

# Recherches sur la répartition des levures à la surface de la grappe de raisin

par

J.-M. BELIN

## Untersuchungen über die Verteilung der Hefen auf der Oberfläche der Weintraube

**Zusammenfassung.** — Im Rahmen einer ökologischen Bearbeitung der Hefen in Rebanlagen wurden mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskopes die verschiedenen Teile der Traube — Traubenachse mit Seitenästen, Beerensiele und Beeren — sowie die Verteilung der Hefen auf deren Oberfläche untersucht. In Verbindung mit den Arbeiten anderer Autoren über die Beere vermitteln die morphologischen Untersuchungen im ultramikroskopischen Bereich eine bessere Kenntnis des Substrates, auf dem die Hefezellen vorkommen, sowie das Verständnis für die ökologischen Bedingungen, unter denen die Hefen auf der Weintraube leben und sich vermehren können. Die vorliegenden Beobachtungen zeigen, daß sich die Hefen nicht gleichmäßig über die ganze Weintraube verteilen: Die Traubenachse mit ihren Verzweigungen scheint vollkommen frei von Hefen zu sein, während das Fruchtpolster der Beerensiele dicht mit Hefen besiedelt ist. Auf den Beeren sind die Stomata und die peristomatischen Bezirke bevorzugte Zonen für die Vermehrung der Hefen. Auffällig viele Hefen lassen sich im Bereich von Oberflächenrissen nachweisen, aus denen Zellsaft ausgetreten ist. Die hierin eingeschlossenen Hefen zeigen — im Gegensatz zu den Hefen, die von der Wachsschicht der Beerenschale isoliert wurden — eine besonders intensive vegetative Vermehrung. Die mitgeteilten Beobachtungen erlauben es, die gegenwärtig angewandten Methoden zur Isolierung der Mikroflora auf Weintrauben zu verfeinern.

## Introduction

Toute étude écologique gagne à être affinée en utilisant les moyens d'investigation les plus directs; jusqu'ici, les méthodes employées dans les recherches sur l'écologie des microorganismes, et en particulier, des Levures, étaient basées sur des techniques indirectes: isolement et développement de populations à partir de prélèvements empiriques, notamment après broyage ou simplement par immersion des organes prélevés dans des milieux de culture appropriés.

De telles méthodes, indispensables pour identifier les espèces auxquelles on a affaire n'apportent cependant aucun renseignement, ni sur la localisation exacte des microorganismes, ni sur leur densité, ni sur l'écologie de leur habitat.

C'est ainsi qu'il était communément admis jusqu'ici que les Levures vivant en association avec la Vigne se rencontrent notamment à la surface de la pruine des baies de raisin (VAN ZYL et DU PLESSIS 1961, RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD 1964). VAN ZYL et DU PLESSIS (1961) ont pensé que les Levures sont enrobées dans la couche cireuse recouvrant les raisins.

D'autre part, les travaux concernant l'écologie des Levures de vin utilisaient les techniques suivantes:

1) Lavage des grappes à l'eau distillée stérile (VERONA et ZARDETTO DE TOLEDO 1964, PARLE et DI MENNA 1966).

2) Incubation du jus recueilli après pressage stérile de la grappe (MRAK et McCLUNG 1940, DOMERCQ 1956, BENDA 1962, ŠVEJCAR 1968).

3) Immersion du raisin dans du jus de raisin stérile, puis incubation (VAN ZYL et DU PLESSIS 1961).

La diversité des méthodes employées devrait conduire à beaucoup de prudence dans l'estimation des fréquences des espèces. C'est une des conclusions de KUNKEE et AMERINE (1970) que nous faisons nôtre.

Les seuls travaux précis concernant la répartition des Levures sur les fruits ont été effectués par BEECH et DAVENPORT (1970) sur la pomme. Ces auteurs ont aussi indiqué la possibilité d'utiliser la microscopie électronique à balayage dans de telles recherches, notamment lors de l'étude des Levures de la phyllosphère de *Malus sylvestris* et *Vitis vinifera* (BEECH et DAVENPORT 1971).

