

**Zeitschrift:** Bulletin de la Société botanique de Genève  
**Herausgeber:** Société botanique de Genève  
**Band:** 16 (1924)

**Artikel:** Étude sur les levures actives des vins valaisans  
**Autor:** Steiner, J.-M.  
**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-1099619>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 20.04.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# Etude sur les Levures actives des Vins Valaisans

par

J.-M. STEINER. <sup>1</sup>

## INTRODUCTION.

Le problème de la vinification par des levures sélectionnées a été posé depuis les mémorables recherches de Louis PASTEUR. En effet, en 1867, puis en 1876, dans son traité sur la bière <sup>2</sup>, le grand maître avait écrit que « le goût, les qualités du vin dépendent certainement pour une grande part de la nature spéciale des levures qui s'y développent pendant la fermentation de la vendange. » Et dans le même ordre d'idées : « On doit penser que si l'on soumettait un même moût de raisins à l'action des levures distinctes, on en retirerait des vins de diverses natures ».

On n'avait donc qu'à tirer les conclusions de la pensée de Louis PASTEUR. En outre, à l'intérêt scientifique s'ajoutait l'importance économique. De là les nombreux travaux à ce sujet. Cependant, le problème n'a guère pu être abordé avec fruit que lorsque HANSEN eut indiqué une technique de triage rapide et sûre à la fois. Dès lors, l'idée de L. PASTEUR fut confirmée par de nombreuses expériences et nombreux sont les travaux entrepris en vue d'améliorer le vin par fermentation au moyen de levures pures. En France, ROMMIER, en 1884, fut un des premiers qui, dans une communication à l'Académie des Sciences « sur la puissance de la levure des vins cultivée », a montré que la vinification par des levures cultivées, peut donner un vin plus riche en alcool. Quelques années plus tard, L. MARX <sup>3</sup>, élève de HANSEN, dans son mémoire sur les levures de quelques-uns des meilleurs crûs français, résumé de plusieurs années de travail, montre la multiplicité de levures qu'on peut trouver dans les lies de vin et propose la méthode de vinification par des levures pures, après avoir lavé les raisins, afin de les

<sup>1</sup>) Travail paru en Juin 1924 (Thèse, Genève).

<sup>2</sup>) PASTEUR, Louis, Etude sur la bière, 1876.

<sup>3</sup>) MARX, Louis, Moniteur scientifique, 1888, série 4, t. II, p. 1273.

débarrasser autant que possible des germes de moisissures et des levures sauvages adhérentes à la pellicule. A peu près à la même époque, KAYSER<sup>1</sup> en triant les levures du cidre, parvint à en isoler plusieurs races distinctes et capables d'imprimer chacune son cachet particulier sur le moût de pommes. Puis parurent les travaux de MARTINAND<sup>2</sup>, de RIETSCH et MARTINAND<sup>3</sup>, de RIETSCH<sup>4</sup>, de FORTI<sup>5</sup>, qui confirmèrent les observations faites sur les caractères physiologiques des ferments alcooliques. La même année, PERROUD<sup>6</sup> en travaillant sur les levures de Bourgogne et Beaujolais, put constater que le vin obtenu par des ferments purs était plus fin, plus velouté, plus bouqueté. Citons encore les travaux de G. JAQUEMIN, résumés dans son beau livre « Les fermentations rationnelles ».

En Allemagne, un progrès considérable fut réalisé à ce sujet par les travaux de deux élèves les plus distingués de Hansen, MULLER-THURGAU<sup>7</sup> et WORTMANN<sup>8</sup>. Ces deux auteurs ont démontré qu'il existe, aussi pour les levures de vin, un grand nombre de races différentes avec des caractères constants.

Ces travaux furent suivis par de nombreux autres travaux de MULLER-THURGAU, ADERHOLD, CUBONI, KAYSER, SEIFERT, OSTERWALDER, CHODAT et LENDNER, etc.

L'importance de la vinification par des ferments purs a été en grandissant de jour en jour, de telle sorte qu'à bien des endroits l'Etat, dans l'intérêt de l'économie agricole, intervint en créant ou subventionnant des établissements chargés de la sélection, de la culture et de la distribution des ferments purs. Ainsi, furent créées les stations de Geisenheim, de Genève, Klosterneuburg, de Wädenswyl.

M. R. CHODAT, directeur de l'Institut de botanique de l'Université de Genève a, depuis 1900, introduit dans le canton de Genève la méthode des cultures pures de levures sélectionnées. On est parti des levures des vins genevois et on n'a conservé que celles

<sup>1</sup>) KAYSER, E., *Annales Pasteur*, 1890, t. IV, p. 321.

<sup>2</sup>) MARTINAND, V., *Bulletin de l'association des chimistes de sucrerie et de distillerie*, 1889-90, t. VIII, p. 182.

<sup>3</sup>) RIETSCH et MARTINAND, *Progrès agricole et viticole*, 1890, N° 13.

<sup>4</sup>) RIETSCH, Conférence faite à Lyon sous les auspices de la Société d'horticulture pratique du Rhône, 1<sup>er</sup> juillet, 1890.

<sup>5</sup>) FORTI, C., *Stazione sperimentale agricola italiana*, 1891, t. XXI, p. 241.

<sup>6</sup>) PERROUD, J., *Revue trimestrielle de la station viticole de Villefranche (Rhône)*, 1891.

<sup>7</sup>) MÜLLER-THURGAU, *Verhandlungen des Deutschen Weinbau-kongresses in Worms. Mainz*, 1891, p. 128, 141 et 142.

<sup>8</sup>) WORTMANN, J., *Landw. Jahrbücher*, 1892, t. XXI, p. 901.

*Ibid.*, 1894, t. XXIII, p. 535.

qui donnaient avec un bon rendement en alcool et une fermentation rapide, un produit qui correspondait au goût des consommateurs habituels. En peu d'années, cette méthode s'est implantée et, actuellement (1922-1923), plus de 150 viticulteurs du canton utilisent les levures genevoises sélectionnées, pour leur vendange. La quantité ainsi fermentée a dépassé un million de litres par an.

Ce travail a été exécuté dans le Laboratoire de Microbiologie et de fermentation de l'Institut de Botanique de l'Université de Genève, sur la proposition et les conseils de M. le Professeur R. CHODAT. Nous exprimons à M. le Professeur R. CHODAT, notre profonde reconnaissance, pour les précieux conseils qu'il nous a sans cesse prodigués.

Les prélèvements ont été fait par l'Institut de Botanique qui avait délégué l'auteur du présent mémoire et M. Fernand Chodat en Valais, auprès des principaux viticulteurs. Nous saisissons cette occasion pour remercier ce dernier pour son aimable collaboration à ce propos.

Les principes adoptés, par exemple à Geisenheim et surtout à Genève, ont été que le ferment soit adapté aux conditions de la fermentation. En effet, pour avoir le maximum d'amélioration du vin, la race que l'on choisit doit être bien appropriée au moût que l'on veut faire fermenter, bien habituée aux conditions de température dans lesquelles elle doit accomplir la transformation du sucre en alcool. Ces conditions ne peuvent être entièrement réalisées que lorsque le moût et la levure proviennent de la même région.

Aussi, en nous laissant guider par ces données, avons-nous voulu sélectionner les levures de quelques-uns des meilleurs crûs d'une des régions qui fournit les vins les plus réputés de notre pays, le Valais. Malgré le nombre considérable de levures sélectionnées qui se trouvent aujourd'hui dans le commerce, un travail de ce genre ne sera nullement oisif, puisque les ferments purs mis à la disposition des viticulteurs n'ont généralement pas de rapports avec le moût à fermenter. L'intérêt d'un tel travail sera à la fois théorique et pratique.

Théorique, puisque ces levures étant originaires d'une région à condition climatérique spéciale, suivraient probablement leurs propres lois dans leur vie végétale et dans leur travail de ferment.

Pratique, parce que par l'emploi judicieux des meilleures races d'une région, on arriverait à améliorer sensiblement les vins de cette région et à contribuer par cela à la prospérité de la population, dont la vie sociale est généralement en rapport étroit avec le rendement de leurs vignes.

Le plan que nous suivrons dans cette étude sera le suivant : Dans une première partie, nous exposerons la technique opératoire (prélèvement des échantillons, milieux employés, triage). Dans la seconde partie, nous donnerons la description des espèces. La physiologie des levures isolées sera traitée dans la troisième partie. Dans la quatrième partie, nous exposerons une série de questions physiologiques et chimiques à la fois. Enfin, dans la cinquième partie, nous résumerons les résultats de nos observations et de nos recherches.

---

# I. TECHNIQUE OPÉRATOIRE.

## 1. PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS.

Nos recherches ont été faites sur des échantillons de quelques-uns des meilleurs crûs du Valais. Les prélèvements, au nombre de 9, ont tous été effectués le même jour dans des éprouvettes bouchées avec du coton hydrophile et stérilisées au préalable à l'autoclave à 120° pendant 30'.

Ayant ouvert le robinet du tonneau, nous avons laissé couler quelques instants le moût, puis en avons prélevé 4 à 6 cc. dans une éprouvette. Avant et après le prélèvement, le col de l'éprouvette a été passé par la flamme.

*1er prélèvement* : Opéré dans les caves de la Maison du G<sup>d</sup> St-Bernard, à Martigny, provenant de la région dite Coquinpey (vin des bancs). Le moût a été fait à partir d'un mélange de raisins dits Fendant et de raisins dits Gros Rhin. Vin encore doux, en tonneau de 1.500 litres depuis environ une semaine, après avoir cuvé 4 à 5 jours.

*2me prélèvement* : Opéré également dans les caves de la Maison du G<sup>d</sup> St-Bernard, à Martigny, provenant du domaine de Fully. Moût fait à partir de raisins dits Fendant. En tonneau depuis une semaine.

*3me prélèvement* : Opéré dans les caves de la Maison du G<sup>d</sup> St-Bernard, à Martigny. Dôle de Martigny, tirée des plans, sis du côté de la Tour de la Bâtia. En tonneau depuis 4 jours après avoir cuvé 6 jours.

*4me prélèvement* : Opéré au Café de la Place, à Martigny. Vin des Marques ou Lamarque, du côté de Rosetta (Martigny), acheté au Prieur.

*5me prélèvement* : Opéré au Café de la Place, à Martigny. Vin d'Arbignon, parchets sis du côté de Martigny-Combe.

*6me prélèvement* : Opéré dans les cuves de M. Orsat, à Martigny. Moût et grappes en pleine fermentation. Le moût a été versé dans l'éprouvette avec une pelle qui se trouvait dans la cuve. Dôle de Fully sans mélange.

*7me prélèvement*: Opéré dans les caves de M. Orsat, à Riddes. Moût provenant de la région des parchets de Johannisberg et fait à partir de raisins dits Gros-Rhin. Vignes au-dessus de celles de Montibeux.

*8me prélèvement*: Opéré dans les caves de M. Orsat, à Riddes. Moût du domaine de Montibeux, fait exclusivement avec des raisins dits Fendant. En tonneau depuis 5 jours.

*9me prélèvement*: Opéré dans les caves de M. Gruss, à Sion. Vin de Johannisberg, de Vétroz. En tonneau depuis 15 jours.

Tous nos prélèvements ont été faits sur du moût en fermentation plus ou moins avancée. Cette fermentation n'a pas été sans modifier la microflore du moût. En effet, dans le moût à peine en fermentation, nous avons trouvé la flore la plus riche et la plus variée. Rien de plus naturel; pendant la fermentation, la lutte pour l'existence entre les différents végétaux devient de plus en plus âpre; elle amène forcément la mort d'un grand nombre par épuisement; d'autres viennent s'y ajouter, tués par le métabolisme des différents êtres vivants; l'alcool et l'anhydride carbonique déterminent, à leur tour, une certaine sélection. Nos expériences n'ont pu que confirmer cette sélection naturelle.

Qu'il nous soit permis d'exprimer ici, au nom de l'Institut de Botanique, comme au notre propre, à tous ceux qui ont mis obligeamment leurs caves à notre disposition, nos plus vifs remerciements.

## 2. MILIEUX EMPLOYÉS.

*Moût pasteurisé*: Nous avons employé du moût provenant des vignobles genevois et valaisans, tantôt pur, tantôt additionné de saccharose, moût chauffé à trois reprises à 24 heures d'intervalle à une température ne dépassant pas 70°.

*Jus de pommes pasteurisé*: Pour certaines diagnoses physiologiques, nous avons également employé du jus de pommes pasteurisé comme précédemment. Ce milieu, selon WORTMANN<sup>1</sup>, est particulièrement indiqué pour certaines recherches physiologiques.

*Moût à la gélatine*: Pour le milieu solide, nous avons généralement donné la préférence à la gélatine, le point de fusion du milieu

WORTMANN, J., Mitteilungen über Weinbau u. Keller-wirtschaft, 1893, N° 6.

