure une triple mission :

- Représenter et défendre les intérêts agricoles auprès des pouvoirs publics et des collectivités territoriales,
- Coordonner les actions de développement agricole,
- Conseiller et accompagner les agriculteurs et les collectivités dans leurs entreprises et leurs projets.



© Vignoble Boudon

Dans ce cadre, le Pôle Viticulture-Œnologie de la Chambre d'agriculture de la Gironde mène des actions pour améliorer et garantir le niveau qualitatif des vins de Bordeaux. En collaboration avec les membres du Vinopôle Bordeaux-Aquitaine, d'autres chambres d'agriculture et les centres de recherche, des expérimentations sur la réduction des intrants et les différentes pratiques de professionnels sont menées. L'équipe bénéficie d'un outil de vinification performant, adapté à la production de vins en petits volumes et d'un laboratoire accrédité COFRAC. Elle a également obtenu l'agrément Bonnes Pratiques d'Expérimentation (BPE) pour l'expérimentation phytosanitaire de produits en viticulture et l'étude des effets non intentionnels lors de la vinification et est agréée Crédit Impôt Recherche (CIR).



ISVV
INSTITUT DES SCIENCES
DE LA VIGNE ET DU VIN
BORDEAUX AQUITAINE

UMR
1366
OENO

L'Unité Mixte de Recherche OENOLOGIE (OENO) est rattachée à l'Institut des Sciences de la Vigne et du Vin (ISVV). Elle rassemble plus de 120 chercheurs, enseignants-chercheurs, ingénieurs, techniciens, doctorants, post-doctorants et autres personnels contractuels de l'Université de Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP et Bordeaux Sciences Agro. Sa mission principale est d'accompagner la filière vitivinicole en produisant des connaissances fondamentales, des savoir-faire transférables et des innovations qui aident à maîtriser et améliorer la qualité et la typicité du vin. Ses compétences scientifiques couvrent toutes les disciplines de l'œnologie, depuis la baie de raisin jusqu'à sa transformation en vin et sa perception sensorielle. Ce qui inclut la **biochimie** du raisin, la **chimie analytique**, la **microbiologie**, le **génie des procédés** et l'**analyse sensorielle**. L'UMR est également spécialiste de la valorisation des sous-produits de la vigne et du vin et de leurs composés d'intérêt pour la santé humaine ou la protection des plantes.



Microflora est une des quatre cellules de transfert de l'ISVV, adossée à l'Unité Mixte de Recherche Œnologie (UMR 1366 OENO). **Son rôle est de valoriser les dernières avancées techniques et scientifiques des résultats de Recherche au service des professionnels de la filière.** Microflora maîtrise une **gamme complète d'expertises en analyses innovantes en microbiologie appliquées à l'œnologie** afin d'accompagner les professionnels dans leurs innovations et développement.

REJOIGNEZ NOTRE POOL DE VIGNERONS EXPERIMENTATEURS !

Depuis 2011, Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine participe à des programmes de recherche sur le vin Bio en proposant aux vignerons adhérents d'être acteurs d'expérimentations. Les collaborations établies avec nos partenaires, permettent de répondre à la problématique selon 3 échelles :

- Recherche fondamentale par l'ISVV.
- Recherche appliquée en parcelles et chais expérimentaux par l'IFV, Chambres d'agriculture, Vinopôle Bordeaux Aquitaine.
- Recherche appliquée en conditions terrain par Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine.

A noter que certains projets d'envergure nationale ou internationale font intervenir des partenaires d'autres régions viticoles de France ou du monde.

Tous les sujets sont choisis et décidés en Commission technique de Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine directement par les vignerons.

« Qu'est-ce que cela peut apporter à mon exploitation d'intégrer le pool ? »

- Travailler sur des problématiques techniques que vous rencontrez et ce, gratuitement.
- Placer votre exploitation dans une dynamique de constante amélioration de qualité de vos vins Bio.
- Être au courant des dernières innovations et résultats de recherche.

« Qu'est-ce que l'on attend de moi ? Cela va me prendre du temps ? »

Toute expérimentation, la plus simple soit-elle, demande surtout de **la rigueur, du début à la fin du test** (ne pas s'arrêter en route, ou changer le protocole) : sinon, pas de résultats exploitables.

Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine sera à vos côtés avant, pendant et après l'expérimentation. La totalité du processus sera décrit et discuté au préalable : nous **limitons au maximum les imprévus** (bien qu'en recherche, le 0 imprévu n'existe pas !). **C'est donc bien vous, qui serez amenés à réaliser les essais dans votre chai, en suivant ce protocole défini ensemble.**

Pour gagner du temps, **communiquer est la clé de la réussite.** Nos experts seront sur le terrain durant toute la période des tests, à **vos disposition pour répondre à vos questions, prélever les échantillons et discuter les résultats d'analyse.** Ils s'adapteront à vos contraintes mais **pensez à rester joignable !**

« Et si je souhaite réaliser des essais en propre ? »

Souvent, les questions de chacun peuvent servir au collectif. **Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine propose aux domaines adhérents un accompagnement dans la mise en place d'essais en propre avec :**

- Expertise sur la question de recherche,
- Conseil sur la rédaction du protocole et mise en place de l'essai,
- Mise en relation avec chercheurs, experts du sujet et autres domaines viticoles.



VIGNERONS BIO
NOUVELLE AQUITAINE

Si cela vous intéresse, contactez-nous :

Stéphane BECQUET
dirtech@vigneronsbionouvelleaquitaine.fr
06 32 68 88 80

Anne HUBERT
economie@vigneronsbionouvelleaquitaine.fr
07 88 09 00 53

NOS DOMAINES DE RECHERCHE

→ Mieux utiliser le cuivre en Bio

- Expérimentation participative en Nouvelle-Aquitaine sur la réduction du cuivre et l'évaluation de nouveaux intrants phytosanitaires
- Développement et mise en œuvre de nouvelles technologies, produits et stratégies visant à réduire l'application de cuivre dans les vignobles et mieux gérer les sols soumis au cuivre dans la région du Sud-Ouest de l'Europe
- Test de biocontrôle en grande parcelle
- Animation pool vignerons expérimentateurs avec protocole participatif dans la lutte contre le mildiou

Projets : Resaq viti Bio régional 2021/2022 ; Coppereplace 2021/2023 ; RESAQ Viti Bio national 2023/2025 ; Plan Mildiou 2024/2027



→ Vins sans sulfites ajoutés

- Caractérisation et mise en place d'outils microbiologiques et physiques pour réaliser des vins sans SO₂, de la vinification à la mise en bouteille
- Gestion de l'élevage et des gaz, impact sur la structure et l'aromatique des vins rouges et liquoreux sans sulfites ajoutés

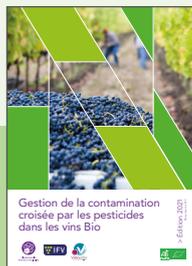
Projets : Biocontrol 2016/2017 ; RESPECT 2017/2020 ; Vins de Bordeaux sans SO₂ 2017/2020 ; Programme VINS SANS SO₂ 2021/2023



→ Résidus de pesticides dans les vins Bio

- Garantir la qualité des vins Bio en maîtrisant les risques de contaminations fortuites par produits phytosanitaires.
- Cas spécifique de l'acide phosphonique

Projets : SECURBIO 2011/2013 ; QUALVINBIO 2017/2020 ; Programme VINS SANS RESIDUS 2021/2023

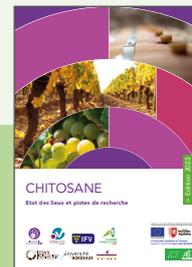


NOS DOMAINES DE RECHERCHE

→ Nouveaux intrants

- Evaluation des nouveaux produits de collage et clarification dans le contexte de production de Nouvelle-Aquitaine
- Comprendre les mécanismes et efficacité du chitosane sur la gestion des *Brettanomyces* et bactéries lactiques dans une vinification sans SO₂

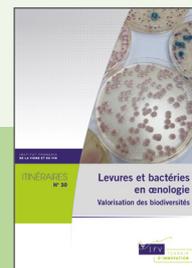
Projets : Collage sans allergène et clarification en vinification Bio 2017/2020 ; Programme VINS SANS (CHITOSANE) 2021/2023



→ Fermentations indigènes

- Caractérisation des propriétés de *Brettanomyces* et tolérance au SO₂
- Levures et bactéries indigènes : analyse de la diversité, test de fermentations et sélection
- Caractérisation et sélection de levures et bactéries pour réalisation de levain mixte avec notamment des levures non *Saccharomyces*
- Détermination de protocole efficace de pied de cuve pour FML indigène
- Essais à grande échelle du protocole PDC lies FML dans plusieurs régions viticoles de France

Projets : *Brettanomyces et tolérance au SO₂* 2016 ; *CASDAR Levain Bio* 2012/2015 ; *WILDWINE* 2012/2015 ; *Pied de cuve indigène pour FML* 2017/2020 ; *PDC indigène pour FML* 2021 ; *CASDAR VEPI VICI* 2023/2026



→ Itinéraire technique et changement climatique

- Quelle nutrition des vignes pour garantir de l'azote dans les moûts ?
- Date de récolte et process d'élaboration pour un objectif fruit pour les vins rouges de Bordeaux
- Adaptation des pratiques viticoles au contexte de changement climatique et de réduction d'intrants œnologiques

Projets : *D-Fruit* 2023/2025 ; *AdVinCI* 2023/2024 ; *RESAQ Viti Bio REGIONAL* 2024

→ Comparaison de mode de production

- Comparaison d'itinéraire de vinification en fonction du mode de conduite : conventionnel/AB
- Outils de maîtrise et d'évaluation de la vinification des cépages résistants et à fin d'adaptation

Projets : *De La Vigne au Verre* 2013/2015 ; *NOVANA* 2021/2023

→ Enseignement, diffusion expertise vin Bio

- Développement d'un master européen en viticulture et œnologie Bio
- Développement d'un apprentissage de la dégustation olfactive par le jeu et le numérique
- Participation au Campus régional vitivinicole pour renforcer la visibilité de l'offre de formation et l'attractivité de la filière vitivinicole

Projets : *OENOBIO* 2018/2021 ; *MERGO* 2021/2023 ; *CAMPUS NAVI* 2023/2027

INTRODUCTION

Une fermentation est dite "indigène" lorsqu'elle est réalisée par les levures naturellement présentes, issues de l'environnement ou de la vendange. Deux possibilités existent pour mettre en œuvre cette fermentation indigène :

- **de manière spontanée** : méthode non interventionniste, les levures naturellement présentes dans le moût réalisent la fermentation. Il n'y a pas d'apport de micro-organismes exogènes de la part du vinificateur.
- **en utilisant un pied de cuve** : réalisé à partir de raisins récoltés plus précocement, il s'agit de préparer un volume de jus ou de vendange en fermentation (levain) dont l'objectif est de produire de la biomasse, c'est-à-dire, multiplier les levures et favoriser le développement de *Saccharomyces cerevisiae*. L'apport de ce levain permet un départ plus rapide de la fermentation et facilite la vinification pour le vinificateur souhaitant avoir recours à cette pratique. La maîtrise de ce pied de cuve est essentielle et les travaux menés vous accompagnent pour celle-ci.

Lorsque le vinificateur apporte des Levures Sèches Actives (LSA) ou sélectionnées, on sort du cadre des fermentations dites indigènes.

En France, pour le millésime 2023, 42% des vignerons Bio ont vinifié tous leurs lots en levures indigènes¹. 34% des répondants de l'enquête ont mis en place au moins une fermentation spontanée et 16% ont eu recours aux levures indigènes avec un pied de cuve sur au moins un lot.

Les raisons pour lesquelles les vignerons font ce choix sont d'ordre technique, économique et philosophique. On retrouve la volonté d'utiliser les levures présentes naturellement sur le domaine, de réduire l'utilisation d'intrants, de réaliser de nouveaux profils de vins. Les vignerons en Biodynamie sont pleinement concernés, ne pouvant utiliser les LSA que dans le cas d'arrêt de fermentation. Enfin, la question du coût des LSA est évoquée par certains vignerons.