Notre travail a pour but de déterminer la répartition des Levures à la surface de la grappe de raisin (BELIN et HENRY 1972), dans le double but d'en mieux connaître les conditions de vie et de mettre au point une méthode plus fine d'isolement de la microflore.

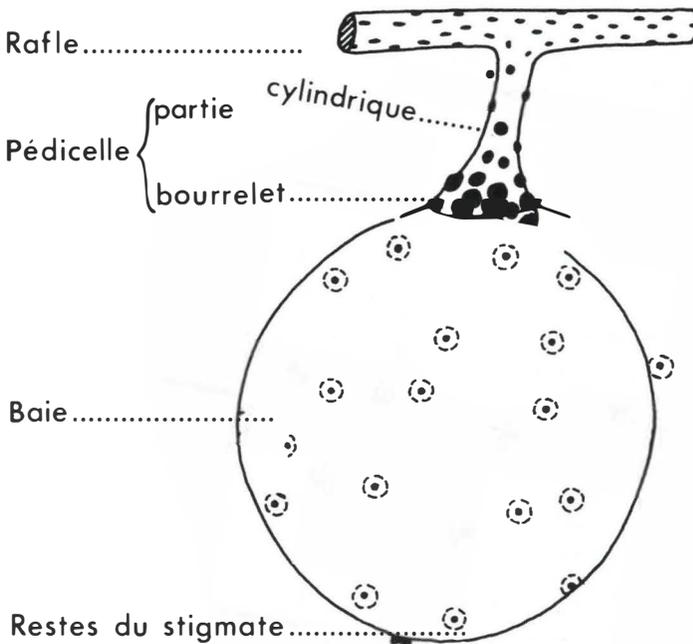


Schéma 1. Morphologie des divers éléments de la grappe de raisin (rafle, pédicelle, baie).

stomate fonctionnel ; ● : lenticelle ; ⊙ : stomate non fonctionnel et auréole péristomatique.

## Matériel et Méthodes

### Prélèvement des grappes

Les grappes de raisin ont été prélevées à la fin de septembre 1971, au moment des vendanges, sur le cépage Pinot de *Vitis vinifera* L. Les grappes, sectionnées à l'aide de ciseaux stérilisés par flambage à l'alcool, ont été placées dans des bocaux préalablement stérilisés au four Pasteur à 180° C pendant une heure.

Au laboratoire, elles ont été immédiatement préparées pour l'examen en microscopie électronique à balayage.

### Préparation des échantillons

Les fragments de grappe devant être examinés furent congelés rapidement en les plongeant dans l'azote liquide, puis deshydratés par lyophilisation afin de garder au matériel son aspect habituel. Les échantillons furent ensuite collés sur une platine porte-objet en aluminium et recouverts d'un mince film d'or (800 Å) par évaporation sous vide. Les objets ont été alors examinés au microscope électronique à balayage «Stereoscan» (Cambridge) suivant les modalités décrites antérieurement (BELIN 1972).

## Résultats

Avant d'aborder la répartition des Levures sur la grappe de raisin, nous examinerons la morphologie des diverses parties de cette grappe. En effet, la microscopie électronique à balayage donne des vues nouvelles de la cuticule des cellules épidermiques ainsi que des stomates et lenticelles se rencontrant sur les divers éléments de la grappe. La morphologie de la pruine et des stomates de la baie de raisin commence d'ailleurs à être mieux connue (BESSIS 1972 a et b).

### 1. Morphologie inframicroscopique de la grappe de raisin

La microscopie électronique à balayage montre la morphologie de la surface cuticulaire ou de la cire superficielle de la cuticule (HOLLOWAY 1971).

La grappe de raisin se compose de trois parties que nous examinerons successivement: la rafle, les pédicelles et les baies (Schéma 1).