à la gélatine étant passablement inférieur à celui préparé avec la gélose. En outre, chez la plupart des levures, les caractères morphologiques sont bien plus marqués sur le milieu à la gélatine. Nous avons pris la gélatine en proportion de 15%. Avant d'ajouter la gélatine, nous avons eu soin de neutraliser approximativement le moût par Na O H à 10%, afin d'éviter l'hydrolyse de la gélatine pendant la stérilisation. La stérilisation a été faite à l'autoclave pendant 20 minutes à 105°. Pour la clarification, nous avons suivi la technique habituelle, décrite dans les traités de bactériologie.

*Moût à la gélose* : Le milieu de moût à la gélose est un milieu des plus précieux pour repiquer et pour conserver des levures. En effet, sur ce milieu, les colonies sont humides et filamenteuses, tandis que sur la gélatine, la même levure forme le plus souvent des croûtes friables. Aussi, pour des études comparatives des colonies en strie sur moût à la gélatine, l'inoculation ne peut se faire avantageusement qu'à partir d'une colonie sur moût gélifié. Ce milieu a été préparé à 1,5% de gélose, en suivant la technique décrite pour le milieu gélatinisé.

### 3. TRIAGES.

a) *Morphologique* : Les échantillons recueillis ont été revivifiés au laboratoire 12 à 18 heures après leur prélèvement.

Pour cette opération, après avoir agité l'éprouvette, afin d'homogénéiser autant que possible le contenu, nous avons prélevé, à l'aide d'une pipette Pasteur, 1 cc. de chaque échantillon que nous avons fait couler dans 50 cc. de moût stérile.

Sitôt ce moût en pleine fermentation, nous avons opéré un premier triage. A l'aide d'une pipette Pasteur, nous avons prélevé de chaque flacon une goutte que nous avons examinée sur une lame quadrillée de 484 (22 × 22) carrés par cm<sup>2</sup>. Une fois renseigné sur le nombre de germes par goutte dans chaque flacon, nous avons opéré des dilutions dans de l'eau stérile, de manière à ne plus avoir que 100 germes environ par goutte.

Avec une goutte de ces dilutions, nous avons inoculé des milieux à la gélatine, coulés en plaques de Pétri, liquéfiés et ramenés à la température de 30°. L'ensemencement effectué, nous avons eu soin de tourner les Pétri, afin de répartir uniformément les germes

dans la gélatine. Ayant choisi des plaques de Pétri d'un diamètre de 11 à 12 cm. et une couche de gélatine épaisse de 9 à 10 mm., nous avons eu, par conséquent, un peu plus d'un germe par cm<sup>3</sup>. de gélatine. Sans restreindre trop le nombre des germes, ce mode opératoire nous a pourtant donné des colonies assez écartées les unes des autres pour leur permettre un certain développement différentiel.

Les cultures ainsi obtenues ont été maintenues à la température du laboratoire. Elles ont été examinées chaque jour et, au bout de trois semaines, il nous a été possible de différencier morphologiquement, sur les plaques de Pétri, bon nombre de colonies.

Afin d'obtenir un triage morphologique plus sûr et plus détaillé, 146 colonies ont été repiquées en strie sur moût à la gélatine à surface inclinée dans des tubes, en choisissant autant que possible des colonies morphologiquement différentes.

Ces cultures ont été examinées chaque jour et au bout de 4 semaines, de 146 colonies repiquées, 64 ont pu être reconnues morphologiquement différentes.

En outre, l'examen macroscopique et microscopique combinés, nous a permis de rattacher 16 espèces au genre *Pichia* et *Torula*. Ces espèces, n'ayant pas de valeur dans la vinification, ont dès lors été éliminées de nos recherches ultérieures.

b) *Physiologique* : Dans la vinification, la valeur d'une levure est fonction du temps qui s'écoule entre l'inoculation et le moment où la fermentation se déclare, de la durée de la fermentation et du produit de la fermentation.

Aussi, avons-nous examiné nos levures à ce triple point de vue. Pour cette étude, nous avons employé du jus de pommes. En effet, comme nous l'avons dit, d'après les travaux de WORTMANN, ce milieu se prête beaucoup mieux à ces expériences que le moût de raisins.

200 cc. de jus de pommes, dans des flacons d'Erlenmayer de 300 cc. ont été inoculés et les cultures placées au thermostat à 25°. Leur développement a été suivi de près, afin d'être renseigné sur le moment où la fermentation se déclare.

Au bout de 27 heures, la fermentation s'est déclarée dans 26 flacons ; dans 17 autres flacons, elle s'est manifestée en moins de 34 heures, tandis que dans les 5 flacons restant, elle ne pouvait être observée qu'après 40 heures de séjour au thermostat.

Ces dernières levures ayant un pouvoir fermentatif manifestement insuffisant, ont dès lors été éliminées de nos recherches ultérieures. Pour ce qui est des autres levures, nous croyons qu'il ne faut pas donner une interprétation trop rigide au fait que la fermentation s'est déclarée dans un flacon un peu plus tard que dans un autre. En effet, dans les conditions de l'expérience, un petit écart de temps, compris entre l'inoculation et le début de la fermentation d'une levure par rapport à une autre, peut provenir de la quantité de levure inoculée. Seulement le fait d'avoir inoculé dans chaque flacon le même nombre de microorganismes nous autoriserait à une conclusion rigoureuse.

Les 43 premières cultures ont été observées pendant toute la durée de la fermentation et, celle-ci une fois terminée, le liquide a été examiné au point de vue aspect et organoleptique. La durée minimale de la fermentation était de 7 jours, la durée moyenne de 10 jours et la durée maximale de 24 jours.

Toutes les levures avec une durée supérieure à 10 jours (au nombre de 9), ont été éliminées de nos recherches subséquentes.

Ajoutons que la plupart des levures à longue durée de fermentation (environ 3 semaines), appartiennent au genre *Zygosaccharomyces* (Barker), caractérisé par la sexualité. Elles forment facilement des asques déjà sur milieu gélatinisé et se déposent en milieu liquide, même pendant la fermentation. Le liquide fermenté est très clair, légèrement décoloré, mais son goût est généralement acide. Aussi, ne pourrait-il être question d'une telle levure dans la vinification par des ferments purs, à moins qu'elle ne soit associée à une levure à caractères en partie opposés.

Pour ce qui est des cultures ainsi sélectionnées, réduites à 34, elles présentaient, une fois la fermentation terminée, à 3 exceptions près, un aspect clair et limpide avec le dépôt des levures bien au fond. L'odeur du liquide était en général agréable et aromatique, son goût doux, peu acide, parfois même aromatique. Cependant, 7 levures faisaient exception ; pour 2 d'entre elles, le goût du cidre était plat, sans arôme ; pour 3, il présentait un goût fortement astringent, et pour 2 autres, le cidre présentait une forte odeur rappelant celle de l'acétate d'amyle, son goût étant piquant et désagréable à la fois.

Pour avoir confirmation des résultats obtenus par l'expérience que nous venons de faire, celle-ci a été répétée entièrement en

partant cette fois-ci non pas de jus de pommes, mais de moût de raisins.

Sur ce milieu, nos résultats ont été entièrement confirmés.

Ajoutons encore que, relativement aux expériences de WORTMANN, faites sur jus de pommes, nous ne pouvons guère nous rallier à ses conclusions. Bien au contraire, il nous semble qu'il soit plus facile de juger la valeur organoleptique d'une levure sur du vin que sur du cidre.

Par sélection physiologique successive, nous avons dû réduire le nombre de nos levures à 27. Avant d'aborder l'étude de chaque race, nous avons voulu avoir une idée sommaire de leur pouvoir alcoologène. Si le pouvoir alcoologène ou activité du ferment, pour nous servir d'une expression de Duclaux, est essentielle pour une levure utilisée pour la fabrication de l'alcool, il est au moins important pour une levure destinée à la vinification. En d'autres termes, la valeur d'une telle levure va de pair avec sa fonction ferment. Dès lors, il serait inutile d'aller plus loin dans notre étude, avant d'avoir déterminé la fonction ferment de chaque levure, ne fût-ce qu'approximativement.

Afin d'être fixés sur l'activité du ferment, nous avons fait, parallèlement les 2 séries d'expériences suivantes :

Une première série de 27 tubes contenant 9 cc. de moût stérile a été additionnée de 1 cc. par tube d'alcool pur titrant 95° en volume, ce qui nous a donné des solutions de moût à environ 10% d'alcool en volume.

Une seconde série de 27 tubes a été préparée comme la série précédente, en prenant cette fois-ci 8,8 cc. de moût, lequel a été additionné de 1,2 cc. d'alcool, ce qui nous a permis d'obtenir une solution alcoolique titrant 12% en volume.

Ces 2 séries ont été inoculées par du vin obtenu par nos ferments purs, puis placés au thermostat à une température favorable à la fermentation et observées pendant 10 jours.

Au bout de 2 jours, une fermentation active se manifestait dans tous les tubes de la première série avec seulement 2 exceptions. Dans ces 2 tubes aucune fermentation n'a pu être observée pendant toute la durée de l'expérience.

Dans la seconde série, la fermentation a été un peu plus tardive. Cependant, au bout de 3 jours, dans 22 des 27 tubes, le moût était en fermentation avec une intensité plus ou moins marquée. Les 5

tubes restants ont donné un résultat négatif pendant toute la durée de l'expérience.

La conclusion qui se dégage de cette expérience, c'est que le zymase de 22 de nos levures est encore active dans une solution titrant 12° alcoolique en volume, ou pour être plus exact : 22 de nos levures secrètent encore de la zymase dans une solution titrant 12° alcoolique en volume.

Ces 22 dernières levures seules correspondent à tous points de vue aux exigences d'une bonne levure destinée à la vinification.

Nous en avons choisi 15, dont nous donnerons la description dans le chapitre suivant.

---

## II. DESCRIPTION DES ESPÈCES.

---

L'étude de la morphologie des levures est un travail rendu difficile par la variabilité des cellules et des colonies en fonction du milieu, de la température et du temps. Aussi, avant de donner la description de chaque levure, avons-nous voulu indiquer exactement les conditions dans lesquelles les caractères morphologiques ont été obtenus.

1. *Morphologie des cellules*: Pour cette étude, nous nous sommes adressés à une jeune culture de 3 jours sur du moût, dans des tubes à essais, obtenus à la température du laboratoire, soit 16 à 18°.

2. *Caractères de la végétation de dépôt. Formation de voile et d'anneau*: Ces caractères ont été notés sur des cultures obtenues sur du moût de raisins, dans des flacons d'Erlenmayer (200 cc. de moût dans des Erlenmayer de 300 cc.), au bout de 18 jours à la température du laboratoire, soit 16 à 18°.

3. *Formation des ascospores*: Pour réaliser les conditions favorables à la sporulation, soit cellules jeunes et vigoureuses, manque de nourriture, inanition, libre accès d'air, humidité et température favorable, nous avons utilisé la méthode de CHODAT, méthode qui consiste à cultiver les levures sur plaques de porcelaine dégourdie, en tubes de Roux. Des jeunes cellules cultivées pendant

4 jours sur du moût gélatinisé ont été transportées à l'aide d'un fil de platine sur ces plaques de porcelaine en tubes de Roux, plongées dans de l'eau par leur partie inférieure et le tout stérilisé au préalable. Ces cellules doivent être étalées en frottis minces. En effet, nous avons pu constater que la sporulation a lieu d'autant plus vite, toutes conditions égales par ailleurs, que ce frottis est plus mince. Ce fait doit être interprété en ce sens que les conditions nécessaires à la formation des ascospores sont d'autant mieux réalisées que le frottis est plus mince.

Les cultures ont été maintenues à la température de 25 degrés et examinées au microscope après 12 heures, 24 heures, 48 heures, etc., pendant 10 jours.

Nous avons également examiné au microscope les cultures en strie sur moût gélatinisé, afin d'être fixé sur le pouvoir sporogène de nos levures sur ce milieu.

4. *Morphologie des colonies en strie (en tubes) sur moût gélatinisé à surface inclinée* : Au cours de notre travail, nous avons pu nous persuader que la forme et l'aspect d'une colonie peut sensiblement varier sous l'influence de divers facteurs extérieurs, tels que la proportion de gélatine, la composition du moût, le diamètre du tube, la couleur et l'épaisseur du verre, la stérilisation du milieu, l'ensemencement, la quantité de milieu à la disposition de la levure, etc. Ainsi, un milieu un peu plus riche en gélatine, toutes conditions égales d'ailleurs, ou stérilisé à une température un peu plus élevée, donnera une colonie parfois sensiblement différente. Ces faits ont déjà été signalés par Hansen .

Pour égaliser les conditions autant que possible, nous avons choisi des tubes semblables, d'un diamètre de 16 mm., dans lesquels nous avons fait couler 8 cc. de moût gélatinisé. Ces tubes ont été inclinés et 2 jours plus tard, ensemencés, en traçant à la surface de la gélatine une seule strie droite, sans léser la gélatine. Nous insistons surtout sur le mode opératoire de l'ensemencement ; en léser la gélatine, on obtiendrait à coup sûr un autre développement de la colonie. La description des colonies, conservées à la température du laboratoire, soit 16 à 18°, a été faite au bout d'un mois, délai dans lequel les colonies avaient atteint le maximum de développement et de différenciation. Planche I.