Thierry DAULHIAC

(Château Le Payral, 14,5 ha,
Appellations Bergerac
et Saussignac,
IGP Périgord et VDF)



PAROLE DE VIGNERON

L'exploitation est axée sur une activité mixte de viticulture et de grandes cultures. La conversion en agriculture biologique a débuté en 2005, suivie par une transition vers la biodynamie en 2017. C'est également à partir de cette année que j'ai entièrement adopté la vinification utilisant des levures indigènes. Ma réflexion portait depuis de nombreuses années sur le rééquilibrage des sols et une recherche de compréhension sur la microbiologie de chaque terroir. Naturellement j'ai poussé l'idée au chai lors des vinifications avec les levures indigènes pour créer ce pont entre le sol et le vin. Ma motivation

principale repose sur la curiosité et la volonté de travailler avec le vivant présent, bien que je ne nie pas que l'agriculture conventionnelle puisse apporter des solutions techniques. Travailler avec le vivant, en autonomie, n'est pas toujours confortable car la maîtrise des phénomènes est loin d'être acquise et ce n'est d'ailleurs pas forcément mon but ultime mais plutôt de le comprendre, de l'accompagner au mieux. Je suis conscient que certains de mes choix ne me dirigent pas toujours vers l'option qualitative optimale, mais ils sont à mes yeux les plus intègres et j'y suis très attaché.



¹ Enquête nationale sur les pratiques des vignerons Bio, millésime 2023, ITAB (672 répondants)

DIVERSITÉ DES LEVURES ET DYNAMIQUES DE POPULATIONS

Dynamiques de populations entre la vigne et le chai

La baie de raisin héberge une communauté microbienne constituée de moisissures, de bactéries et de levures, ces dernières constituant un groupe taxonomique vaste et hétérogène. Cette communauté évolue (diversité et niveaux de populations) de la véraison à maturité avec le changement de la composition du fruit mais aussi selon les conditions climatiques et les traitements à la vigne. L'augmentation de la teneur en sucres et la diminution de l'acidité au cours de la maturation expliquent en partie cette évolution. L'espèce *Hanseniaspora uvarum* et le genre *Metschnikowia* mais aussi *Aureobasidium pullulans* sont majoritaires à la surface de la baie de raisin à maturité. En revanche, les espèces du genre *Saccharomyces*, *Torulasporea*, *Lachancea* et la levure d'altération *Brettanomyces bruxellensis* sont très peu abondantes, voire rares. La fréquence d'apparition de ces deux espèces augmente avec les précipitations et l'humidité. La proximité avec la cave ou avec des marcs de distillerie peut expliquer également la présence de ces deux espèces au vignoble avec une plus grande fréquence. Les levures de la cave sont susceptibles de revenir dans l'environnement selon un flux environ 4 fois plus faible que celui dans le sens raisin vers le chai, sur une distance qui a été estimée de 200 à 400 m (Figure 1). Ces échanges de levures entre les deux compartiments peuvent se faire de façon passive via les bioaérosols ou active via les arthropodes (drosophiles, abeilles, guêpes, ...). L'état sanitaire joue également un rôle important, les baies altérées hébergeant une population plus élevée de levures fermentaires.

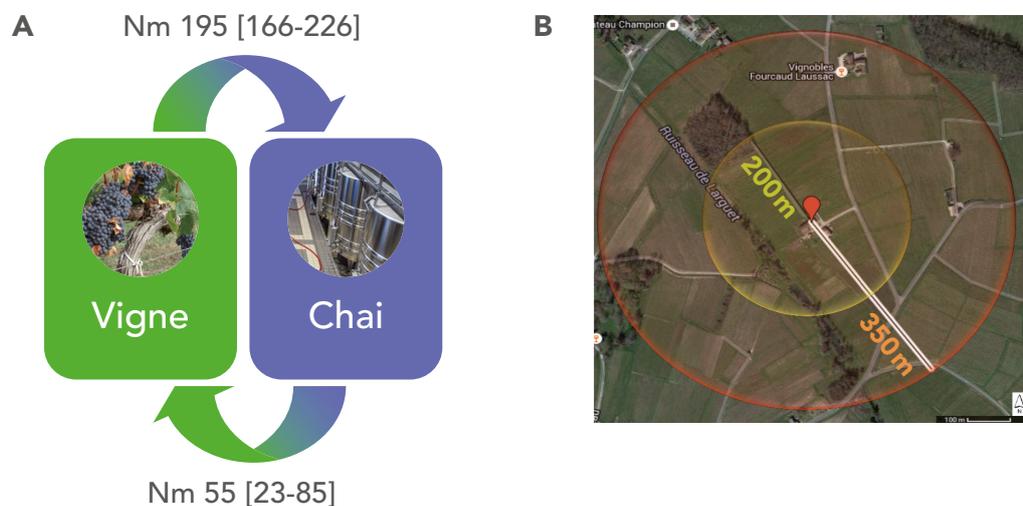


Figure 1
Représentation des échanges de levures *S. cerevisiae* entre la vigne et le chai ;
A : estimation des flux (Nm= nombre de migrations par générations) ;
B : distance de dissémination autour de la cave (Börlin et al., 2020).

Le foulage des baies va permettre le transfert des levures de la pellicule des baies dans le moût. La cave contribue également, par la communauté microbienne résidente sur le matériel, le sol ou bien les murs à l'inoculation des moûts. Le processus d'élaboration du vin à partir du raisin est caractérisé par une réduction de la diversité levurienne ; seules les espèces adaptées à la teneur en sucres élevée, au pH bas, à la quasi-absence d'oxygène et à la teneur en dioxyde de soufre seront capables d'initier une croissance.



© F. Guy

“EXISTE-T-IL UNE TYPOLOGIE DE PARCELLES PLUS FAVORABLE À LA LEVURE BRETTANOMYCES ?”

Certaines conditions au vignoble peuvent favoriser la présence de *Brettanomyces bruxellensis* à la surface de la baie de raisin : la proximité avec une forêt qui maintient une ombre portée pendant la journée, une humidité plus élevée et le développement de *Botrytis*, la proximité avec les marcs de distilleries ou le stockage de marcs de vinification sous vents dominants.

Aussi la communauté de levures du raisin se distingue de celle du jus puis du moût qui fermente. Les *Saccharomyces* vont initier une croissance, consommer les nutriments puis produire de l'alcool pour finalement devenir majoritaires lors de la fermentation alcoolique au détriment des levures non-*Saccharomyces*. Dans certains cas, cependant, la fermentation peut être assurée en partie par des non-*Saccharomyces* (*Torulasporea delbrueckii*, *Schizosaccharomyces pombe*...). Deux espèces du genre *Saccharomyces* sont décrites dans les fermentations spontanées et peuvent co-exister : *S. cerevisiae* et *S. uvarum*. Cette dernière, plus rare, est décrite dans les fermentations spontanées des régions septentrionales (Val de Loire, Alsace, Bourgogne, ...) mais également dans des moûts liquoreux. De façon aléatoire d'une cuve ou d'une cave à l'autre selon les années, les fermentations indigènes sont conduites par différentes souches de levures (Figure 2A) ou par une souche dominante qui se sélectionne spontanément (Figure 2B). Les études de diversité montrent que certaines populations peuvent se retrouver dans une même cave lors de deux ou trois années consécutives, mais se renouvellent et sont différentes lorsqu'une période plus longue d'étude est considérée.

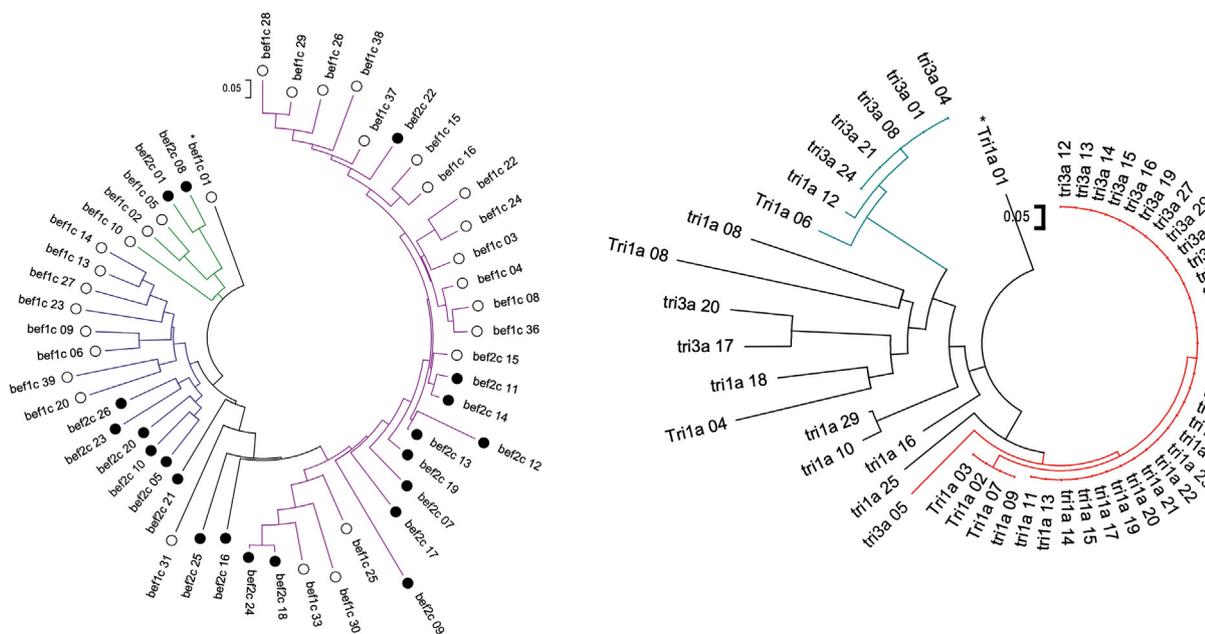


Figure 2

Dendrogrammes représentant la diversité de *Saccharomyces cerevisiae* à mi-fermentation obtenue par l'analyse des marqueurs microsatellites. Chaque branche représente un profil génétique différent.

A : fermentation spontanée en rouge conduite par une grande diversité de souches, les ronds blancs représentent les isolats collectés dans la cuve 1 et les ronds noirs dans la cuve 2 (Saint Emilion) ;

B : fermentation spontanée conduite par une souche dominante (branche rouge) (Sauternes).

Quelles levures sont présentes en phase pré-fermentaire ?

Dès l'encuvage, les populations de levures varient entre 10^3 et 10^6 cellules/mL de jus selon le millésime et l'état sanitaire du raisin. Les levures non-*Saccharomyces* sont majoritaires, en particulier *Hanseniaspora uvarum*, *Starmerella bacillaris* (ex *Candida zemplinina*) et *Metschnikowia* tandis que d'autres espèces telles que *Torulaspora delbrueckii* sont minoritaires. Certaines espèces non-*Saccharomyces* peuvent initier la fermentation, généralement suivies de *Saccharomyces cerevisiae* après une croissance rapide pour atteindre des populations de 10 à 100 millions de cellules/mL. Différents facteurs impactent les niveaux de populations lors des phases préfermentaires notamment la température et l'utilisation de dioxyde de soufre (figure 3). Une température basse (10°C) permet de limiter la croissance de *Hanseniaspora uvarum* mais favorise au contraire la croissance de *Starmerella bacillaris*. La pratique du sulfitage, en limitant la croissance de *Hanseniaspora uvarum*, favorise la croissance de *Torulaspora delbrueckii* et de *Saccharomyces cerevisiae*. Des populations élevées d'*Hanseniaspora uvarum* peuvent être à l'origine de production accrue d'acétate d'éthyle en fin de macération préfermentaire, d'acide acétique dans les vins et de durée de fermentation plus longue. En vinification en blanc, le débourage entraîne une diminution significative des populations de levures ce qui peut expliquer des difficultés de démarrage des fermentations spontanées. Par ailleurs, le pressurage réduit fortement la proportion d'*Aureobasidium pullulans* et favorise l'émergence de *Metschnikowia pulcherrima* et *Hanseniaspora uvarum*. Paradoxalement, les indices de diversité des communautés de levures en phase préfermentaire sont plus faibles en absence de dioxyde de soufre probablement du fait que certaines espèces sensibles au SO_2 dont *Hanseniaspora uvarum* colonisent alors fortement le milieu.