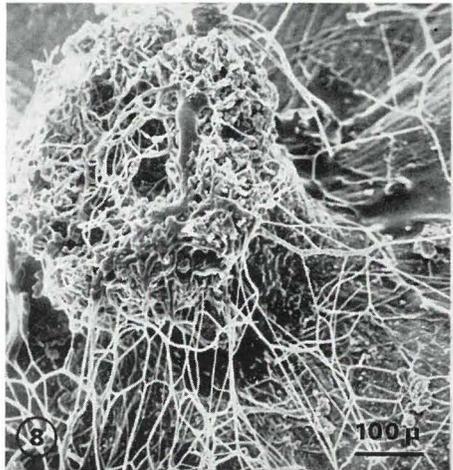
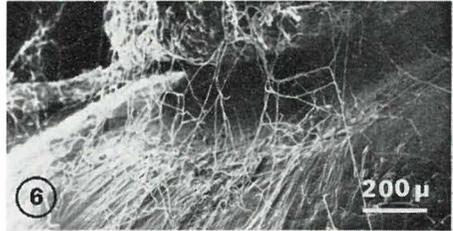
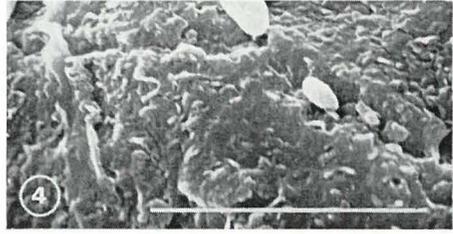
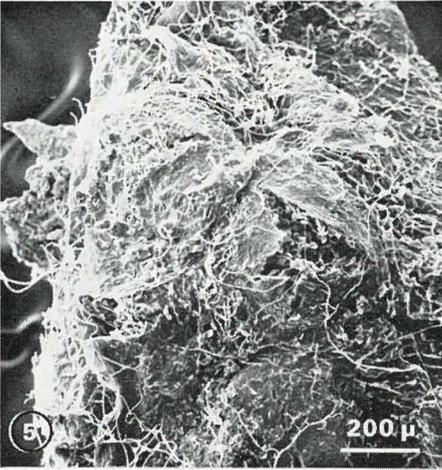
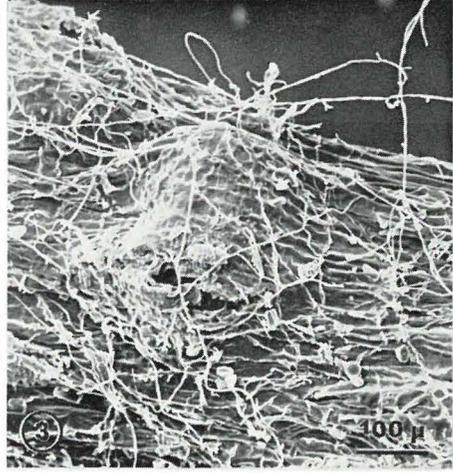
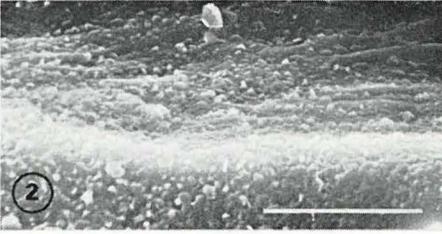
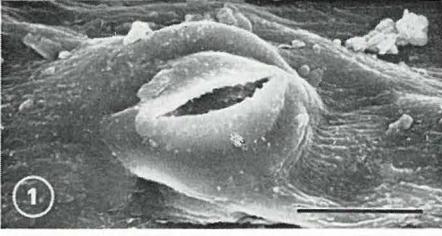
#### a. La rafle

L'épiderme de la rafle possède des stomates fonctionnels (Fig. 1) dont les cellules sont recouvertes par une épaisse cuticule dépourvue d'ornementations (THEILER 1970). Leur longueur est d'environ 40  $\mu$ ; leur densité au millimètre carré varie de 3 à 6.

La cuticule recouvrant l'épiderme présente, en dehors des stomates, des dépôts de cires constitués de granules de 1 à 1,5  $\mu$  de diamètre (Fig. 2).

#### b. Le pédicelle

Il apparaît composé de deux parties morphologiquement différentes: une partie cylindrique s'insérant sur la rafle et un bourrelet sur lequel vient s'attacher la baie. — Partie cylindrique: les stomates rencontrés dans cette zone ne sont plus fonctionnels; ils sont généralement situés sur des dômes formés de tissus morts présentant des cassures et correspondant à des lenticelles (Fig. 3). La cuticule des cellules épidermiques peut être soit lisse, soit recouverte par de petits granules de cire cuticulaire identiques à ceux observés sur la rafle (Fig. 4).