Les colonies sur moût à la gélose ont été obtenues dans les mêmes conditions sur moût à 1,5% gélosé.

5. *Morphologie des colonies géantes* : Les colonies géantes ont été obtenues sur moût à la gélatine en boîtes de Pétri ou dans des flacons d'Erlenmayer. Ici, il est plus facile de réaliser les mêmes conditions de culture. En effet, en cultivant plusieurs levures dans le même Pétri ou dans le même flacon d'Erlenmayer, on place ces levures dans des conditions absolument identiques.

Pour cette étude, nous avons divisé nos levures en 3 groupes de 4 et un groupe de 3 races, en plaçant toujours ensemble les races qui nous ont donné sur gélatine en strie, les caractères les plus rapprochés.

Cependant, pour ce genre d'étude, les boîtes de Pétri présentent certains défauts. En prenant des boîtes de Pétri ordinaires, la couche de gélatine n'est généralement pas suffisante pour obtenir le maximum de développement de la colonie géante, surtout en y plaçant plusieurs cultures à la fois. On pourrait y remédier en prenant des boîtes de Pétri de 2 cm. de hauteur ou même davantage. Mais un autre défaut subsisterait toujours, à savoir l'infection facile à laquelle elles sont toujours exposées, à moins qu'on ne les place dans des appareils spéciaux, à l'abri des germes de l'air.

Cherchant à éviter ces inconvénients, nous avons pris, sur la proposition de M. CHODAT, des flacons d'Erlenmayer d'un litre avec une couche de gélatine de 3 cm. de hauteur. Mais s'il est facile d'inoculer les boîtes de Pétri par la méthode habituelle, en y plaçant, à l'aide d'une pipette Pasteur une goutte de moût en fermentation, cette opération devient plus difficile lorsqu'il s'agit d'inoculer un Erlenmayer d'un litre, afin d'y obtenir des colonies géantes de 4 à 5 races différentes. Cette difficulté peut être évitée en faisant l'inoculation avec une baguette de verre. On flambe la baguette, on la trempe dans du moût en fermentation et on touche la surface de la gélatine. Ce mode opératoire est très commode ; il a l'avantage sur le procédé habituel de pouvoir déposer, avec la même baguette, chaque fois la même quantité de liquide sur la gélatine. D'un autre côté, il arrive souvent avec la pipette Pasteur, soit en déposant la goutte sur la gélatine, soit en retirant la pipette, que des cellules sautent hors de la goutte et forment, par la suite, des colonies à la surface de la gélatine. Cela n'est jamais le cas en opérant avec une baguette.

Les colonies géantes, dont nous donnerons par la suite la description, ont été obtenues en boîtes de Pétri, celles de la Planche II dans un Erlenmayer d'un litre.

**Fendant de Fully, No 1 = 2 II**

(*Saccharomyces ellipsoideus* subsp. *fulliensis* N° 1 var. *typica*.  
Steiner).

Cellules ovoïdes, rarement sphériques, mesurant 6 à 8 $\mu$  de long sur 5 à 7  $\mu$  de large, ne formant jamais d'asques sur gélatine et difficilement sur plaques de plâtre. Quelques rares asques, à 2 et 3 ascospores ont seulement pu être observées au bout de 8 jours. Fermente assez facilement le saccharose, maltose et galactose, mais n'a aucune action sur le lactose. Fort pouvoir réducteur.

*Cultures :*

*Moût.* — Par fermentation, cette levure donne un liquide limpide et clair, d'un goût agréable, d'un degré alcoolique de 14,90 en volume. Le dépôt de levure est grisâtre, pulvérulent, avec quelques gros cristaux de tartre. Pas de voile, ni d'anneau.

*Gélatine.* — Sur gélatine en strie, colonie blanche, mince, croissant en hauteur avec une rainure marquée au milieu, jalonnée de chaque côté d'une ligne droite. Pourtour légèrement lobé et dos lisse.

Colonie géante blanche, croissant en hauteur, à pourtour lobé avec quelques stries circulaires et de très nombreuses stries radiales. Léger cratère au milieu.

*Agar.* — Colonie caséuse, bombée, de couleur blanc-grisâtre.

**Fendant de Fully, No 2 = 2 IX**

(*Saccharomyces ellipsoideus* subspec. *fulliensis* No 2. Steiner.)

Levure à grosses cellules ovoïdes et ovales, entremêlées de quelques cellules allongées. Dimensions : 9 à 11  $\mu$  pour la longueur et 5 à 7  $\mu$  pour la largeur. Ne forme pas d'asques sur gélatine, sur plaque de plâtre au bout de 4 jours avec ascospores disposées en chaînette, tétrade et croix. Dédoublé facilement le saccharose et le maltose, difficilement le galactose et n'a aucune action sur le lactose. Son pouvoir réducteur est de longue durée.

*Cultures :*

*Moût.* — Se dépose rapidement dans le liquide fermenté en formant un dépôt grisâtre, pulvérulent, avec de nombreux cristaux

de tartre. Le liquide surnageant est clair, d'un goût agréable et aromatique. Produit 15,00% d'alcool en volume. Ne forme ni voile, ni anneau.

*Gélatine.* — La colonie en strie est blanche, large, moutonnée dans la partie supérieure et possède une rainure marquée dans la partie inférieure. Elle forme quelques plis dans la gélatine, son pourtour est lobé et le dos bosselé. (Planche I, 5.)

La colonie géante s'étale sur la gélatine ; elle possède de nombreuses stries circulaires et radiaires, un pourtour légèrement lobé et un large cratère au milieu. (Planche II, 2.)

*Agar.* — Colonie grise, filamenteuse, bombée.

### Dôle de Martigny, No 1 = 3 X

(*Saccharomyces cerevisiæ* subspec. *octodurensis* Steiner).

Cellules rondes, plus rarement ovoïdes, d'un diamètre de 6 à 8  $\mu$ . Ne forme pas de spores sur gélatine, sur plâtre au bout de 4 jours, disposées en chaînette et tétrade. Cette levure fermente facilement le saccharose, plus difficilement le galactose, mais ne secrète ni maltase, ni lactase. Son pouvoir réducteur est faible.

#### Cultures :

*Moût.* — Donne un vin clair d'un goût agréable, mais un peu acide avec une teneur alcoolique de 14,90% en volume. Le dépôt est grisâtre, pulvérulent, parsemé de nombreux cristaux de tartre. Elle ne forme ni voile, ni anneau.

*Gélatine.* — Sur gélatine en strie, la colonie croît en hauteur ; elle est caractérisée par une légère cannelure au milieu, jalonnée de chaque côté par une ligne droite marquée. La bordure est frisée et le dos lisse.

*Agar.* — Colonie filamenteuse, bombée, de couleur blanc-grisâtre.

### Dôle de Martigny, No 2 = 3 XII

(*Saccharomyces ellipsoideus* subspec. *alpinus* Steiner).

Levure à cellules ovales, plus rarement ovoïdes et rondes (6 à 8  $\mu$  de long sur 5 à 6  $\mu$  de large). Elle forme des ascospores sur gélatine, plus facilement (déjà en 24 heures) sur plaque de plâtre,

disposées en chaînette de 2 à 4, tétrade et croix. Dédoublent facilement le saccharose et le maltose, plus difficilement le galactose et n'a aucune action sur le maltose. C'est une levure à faible pouvoir réducteur.

*Cultures :*

*Moût.* — Par fermentation, cette levure donne un liquide clair, d'un goût un peu acide. Dépôt grisâtre, pulvérulent, avec de nombreux cristaux de tartre. Formation de quelques petits îlots de voile et d'un anneau assez fort. Produit 14,80% d'alcool en volume.

*Gélatine.* — La colonie en strie sur gélatine est fortement réticulée dans toute son étendue. Elle forme de nombreux petits plis dans la gélatine. Son dos est très bosselé. (Planche I, 4.)

La colonie géante s'étale fortement sur la gélatine. Elle est de couleur gris-brun avec un cratère large et profond au milieu et de très nombreux segments qui chacun forme, à la périphérie, un lobe.

*Agar.* — Colonie caséuse, bombée, de couleur gris-brun.

**Marques de Martigny, No 1 = 4 X**

(*Saccharomyces ellipsoideus* subspec. *marquensis* Steiner).

Levure à cellules en forme d'œuf, plus rarement ovales et rondes, mesurant 8 à 10  $\mu$  de long sur 6 à 8  $\mu$  de large. Elles forment des spores sur gélatine, déjà en 24 heures sur plaque de plâtre avec ascospores disposées en chaînette et tétrade. Elle secrète invertine et maltase, mais ni galactase, ni lactase. Son pouvoir réducteur est faible.

*Cultures :*

*Moût.* — Communique au liquide fermenté un goût légèrement astringent et acide. Dépôt pulvérulent avec de nombreux cristaux de tartre. Produit 14,50% d'alcool en volume. Ne forme ni voile, ni anneau.

*Gélatine.* — Sur gélatine en strie, colonie grisâtre, réticulée, formant de nombreux plis dans la gélatine. Elle ressemble beaucoup à la colonie Dôle de Martigny No 2, néanmoins, elle est moins fissurée.

La colonie géante ressemble également beaucoup à la colonie géante de la levure précédente, avec cette différence que les segments et lobes sont moins nombreux.

*Agar.* — Colonie grise, bombée, filamenteuse.

**Marques de Martigny, No 2 = 4 XX**

(*Saccharomyces ellipsoideus* subspec. *penninus* Steiner).

Grosses cellules ovales, ovoïdes et rondes, ressemblant à celles de la levure précédente. Cependant, elles sont plus allongées (9 à 11  $\mu$  de long sur 7 à 8  $\mu$  de large). Cette levure forme déjà des asques sur gélatine, plus facilement (en 24 heures) sur plaque de plâtre avec ascospores disposées en chaînette de 2 à 4 et en étrade. Fermente facilement le saccharose, plus difficilement le maltose et le galactose et n'a pas d'action sur le lactose. Levure à faible pouvoir réducteur.

*Cultures :*

*Moût.* — Donne un liquide clair à goût agréable, un peu acide, avec un dépôt grisâtre, parsemé de nombreux cristaux de tartre. Ne forme ni anneau, ni voile. Produit 14,60% d'alcool en volume.

*Gélatine.* — La colonie en strie est blanche, large, avec une rainure profonde ; elle forme de nombreux plis dans la gélatine. Son pourtour est mamelonné et le dos bosselé. (Planche I, 2.)

La colonie géante s'étale sur la gélatine ; elle possède au milieu un cratère large mais peu profond. De celui-ci partent de nombreux segments, striés en sens circulaire, qui se dirigent vers la périphérie en y formant chacun un lobe. (Planche II, 3.)

*Agar.* — Colonie brune, bombée, filamenteuse.

**Fendant d'Arbignon, No 1 = 5 VI**

(*Saccharomyces Pastorianus* subspec. *arbignensis* Steiner.)

Grosses cellules ovales, plus rarement ovoïdes et sphériques, mesurant 9 à 12  $\mu$  de long sur 4 à 6  $\mu$  de large. Ne forme pas d'asques sur gélatine ; sur plaque de plâtre, elles apparaissent au bout de 4 jours avec ascospores disposées en chaînette de 2 à 4 et en tétrade. Fermente facilement le saccharose et le maltose, difficilement le galactose (une faible fermentation n'a pu être constatée qu'au bout de 12 jours) et n'a pas d'action sur le lactose. Réduit assez fortement au début de la fermentation.

*Cultures :*

*Moût.* — Communique au produit de fermentation un goût agréable, légèrement acide. Le liquide est clair, le dépôt grisâtre,

granuleux avec de nombreux cristaux de tartre. Pas de voile, mais un anneau assez fort. Donne 13,90% d'alcool en volume.

*Gélatine.* — La colonie en strie forme de nombreux plis dans la gélatine ; rainure profonde en forme de gouttière, pourtour nettement lobé et dos légèrement bosselé.

La colonie géante est blanche, large, avec cratère profond et nombreuses stries en sens radial.

*Agar.* — Colonie grise, bombée, caséuse.

### Fendant d'Arbignon, No 2 = 5 VII

(*Saccharomyces ellipsoideus* subsp. *collinus* Steiner).

Levure à cellules très régulièrement en forme d'œuf, quelques cellules ovales et sphériques de 6 à 8  $\mu$  de long sur 4 à 6  $\mu$  de large. Ne forme pas d'ascospores sur gélatine et très difficilement sur plâtre. Quelques rares asques ont seulement pu être observées au bout de 8 jours. Dédoublent facilement le saccharose et le maltose, mais ni le galactose, ni le lactose. Pouvoir réducteur assez fort au début, mais pas de longue durée.