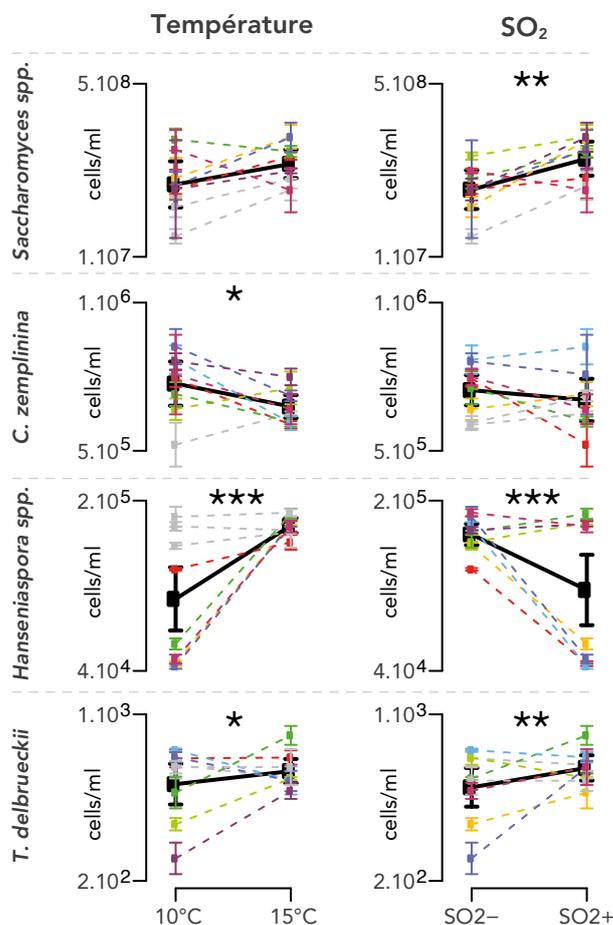
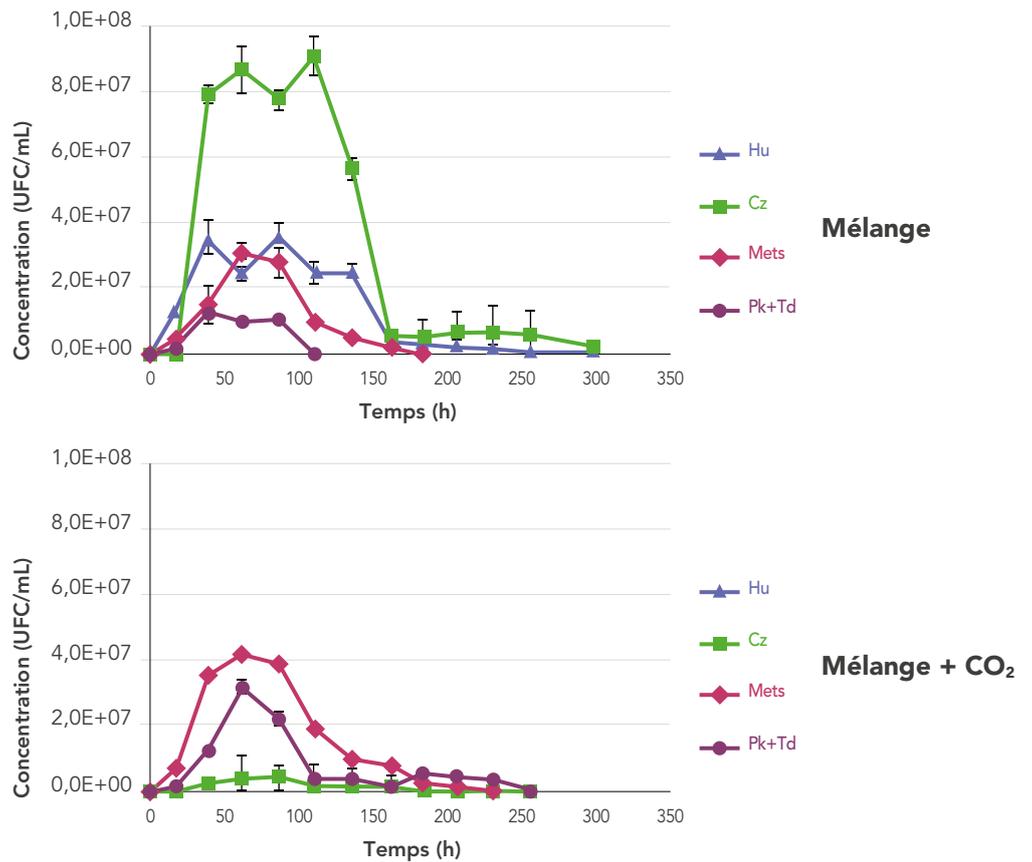


Figure 3

Effet de la température (10°C et 15°C) et de l'addition de dioxyde de soufre (pas de dioxyde de soufre : SO_2- ou addition à 50 mg/L : SO_2+) sur les populations maximales de levures lors des phases préfermentaires.

La population maximale moyenne est représentée par une ligne noire. « * », « ** » et « *** » représentent un effet significatif du facteur au seuil de 5%, 1% et 0,1%, respectivement (Albertin et al., 2014).

Figure 4
Effet de la saturation en CO₂
du moût sur les niveaux de
populations de levures
Non-Saccharomyces
(Chasseriaud, 2018)



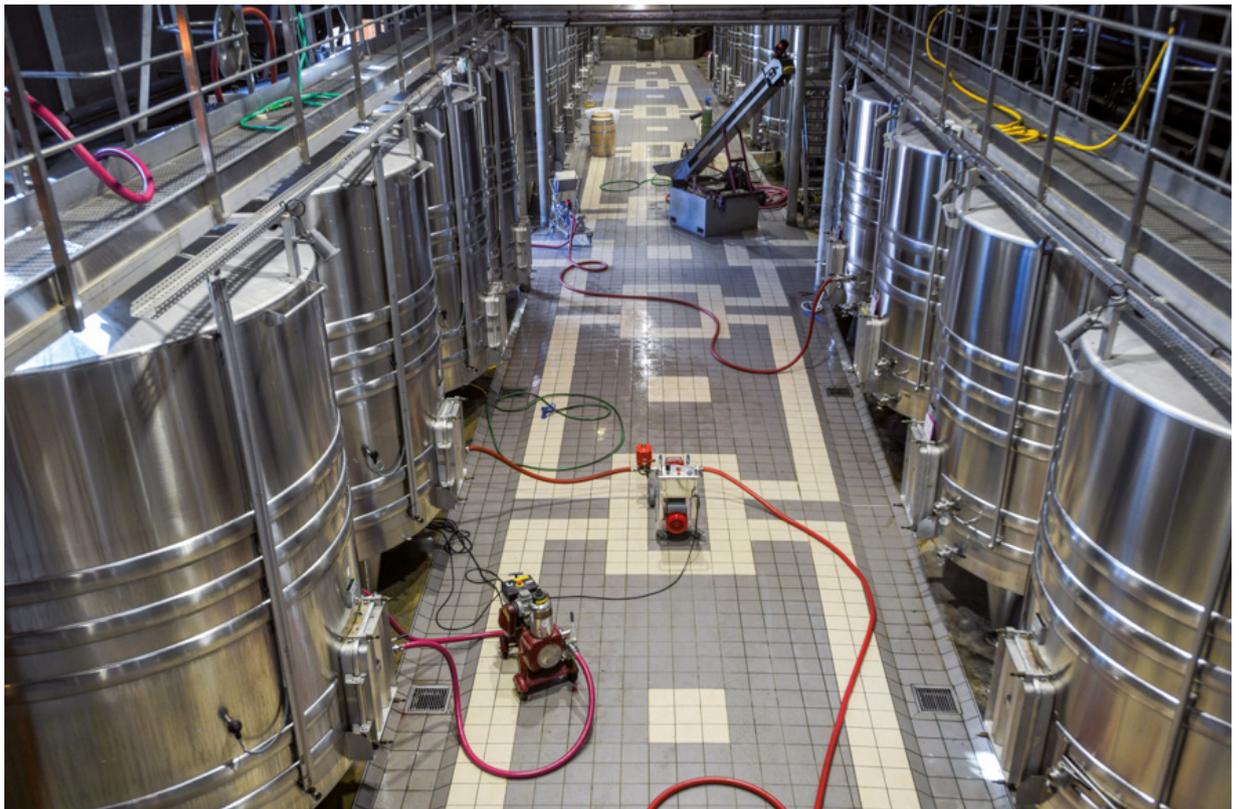
La saturation du moût en gaz carbonique (CO₂) dès l'encuvage peut aussi impacter les niveaux des populations de levures non-Saccharomyces (Figure 4). La croissance de *Starmerella bacillaris*, d'*Hanseniaspora uvarum* et de *Pichia kluyveri* sont fortement inhibées contrairement à celle de *Metschnikowia.sp.*, et de *T. delbrueckii* qui est stimulée. En revanche, un inertage à l'azote (N₂) n'a pas le même impact que le CO₂ sur les cinétiques de croissance de ces espèces soulignant que les effets observés par le CO₂ ne sont pas dus qu'à la diminution de la concentration en oxygène dissous dans le moût mais bien à une action spécifique du CO₂.

Zoom sur les levures non-Saccharomyces

De nombreux genres de levures (*Hanseniaspora*, *Pichia* (*Hansenula*), *Torulasporea*, *Metschnikowia*, *Starmerella*, *Lachancea*, ...) coexistent dans le moût avec l'espèce *S. cerevisiae* et leur niveau de population est très variable selon le millésime et les pratiques œnologiques. Parmi les levures non-Saccharomyces majoritaires, 3 genres sont souvent retrouvés : *Hanseniaspora*, *Starmerella* et *Metschnikowia*.

Si *H. uvarum* et *S. bacillaris* sont les espèces les plus souvent mises en évidence dans les moûts, elles sont hélas peu favorables. En effet, même si la levure apiculée *H. uvarum*, apte à fermenter, possède diverses enzymes d'intérêts œnologiques permettant de produire plus d'acétate d'alcools supérieurs, d'esters éthyliques et d'arômes variétaux, elle est surtout connue pour produire des molécules indésirables masquant les arômes fruités : acétate d'éthyle et acide acétique. Son abondance dans le moût est donc préjudiciable pour la qualité du vin.

L'espèce *S. bacillaris* (ex *Candida zemplinina*) se distingue par rapport à l'espèce précédente sur plusieurs points : elle a une capacité fermentaire plus élevée lui permettant de survivre plus longtemps dans le moût en fermentation, consomme une partie des sucres pour produire du glycérol et non de l'éthanol et assimile plus rapidement le fructose que le glucose contrairement à *S. cerevisiae*. Ces deux dernières propriétés présentent des atouts pour réduire le taux d'alcool du vin et prévenir des arrêts de fermentation. Cependant cette espèce a un effet négatif sur le profil analytique des vins en libérant de nombreuses molécules indésirables tel que le sulfure d'hydrogène et d'autres molécules soufrées, l'acétate d'éthyle et l'acide acétique.



Metschnikowia pulcherrima, retrouvée à un niveau moindre de population par rapport aux espèces précédentes, possède de fortes activités enzymatiques entraînant la libération d'arômes fruités et floraux. Elle est caractérisée par une faible capacité fermentaire et une activité antimicrobienne limitant le développement de certaines souches appartenant à d'autres genres de levures non-*Saccharomyces*.

Parmi les levures non-*Saccharomyces* minoritaires du moût, de nombreux genres coexistent. L'espèce *Brettanomyces bruxellensis*, très connue pour son empreinte négative sur la qualité du vin, peut occasionnellement être présente dans le moût à un niveau très faible et sans porter atteinte à la qualité du vin.

L'espèce *Torulaspora delbrueckii* est assez proche génétiquement de *S. cerevisiae*, malgré une taille plus petite de ses cellules. Elle présente des avantages remarquables car elle est caractérisée par une « fermentation pure » produisant très peu de composés volatils indésirables tels que l'acide acétique, acétaldéhyde. Elle est bien adaptée aux moûts très sucrés (type vins liquoreux) par sa bonne osmotolérance. Elle produit des arômes type fruits rouges et apporte un volume en bouche prononcé.

La levure *Lachancea thermotolerans* est l'un des micro-organismes les plus acidifiants naturellement retrouvés dans l'écosystème viti-vinicole. Anciennement appelé *Kluyveromyces thermotolerans*, cette espèce présente un caractère extrêmement rare chez les levures : la capacité de transformer une partie des sucres en acide lactique au lieu de l'éthanol. On observe alors d'une part une diminution de pH, l'augmentation de l'acidité totale, et d'autre part à la réduction de la teneur d'éthanol des vins.

Plusieurs espèces de levure du genre *Pichia* sont retrouvées à des niveaux de populations plus ou moins faibles : *P. guillemondii*, *P. membranifaciens*, *P. kluyveri*. Cette dernière espèce a été la plus étudiée car elle produit des toxines et possède un fort pouvoir révélateur des thiols volatils dans les vins.

En fermentation spontanée, les espèces les plus intéressantes (*T. delbrueckii*, *L. thermotolerans*, *P. kluyveri*...) ne sont jamais dominantes ce qui limite leurs contributions. Par contre, les levures majoritaires (*H. uvarum* et *S. bacillaris*) peuvent modifier négativement le profil sensoriel du vin.

Quels outils d'analyses microbiologiques pour dénombrer ou caractériser ces micro-organismes ?

Les champignons filamenteux, communément appelés **moisissures**, les **levures** et les **bactéries** constituent les **3 grands groupes microbiens d'intérêt en œnologie**. Différents outils et techniques analytiques sont maintenant disponibles pour dénombrer ou caractériser rapidement avec fiabilité ces micro-organismes.