— Bourrelet: il correspond à une zone élargie et très déformée du pédicelle. Extérieurement, il est constitué par une juxtaposition de lenticelles présentant de nombreuses cassures (Fig. 5). Il semble que la plus grande partie des tissus superficiels de cette région soient morts. La cuticule des cellules épidermiques, généralement lisse, peut présenter de petits granules ou des amas plus ou moins lamellaires de cire cuticulaire.

### c. La baie

Plusieurs faits sont à souligner:

Au cours de la maturation du fruit, il se produit peu à peu un décollement entre la baie et son pédicelle (Fig. 6).

A maturité, le fruit présente environ 25 à 40 stomates. Ceux-ci, non fonctionnels, ont une auréole de tissus péristomatiques constitués de cellules subérisées, mortes, à parois rigides. Cette auréole est limitée extérieurement par une cassure des tissus superficiels (BESSIS 1972 b) (Fig. 7). Le diamètre d'un stomate et de son auréole est d'une centaine de microns.

Les restes du stigmate de la fleur apparaissent comme une protubérance d'environ 400  $\mu$  de diamètre et de 100 à 200  $\mu$  de hauteur pourvue d'une dépression en son centre (Fig. 8). Les papilles stigmatiques sont encore nettement visibles.

La pruine qui recouvre toute la baie est formée par des dépôts de cire à la surface de la cuticule. Sur le fruit mûr, ces dépôts ont la forme d'amas plus ou moins ramifiés, à bordure déchiquetée, constitués de granules (CHAMBERS et POSSINGHAM 1963, BESSIS 1972 a). Les éléments de ces amas ont environ 1 à 3  $\mu$  de hauteur (Fig. 9). Cette pruine disparaît brusquement au niveau de la cassure de l'auréole péristomatique (Fig. 10).

## 2. Répartition des Levures sur les diverses parties de la grappe

Les Levures, en microscopie électronique à balayage, se reconnaissent aisément et ne peuvent être confondues avec d'autres microorganismes en raison de leur taille, de l'absence d'ornementation de la paroi cellulaire (contrairement à la plupart des spores de moisissures), de la formation de pseudomycélium et surtout de leur bourgeonnement et de la présence de cicatrices de bourgeonnement (BELIN 1972).

Les Levures se rencontrent en quantités très variables suivant les parties de la grappe.

---

### Planche I

Fig. 1: Stomate de l'épiderme de la rafle d'une grappe de raisin.

Fig. 2: Morphologie de la cire cuticulaire de la rafle.

Fig. 3: Aspect morphologique d'une lenticelle à la surface de la partie cylindrique du pédicelle. Remarquer la présence de filaments mycéliens de moisissures.

Fig. 4: Morphologie de la cire cuticulaire du pédicelle.