#### Cultures :

*Moût.* — Elle donne un vin très clair, d'un goût agréable. Forme des îlots de voile et un anneau. Dépôt pulvérulent et grisâtre avec quelques gros cristaux de tartre. Produit 16,60% d'alcool en volume.

*Gélatine.* — La colonie en strie est blanche, mince, croissant en hauteur avec une cannelure au milieu, jalonnée de chaque côté d'une ligne droite. Le bord est presque continu et le dos lisse. Elle ressemble à la colonie Dôle de Martigny No 1.

La colonie géante a également la tendance à pousser en hauteur. Elle possède un léger cratère au milieu duquel quelques gros segments se dirigent vers le bord en y formant des lobes très divisés.

*Agar.* — Colonie grise, filamenteuse, bombée.

### Johannisberg de Riddes, = 7 XV

(*Saccharomyces Chodati* Steiner.)

Cellules ovoïdes plus rarement rondes ou ovales, mesurant 6 à 8  $\mu$  de long sur 5 à 7  $\mu$  de large. Cette levure forme difficilement des spores sur gélatine ; quelques rares asques avec spores en

tétrade et série ont pu être observées au bout de 100 jours. Sur plâtre, elle forme déjà, au bout de trois jours, des spores en tétrade et en série de 2 à 4. Fermente facilement le maltose, très difficilement le galactose, mais elle est sans action sur le saccharose et sur le lactose. Levure à pouvoir réducteur plutôt faible.

*Cultures :*

*Moût.* — Donne un vin clair d'un goût agréable et doux, à dépôt pulvérulent, grisâtre, parsemé de cristaux de tartre. Pas de voile, mais un léger anneau. Produit 14,20% d'alcool en volume.

*Gélatine.* — Sur gélatine en strie, la colonie ressemble à celle de Fendant d'Arbignon No 2 ; elle en diffère seulement par sa tendance plus prononcée à croître en hauteur. (Planche I, 1.)

La colonie géante manifeste la même tendance ; du sommet de la colonie, terminée par un cratère peu profond à fond concave, descendent de nombreux segments, finement striés, jusqu'au bord en y formant des lobes. (Planche II, 1.)

*Agar.* — Colonie gris-foncé, bombée, caséuse.

Cette levure ressemble beaucoup au *Saccharomyces Rouxii*, décrite par BOUTROUX. Elle en diffère cependant par ses cellules plus grandes (6 à 8  $\mu$ . au lieu de 4 à 5  $\mu$ .) et par le nombre des ascospores (jusqu'à 4 par asque, tandis que le *S. Rouxii* en produit au maximum 3). Aussi, ne pouvant pas identifier cette levure à une levure déjà décrite, l'avons-nous nommée *Saccharomyces Chodati*.

**Montiboux, No 1 = 8 XV**

(*Saccharomyces cerevisiæ* subsp. *Orsati* Steiner.)

Cellules rondes, rarement ovales, d'un diamètre de 6 à 8  $\mu$ ., ne formant pas d'asques sur gélatine et très difficilement sur plâtre ; au bout de 10 jours, quelques rares cellules à deux spores ont pu être observées. Fermente facilement le saccharose, moins facilement le galactose, difficilement le maltose et n'a pas d'action sur le lactose. Cette levure a un pouvoir réducteur fort et prolongé. Elle réduit la tyrosine en tyrosol.

*Cultures :*

*Moût.* — Donne un vin clair, d'un goût doux, agréable et aromatique. Dépôt blanc-grisâtre avec gros cristaux de tartre. Pas de voile, mais un léger anneau. Produit 14,80% d'alcool en volume.

*Gélatine.* — Sur gélatine en strie, la colonie est blanche, large, avec une légère cannelure au milieu. Elle forme de nombreux plis dans la gélatine, son pourtour est finement crénelé et le dos presque lisse.

La colonie géante s'étale fortement à la surface de la gélatine ; elle possède un cratère profond au milieu et son pourtour est légèrement lobé.

*Agar.* — Colonie blanc-grisâtre, bombée, caséuse.

### Montiboux, No 2 = 8 XVI

(*Saccharomyces ellipsoideus* subsp. *montibensis* Steiner).

Cellules ellipsoïdes, plus rarement ovoïdes et rondes, de 8 à 10  $\mu$  de long sur 4 à 6  $\mu$  de large, ne formant pas de spores sur gélatine. Sur plâtre on trouve, au bout de 4 jours, des asques avec spores en série de 2 à 4 et en tétrade. Fermente facilement le saccharose, le maltose et galactose, mais n'attaque pas le lactose. Son pouvoir réducteur est remarquable ; elle réduit la tyrosine en tyrosol.

#### Cultures :

*Moût.* — Cette levure donne un vin clair, à goût agréable et aromatique. Dépôt gris avec nombreux cristaux de tartre. Ne forme ni voile, ni anneau. Produit 15,60% d'alcool en volume.

*Gélatine.* — La colonie sur gélatine en strie ressemble à la colonie de la levure précédente. Néanmoins, son pourtour est moins divisé.

Il en est de même de la colonie géante avec cette différence qu'elle possède de nombreuses stries circulaires.

*Agar.* — Colonie grise, bombée, caséuse.

### Johannisberg de Vétroz, No 1 = 9 II

(*Saccharomyces cerevisiæ* subsp. *vetrozensis* Steiner).

Cellules ovales et en forme d'œuf, d'une longueur de 7 à 8  $\mu$  sur 4 à 5  $\mu$  de large. Ne forme pas d'asque sur gélatine et tardivement sur plâtre avec ascospores disposées à 2 ou en tétrade. Fermente facilement le saccharose et maltose, assez facilement le galactose, mais ne secrète pas de lactase. C'est une levure à fort pouvoir réducteur ; elle réduit la tyrosine en tyrosol.

*Cultures :*

*Moût.* — Communique au produit fermenté un goût agréable, le liquide est clair, le dépôt gris avec cristaux de tartre. Produit 14,60% d'alcool en volume. Elle forme un léger anneau, mais pas de voile.

*Gélatine.* — Colonie blanche, large, avec une cannelure nettement visible tout le long de la colonie. Au bord, elle est grossièrement dentelée et le dos est lisse.

La colonie géante s'étale sur la gélatine. Du cratère profond au milieu, de très nombreux segments se dirigent vers la périphérie où ils finissent en lobes finement crénelés.

*Agar.* — Colonie caséuse, bombée, de couleur gris-brun.

**Johannisberg de Vétroz, No 2 = 9 VI**

(*Saccharomyces ellipsoideus* subspec. *thermophilus* Steiner.)

Cellules ovales et ovoïdes, rarement allongées. Longueur 8 à 11  $\mu$ , largeur 6 à 7  $\mu$ . Ne forme pas d'asques sur la gélatine. Sur plâtre, quelques rares asques ont pu être observées au bout de 4 jours à 2 et 3 ascospores. Cette levure fermente le saccharose et maltose, plus difficilement le galactose et n'a pas d'action sur le lactose. Levure à réduction tardive, mais forte et de longue durée.

*Cultures :*

*Moût.* — La levure se dépose vite, en formant une couche grisâtre, granuleuse, dans laquelle de nombreux cristaux de tartre sont entreposés. Le liquide surnageant est clair, d'un goût agréable et aromatique. Pas de voile ni d'anneau. Produit 15,60% d'alcool en volume.

*Gélatine.* — Colonie avec une cannelure large et profonde, un pourtour nettement lobé et un dos bosselé.

Colonie géante très segmentée et lobée avec cratère large et profond, à fond plat.

*Agar.* — Colonie brune, caséuse, bombée.

**Johannisberg de Vétroz, No 3 = 9 VII**

(*Saccharomyces ellipsoideus* subspec. *helveticus* Steiner).

Cellules en forme d'œuf, plus rarement sphériques. Dimensions : 8 à 10  $\mu$  de long sur 6,5 à 8  $\mu$  de large. Forme des asques sur gélatine,

facilement (déjà en 24 heures) sur plâtre avec ascospores en chaînette, tétrade et croix. Dédoublé facilement le saccharose, maltose et galactose, mais n'attaque pas le lactose. Réduit fortement au début, mais la réduction est de courte durée.

*Cultures :*

*Moût.* — Le liquide fermenté se clarifie rapidement, son goût est agréable, le dépôt gris, pulvérulent avec quelques gros cristaux de tartre. Pas de voile, ni d'anneau. Produit 16,80% d'alcool en volume.

*Gélatine.* — Colonie large, fortement ridée avec une cannelure profonde dans la partie inférieure. Le pourtour est légèrement lobé et le dos bosselé.

Colonie géante, fortement réticulée, à cratère assez large, mais peu profond. De celui-ci, de nombreux segments se confondant par endroit, se dirigent vers la périphérie. Pourtour irrégulièrement lobé. (Planche II, 4.)

*Agar.* — Colonie filamenteuse, bombée, de couleur gris-brun.

**Johannisberg de Vétroz, No 4 = 9 XIV**

(*Saccharomyces ellipsoideus* subsp. *alpestris* Steiner.)

Grosses cellules ovales et ovoïdes, plus rarement allongées, de 9 à 11  $\mu$  de long sur 5 à 6  $\mu$  de large. Forme assez facilement des asques sur gélatine, bien plus facilement (au bout de 4 jours) sur plâtre avec ascospores disposées en tétrade et chaînette. Fermente facilement le saccharose et maltose, très difficilement le galactose (une faible fermentation a pu être observée au bout de 12 jours). N'attaque pas le lactose. Réduit rapidement et son pouvoir réducteur est de longue durée.

*Cultures :*

*Moût.* — Produit 15,10% d'alcool. Le dépôt se fait rapidement ; il est grisâtre, pulvérulent, entremêlé de gros cristaux de tartre. Le liquide surnageant est de goût agréable. Ne forme ni voile, ni anneau.

*Gélatine.* — Colonie large, ne formant que quelques plis dans la gélatine avec une cannelure marquée sur toute l'étendue. Celle-ci est jalonnée de chaque côté d'une ligne droite, bien marquée. Le pourtour est nettement lobé et le dos presque lisse. (Planche I, 3.)

La colonie géante est caractérisée par son petit cratère au milieu, par ses quelques gros segments finement striés et ses nombreuses stries circulaires.

*Agar.* — Colonie bombée, à bord continu, de couleur blanc-grisâtre.

### III. PHYSIOLOGIE.

---

#### 1. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES.

Hansen a démontré que les levures se comportent différemment vis-à-vis des différents sucres (monoses, bioses, trioses). Des levures très voisines les unes des autres par leur morphologie, peuvent faire fermenter ou non les glucoses, les fructoses, les galactoses, le saccharose, le maltose, le lactose, etc., ou quelques-uns de ces sucres seulement. Il s'en suit qu'on peut tirer de l'action biochimique d'une levure, des caractères différentiels les plus sérieux.

Aussi, avons-nous voulu déterminer ces caractères pour chacune de nos levures isolées. Cela était du reste indispensable pour nous, du moment que nous voulions assigner à chacune sa place dans les sous-groupes du genre *Saccharomyces* de Hansen.

Pour cette étude, nous avons porté notre choix, non pas sur un grand nombre de sucres, généralement dédoublés par les levures, mais sur ceux d'entre eux qui garantissent, par la disposition de leurs atomes ou groupements atomiques dans l'espace, une certaine stabilité de la molécule. Seulement déterminés dans ces conditions, ces caractères ont de la valeur. C'est ainsi que pour les monoses nous n'avons fait, des expériences qu'avec le galactose.

Pour ce qui est des bioses, l'action enzymatique de nos levures a été déterminée sur le saccharose, maltose et lactose.

Comme criterium de la fermentation, nous avons pris la formation de l'anhydride carbonique, visible par le dégagement de bulles de gaz.

Comme milieu minéral, azotique et vitaminique à la fois, nous avons pris du vin blanc, naturel, désalcoolisé, préparé comme suit : 1 litre de vin blanc a été réduit par distillation aux 2/3 du volume primitif. Ce liquide refroidi a été inoculé par une de nos races pures, afin de pousser la fermentation du sucre jusqu'au bout, puis la fermentation terminée, le liquide a de nouveau été réduit au trois quarts environ et neutralisé ensuite avec Na OH jusqu'à légère acidité. Ce liquide, ainsi débarrassé de son alcool, ne nous a donné avec la liqueur de Fehling, à parties égales, qu'une réduction minime

A partir de ce liquide nous avons préparé nos milieux sucrés. Pour le galactose, cette préparation était toute simple ; une solution de 5% de galactose a été répartie dans des tubes à essais à raison de 10 cc., puis stérilisée pendant 20 minutes à 105°.