Les classiques dénombrements sur milieux nutritifs gélosés adaptés à chacun des groupes microbiens permettent d'estimer facilement les niveaux de populations viables. Actuellement s'ajoute une utilisation de plus en plus courante de la cytométrie en flux pour dénombrer rapidement des levures et des bactéries viables.

L'examen macroscopique et microscopique d'isolats obtenus après mise en culture sur milieu nutritif gélosé peut également apporter des éléments morphologiques complémentaires en plus de la différenciation entre champignons filamenteux, levures ou bactéries (Figure 5).

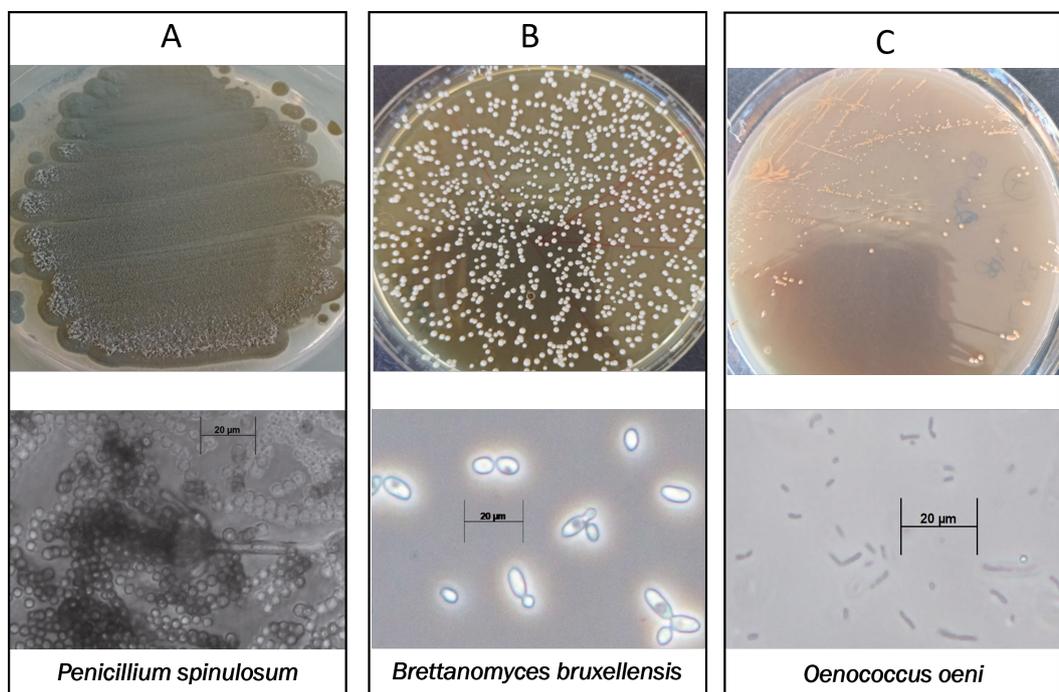


Figure 5
Exemples d'observations macroscopiques et microscopiques d'isolats de moisissures (A), levures (B) et bactéries (C). Observations microscopiques grossissement x400.

<i>Fungi</i>	Domaine	<i>Bacteria</i>
<i>Eucaryote</i>	Règne	<i>Procaryote</i>
<i>Ascomycetes</i>	Phylum	<i>Firmicutes</i>
<i>Saccharomycetes</i>	Classe	<i>Bacilli</i>
<i>Saccharomycetales</i>	Ordre	<i>Lactobacillales</i>
<i>Saccharomycetaceae</i>	Famille	<i>Leuconostocaceae</i>
<i>Saccharomyces</i>	Genre	<i>Oenococcus</i>
<i>cerevisiae</i>	Espèce	<i>oeni</i>
	souche	

Figure 6
Classification hiérarchique des levures et bactéries.

Ces analyses au niveau du groupe microbien sont maintenant proposées par la majeure partie des laboratoires d'analyses œnologiques et sont rapides à mettre en place.

Une fois le groupe microbien déterminé, il est primordial de bien savoir distinguer les notions de genres, d'espèces et de souches. Pour rappel, la taxonomie (ou classification) microbienne comporte différents niveaux hiérarchiques, dont les plus explicites sont le genre, l'espèce et la souche (Figure 6).

Le niveau d'information et de caractérisation requis (au groupe microbien, au genre, à l'espèce ou bien à la souche) pour chaque questionnement ou diagnostic conditionnent le choix de la méthode d'analyse à mettre en place.

Une première approche peut être assez large, sur la composition globale des communautés microbiennes présentes notamment par des méthodes de métagénomique, permettant de qualifier les **phylum** ou **genres** majoritairement présents.

Il est évidemment possible d'avoir une approche plus ciblée grâce à l'identification au niveau de l'**espèce**. Au sein du **genre** *Saccharomyces* par exemple, seules deux espèces sont particulièrement retrouvées en œnologie : *Saccharomyces uvarum* et surtout *Saccharomyces cerevisiae*. Ces techniques permettent notamment de recenser aisément les espèces de levures ou de bactéries présentes tout au long de la vinification.

Des outils d'analyses fines permettant de différencier les **souches** au sein d'une espèce sont aujourd'hui disponibles. Ainsi, pour l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*, un suivi précis des souches présentes en amont, pendant et au-delà de la fermentation alcoolique est réalisable.



©IFV - Vinopôle Bordeaux Aquitaine

Comment caractériser la diversité des communautés microbiennes ?

Depuis quelques années se sont démocratisées les analyses globales dites de hauts débits de type métagénomique, permettant, par séquençage de l'ADN, d'analyser la structure de communautés bactériennes ou fongiques présentes dans un environnement ou un échantillon. Le niveau de précision de ces analyses par métagénomique est généralement arrêté au niveau du **phylum**, voire au mieux au niveau du **genre**, ce qui permet une évaluation globale de la structure et de la diversité d'une communauté microbienne. Ces méthodes restent toutefois réservées à des laboratoires de recherche tant sur la mise en œuvre que sur l'interprétation de ces résultats. Elles nécessitent un travail de traitement de données aboutissant à des délais analytiques incompatibles avec le pilotage d'une fermentation.

Comment déterminer l'espèce d'une levure, bactérie ou moisissure ?

Il est impossible de déterminer l'espèce d'une levure ou d'une bactérie par simple observation par microscopie directe ou après mise en culture sur un milieu nutritif gélosé. Seules des techniques plus fines, basées sur l'analyse de l'ADN (par biologie moléculaire) ou l'analyse de protéines ou peptides (par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF- Vallet-Courbin *et al.*, 2022) permettent d'identifier précisément l'espèce de levure, bactérie ou moisissure en présence.

Les techniques de biologie moléculaire permettent, à partir de l'ADN (Acide Désoxyribonucléique), support de l'information génétique, d'amplifier une région d'intérêt soit spécifique d'une espèce soit permettant, après séquençage de déterminer le genre ou l'espèce de micro-organisme.

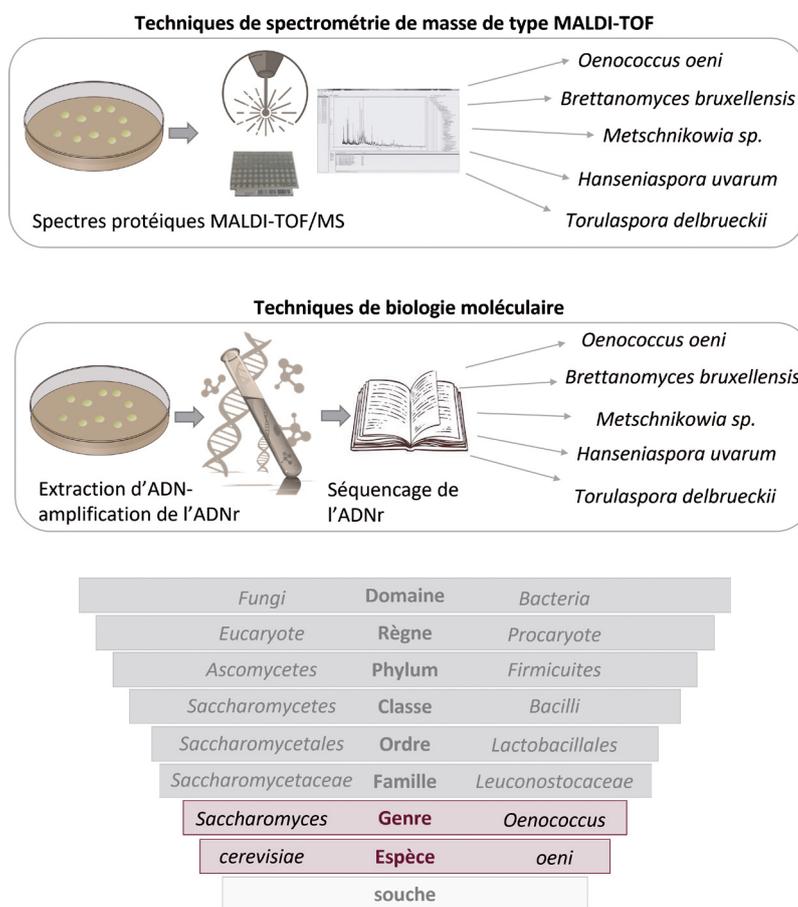
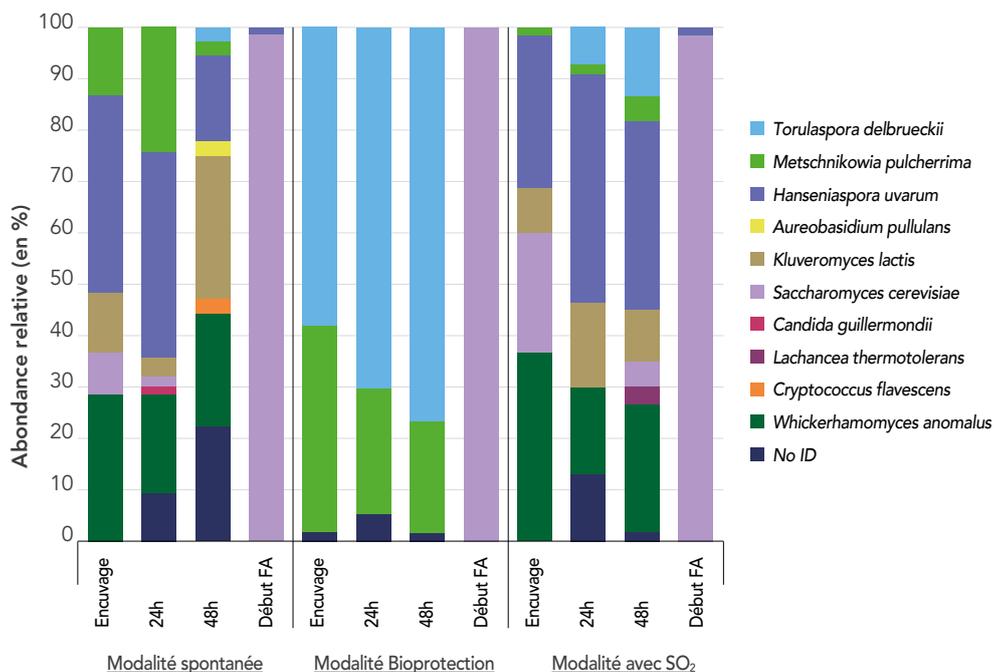


Figure 7
Méthodes de détermination du genre ou de l'espèce de micro-organismes.

Ces analyses nécessitent néanmoins de sérieuses connaissances en microbiologie, particulièrement en biologie moléculaire et requièrent des équipements spécifiques. Ces méthodes sont donc uniquement réalisables par des laboratoires spécialisés avec des équipements et du personnel qualifiés et dédiés.

Ces analyses permettent notamment d'établir des recensements d'espèces de levures ou de bactéries selon les stades ou différentes modalités de vinification (travaux de thèse Sara Windholtz-2020). Les différentes espèces de levures présentes dans un lot de merlot ont pu être comparées en vinification selon différentes conditions : ici comparaison d'un apport de bioprotection avec *Torulaspora delbrueckii* / SO₂ / sans SO₂ (Figure 8).

Figure 8
Exemple de suivi des espèces de levures au cours de la fermentation alcoolique indigène d'un lot de Merlot par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF pour 60 colonies par stade.



Des analyses ciblées sur une seule **espèce** permettant à la fois la détection et la quantification sont également possibles, comme par exemple des techniques de PCR² (Polymerase Chain Reaction) qu'elle soit quantitative ou digitale ou bien la cytométrie en flux (techniques réservées aux laboratoires de recherche). A ce jour, ces méthodes sont principalement ciblées sur la quantification de la levure d'altération des vins rouges *Brettanomyces bruxellensis*.