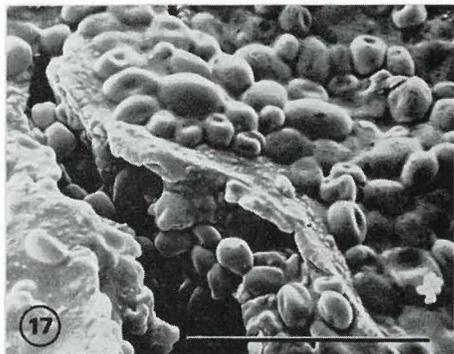
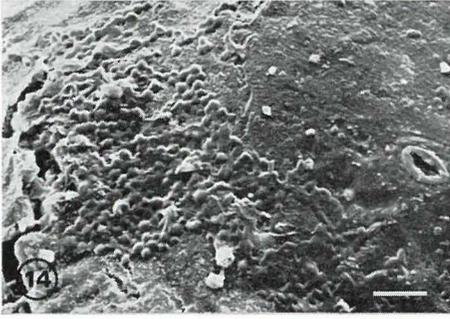
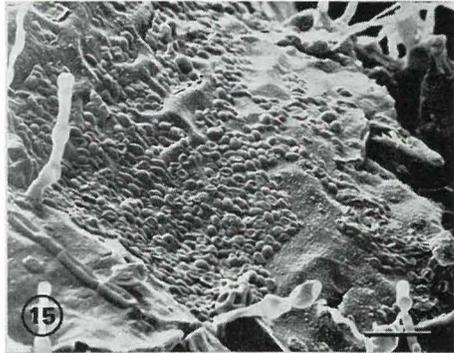
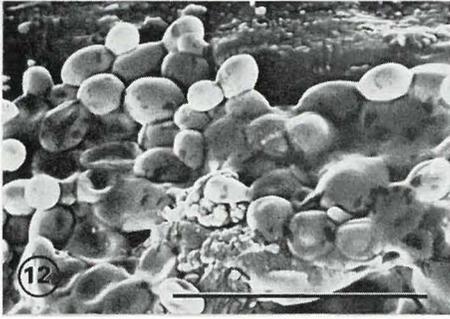
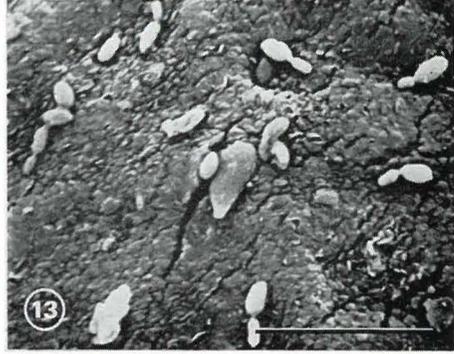
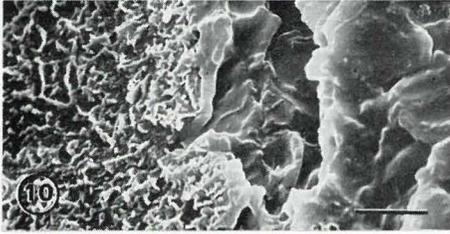
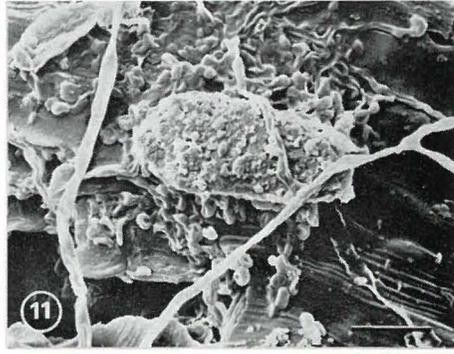
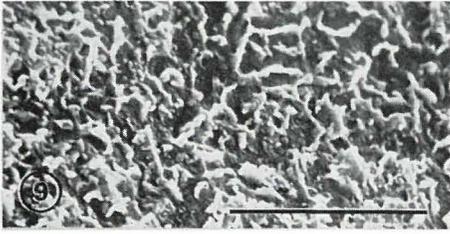
Fig. 5: Aspect morphologique du bourrelet du pédicelle. Noter l'abondance de lenticelles de grande taille, dont les tissus superficiels présentent de nombreuses déchirures.

Fig. 6: Zone de séparation entre le pédicelle et la baie de raisin montrant le décollement de cette dernière. Nombreux filaments mycéliens allant du pédicelle à la surface de la baie.

Fig. 7: Stomate de l'épiderme de la baie de raisin. Remarquer l'ouverture rigide du stomate qui n'est plus fonctionnel et l'auréole de tissus péristomatiques bordée par des cassures superficielles.

Fig. 8: Restes du stigmate. Les papilles stigmatiques sont encore visibles. Nombreux filaments mycéliens de moisissures.

Sauf indication contraire, le trait en bas, à droite, correspond à une longueur de 20  $\mu$ .



## a. La rafle

Nous n'avons observé que très peu ou pas de Levures à la surface de la cuticule des cellules de la rafle: une seule cellule avec un jeune bourgeon. Les stomates et leur voisinage apparaissent complètement dépourvus de Levures.

## b. Le pédicelle

Les observations révèlent la présence d'un grand nombre de Levures; la densité des cellules est surtout très importante au niveau du bourrelet. Nous distinguerons à nouveau deux parties: la zone la plus étroite du pédicelle — ou partie cylindrique — et la zone du bourrelet.