Pour les bioses, ce mode opératoire amènerait le dédoublement de ces sucres en monose. Aussi, avons-nous dû stériliser le liquide d'une part et les sucres d'autre part. Nous avons pris du saccharose cristallisé, du maltose et du lactose purs. Ces sucres, desséchés au préalable dans l'exsiccateur, ont été répartis dans des capsules de pharmacie, à raison de 0,50 par capsule, puis stérilisés pendant 30 minutes à l'air sec, à une température ne dépassant pas 105° et enfin ajoutés à 10 cc. de vin désalcoolisé, dans des tubes à essais stérilisés au préalable. Ce mode opératoire permet d'obtenir, avec l'asepsie la plus rigoureuse, des solutions de disaccharides sans aucune hydrolyse.

Ces 4 milieux ont été inoculés par nos levures, les cultures maintenues à la température du laboratoire, 16 à 18°, et examinés tous les jours pendant 4 semaines.

Nous donnons les résultats obtenus dans le tableau suivant :

N° de la levure	Galactose	Saccharose	Maltose	Lactose
2 II	+	+	+	—
2 IX	+	+	+	—
3 X	+	+	—	—
3 XII	+	+	+	—
4 X	—	+	+	—
4 XX	+	+	+	—
5 VI	+	+	+	—
5 VII	—	+	+	—
7 XV	+	—	+	—
8 XV	+	+	+	—
8 XVI	+	+	+	—
9 II	+	+	+	—
9 VI	+	+	+	—
9 VII	+	+	+	—
9 XIV	+	+	+	—

Dans le milieu saccharosé, une fermentation active a pu être observée au bout de 2 jours dans tous les tubes, à une seule exception. De même, dans le milieu au maltose, la fermentation se manifestait dans la plupart des tubes avec une intensité plus ou moins

forte au bout de 2 jours ; dans tous les autres tubes, à une exception près, au bout de 3 jours.

Dans le milieu au lactose, aucun dégagement carbonique n'a pu être observé pendant toute la durée de l'expérience.

Si ces résultats sont nets pour ce qui est du saccharose, maltose et lactose, il n'en est pas de même pour le galactose. En effet, dans le milieu au galactose, aucune fermentation n'a pu être observée avant le 7<sup>me</sup> jour. Au 7<sup>me</sup> jour, elle ne se manifestait que dans 6 tubes et plus tardivement encore dans les autres. Pour la levure 2 IX, l'expérience n'était positive qu'à partir du 22<sup>me</sup> jour. Parfois la fermentation était, au début, à peine visible pour devenir, au bout de 3 à 4 jours, même tumultueuse.

Il nous semble intéressant de signaler ce phénomène. En effet, certains auteurs ont voulu admettre que la levure aurait besoin d'un certain temps pour former, dans son protoplasma, des agents spécifiques, qui ne s'y trouveraient pas préformés, capables, eux seuls, de démolir la molécule. Si tel était le cas, on pourrait alors expliquer le phénomène observé.

L'expérience que nous venons de faire nous montre qu'aucune de nos levures ne fermente le lactose. Cela était d'ailleurs à prévoir. En effet, aucune des bonnes levures connues jusqu'à ce jour ne secrètent de la lactase.

Aussi, avons-nous considéré l'expérience comme concluante.

Pour ce qui est des 5 autres cultures, avec lesquelles aucune fermentation n'a pu être observée, nous avons voulu avoir confirmation de l'expérience, en cherchant à mettre en évidence un autre produit de la fermentation alcoolique, l'alcool éthylique. Pour cette recherche, nous avons profité d'un caractère essentiel de l'alcool éthylique, formation d'iodoforme en milieu alcalin en présence de quelques gouttes d'une solution d'iode, produit qui, lui, est caractérisé par sa solubilité dans l'éther, par son odeur pénétrante, perceptible même lorsqu'il s'agit des traces et par sa forme cristalline.

Cette recherche nous a paru indispensable ; en effet, la vitesse de la diffusion de l'anhydride carbonique par rapport à l'air étant considérable, une légère fermentation aurait pu, par ce fait, échapper à notre observation.

Cependant, la réaction d'iodoforme ne nous a pas donné des résultats bien concluants. D'ailleurs, c'est une réaction qui n'est

pas spécifique à l'alcool éthylique ; elle peut donner des indications précieuses, sans amener à des conclusions rigoureuses.

Aussi, pour aboutir à des conclusions rigoureuses, avons-nous dû faire une seconde expérience comme suit : Des solutions stériles de 20 cc. à 5% de galactose, saccharose et maltose ont été préparées comme pour l'expérience précédente. La moitié environ de chaque tube (10 cc.) a été versée dans une éprouvette stérile, puis inoculée par la levure respective et l'autre moitié gardée comme témoin. Les tubes ont été conservés à la température du laboratoire. Au bout de trois semaines, nous avons procédé à la détermination du facteur réducteur total par 10 cc. de liqueur de Fehling, en complétant avec H<sub>2</sub>O 5 cc. de solution sucrée à 50 cc. (solution de 5 0/00). Nous donnons les résultats obtenus, exprimés en cc. de la liqueur réductrice employée, dans le tableau suivant :

	3 X	5 VII	7 XV	8 X
innoculé . . . . .	7,8	10,6	10,5	10,9
témoin . . . . .	8,4	11,2	10,8	11,4

Une première constatation : Le facteur réducteur est plus élevé avec les témoins qu'avec les liquides inoculés. Faut-il en conclure qu'une certaine quantité de sucre a été transformée par la levure ? Certainement non. Cette différence doit être attribuée à la fonction végétale de la levure. Mais dirait-on pourquoi le rapport réducteur entre le témoin et le liquide inoculé n'est-il pas le même dans les 4 cas ? Cette différence existe pour deux raisons : d'abord, la quantité de levure inoculée dans chaque tube n'a pas été la même et si tel eût été le cas, cette différence existerait, à peu de chose près, quand même pour cette autre raison, que les divers sucres employés offrent à la levure un aliment hydrocarboné fort différent. A ce sujet, notre expérience concorde entièrement avec les connaissances acquises à ce jour.

En effet, P. LINDNER et K. SAITO<sup>1</sup> ont démontré que le maltose constitue, de tous les sucres, l'aliment hydrocarboné le plus favorable, tandis que le saccharose ne joue qu'un rôle minime dans l'assimilation de la levure.

Cette expérience nous a permis de démontrer de la façon la plus rigoureuse, qu'il n'y a pas eu, dans les 4 cas, fermentation alcoolique.

<sup>1</sup>) LINDNER, P. et SAITO, K., Assimilierbarkeit verschiedener Kohlehydrate durch die Hefe. Wochenschrift f. Brauerei, N° 41, 1910.

## 2. LA FONCTION RÉDUCTRICE.

### *Réduction du bleu de Méthylène.*

La fonction réductrice ayant été mise en évidence depuis longtemps, nous avons cherché à lui donner une expression, à déterminer sa valeur. Cette détermination a été effectuée par voie colorimétrique, en nous servant comme indicateur du bleu de méthylène, substance qui passe par réduction en leucobase incolore.

A 10 cc. de moût stérile d'une première série, nous avons ajouté 9 gouttes d'une solution de bleu de méthylène 1/1000, à une seconde série, nous avons ajouté 12 gouttes et enfin, à une troisième série, 15 gouttes de la même solution stérilisée au préalable. Les trois séries ont été inoculées et nous avons pris soin d'ajouter, à chaque série, un témoin. Les cultures, conservées à la température du laboratoire, ont été examinées tous les jours pendant 15 jours.

Dans la première série, la décoloration a été complète le 4<sup>me</sup> jour dans tous les tubes, à une seule exception près ; dans la seconde série, elle n'a été complète que dans 7 tubes, dans 2 autres tubes elle a été complète le 5<sup>me</sup> jour et dans un autre le 6<sup>me</sup> jour seulement. Dans le reste des tubes de cette série, la réduction a passé par des phases plus ou moins avancées, sans jamais être complète.

Dans la 3<sup>me</sup> série, la réduction n'a été complète que dans 4 tubes et au bout de 5 jours seulement pour ne persister que peu de temps.

Il semble donc que l'intensité maximale du pouvoir réducteur de nos levures correspond à cette concentration de la matière colorante, ce qui nous donne une amplitude du pouvoir réducteur comprise entre 9 et 15 gouttes de la solution définie. En nous basant sur ces données expérimentales, nous avons classé nos levures en 3 catégories : levures à faible réduction (comprise entre 9 et 12 gouttes), levures à réduction moyenne (comprise entre 12 et 15 gouttes) et levures à réduction forte (dépassant 15 gouttes).

S'il y a des variations considérables dans l'intensité du pouvoir réducteur, ces variations sont encore plus fortes pour ce qui est de la durée de la réduction. Ainsi, pour les levures 5 VI et 9 VII la décoloration ne persistait, dans la 2<sup>me</sup> série, que pendant environ 2 jours, tandis qu'elle persistait, pour les levures 8 XVI et 9 II, pendant plus de 4 jours et cela bien que les deux premières levures

soient capables de décolorer encore la concentration supérieure de la matière colorante, alors que les 2 premières ne le sont pas.

En comparant les résultats obtenus par l'étude du pouvoir réducteur avec les résultats obtenus par l'examen organoleptique, on voit que les levures à faible réduction, donnent généralement un vin légèrement acide. Ce fait n'est pourtant pas général.

#### *Réduction de la tyrosine*

Nous avons également cherché à mettre en évidence le pouvoir réducteur de nos levures par la tyrosine. Ce composé, soumis à l'action de certaines levures à fort pouvoir réducteur, est réduit au tyrosol, substance caractérisée par son odeur qui rappelle celle de l'essence de rose.

A cet effet, nous avons inoculé nos levures dans 8 cc. de moût à la tyrosine (solution 1/2000), stérilisé au préalable. Les cultures ont été conservées à la température du laboratoire et examinées au bout de 3 semaines.

L'odeur caractéristique n'a pu être perçue d'une façon bien nette que dans 3 cultures, soit : 9 II, 8 XV et 8 XVI, ce qui concorde avec le résultat obtenu dans l'expérience précédente.

---

## IV. ÉTUDE CHIMIQUE.

---

Le problème de la fermentation alcoolique est un problème biologique et chimique à la fois ; biologique, parce que la levure vit dans le moût, y choisit, y secrète ; chimique, en ce sens que le glucose est dédoublé en alcool et anhydride carbonique par la zymase, les protéïques à leur tour sont dégradés par les protéases. D'ailleurs, toutes les manifestations vitales de la levure ne sont que des manifestations de ces diastases ; la vie elle-même n'est maintenue que grâce à la transformation continuelle de la matière vivante effectuée par des diastases ; plus d'action diastasique, c'est la matière inerte, c'est-à-dire la mort. Le problème biologique prime pourtant le problème chimique et l'étude chimique d'un liquide fermenté n'est qu'une partie de l'étude physiologique des microorganismes qui y ont déterminé cette fermentation.

Si nous donnons pourtant à cette partie importante de notre étude le titre d'étude chimique, c'est à cause de la multiplicité de recherches et manipulations purement chimiques qui s'y rattachent.

### 1. POUVOIR ALCOOLOGÈNE.

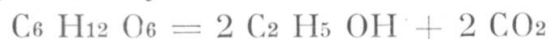
Le triage physiologique nous a donné des indications précieuses sur le pouvoir alcoologène qui nous serviront de base dans cette étude. En effet, nous avons vu que nos levures secrètent encore de la zymase dans une solution titrant 13<sup>o</sup> alcoolique en volume ou 10,50<sup>o</sup> en poids.

C'est un pouvoir alcoologène qui suffira toujours aux exigences pratiques dans la vinification, ceci en tout cas dans notre pays. Cependant, pour des raisons d'ordre théorique d'une part, et pour nos recherches ultérieures de l'autre, il nous a été indispensable de déterminer la valeur absolue de l'activité du ferment.

A cet effet, nous avons d'abord déterminé l'indice réducteur du moût par la méthode classique de la liqueur de Fehling, afin d'être renseigné sur la richesse de celui-ci en glucose. Cette détermination nous a donné comme indice réducteur total 16,34% de glucose.

D'autre part, on sait, d'après PASTEUR<sup>1</sup>, que sur 100 parties de sucre, 5 à 6,5 parties sont consommées pour la formation de certains produits accessoires de la fermentation alcoolique, tels que la glycérine et l'acide succinique. Une autre partie est consommée par la levure pour satisfaire sa fonction végétale.

Cela étant admis, il ne restera plus qu'environ 15,4% de glucose pour la formation d'alcool éthylique, ce qui nous donnera selon la formule classique de Gay-Lussac



7,87% d'alcool en poids ou 9,79% en volume.

Cela nous montre que la quantité de sucre du moût est loin d'être suffisante pour la détermination de l'activité du ferment.

Aussi, avons-nous dû enrichir le moût en matière sucrée de manière à permettre à la levure de mettre en évidence toute sa valeur de ferment.

Comme matière sucrée, nous avons pris le saccharose en proportion de 14 gr. pour 100 gr. de moût, ce qui nous a permis d'ob-

<sup>1</sup>) PASTEUR, L., Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences 46 p., 857 et 47, p. 224, Paris, 1858.

tenir un moût titrant 31,72 en sucre interverti ou 30,47 en glucose dont 29 gr. environ entreront en jeu pour la formation d'alcool éthylique, ce qui donnera théoriquement 14,62% d'alcool en poids ou 18% en volume.