Cette **espèce** de levure peut être précisément quantifiée directement à partir d'un échantillon de vin soit par PCR quantitative (q PCR), soit par digitale PCR (d PCR), évolution de la méthode permettant de détecter de toutes petites populations d'une **espèce** parmi un mélange, comme par exemple lors de la fermentation alcoolique. Les levures de l'espèce *B. bruxellensis* peuvent aussi être spécifiquement quantifiées par des techniques de cytométrie en flux spécifiques.

Un degré plus précis de discrimination peut parfois être nécessaire par la mise en œuvre d'analyses au niveau de la **souche** (exemple du cas d'analyse de sensibilité des souches de *Brettanomyces* aux SO₂ pour savoir si un sulfitage est à préconiser ou pas).

Comment différencier les souches de levure ou de bactéries ?

Au sein de l'espèce *S. cerevisiae*, il existe des milliers de **souches** uniquement différenciables par des approches basées sur l'analyse fine de l'ADN (par biologie moléculaire).

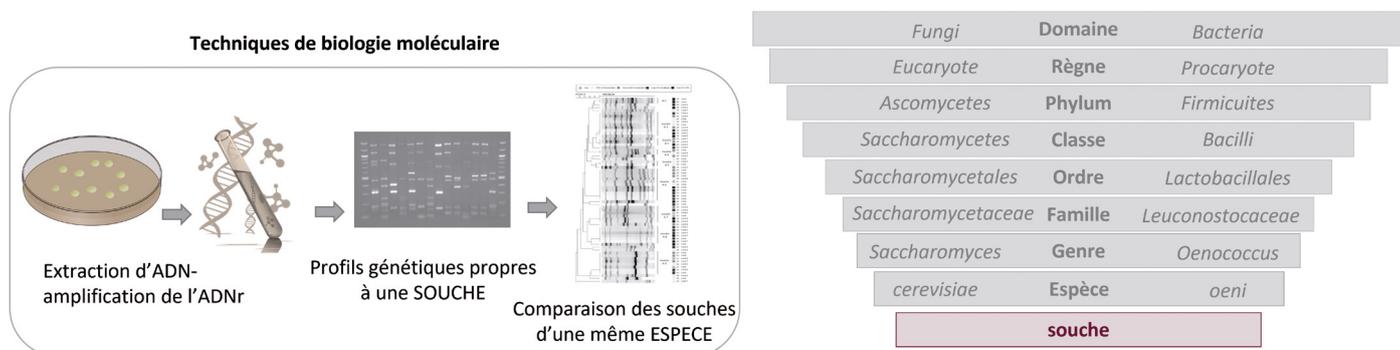


Figure 9
Méthode de discrimination de souches au sein d'une espèce de micro-organismes.

² L'amplification en chaîne par polymérase ou réaction de polymérisation en chaîne, généralement siglée PCR est une méthode de biologie moléculaire permettant d'obtenir rapidement, in vitro, un grand nombre de segments d'ADN identiques, à partir d'une séquence initiale.

L'analyse la plus courante pour des études de diversité au niveau des souches de *S. cerevisiae* à l'échelle de la cuvée ou de la propriété est l'analyse des fragments inter-delta (Legras et Karst, 2003). La diversité des souches de *S. cerevisiae* présentes à différents moments de la fermentation alcoolique, peut ainsi être évaluée lors de fermentations indigènes par exemple (Figure 10).

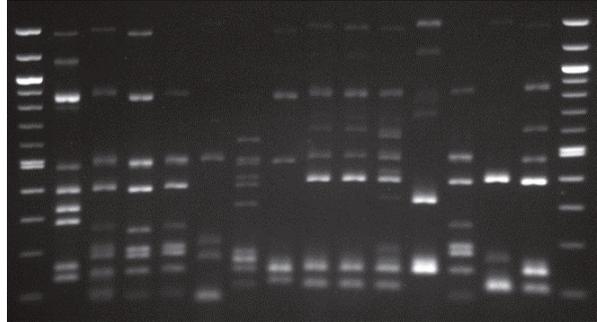


Figure 10
Comparaison de profils inter-delta de colonies de l'espèce *S. cerevisiae* isolées d'un lot de vin blanc en cours de fermentation alcoolique indigène.

Cette analyse aujourd'hui démocratisée peut-être proposée et réalisée dans certains laboratoires d'analyses œnologiques mais son délai ne permet pas de piloter les fermentations, seulement d'apprécier la dominance d'une ou plusieurs souches de *S. cerevisiae*.

Enfin, il existe des méthodes de typage génétique discriminantes permettant de mettre en évidence des liens de filiation entre les souches de *S. cerevisiae* mais également de non-*Saccharomyces* (comme *H. uvarum* ou *T. delbrueckii* par exemple) basées sur l'analyse de marqueurs microsatellites (Legras *et al.*, 2007, Albertin *et al.* 2014, Albertin *et al.*, 2016...). Ces techniques sont mises en œuvre dans le cadre d'études de large envergure et permettent d'atteindre un haut degré de discrimination. Il est important de préciser que cette technique reste limitée à des laboratoires hautement spécialisés.



À RETENIR

Choix de l'analyse pour répondre au mieux à la question posée

L'analyse microbiologique permet actuellement de caractériser les micro-organismes avec différents degrés de précision.

Il existe un panel de méthodes analytiques qui permet de caractériser et quantifier les micro-organismes en présence, en fonction des besoins.

A garder en tête : il n'est souvent pas nécessaire de mettre en œuvre un grand nombre d'analyses ou bien une analyse très précise, il s'agit surtout de bien les sélectionner selon sa problématique.

La connaissance du type de réponse et de précision d'une analyse est indispensable au choix de la technique.

En ce sens, les différents types d'analyse sont complémentaires.

Il convient aussi de garder à l'esprit que certaines analyses nécessitent des délais qui ne sont pas compatibles avec des prises de décisions rapides lors des vinifications.

LES OUTILS POUR DES FERMENTATIONS INDIGÈNES

Les indispensables à connaître avant de se lancer

La diversité génétique des levures et bactéries rencontrées sur baie, moût et vin est importante et évolutive. L'impératif de résultat va impliquer la mise en œuvre de pratiques destinées à orienter la dynamique levurienne vers une fermentation alcoolique active, complète, organoleptiquement aboutie et stable dans le temps.

Pour effectuer cette fermentation à l'aide de levures indigènes, le vinificateur a deux possibilités :

- **la fermentation spontanée** : dans cette situation, la fermentation se réalise d'elle-même à partir du pool levurien existant. Cette pratique est la plus aisée car n'implique pas de temps de préparation particulier en amont mais conduit à laisser la fermentation entre les « mains » du ou des micro-organismes les plus aptes du moment mais qui ne sont pas toujours les plus attendus et contrôlables. Dans cette situation, le départ en FA peut s'avérer assez long (entre 3 à 7 jours voire plus) et source d'altérations (car possible développement de flores types *H. uvarum*, bactéries acétiques...et même moisissures en surface). Mais chez certains vigneron, les fermentations spontanées se déroulent sans difficulté à chaque millésime, sans obligation de préparation de pied de cuve (qui s'avèreraient finalement, contre productifs).
- **la fermentation avec réalisation d'un pied de cuve** : cela va nécessiter la préparation d'un levain préalable qui sera utilisé pour ensemercer en levures le jus de raisin fraîchement récolté. L'intérêt de cette pratique n'est plus à démontrer à condition que sa réalisation technique soit maîtrisée. Pour la bonne réussite du pied de cuve, le vinificateur doit contrôler la température, l'azote et l'O₂. L'investissement en temps, en matériel spécifique dédié, et l'importance de l'hygiène sont des éléments à considérer et à anticiper avant de se lancer dans sa mise en œuvre.

Dans les deux cas de figure et quelle que soit le type de vinification liquide ou solide, quelques conditions avant récolte sont requises pour optimiser le bon déroulement des vinifications :

L'état sanitaire doit être le plus satisfaisant possible. Il conditionne la présence de micro-organismes qui pourraient altérer les raisins sur pied ou le moût en fermentation.

Température de récolte : il sera très important de vendanger des raisins frais. Comme il a été présenté précédemment, une température trop élevée va jouer directement sur l'activité et l'orientation d'une population de levures potentiellement négatives comme *Hanseniaspora uvarum*. Même si la température de départ est basse, la montée en température doit être progressive et graduelle car les *Saccharomyces cerevisiae* sont très peu tolérantes au froid, contrairement à *Hanseniaspora uvarum*.

Éviter des maturités trop poussées : il faudra veiller par des contrôles de maturité réguliers de ne pas aller trop loin dans la recherche du « raisin mûr » au risque de se retrouver dans une configuration fermentaire difficile. Il est nécessaire de conserver un TAV potentiel limité et une acidité suffisante.

À NOTER

De nombreux vigneron Bio souhaitent vinifier avec le moins d'intrants possibles, mais s'ils choisissent de vinifier en levures indigènes, ils doivent être conscients des difficultés et des impératifs à prendre en compte pour sécuriser ces types de fermentations. En comparaison, vinifier sans sulfites ajoutés peut être une première étape plus accessible dans les choix d'itinéraires bas intrants.

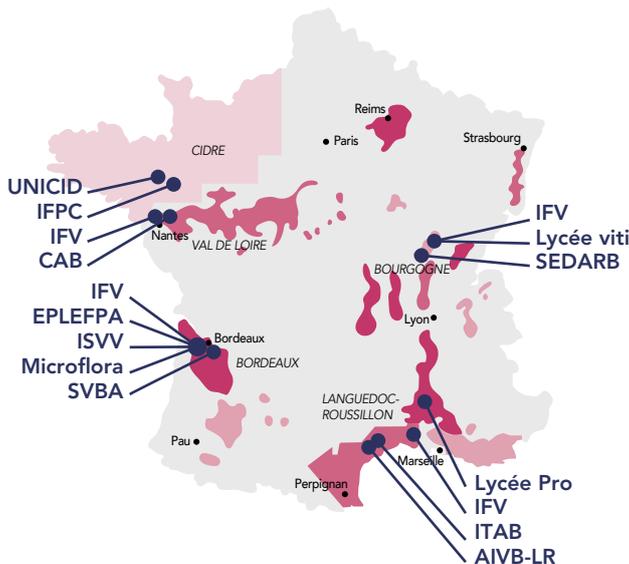
Comment réaliser un pied de cuve ? Résultats de recherche

La fermentation avec des pieds de cuve correspond à la réalisation, en amont de la date de vendange, d'un levain servant à ensemer le jus le jour J avec une population massive de levures *Saccharomyces* indigènes afin de garantir les départs en fermentation au moment de l'encuvage.

Dans le cadre du projet Casdar « Levains Bio » de 2012 à 2015, des expérimentations ont été conduites dans quatre régions (Aquitaine, Bourgogne, Languedoc, Roussillon, Val de Loire), sur la technique d'ensemencement par pied de cuve (Figure 11). L'objectif du projet était d'améliorer la maîtrise de cette pratique et de fournir aux professionnels des protocoles éprouvés permettant d'utiliser la flore indigène et de sécuriser ainsi ses fermentations alcooliques (FA).

Figure 11
Partenaires techniques du programme « Levains bio »

IFV : Institut Français de la Vigne et du Vin
UMR Oeno - ISVV : Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, unité de recherche œnologie (EA 4577), Université Bordeaux, IPB
IFPC : Institut Français des Productions Cidricoles
Microflora, UMR Oeno : ISVV, Villenave d'Ornon
ITAB : Institut Technique de l'Agriculture Biologique
AIVB-LR : Association Interprofessionnelle des Vins Biologiques du Languedoc-Roussillon
SVBA : Syndicat des Vignerons Bio d'Aquitaine
CAB Pays de la Loire : Coordination Agrobiologique des Pays de la Loire
SEDARB : Service d'Écodéveloppement Agrobiologique et Rural de Bourgogne
Avec la participation de lycées viticoles et domaines de chaque région.



Les essais ont été conduits en vinification en blanc et rouge, à l'échelle pilote au chai expérimental mais également, sur site en condition réelle chez des viticulteurs et des lycées viticoles collaborant au projet.