— Partie cylindrique: les Levures se rencontrent le plus souvent en petits amas au niveau des lenticelles (Fig. 11 et 12), et beaucoup plus rarement, en cellules isolées à la surface de la cuticule de l'épiderme de ce pédicelle. Certaines portions des amas semblent engluées dans un dépôt d'origine inconnue. Les cellules trouvent apparemment dans ces zones des nutriments en quantités suffisantes pour se multiplier et former un pseudomycélium pouvant pénétrer à l'intérieur des déchirures de la lenticelle.

— Bourrelet: les Levures sont très abondantes à son niveau. Les cellules isolées sont fréquentes et ne semblent se diviser que très rarement (les cellules ne possèdent qu'un ou deux bourgeons) (Fig. 13). Les amas cellulaires sont très nombreux et importants sur la cuticule des lenticelles (Fig. 14, 15 et 16). Très souvent, les cellules pénètrent dans les déchirures des lenticelles (Fig. 14, 15 et 18). Comme précédemment, dans certaines zones, les cellules sont engluées dans un dépôt d'origine inconnue (Fig. 17).

## c. La baie

Nous n'avons observé que très rarement des cellules isolées à la surface de la pruine des baies de raisin. Parfois, une blessure de l'épiderme du fruit peut entraîner la sécrétion de suc cellulaire de la pulpe. Cette sécrétion, masquant la pruine, offre alors un excellent substrat pour la prolifération des levures (Fig. 19).

Dans la plupart des cas, il est possible de distinguer trois zones préférentielles de développement des Levures à la surface de la baie de raisin:

## Planche II

Fig. 9: Morphologie des amas de cire à la surface de l'épiderme de la baie de raisin.

Fig. 10: Disparition de la pruine au niveau des cassures de l'aurole péristomatique.

Fig. 11: Amas de cellules de Levures en bordure de la cassure d'une lenticelle située sur la partie cylindrique du pédicelle.

Fig. 12: Amas de cellules de Levures à la surface d'une lenticelle (partie cylindrique du pédicelle). Les cellules pénètrent, sous forme de pseudomycélium, à l'intérieur de la cassure.

Fig. 13: Cellules de Levures isolées à la surface de la cuticule épidermique du pédicelle.