Ainsi sont réalisés les deux éléments du problème : concentration suffisante pour permettre à la levure de mettre en évidence toute sa valeur de ferment, sans entraver d'autre part son activité par une concentration trop forte.

Dans ce milieu, réparti à raison de 200 cc. dans des Erlenmayer de 300 cc., nous avons inoculé nos levures et les cultures obtenues ont été conservées à la température de 14 à 16°.

Une fois de plus, nous avons eu confirmation des observations faites à propos du triage physiologique, à savoir que le début et la durée de la fermentation sont sensiblement les mêmes pour toutes nos levures.

Au bout de 3 semaines, nous avons procédé à la détermination du degré alcoolique. Pour cette opération, nous avons suivi exactement le procédé du Manuel Suisse des Denrées Alimentaires et, dans le liquide distillé, ramené au volume du départ, le degré alcoolique a été déterminé par l'alcoolomètre de Salleron.

Enfin, pour avoir confirmation des résultats obtenus, nous avons également déterminé l'indice réducteur du liquide fermenté. Nous donnons les résultats obtenus dans le tableau ci-joint :

N° de la levure	Alcool en volume	Alcool en poids	Indice réducteur en sucre interverti
2 II	14,90	12,06	4,65
2 IX	15,00	12,15	4,48
3 X	14,90	12,06	4,61
3 XII	14,80	11,98	4,82
4 X	14,50	11,73	5,17
4 XX	14,50	11,73	5,16
5 VI	13,90	11,24	6,36
5 VII	16,60	13,46	1,87
7 XV	14,20	11,48	5,72
8 XV	14,80	11,98	4,74
8 XVI	15,60	12,64	2,49
9 II	14,60	11,81	5,13
9 VI	15,60	12,64	2,47
9 VII	16,80	13,64	1,42
9 XIV	15,10	12,23	4,29

## 2. LEVURES COMBINÉES.

Selon WORTMANN et DELBRÜCK<sup>1</sup>, c'est dans la lutte pour son existence que la levure a acquis la plupart de ses caractères physiologiques.

D'après ces auteurs, les premières levures vivaient, comme les autres champignons, au contact de l'air. Mais ayant pris l'habitude de vivre sur des fruits pourris ou sur des sécrétions des arbres, elles étaient aux prises avec les autres organismes vivant dans les mêmes conditions. C'est dans cette lutte que la levure a appris à engendrer certains produits de défense, tels que l'alcool, l'anhydride carbonique, les acides volatils, etc., pour combattre victorieusement contre ses adversaires.

Dans cette lutte pour son existence, la levure s'est individualisée; elle a acquis ses caractères distinctifs qu'elle transmet de génération en génération, parfois même elle a créé ses propres moyens de défense pour assurer sa vie et celle de ses descendants.

S'il en est ainsi, la question se pose; ne pourrait-on pas exalter certains caractères physiologiques de la levure en lui associant d'autres races, d'autres espèces? Ou bien si tel n'est pas le cas, tout au moins ne serait-il pas possible de réunir les différents caractères physiologiques de 2 ou plusieurs levures en les associant les unes aux autres?

En effet, s'il est admis que certaines levures se distinguent particulièrement par leur pouvoir alcoologène, d'autres par les produits parfumés qu'elles élaborent au cours de la fermentation, la question se pose de savoir comment se comportent ces deux levures l'une vis-à-vis de l'autre, comme antagonistes ou collaboratrices? Si elles se comportent comme collaboratrices, le produit de la fermentation doit être un vin riche à la fois en alcool et produits parfumés.

Ces considérations d'ordre général font ressortir l'intérêt, aussi bien théorique que pratique, qui s'attache à la question

Tout d'abord, nous avons voulu déterminer l'action de 2 levures combinées par rapport à leur pouvoir alcoologène, en combinant toujours 2 levures qui nous ont donné la plus forte différence pour leur valeur de ferment.

1) DELBRÜCK, M., Wochenschrift für Brauerei, 1903.

A cet effet, nous avons fait 2 séries d'expériences avec le même milieu indiqué pour l'expérience précédente. Dans la première série, nous avons inoculé les levures combinées, dans la seconde série, les levures simples.

Les cultures ont été conservées à la température du laboratoire soit 16 à 20°. Au bout de 3 semaines, nous avons déterminé, dans chaque flacon, la teneur alcoolique :

N° des levures	combinées	simples	simples
5 VI × 5 VII	15,30	13,00	15,40
5 VI × 8 XVI	14,20	13,00	15,30
7 XV × 5 XII	15,25	13,20	15,40
5 VI × 9 VII	15,35	13,00	15,30
7 XV × 9 VII	15,40	13,20	15,30

En comparant les chiffres obtenus des levures simples avec les chiffres correspondants de l'expérience précédente, on constate une différence de la teneur alcoolique qui varie autour d'un degré. D'où provient cette différence ? Elle doit être attribuée à la température qui était, cette fois-ci, environ 4° plus élevée que pour l'expérience précédente. En effet, nous verrons plus loin que l'influence de la température sur la fonction ferment de la levure est considérable.

Une autre constatation se dégage : le degré alcoolique du liquide obtenu avec les levures combinées, correspond au degré alcoolique du liquide obtenu avec la levure à plus forte fonction ferment.

Cela nous amène à la conclusion que la levure à plus fort pouvoir alcoologène n'a pas été ni excitée, ni entravée dans son travail de ferment par la présence d'une autre levure.

Pour établir l'influence mutuelle de 2 ou plusieurs de nos levures combinées sur les produits aromatiques, c'est-à-dire les acides volatils élaborés au cours de la fermentation, nous avons tout d'abord dosé ces éléments pour chacune de nos levures.

D'après DUCLAUX<sup>1</sup>, ce dosage est d'autant plus précis que le liquide à étudier se rapproche plus d'une simple dissolution d'acides volatils dans l'eau pure.

D'autre part, on sait qu'un moût fermenté par une levure donnée, toutes conditions égales d'ailleurs, est d'autant plus riche en acides volatils que le moût était plus riche en glucose.

<sup>1</sup>) DUCLAUX, E., Traité de Microbiologie, 1900.

Le résidu de la distillation alcoolique doit donc suffire à ces deux conditions essentielles : Riche en acides volatils et dépourvu, autant que possible, de matières accessoires.

Pour ces raisons, nous avons pris pour nos expériences, du moût 1921, avec un indice réducteur total de 24,27. Dans ce moût, riche en glucose, nos levures sont capables de pousser la fermentation jusqu'au bout et il donne un liquide fermenté relativement pauvre en tartre et acide tartrique.

Ce milieu a été réparti dans des Erlenmayer de 350 cc., à raison de 200 cc., puis inoculé et les cultures obtenues laissées à la température du laboratoire, soit 16 à 18°.

Au bout de 3 mois, nous avons dosé les acides volatils par la méthode de Duclaux .

Ce dosage étant très délicat, nous croyons utile d'indiquer exactement le procédé que nous avons suivi :

110 cc. de liquide fermenté, amené à 20°, ont été introduits dans un ballon de 250 cc. Le liquide a été neutralisé par Na O H jusqu'à réaction franchement alcaline, puis distillé pour le débarrasser des produits volatils autres que les acides volatils, jusqu'à réduction au tiers environ du volume primitif et enfin, dans le liquide refroidi, les acides volatils ont été mis en liberté par 10 cc. d'acide tartrique 2 N. = 1,50 grs acide tartrique. Du liquide porté à 110 cc. à 20°, réintroduit dans le ballon, des prises de 10 cc. ont été opérées. La distillation a été faite à une température ambiante ne variant que peu autour de 20°, ce qui nous a dispensé du bain plongeur pour les prises, et réglées de manière qu'une prise passait en 10 minutes. Dans les prises successives, l'acidité a été déterminée par Na OH n/100, en nous servant comme indicateur de la phtaléide du phénol (sol. alcoolique 1/100).

Ci-après, nous donnons les chiffres obtenus, ainsi que les rapports de ces chiffres à 100. Seuls ces rapports nous permettront de nous faire une idée des acides volatils présents. Nous ajoutons également les résultats obtenus pour les acides volatils, exprimés en acide acétique par la méthode de Duclaux , ainsi que ceux obtenus par dosage à la vapeur d'eau.

Prise	3 X		9 VII		8 XVI	
	Nombre cc. NaOH n/100	Rapport à 100	Nombre cc. NaOH n/100	Rapport à 100	Nombre cc. NaOH n/100	Rapport à 100
1	7,5	8,8	8,4	11,9	8,9	11,0
2	7,7	9,0	8,2	11,6	9,2	11,4
3	7,1	8,4	6,7	9,5	8,0	9,9
4	6,5	7,6	6,0	8,5	7,8	9,7
5	6,6	7,8	4,9	7,9	6,6	8,2
6	7,1	8,4	4,9	7,0	6,6	8,2
7	8,2	9,7	5,9	8,3	6,5	8,1
8	9,5	11,0	6,3	9,0	7,4	9,1
9	10,8	12,7	8,2	11,7	8,9	11,0
10	14,1	16,6	10,9	15,5	10,9	13,4
	85,1	100,0	70,4	100,0	80,8	100,0
	0,5106 grs ac. acétique 0,6019 p. vap. d'eau		0,4224 grs ac. acétique 0,4815 p. vap. d'eau		0,4848 ac. acétique 0,5575 p. vap. d'eau	

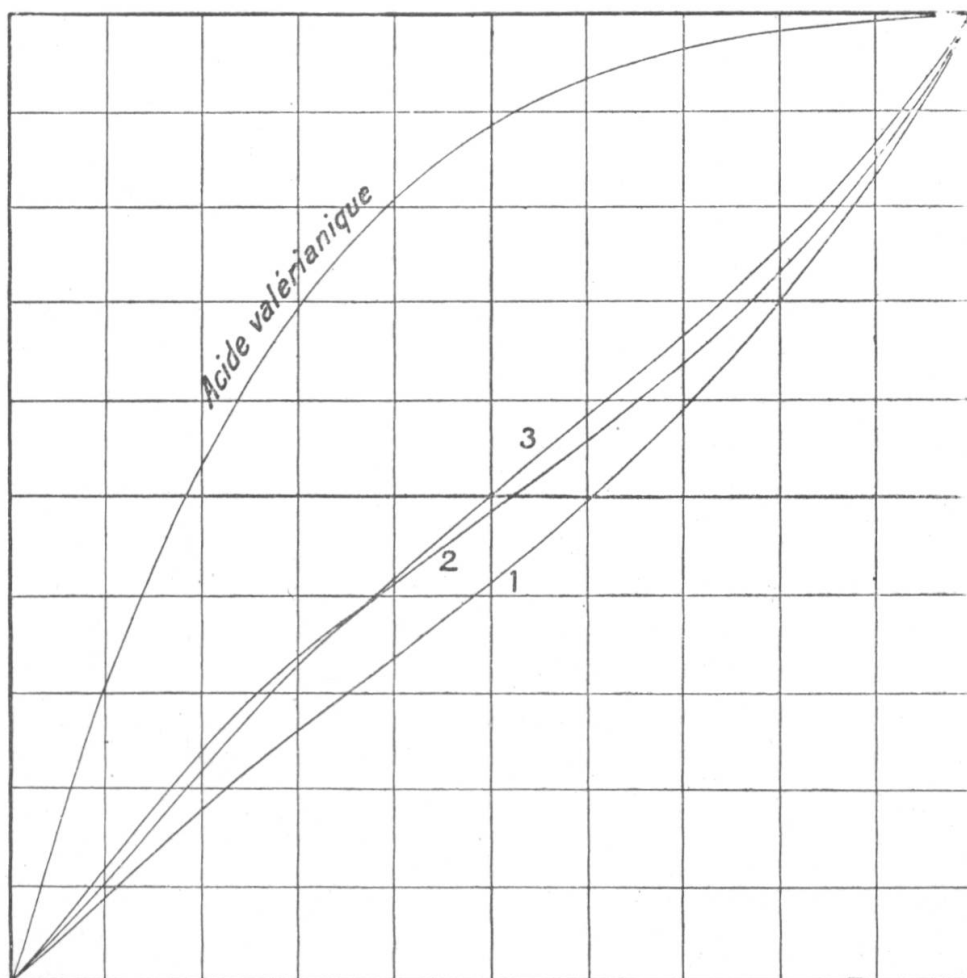
Prise	3 XII		3 XII		8 X	
	Nombre cc. NaOH n/100	Rapport à 100	Nombre cc. NaOH n/100	Rapport à 100	Nombre cc. NaOH n/100	Rapport à 100
1	8,6	9,4	7,0	10,7	8,2	9,2
2	8,9	9,8	7,1	10,8	8,3	9,4
3	8,8	9,6	6,5	10,0	7,7	8,7
4	7,9	8,6	6,1	9,3	6,7	7,5
5	6,9	7,6	5,4	8,3	6,8	7,7
6	7,4	8,1	5,2	8,0	8,1	9,1
7	8,3	9,1	5,2	7,9	8,2	9,2
7	9,2	10,1	6,0	9,1	9,0	10,2
9	11,2	12,3	7,5	11,4	11,7	13,2
10	14,1	15,4	9,6	14,6	14,0	15,8
	91,3	100,0	65,6	100,0	88,7	100,0
	0,5478 grs ac. acétique 0,6354 p. vap. d'eau		0,3936 grs ac. acétique 0,4387 p. vap. d'eau		0,5322 grs ac. acétique 0,5992 p. vap. d'eau	

Avant d'aborder la discussion des résultats obtenus, rappelons les deux lois suivantes établies par Duclaux :

1. « La marche des nombres dans la série d'opération est caractéristique de l'acide volatil dans le ballon.