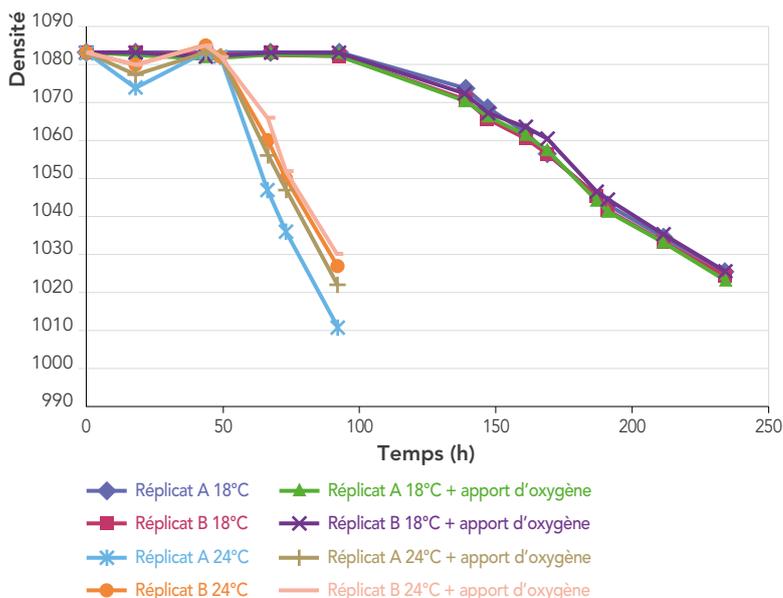
Afin d'optimiser les conditions de réalisation d'un pied de cuve, différents itinéraires ont été comparés en mini cuverie. Plusieurs facteurs ont été étudiés comme l'incidence du profil de la vendange utilisée pour le pied de cuve (cépage, maturité), l'état du pied de cuve (phase solide ou liquide), l'incidence du sulfitage, de la température, de la nutrition azotée ou bien de l'aération lors de la préparation du pied de cuve.

La vendange nécessaire à l'élaboration du pied de cuve (PDC) est récoltée une semaine environ avant la date optimale de maturité de la vendange. Les pieds de cuve élaborés représentent 3 à 5% du volume de la cuve à ensemer. La fermentation est alors suivie. Le plus important est de contrôler l'acidité volatile. La présence d'acétate d'éthyle n'est pas un facteur discriminant surtout s'il apparaît au début et que la fermentation progresse correctement.

Les résultats obtenus montrent que le pied de cuve correspond à une étape de présélection. A 75% de sa fermentation alcoolique, juste avant son utilisation, la présence de souche *Saccharomyces cerevisiae* majoritaire est observée. Le sulfitage du jus (3 g/hL), a un effet sensible sur la préservation des populations de *S.cerevisiae* qui sont alors plus importantes que pour les modalités non sulfitées³. Dans de nombreux cas, la diversité de *S. cerevisiae* dans les pieds de cuve reste importante (moyenne de 10 souches). La fermentation du PDC, doit être conduite à une température plutôt élevée 25/28°C et constante tout au long de la fermentation, afin de favoriser le développement de *S.cerevisiae*, par rapport aux autres espèces de levure (Figure 12). Il faut bien acclimater le pied de cuve à la température du jus à ensemer et éviter les chocs thermiques notamment en vinification en blanc.

³ Il est possible que cela soit sur la présence résiduelle de non-*Saccharomyces* que cela joue et pas vraiment sur le niveau de population (nombre de levure/mL).

Figure 12
Incidence de la température (18°C ou 24°C)
sur la qualité de FA du PDC.
Essai merlot IFV Pôle Bordeaux -
Nouvelle Aquitaine 2013



Dans les conditions des essais nous n'avons pas observé d'effet marqué de l'aération du jus du pied de cuve en début de sa FA. Quel que soit le protocole étudié, les fermentations des pieds de cuve sont satisfaisantes. Il n'a pas été noté de production anormale d'acidité volatile ni de déviations organoleptiques.

Les cinétiques de fermentations des cuves des modalités ensemencées par pied de cuve sont proches de celles ensemencées par LSA (levures sèches actives). L'utilisation de pieds de cuve conduit, dans ces essais, à des fermentations plus rapides et complètes (sucres < 2 g/L), avec des teneurs d'acidité volatile plus faibles que celles des cuves conduites en fermentation spontanées (Tableau 1 ; Tableau 2 ; Figure 13 ; Figure 14).

	MODALITÉ 1 : F. SPONTANÉE		MODALITÉ 2 : LSA		MODALITÉ 3 : PDC 18-24°C O2-		MODALITÉ 4 : PDC 18-24°C O2+	
	Répétition 1.1	Répétition 1.2	Répétition 2.1	Répétition 2.2	Répétition 3.1	Répétition 3.2	Répétition 4.1	Répétition 4.2
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,51	0,53	0,38	0,39	0,26	0,27	0,25	0,25
Sucres (g/L)	9	15	<2	<2	<2	<2	<2	<2

Tableau 1

Analyses des vins après FA, Essai 2013 sauvignon, AOP Entre-deux-Mers, IFV Pôle Bordeaux - Nouvelle Aquitaine 2013

	MODALITÉ 1 : F. SPONTANÉE		MODALITÉ 2 : LSA		MODALITÉ 3 : PDC 24°C O2-		MODALITÉ 4 : PDC 18°C O2+	
	Répétition 1.1	Répétition 1.2	Répétition 2.1	Répétition 2.2	Répétition 3.1	Répétition 3.2	Répétition 4.1	Répétition 4.2
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,40	0,40	0,23	0,24	0,33	0,33	0,35	0,34
Sucres (g/L)	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2

Tableau 2

Analyses des vins après FA, Essai 2013 merlot noir, AOP Lussac-St-Emilion, IFV Pôle Bordeaux - Nouvelle Aquitaine 2013

Figure 13
Cinétiques de fermentation relatives
aux modes d'ensemencement –
Sauvignon
(IFV Pôle Bordeaux - Nouvelle
Aquitaine 2013)

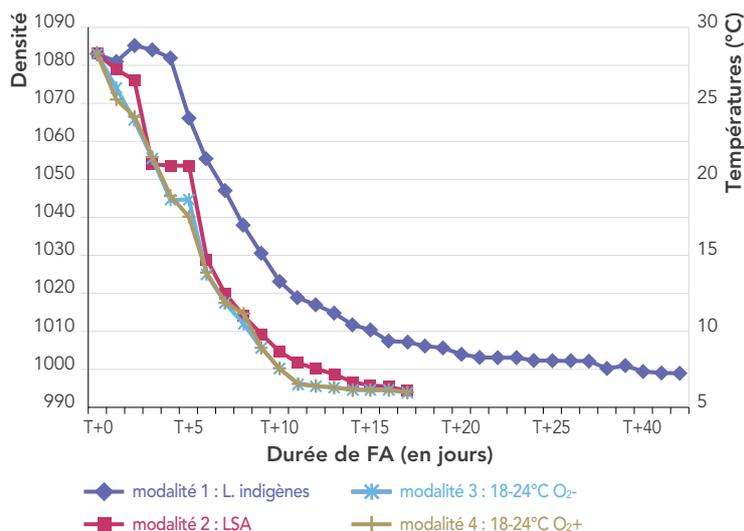
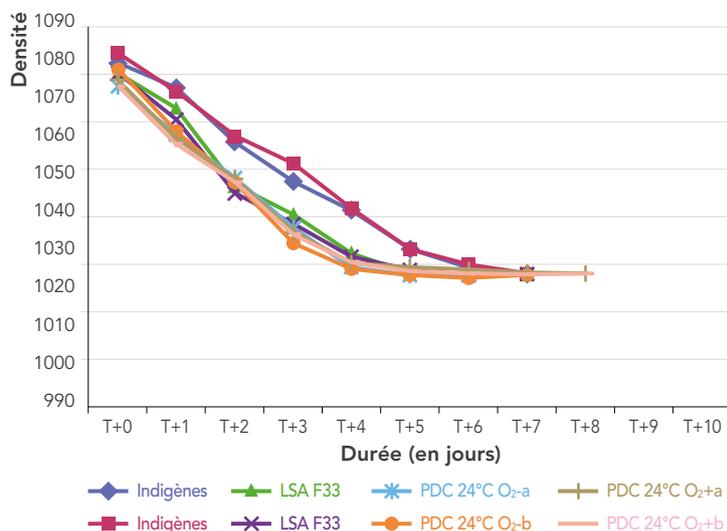


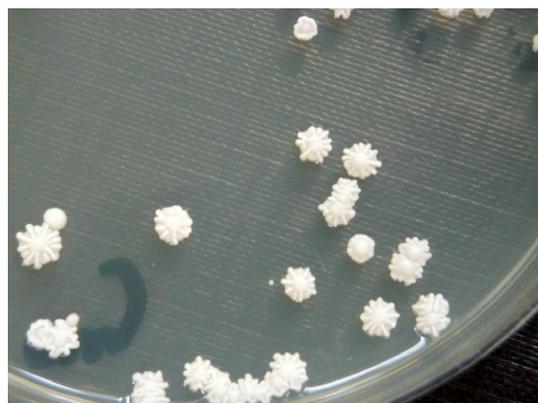
Figure 14
Cinétiques de fermentation relatives
aux modes d'ensemencement –
Merlot
(IFV Pôle Bordeaux - Nouvelle
Aquitaine 2013)



Lors du contrôle d'implantation en cours de FA de lots ensemencés avec un pied de cuve, la présence majoritaire d'une ou deux souches de *S. cerevisiae* qui étaient déjà présentes dans les pieds de cuves avant inoculation est récurrente. Il est possible qu'elles soient différentes de celles retrouvées dans la modalité fermentation spontanée.

L'analyse sensorielle des vins, montre que la qualité des vins est préservée dans le cas des modalités PDC, contrairement à celles obtenues par fermentation spontanée et plus particulièrement en vinification en phase liquide sur sauvignon.

Le levurage par LSA reste le moyen le plus reproductible pour sécuriser les fermentations, mais pour celui qui souhaite utiliser la flore indigène, la réalisation d'un pied de cuve est une alternative très intéressante par rapport à l'utilisation de fermentation spontanée notamment dans les premières années de transition vers ce process. Cela correspond en fait à une étape de présélection et de multiplication, favorisant le développement de *S. cerevisiae*. La réussite de cette pratique est étroitement liée aux conditions du millésime, à la quantité et qualité de la flore indigène ainsi qu'aux conditions de réalisation du PDC (Tableau 3).



STADE D'ÉLABORATION	UTILISATION DES LSA	UTILISATION D'UN LEVAIN INDIGÈNE PDC
Réalisation du levain	-	Récolte anticipée (6 à 8 jours) et surveillance de la croissance
Pureté de l'inoculum	Garantie et reproductible	Moût de raisin chargé de manière variable en micro-organismes : implantation d'un levain possible mais non garantie.
Phase de latence	Liée à la souche utilisée et aux facteurs du milieu	Quasiment absente si les conditions de milieu (sucres, SO ₂ , température...) du levain et du moût à ensemer sont proches
Niveau de population apportée	Populations apportées régulières (1 million de cellules/mL)	Apport minimum : 3% du volume de la cuve en levain pour assurer un départ en fermentation du moût
Hygiène	Sources de contamination faibles (bac de réhydratation).	Plan d'hygiène rigoureux indispensable. Moyens à mettre en œuvre plus conséquents pour assurer la pureté des levains.
Contraintes de main d'œuvre	Coût facilement mesurable ; opération nécessitant peu de main d'œuvre et de matériel de cave	Coût réel difficilement calculable : coûts en main d'œuvre et en matériel plus conséquents, et inoculation du levain plus contraignante.

Tableau 3
Contraintes technologiques comparées entre LSA et pied de cuve (IFV 2015)

Les résultats de ce programme ont permis de proposer aux professionnels des préconisations de mise en œuvre du pied de cuve et un protocole adapté au terrain, diffusé par Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine.

PROTOCOLE RETENU PIED DE CUVE LEVURIEN « OPTIMISÉ »

(source : *Levures et bactéries en œnologie, valorisation des biodiversités, IFV, 2020*)

Choix de la vendange

- Choisir une vendange de qualité sanitaire indiscutable et proche de la maturité
- Vendanger 6-7 jours avant la date de la vendange, l'équivalent de 1 à 3% du volume de la ou des cuve(s) à ensemer,
- Utiliser si possible une cuve adaptée au volume du pied de cuve et l'inertage du contenant avant le départ de la fermentation est conseillé.

Mise en œuvre et maîtrise du Pied de Cuve

- Pressurage sans débourage, sulfitage du jus à 2-3 g/hL recommandé,
- Nutrition azotée (objectif : 200 mg/L azote assimilable),
- L'objectif est de créer de la biomasse, l'aération en début de fermentation, est plutôt recommandée,
- Maintien de la température autour de 26-28°C sans variation
- Suivi quotidien par prise de densité/température et dégustation. (L'objectif n'est pas de faire un vin, mais de multiplier la biomasse levurienne pour ensemer la cuvée)
- Analyse de la teneur en acidité volatile avant utilisation.

Utilisation du Pied de Cuve

- Utiliser uniquement un pied de cuve ayant une perte de densité rapide (-10 à -15 points/jour) et sans défaut organoleptique. *L'acétate d'éthyle n'est pas un défaut réducteur si la fermentation se déroule correctement.*
- Incorporation entre 1060 et 1020,
- Éviter un écart de température entre le pied de cuve et la cuvée à ensemer (écart maximum de 5°C).

Comment choisir entre fermentation spontanée et pied de cuve ?

Le choix entre une fermentation indigène spontanée ou à l'aide d'un PDC doit se faire de manière éclairée. Dans les deux cas, le souhait initial est de débiter rapidement la FA pour éviter de s'exposer à des déviations organoleptiques et d'aboutir à un métabolisme complet des sucres fermentescibles, gage de stabilité future. La mise en place d'un pied de cuve permet d'optimiser ces objectifs, alors que la fermentation spontanée peut nous en éloigner. Il revient donc d'être conscient des enjeux et de déterminer dès le départ quelle prise de risque on est prêt à assumer.

À NOTER

Un des effets majeurs du pied de cuve est un raccourcissement très important du temps de latence, notamment en blanc.



Thierry DAULHIAC

(Château Le Payral, 14,5 ha,
Appellations Bergerac
et Saussignac,
IGP Périgord et VDF)

PAROLE DE VIGNERON

Lorsque j'ai commencé à travailler avec des levures indigènes, j'ai initialement opté pour des fermentations spontanées. Cependant, j'ai rapidement constaté que les résultats obtenus ne répondaient pas pleinement à mes attentes et en particulier avec les millésimes solaires de ces dernières années : des arrêts de fermentations, des déviations, des malos trop rapides. J'ai donc depuis 2020 préparé des pieds de cuves pour sécuriser au maximum, et les résultats sont là, bien qu'une marge de progression existe. Actuellement ma limite est le temps disponible. La préparation des pieds de cuves est assez prenante surtout que dans l'idéal il faudrait en préparer au moins deux ou trois pour s'assurer qu'au moins un soit intéressant.

Mes premiers pieds de cuves n'étaient pas sulfités mais les résultats n'étaient pas au rendez-vous, depuis je sulfite à 2-3 g/hL et la dynamique est plus franche et plus nette. Il faut faire attention à ne pas prendre des raisins trop mûrs, des maturités du style pétillant avec peu de sucres et de l'acidité semblent mieux correspondre. Il est préférable aussi de pouvoir éloigner un peu le lieu de préparation des pieds de cuves du chai de vinification et en particulier pour les blancs afin d'éviter des démarrages en fermentation trop rapides et de disposer du temps nécessaire pour pouvoir débouter les jus et les préparer correctement. En fait, cela demande beaucoup d'anticipation à la fois pour commencer la récolte des raisins destinés à ces pieds de cuves et aussi pendant leur fermentation où il va falloir être attentif à

ce qu'ils ne fermentent pas trop vite pour pouvoir les utiliser dans le bon tempo, avoir du moût pour les réapprovisionner après une première utilisation, faire quelques analyses pour vérifier qu'il n'y a pas de problèmes. Cela demande donc beaucoup de rigueur. Une fois que les cuves sontensemencées, il faut là encore être très vigilant dans les paramètres essentiels de la fermentation : apporter de l'oxygène aux levures, conserver une température minimum de 20-22°C en blanc, vérifier l'azote assimilable en cas de carence importante. Je fais régulièrement face à des problèmes de réduction en fermentation, que je ne corrige pas par des apports azotés, car le cahier des charges Demeter les considère comme une pénalité. Je privilégie plutôt des techniques d'aération, suivies d'un élevage prolongé sur lies, ce qui me permet, au fil du temps, de retrouver une netteté aromatique satisfaisante.

Dans les prochains millésimes, je souhaiterais affiner le choix du site optimal sur mon vignoble pour récolter les raisins destinés aux pieds de cuves, en cherchant à établir un lien entre les caractéristiques minérales d'une parcelle, la microbiologie qui y est présente, et la qualité des ferments produits. J'aimerais également, au chai, pouvoir quantifier la population de mon levain afin d'ajuster précisément le volume d'ensemencement, ce qui contribuerait à favoriser des fermentations réussies. A l'avenir, j'espère qu'avec un peu plus de temps, je pourrai mettre en œuvre ces améliorations et optimiser mes pratiques.



© F. Guy

Comment gérer une fermentation indigène ?

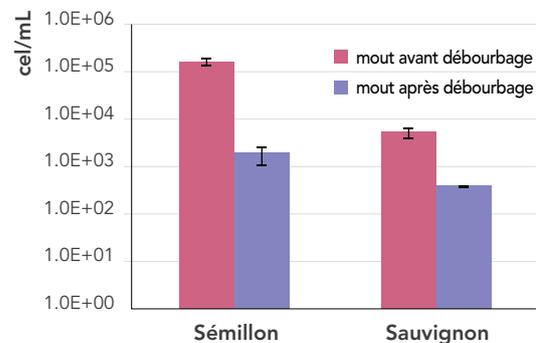
Application en blanc et rosé :

Il sera important de raccourcir les délais entre la récolte de la vendange la plus saine possible et le pressurage pour éviter la trituration, l'oxydation et les risques microbiens associés.

Le sulfitage sera réalisé à la récolte et/ou sous le pressoir en fonction du mode de récolte. Il est conseillé de ne pas dépasser 5 g/hl pour ne pas trop « hygiéniser le milieu ».

Il pourra être judicieux de séparer les jus de benne (lors de vendange machine) ainsi que les jus d'égouttage au pressoir pour les débourber plus sévèrement car plus chargés en résidus de traitement / terre-poussière / raisin abimé / souillures diverses. Excepté ces premiers volumes, attention au débourbage excessif (turbidité < 100 NTU), la perte de population levurienne et de supports de fermentation peuvent être non négligeable et source de difficultés fermentaires (Figure 15). Dans le cas d'utilisation de pied de cuve, la flottation trouve là tout son intérêt en clarifiant rapidement les jus. Cela permet d'ensemencer plus rapidement avec un pied de cuve et laisse moins de temps à une microflore non désirée de s'installer, tout en les protégeant de l'oxydation par bullage à l'azote ou CO₂.

Figure 15
Effet du débourbage sur les niveaux de population levurienne (Zott, 2008)



Si le souhait de mettre en place une stabulation sur bourbes fines existe, cela nécessitera une bonne maîtrise de la température (4 à 5°C stabilisée) et un moût sulfité. La stabulation à froid peut être utilisée pour réaliser le pied de cuve en prenant une partie du jus au départ pour mettre en œuvre le pied de cuve

Si un pied de cuve est utilisé, il sera indispensable lors de son incorporation d'avoir une bonne homogénéité de la cuve pour obtenir une implantation globale effective et rapide. Le volume de levain nécessaire pour lever dans de bonnes conditions est de l'ordre de 3% du volume total à ensemencer. Cela permettra d'assurer une population minimale nécessaire pour un bon départ en FA. Le respect des conditions de températures lors de l'inoculation est très important pour la réussite de l'implantation (différence maximale de 5°C entre le levain et la vendange).

Les conditions fermentaires suivantes seront à surveiller de près en indigène (que ce soit en spontané ou en pied de cuve) :

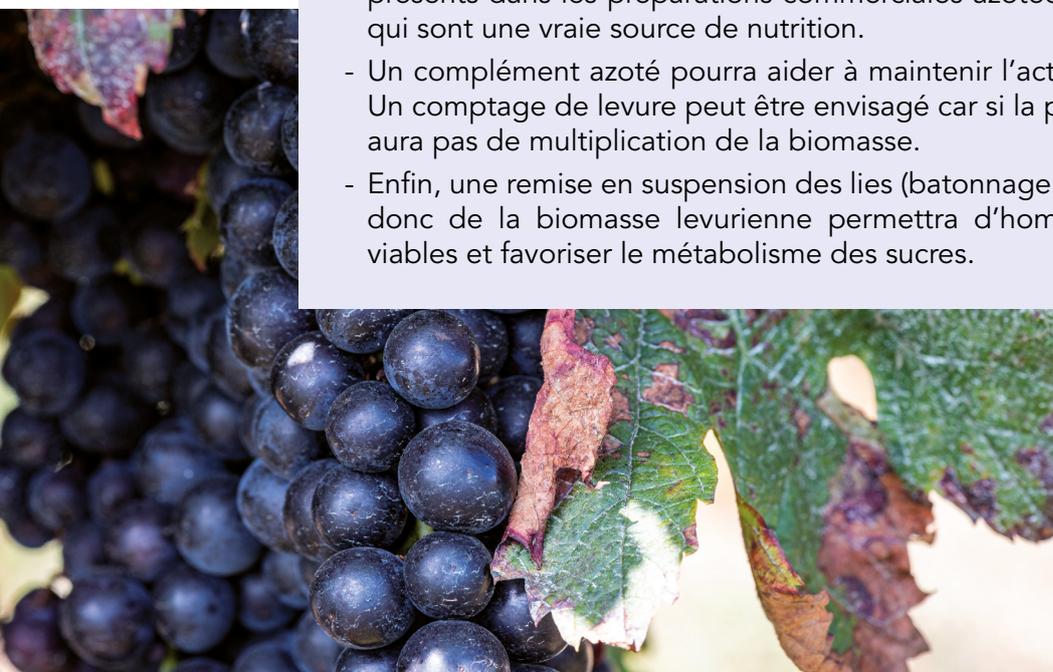
- **la température de fermentation** ne devra pas être trop basse et devra être stable : une augmentation assez rapide dès le début de la FA à 18°C pour favoriser une bonne multiplication levurienne suivi d'un maintien aux environs de 20-22°C sera une bonne base de conduite (voire jusqu'à 24°C lors de fin de FA languissante). Rem : il faut éviter les variations de températures. Sortir le PDC la journée et le mettre en plein soleil pour le remettre au chai le soir n'est pas une bonne idée. Il vaut mieux investir dans des canes d'aquarium pour maintenir le pied de cuve à température constante. Selon les volumes de PDC on va privilégier un contenant (cuve ou garde vin) thermorégulé (ceinture drapeau, serpentini...) et si petit volume le mettre à fermenter dans une pièce à chaleur maîtrisée (chaud ou froid).

- **la nutrition azotée** sera à corriger dans le cas de carence : un appoint autour de 150 mg/L d'azote assimilable en début de FA à l'aide d'azote minéral et organique puis un complément à densité initiale – 30/40 points en fonction de la concentration en sucre du moût seront réalisés. De possibles apports de l'ordre de 5 à 10 mg/L d'azote assimilable pourront également être réalisés si la cinétique fermentaire venait à faiblir ou lors d'apparition de réduction tardive. Les vignerons ne souhaitent pas compléter en fermentation indigène pour des questions philosophiques devront veiller à ne pas trop débourber sévèrement, à récolter des degrés modérés et maintenir de bonnes températures de fermentation
- **l'aération** va être déterminante car indispensable au métabolisme des levures pour la synthèse d'acides gras insaturés nécessaires au bon fonctionnement des systèmes membranaires. Pour cela, il sera important de positionner une aération à environ densité initiale -15 points (aération au bac de l'ordre de $\frac{3}{4}$ volume de cuve ou un apport d'environ 7 mg/L d'oxygène à l'aide d'un diffuseur micro perforé soit environ 50 sec/hL/1 bar). En cas d'apparition d'arômes de réduction en début de FA, une aération supplémentaire peut être judicieuse. Par contre, des apports trop tardifs d'oxygène n'auront que peu ou pas d'effet et pourront profiter à des micro-organismes aérobies tels que les bactéries acétiques.

La nutrition est à piloter en fonction des certifications : le NOP USA ("made with organic grapes") ne permet que d'utiliser de l'azote organique. Les vins certifiés Demeter peuvent être complétés à l'azote organique également, mais uniquement à condition de présenter une analyse de carence avérée sur le moût. La complémentation fait partie des pratiques tolérées dans la limite de 5 par cuvée.

QUE FAIRE EN CAS DE RALENTISSEMENT DE FA ?

- Il faudra s'assurer en premier lieu qu'une fermentation malolactique n'est pas en cours. Dans la négative, plusieurs leviers sont disponibles.
- Si cela n'est pas le cas, la maîtrise de la température doit être vérifiée : elle doit être autour de 20°C. Ne pas hésiter à la remonter à 22-24°C pour observer une éventuelle reprise.
- Ensuite, un apport d'écorces de levures, par fixation des acides gras saturés inhibiteurs, va contribuer à réduire la toxicité du milieu et à relancer l'activité levurienne. En aucun cas les écorces de levures ne représentent une nutrition azotée. Elles ne sont que l'enveloppe externe des levures dépourvues de tout contenu cellulaire, à ne pas confondre avec les levures inactivées ou les autolysats de levures présents dans les préparations commerciales azotées en tant qu'azote organique, qui sont une vraie source de nutrition.
- Un complément azoté pourra aider à maintenir l'activité métabolique des levures. Un comptage de levure peut être envisagé car si la population est trop faible, il n'y aura pas de multiplication de la biomasse.
- Enfin, une remise en suspension des lies (batonnage, brassage sans air à la pompe) donc de la biomasse levurienne permettra d'homogénéiser les levures encore viables et favoriser le métabolisme des sucres.