2. S'il y a deux acides, chacun se comporte comme s'il était seul et suit les lois de sa distillation propre. »

Représentons maintenant le rapport de nos prises par des courbes. Celles-ci doivent partir toutes du même point 0, pour aboutir au même point 100. Les rapports nous donnent 6 courbes, correspondant aux 6 levures examinées. Cependant, nous avons pu ramener ces 6 courbes aux trois types extrêmes, représentés dans la Fig. ci-jointe.



Le type 1 est donné par la levure 3 X. En outre, la marche des prises 3 XII et 8 X, nous a donné des courbes se rapprochant sensiblement de la courbe de la levure 3 X, sans jamais être identique. Aussi, avons-nous réuni les courbes de toutes ces levures dans un seul groupe, sous le nom de type 1. De même, le type 2 est donné par la levure 9 VII, le type 3 par la levure 8 XVI. En outre, au type 3 appartient la levure 8 XV.

Nous connaissons, d'autre part, les courbes pour les acides volatils purs, le plus souvent trouvés dans les liquides fermentés, tels que l'acide formique, acétique, propionique, butyrique, valérianique. Celles-ci ont été établies par Duclaux. En comparant nos courbes avec celles données par Duclaux pour les acides purs, nous pouvons pronostiquer sur la nature et la prédominance des acides présents.

Une première constatation s'impose : Dans tous les 6 cas examinés, nous avons eu décroissance du titre acide pour les premières prises, pour avoir stabilisation au milieu et augmentation vers la fin de la distillation. Cela nous donne des courbes à doubles courbures, concaves vers l'axe des abscisses dans leur partie inférieure, avec point d'inflexion compris pour toutes les levures entre la 3<sup>me</sup> et 7<sup>me</sup> prise, pour être convexe pour les dernières prises. Elles mettent en évidence un fait bien connu dans la fermentation alcoolique, à savoir qu'il y a mélange de plusieurs acides volatils.

De quelle nature sont-ils et quelle est leur proportion ? Pour répondre à la première de ces questions, nous rappelons que les acides volatils passent d'autant plus facilement dans les premières parties du liquide distillé, qu'ils sont moins volatils. Ainsi, les acides formique et acétique se concentrent dans le liquide resté dans le ballon et passent les derniers, tandis que les acides propionique, butyrique, valérianique, caproïque, etc., passent les premiers et se concentrent, par conséquent, dans le liquide distillé.

Cela admis, il s'ensuit qu'il y a dans tous nos liquides fermentés des acides volatils appartenant aussi bien à la série convexe (acides formique et acétique), qu'à la série concave (acides propionique, butyrique, valérianique).

Pour mieux faire comprendre ce que nous avons exposé, nous donnons, dans la Fig. ci-dessus, la courbe des prises de l'acide valérianique et nous rappelons que la courbe des prises de l'acide acétique est sensiblement la même que celle du type 1, avec cette différence qu'elle est convexe vers l'axe des abscisses dans toute son étendue.

Mais il y a des différences assez considérables en ce qui concerne les proportions appartenant à chacune des deux séries. Cela se traduit graphiquement, non seulement par l'écart des courbes les unes des autres, mais encore par le déplacement de leur point d'inflexion. Ainsi, pour le type 1, le point d'inflexion est donné par la 4<sup>me</sup> prise, pour le type 2, par la 5<sup>me</sup> prise, alors que pour le type 3, il est situé à la 6<sup>me</sup> prise.

Ces généralités posées, prenons maintenant chacun des types à commencer par le type 1. En comparant les chiffres de ce type avec les chiffres des acides purs, on voit que les chiffres des 5 premières prises se placent entre les chiffres des acides acétique et propionique, pour suivre, pour les prises supérieures, sensiblement

la marche de la courbe de l'acide acétique. Il y a donc, dans ce liquide fermenté, beaucoup d'acide acétique et des petites quantités d'acides volatils supérieurs. Quelle est leur nature ? Est-ce que c'est de l'acide propionique, étant donné que les chiffres de l'expérience s'intercalent entre les chiffres de l'acide acétique et propionique ? A première vue, il est assez difficile de répondre, en se basant sur les données que l'expérience a fournies. En effet, par un mélange approprié d'acide acétique avec de l'acide butyrique ou valérianique, on arriverait facilement à avoir sensiblement les mêmes rapports pour les premières prises de l'expérience. Mais alors, les rapports supérieurs doivent changer, à moins que l'élément formique ne s'y trouve en proportion relativement élevée. Cet élément ne peut s'y trouver que sous forme de traces, d'où la conclusion que les acides volatils supérieurs appartiennent, avant tout, à l'acide propionique et qu'il ne peut y avoir que des traces d'acide butyrique et valérianique.

Examinons maintenant le type 2. Sa courbe des prises présente une double courbure bien plus prononcée que le type 1. Elle se place entièrement entre la courbe de l'acide acétique et propionique. Il s'ensuit, que la proportion des acides de la série concave est bien plus élevée que dans le cas précédent. Mais encore ici, l'acide acétique domine de beaucoup les autres acides volatils.

Enfin, la courbe des prises du type 3 se place également entre les courbes des acides acétique et propionique. Cependant, la double courbure est bien moins prononcée que dans le cas précédent, ce qui nous amène à la conclusion que la proportion des acides volatils extrêmes est moins élevée.

Une fois les acides volatils déterminés pour un grand nombre de nos levures, il nous reste à examiner comment elles se comportent les unes vis-à-vis des autres pour ce qui est des produits volatils ?

C'est ici encore l'expérience qui nous a donné la réponse. A cet effet, nous avons inoculé deux des types extrêmes trouvés par l'expérience précédente, soit : 3 X × 8 XVI, 3 X × 9 VII, 8 XVI × 9 VII. Les cultures ont été conservées à la température du laboratoire et le dosage a été fait au bout de 3 mois.

Nous résumons les résultats obtenus dans le tableau suivant :

Prise	3 X × 9 VII		3 X × 8 XVI		8 XVI × 9 VII	
	Nombre cc. NaOH n/100	Rapport à 100	Nombre cc. NaOH n/100	Rapport à 100	Nombre cc. NaOH n/100	Rapport à 100
1	7,8	9,9	9,8	11,2	8,6	11,3
2	8,0	10,1	9,3	10,6	8,5	11,2
3	7,7	9,8	7,9	9,0	7,1	9,4
4	6,7	8,5	7,0	7,9	6,9	9,1
5	6,4	8,1	6,6	7,5	5,5	7,3
6	6,5	8,2	6,9	7,8	6,0	7,9
7	6,9	8,7	7,9	9,0	6,7	8,8
8	7,7	9,8	8,6	9,8	7,1	9,4
9	9,1	11,5	10,3	11,7	8,4	11,0
10	12,2	15,4	13,6	15,5	11,1	14,6
	79,0	100,0	87,9	100,0	75,9	100,0

En comparant ces chiffres avec les chiffres obtenus dans l'expérience précédente, on voit qu'ils se placent pour 3 X × 8 XVI, entre les chiffres correspondants de 3 X et 8 XVI. Il en est de même pour 3 X × 9 VII et 8 XVI × 9 VII. Cependant, ces chiffres ne sont pas identiques aux chiffres qu'on obtient en prenant la moyenne arithmétique des chiffres correspondants du tableau précédent. Faut-il en conclure qu'il y a eu antagonisme, au moins en partie, entre les deux êtres vivants? Certainement non, ni la marche de la fermentation, ni les chiffres obtenus par le dosage des acides volatils, ne nous autorisent à une conclusion semblable. D'ailleurs, la fermentation ne s'est pas faite dans les deux cas dans des conditions absolument identiques, la température de la fermentation ayant été, dans le second cas, légèrement plus élevée. Cette différence de température, à elle seule, peut suffire pour entraver ou favoriser la formation et sécrétion des diastases protolytiques intracellulaires et extracellulaires. Bien au contraire, des résultats que nous avons obtenus, il faut conclure qu'il y a eu collaboration entre les deux levures inoculées.

Les recherches sur les acides volatils nous ont permis de grouper nos levures en 3 types. Le premier type est caractérisé par sa richesse en acide acétique; il se met, par ce fait, en opposition avec les 2 autres types qui, eux, sont caractérisés par un rapport plus élevé des acides volatils supérieurs à l'acide acétique. D'autre part, par la détermination du pouvoir réducteur, nous avons pu classer nos levures en levures à forte réduction, à réduction moyenne et à faible réduction.

En comparant les trois types fournis par la caractérisation des acides volatils avec les 3 groupes obtenus par la détermination du pouvoir réducteur, nous constatons :

1. Les levures du type 1, soit 3 X, 3 XII et 8 X, sont des levures à faible pouvoir réducteur.

2. Les levures du type 2 et 3, soit 8 XV, 8 XVI et 8 VII, sont des levures à pouvoir réducteur moyen et fort.

Il semble donc exister un rapport constant entre le pouvoir réducteur d'une levure et la quantité d'acide acétique élaboré au cours de la fermentation. Cette quantité est d'autant plus élevée que le pouvoir réducteur est moins fort.

Ce fait constitue une des preuves les plus sérieuses à l'appui de la théorie qui fait dériver l'acide acétique des matières hydrocarbonées. En effet, selon les recherches de Neuberg, il se forme au cours de la fermentation alcoolique de l'aldéhyde acétique, produit, qui est réduit par les réductases de la levure, en alcool éthylique.

Dès lors, on pourrait s'expliquer la formation d'acide acétique par l'insuffisance de la fonction réductrice de la levure. Si celle-ci n'était pas assez forte, une certaine quantité d'aldéhyde acétique échapperait à la réduction de la levure et serait, comme produit instable, oxydée en acide acétique.

Ou bien, le phénomène de réduction est-il un phénomène purement chimique, en connexion avec la dégradation du sucre par la zymase? En effet, les expériences que nous venons de faire, nous ont montré que la fonction réductrice de la levure est proportionnelle à la vitesse de la dégradation du sucre, c'est-à-dire, à la sécrétion de la zymase par la levure.

D'ailleurs, le parallélisme entre le pouvoir réducteur et la fermentation alcoolique est établi par le fait même qu'il n'y a de réduction que pendant la fermentation alcoolique.

### 3. INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE.

La question de l'influence de la température sur la marche et les produits de la fermentation, est d'une grande importance dans la vinification. Aussi, avons-nous voulu étudier ce facteur pour nos levures isolées. L'intérêt de cette étude est d'autant plus grand, que nos levures sont, pour ainsi dire, d'origine xérothermique subtropicale. En effet, ces levures, ayant vécu pendant de longues générations dans des conditions de température spéciales, y ont adapté leur vie et leur travail de ferment.