Application en rouge :

Dans le cas de macération pré-fermentaire (peu recommandée car risquée) :

Comme en vinification en blanc, les bonnes conditions de récolte et la rapidité d'encuvage sont à privilégier.

Une macération à froid de 2-3 jours (même si peu recommandée) peut être envisagée à condition de :

- rentrer une vendange saine et froide (< 8°C) à la récolte
- inerte en CO₂ la cuve de réception,
- sulfiter à 3-4 g/hL lors de l'encuvage avec un apport de SO₂ homogène
- réaliser un pré levurage à raison de 0,5 à 1% à l'aide du PDC pour ensemer le milieu.

La préparation du PDC nécessitera une organisation optimale pour qu'il puisse être utilisé à la fois en pré-fermentaire et à la fois lors du levurage définitif pour la FA. Mais ce choix présente des risques : le pied de cuve risque de ne plus être à la bonne densité au moment du levurage définitif, avec une population levurienne en phase de déclin.

Un sulfitage de la vendange de l'ordre de 3-4 g/hL de SO₂ peut être réalisé, davantage pour limiter l'implantation de bactéries acétiques que pour limiter l'oxydation à proprement parlé. Les vigneron qui ne souhaitent pas sulfiter devront assurer une vendange saine et recourir au CO₂ pour limiter les oxydations. C'est également le cas pour les vigneron qui voudront utiliser la bioprotection avec le pied de cuve.

QUE FAIRE EN CAS DE RALENTISSEMENT DE FA ?

Lors de ralentissement fermentaire, la marche à suivre appliquée sur les blancs et rosés peut s'adapter aux rouges. Par contre, lors d'arrêt fermentaire et qui plus est si une fermentation malolactique est en cours, le décuvage s'avère presque toujours nécessaire pour ne pas risquer une piqûre lactique. Là, deux options :

- accompagner la fin de la FML à condition de n'avoir aucune déviation organoleptique ou augmentation d'acidité volatile puis réaliser un sulfitage modéré de l'ordre de 2 à 3 g/hL pour laisser un espace aux levures qui finiront leur fermentation naturellement ou par le biais d'un PDC de reprise à partir de LSA.
- sulfiter immédiatement à 3 g/hL pour donner la priorité aux levures en profitant d'une activité fermentaire encore existante de manière à finir la dégradation des sucres suite à quoi la fermentation malolactique se fera dans un deuxième temps en condition plus sécurisée.

Attention toutefois au sulfitage : si on sulfite trop, il peut y avoir un risque d'empêchement de reprise de FA et de blocage du départ de la FML par la suite. Il convient de bien suivre l'acide malique ou lactique, la teneur en AV et apporter un pied de cuve actif très rapidement en fin de FML. La décision du sulfitage doit être nuancée au cas par cas avec son œnologue selon la matrice et l'historique de fermentation.

À NOTER

Ces risques sont plus présents en fermentation spontanée que dans le cas d'utilisation d'un pied de cuve.

Concernant le pied de cuve, il serait préférable de pouvoir l'apporter lors du remplissage de la cuve (dès la pompe à marc dans l'idéal) car une incorporation dans un deuxième temps rendra son homogénéisation difficile malgré un remontage. En effet, la charge solide de la vendange rendra l'opération assez aléatoire. Cela confirme l'intérêt de réaliser un pied de cuve liquide qui au-delà du fait qu'il est plus facile à thermoréguler, il permet une utilisation plus pratique et efficace.

A partir de la FA :

Pour ce qui est des conditions de fermentation, on retrouve les mêmes impératifs pour la nutrition azotée.

Concernant la gestion de l'oxygène un apport plus conséquent pourra être réalisé à raison d'un volume de cuve en aération au bac ou 10 mg/L d'oxygène soit environ 70 sec/hL/1 bar à l'aide d'un diffuseur. Ici aussi, des apports tardifs risquent de favoriser des déviations microbiennes (*Brettanomyces* en rouge n'est plus à présenter) plutôt que les levures de fermentation.

Les températures de FA seront moins limitées en raison de contraintes aromatiques moindres qu'en blanc ou rosé. Après un départ à 18-20°C, il sera possible de se maintenir à environ 25-27°C pour la suite de la fermentation. Il est important d'éviter les variations importantes pendant la FA. En fin de fermentation, ne pas hésiter à monter les températures vers 28/30°C pour accompagner les levures, éviter le développement bactérien et pour ceux qui le souhaitent, réaliser des macérations de bonne qualité.

Points de contrôles :

La réalisation de fermentations à partir de levures indigènes, que ce soit en fermentation spontanée ou par l'intermédiaire d'un pied de cuve, peuvent faire l'objet de contrôles analytiques et microbiologiques pour s'assurer de leur bon déroulement. En effet, le suivi classique de l'acidité volatile, du glucose / fructose, des acides malique et lactique donnent déjà de bonnes indications dans l'évolution des fermentations. Aussi, pour s'assurer de la dynamique et de la sécurité de ces dernières, il sera possible de réaliser un dénombrement de levures en début (densité initiale – 20 points, 2×10^6 cellules/mL au minimum) et en fin de fermentation (vers 1010-1020) pour s'assurer d'une population encore nombreuse et viable ainsi qu'une recherche spécifique de *Brettanomyces* en fin de fermentation à minima en cas de ralentissement notable.

LA NOTION DE FERMENTATION DIRIGÉE GRÂCE À LA SÉLECTION

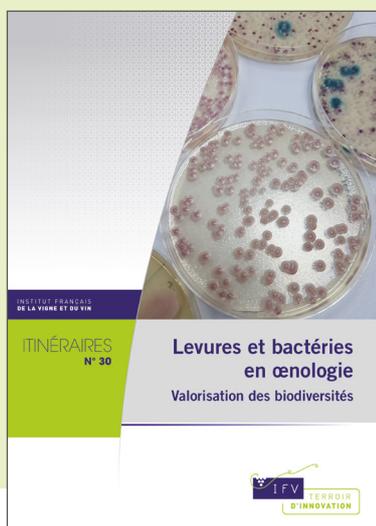
La sélection de levures au sein de domaines viticoles est parfois pratiquée. **On sort ici du cadre de la fermentation indigène.** A partir du moment où sélection il y a, cela revient à travailler avec des LSA (qui initialement sont indigènes aussi). Utiliser des levures sélectionnées, même à partir de son domaine, consiste à recourir à une "fermentation dirigée".

La sélection pour un domaine suit un procédé simplifié par rapport à la production de LSA. Elle se fait par sélection massale.

Ces procédés peuvent prendre plusieurs années et ont un certain coût. Un domaine doit donc bien réfléchir à l'intérêt d'une telle pratique, d'autant que la souche sélectionnée ne sera pas forcément adaptée à chaque millésime.

Chez les non-*Saccharomyces* la sélection a également été développée mais ces levures restent difficiles à utiliser seules. Il est possible de les utiliser en co-inoculation (associée à une *Saccharomyces*). Des gains aromatiques peuvent être observés. La sélection de non-*Saccharomyces* au sein de domaines viticoles reste toutefois une pratique marginale, onéreuse, et aléatoire.

Retrouvez tous les détails sur la sélection dans la publication : [Levures et bactéries en œnologie, valorisation des biodiversités, IFV, 2020](#) ou en flashant ce QR code :



CONCLUSION

	En faveur de la fermentation indigène 	En défaveur de la fermentation indigène 
Facteurs internes à l'exploitation	FORCES <ul style="list-style-type: none"> - plus économique car pas d'achat de LSA - valorisation des levures naturellement présentes - pas de contrainte vis à vis des distributeurs de LSA - argument commercial auprès du consommateur - mise en œuvre simple (surtout en spontanée) - sécurisation renforcée avec pied de cuve 	FAIBLESSES <ul style="list-style-type: none"> - mise en œuvre plus complexe avec un pied de cuve - population microbienne inconnue : possibilité de présence de levures inutiles ou néfastes - succès aléatoire, risque d'arrêt de fermentation
Facteurs externes à l'exploitation	OPPORTUNITÉS <ul style="list-style-type: none"> - "naturalité" des pratiques, valorisée par le consommateur et la société - inflation crée le besoin de repenser ses apports d'intrants - la fermentation indigène est requise au sein du cahier des charges Biodynamie 	MENACES <ul style="list-style-type: none"> - la diminution de la biodiversité peut risquer d'avoir une influence négative sur la flore indigène - le changement climatique peut-il déséquilibrer la flore indigène ?

Pour aller plus loin



Sont répertoriées ici des ressources disponibles gratuitement en ligne.

Levures et bactéries en œnologie, valorisation des biodiversités, IFV, 2020
Disponible sur le [lien suivant](#).

Albertin W, Chasseriaud L, Comte G, Panfili A, Delcamp A, et al. (2014) Winemaking and Bioprocesses Strongly Shaped the Genetic Diversity of the Ubiquitous Yeast *Torulaspora delbrueckii*. PLOS ONE 9(4): e94246.
Disponible sur le [lien suivant](#).

Albertin W, Setati ME, Miot-Sertier C, Mostert TT, Colonna-Ceccaldi B, Coulon J, Girard P, Moine V, Pillet M, Salin F, Bely M, Divol B, Masneuf-Pomarede I. 2016. *Hanseniaspora uvarum* from Winemaking Environments Show Spatial and Temporal Genetic Clustering. *Front Microbiol.* 20;6:1569. doi: 10.3389/fmicb.2015.01569. eCollection 2015.
Disponible sur le [lien suivant](#).

Bardin P, 2006. Contrôle et éléments de maîtrise de la contamination par la levure *Brettanomyces* au cours du procédé de vinification en rouge, thèse en Génie des procédés et environnement, Toulouse INPT.
Disponible sur le [lien suivant](#).

Legras JL, Karst F. Optimisation of interdelta analysis for *Saccharomyces cerevisiae* strain characterisation. *FEMS Microbiol Lett.* 2003 Apr 25;221(2):249-55. doi: 10.1016/S0378-1097(03)00205-2.
Disponible sur le [lien suivant](#).

Legras JL, Ruh O, Merdinoglu D, Karst F. Selection of hypervariable microsatellite loci for the characterization of *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Int J Food Microbiol.* 2005 Jun 25;102(1):73-83. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.007. PMID: 15925004.
Disponible sur le [lien suivant](#).

Vallet-Courbin A., Lucas M., Dutilh L., Miot-Sertier C., Windholtz S., Lucas P., Masneuf-Pomarede I., Maupeu J., 2022. L'identification des levures et bactéries œnologiques par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF. IVS technical review. <https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2022.5534>.
Disponible sur le [lien suivant](#).

Vinsonneau.E, Colosio.MC, Cottureau.P, Bely.M, Masneuf.I, Miot-Sertier.C, Maupeu.J, Vallet-Courbin.A, Becquet.S, Pladeau.V, 2016. Fermentation indigène et pied de cuve : Résultats du projet Casdar Levains Bio - Revue des Œnologues - Novembre 2016
Disponible sur le [lien suivant](#).





VIGNERONS BIO
NOUVELLE AQUITAINE

Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine

38 Route de Goujon, 33570 Montagne
05 57 51 39 60 | www.vigneronsbionouvelleaquitaine.fr
contact@vigneronsbionouvelleaquitaine.fr



ISVV
INSTITUT DES SCIENCES
DE LA VIGNE ET DU VIN
BORDEAUX AQUITAINE



UMR OENOLOGIE

Institut des Sciences de la Vigne et du Vin
210 Chemin de Leysotte, 33140 Villenave-d'Ornon
05 57 57 58 58 | www.isvv.u-bordeaux.fr



Microflora - UMR OENOLOGIE

Institut des Sciences de la Vigne et du Vin
210 Chemin de Leysotte, 33140 Villenave-d'Ornon
05 57 57 58 58 | www.microflora.fr



Institut Français de la Vigne et du Vin Vinopôle Bordeaux Aquitaine

39 Rue Michel de Montaigne, 33290 Blanquefort
05 56 16 14 20
Château de la Frémoire, 44120 Vertou
02 40 80 39 52
www.vignevin.com | www.vinopole.com



Pôle Viticulture - Œnologie de la Chambre d'agriculture de la Gironde Vinopôle Bordeaux Aquitaine

39 Rue Michel de Montaigne
CS 20115 33295 Blanquefort cedex
Oenocentre Bergerac-Soussac,
7-11 Le Bourg, 33790 Soussac
www.gironde.chambre-agriculture.fr
www.vinopole.com



AVEC LE SOUTIEN FINANCIER DE