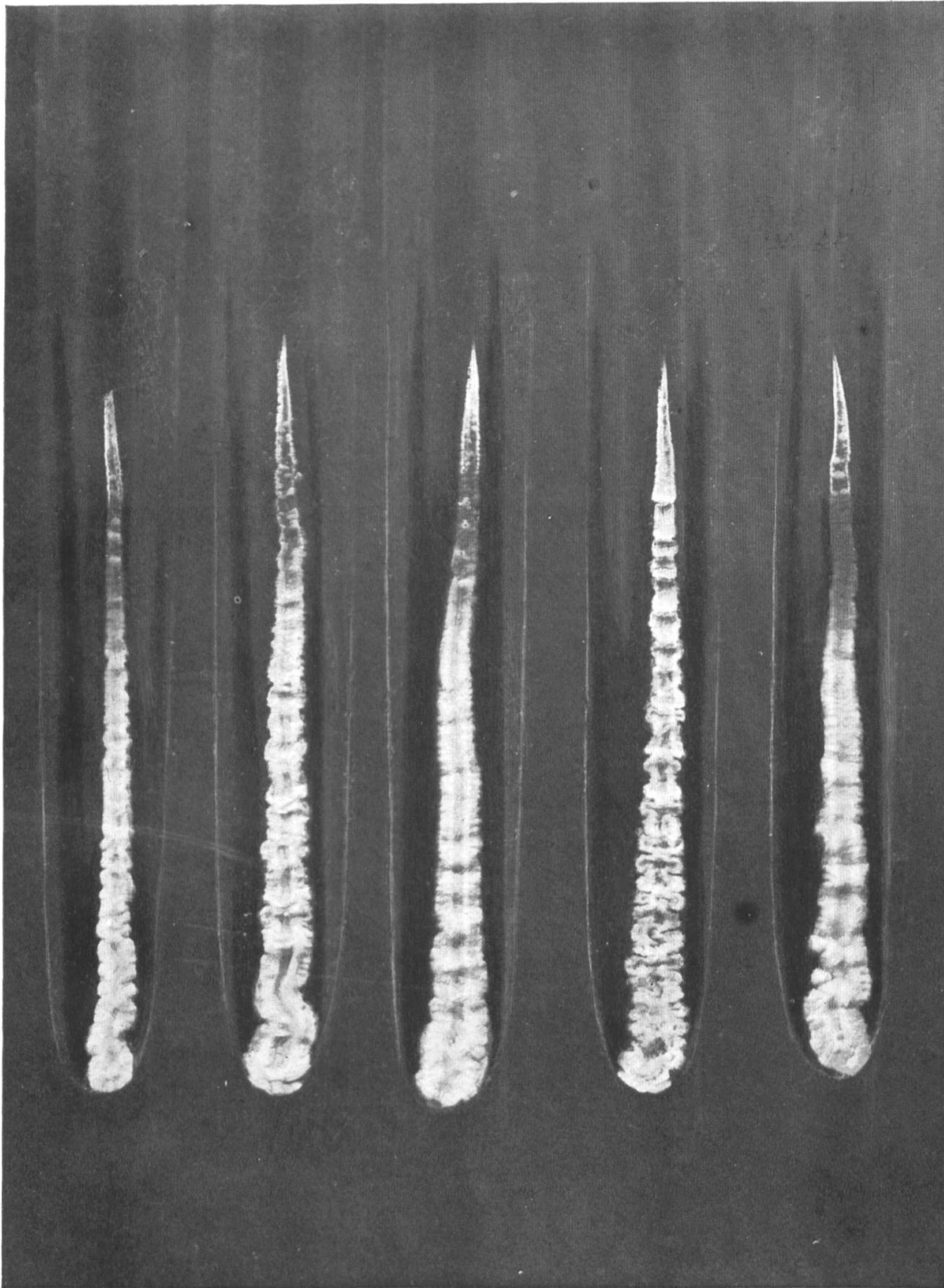
Quelle est la température la plus favorable à la bonne marche de la fermentation et au meilleur rendement de la fonction ferment de ces levures ?

Pour répondre à ces questions, nous avons fait les 4 séries d'expériences suivantes : 3 flacons d'Erlenmayer de 300 cc. avec 200 cc. de moût saccharosé, préparé comme il est indiqué plus haut, ont été inoculés par les levures 3 XII, 5 VII et 8 XVI, puis placés à la température de 12°. Une autre série, inoculée par les mêmes levures, a été placée à 16°, une 3me série à 20°, et enfin une 4me série à 24°.

Le développement de ces cultures a été suivi de près et nous avons eu soin de noter les observations faites sur le début et la durée de la fermentation. Celle-ci achevée, ce qui était le cas au bout de 58 jours, nous avons déterminé le degré alcoolique du liquide dans chaque flacon par la méthode que nous avons indiquée. Nous donnons les résultats obtenus dans le tableau suivant :

Série	Temp.	Temps écoulé de l'inoculation jusqu'au moment où la fermentation se déclare :	Durée de la fermentation :	Teneur en alcool exprimé en volume :		
				3 XII	5 VII	8 XVI
1	12°	4 jours	38 jours	13,90	14,3	14,0
2	16°	3 »	26 »	14,8	16,9	15,8
3	20°	2 »	16 »	13,1	14,5	13,9
4	24°	36 heures	9 »	12,2	12,9	12,3

Ces résultats nous montrent qu'une différence de température se fait sentir aussi bien sur la fonction végétale que sur la fonction ferment de la levure. La vie végétale est activée par une augmentation de la température ; le travail de ferment, au contraire, passe par une température optimale qui se trouve autour de 16°. Les résultats à ce sujet sont conformes aux résultats obtenus par Müller-Thurgau. Cependant, cet auteur a trouvé une température optimale qui serait située autour de 9°, tandis que la température la plus favorable au travail de nos ferments se trouve autour de 16°. Cette différence de température doit être imputée à l'origine des ferments alcooliques.



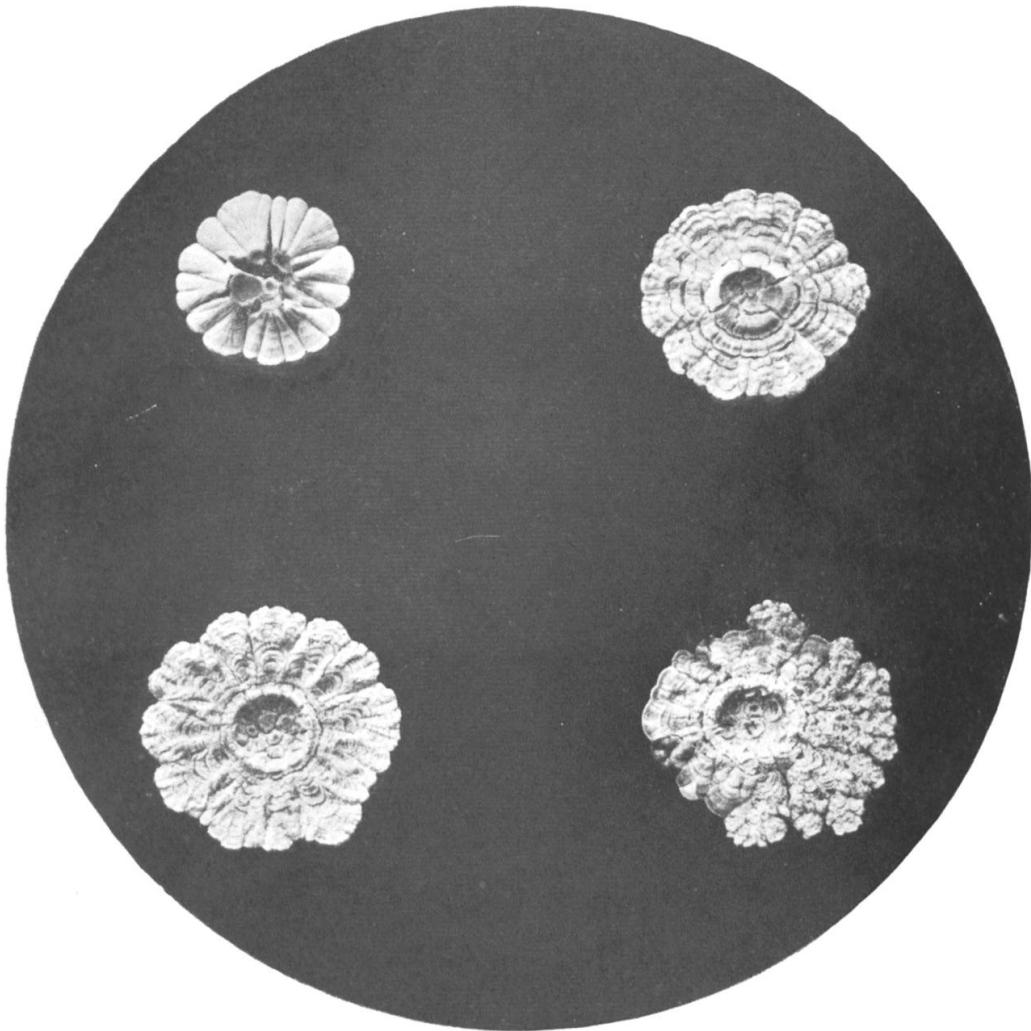
1

2

3

4

5



1  
3

2  
4

## V. CONCLUSIONS.

---

Au cours de nos recherches, nous avons isolé 64 levures différentes. En soumettant ces levures à un triage méthodique, nous avons pu en isoler 22 races, levures avec toutes les qualités requises d'une bonne levure destinée à la vinification.

Par l'examen microscopique des cultures en strie sur gélatine, nous avons pu classer nos levures en 2 groupes : En levures qui forment facilement des ascospores sur milieu gélatinisé (levures sporogènes) et en levures qui ne forment que difficilement des ascospores dans ces conditions, ou n'en forment pas du tout (levures asporogènes).

La sélection physiologique ultérieure nous a permis de constater qu'il existe un rapport entre le pouvoir sporogène et la valeur d'une levure pour la vinification. En effet, les levures qui forment facilement des ascospores sur milieu gélatinisé, ne sont généralement pas propres à la vinification.

Au cours de l'étude sur la morphologie des colonies sur milieu solide, nous avons pu confirmer les observations faites par F. Orsos<sup>1</sup>. Cet auteur est arrivé à la conclusion que la forme des colonies sur milieu solide est fonction de la résistance élastique du milieu sur lequel la levure est cultivée. Nos observations nous ont montré que les caractères morphologiques sur gélatine sont les plus marqués lorsque la proportion en gélatine se trouve autour de 15%.

Les résultats obtenus avec des levures combinées nous ont amené à la conclusion qu'il n'y aurait guère avantage d'associer 2 levures que lorsque celles-ci ont des caractères nettement distincts.

L'étude comparative sur le pouvoir réducteur et les acides volatils élaborés par la levure, nous a montré qu'il existe un rapport constant entre l'action réductrice et la sécrétion de la zymase par la levure. Dès lors, le pouvoir réducteur sera, pour la sélection, un des éléments les plus précieux.

<sup>1</sup>) Orsos, F., Die Form der tierfliegenden Bakterien und Hefekolonien. Centr. f. Bakt., t. L IV, 1910.

## BIBLIOGRAPHIE

- PASTEUR, L., Mémoire sur la fermentation de l'alcool, Annales de Chimie et de Physique, LVII, LVIII, 1859.
- LAFAR, FRANZ., Handbuch der techn. Mykologie, t. V, Jena, 1905-1914.
- DUCLAUX, E., Traité de microbiologie, 1900.
- ADERHOLD, R., Landwirtschaftliche Jahrbücher, 1894, t. XIII.
- CUBONI, G. et PIZZIGONI, A., Stazione sperimentale agricola italiana.
- KAYSER, E. et BARBA, G., Extrait du Bulletin du ministère de l'agriculture. Paris, 1896.
- CHUARD, E., Chronique agricole du canton de Vaud, 25 juin 1892.
- MÜLLER-THURGAU., III. Jahresbericht der Versuchsanstalt für Obst-Wein und Gartenbau in Wädenswil, Zurich, 1894.
- IV. Jahresbericht. etc., Zurich, 1895.
- V. Jahresbericht. etc., Zurich, 1896. Ebenda.
- VI. Jahresbericht. etc., Zurich, 1898.
- VIII. Jahresbericht. etc. Zurich, 1900. Verhandlungen des XIV Deutschen Weinbaukongresses in Neustadt, Mainz, 1896.
- SEIFERT, W., Zeitschrift für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich, t. 9.
- OSTERWALDER, A., X, XI et XII Jahresbericht der Versuchstation für Obst-Wein und Gartenbau in Wädenswil, Zürich, 1902.
- Landwirtschaftliche Jahrbücher der Schweiz, 1903.
- Centralblatt für Bakteriologie 2. Abt., 1906, t. XVI.
- Centralblatt für Bakteriologie 2. Abt. 1912.
- Centralblatt für Bakteriologie 2. Abt., 1924, No 22/24.
- Neue aus Obst und Traubensäften gewonnene Saccharomycesarten.
- HANSEN, E., Compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, I, 1881, id. 1882.
- BERTRAND et THOMAS., Guide pour les manipulations de chimie biologique, 1910.

- WORTMANN, J., Die Wissenschaftlichen Grundlagen der Weinbereitung und Kellerwirtschaft, Berlin, 1905.
- OPPENHEIMER, C., Die Fermente und ihre Wirkungen, 1913.
- NEUBERG, C., Der Zuckerumsatz in C. OPPENHEIMER. Handbuch der Biochemie, Erg. B., 1913.
- MAUMENÉ, E., Traité théorique et pratique du travail des vins, Paris.
- CHABORSKI, G., Recherches sur les levures thermophiles et cryophiles (Thèse), Genève, 1918. Institut de Botanique.
- R. CHODAT et LENDNER, A., Sur quelques levures du vignoble genevois. Archives des Sciences Physiques et Naturelles, Genève, 1900.
- MANUEL SUISSE DES DENRÉES ALIMENTAIRES, 3me édition, 1919.
- KLOECKER, A., Die Gärungsorganismen in der Theorie und Praxis der Alkoholgärungsgewerbe. Stuttgart, 1906.
- GUILLIERMOND, A., Les levures. Paris, 1912.
-