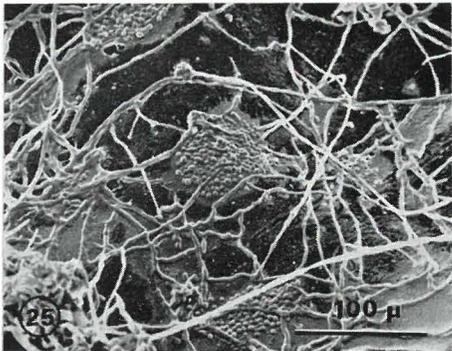
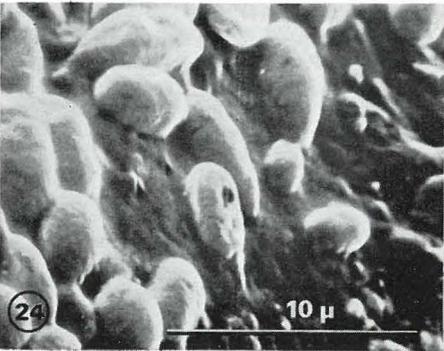
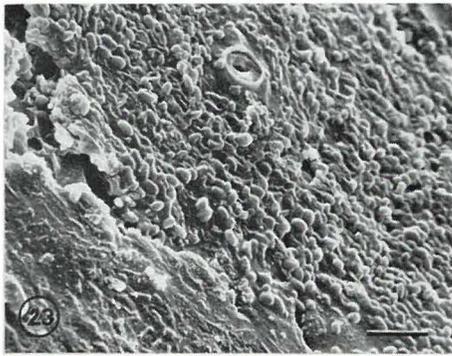
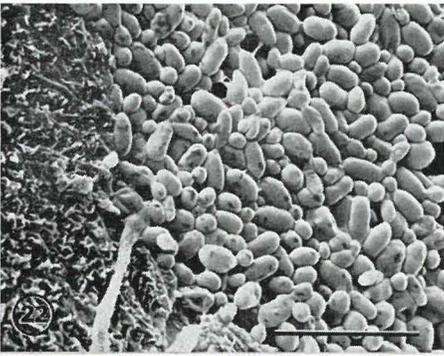
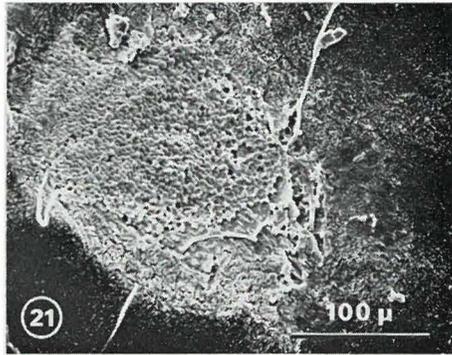
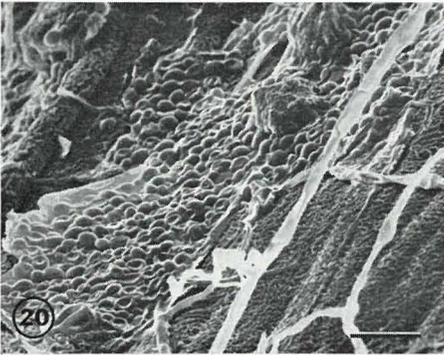
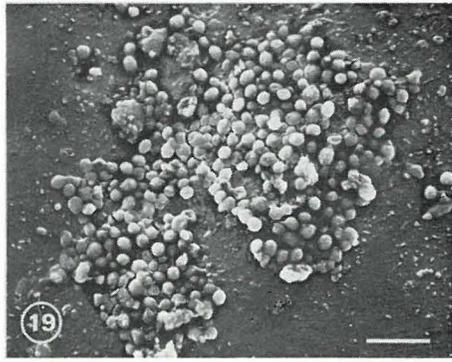
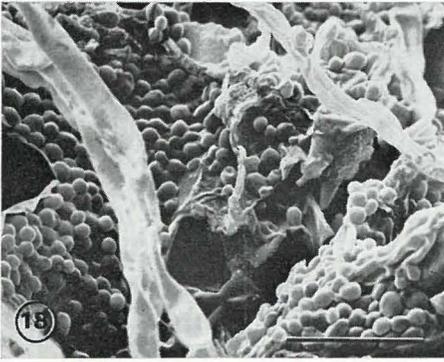
Fig. 14: Amas de cellules à la surface d'une lenticelle du bourrelet pédicellaire. A droite, stomate non fonctionnel sur lequel s'est formée la lenticelle. Remarquer les cellules de Levures sous forme de pseudomycélium.

Fig. 15: Cellules de Levures à la surface d'une lenticelle du bourrelet.

Fig. 16: Amas de cellules à la surface d'une lenticelle du bourrelet. Remarquer le grand nombre de cellules à l'intérieur de la cassure.

Fig. 17: Détail d'une portion du cliché précédent montrant les Levures en surface et à l'intérieur de la cassure. Certaines cellules, en surface, semblent être engluées dans une sécrétion.

Sauf indication contraire, le trait en bas, à droite, correspond à une longueur de 20  $\mu$ .



- a) La zone de séparation entre le pédicelle et la baie peut présenter des petits amas de Levures se développant sur des sécrétions (Fig. 20).
- b) Au niveau des vieux stomates et de leur auréole pér stomatique, les Levures se localisent de préférence au voisinage des cassures. Leur prolifération peut être si abondante qu'elles recouvrent entièrement le stomate et son auréole (Fig. 21). La multiplication végétative des cellules s'arrête au contact de la pruine (Fig. 22) sauf dans le cas où des sécrétions provenant des cassures pér stomatiques recouvrent la pruine (Fig. 23 et 24).
- c) Aux abords des restes du stigmate, des sécrétions peuvent être rapidement colonisées par des Levures (Fig. 25).

### Discussion

Nos observations montrent que, sur la grappe de raisin, les cellules de Levures sont essentiellement localisées dans les zones où peuvent se produire des sécrétions de suc cellulaire. Les amas les plus importants se rencontrent donc sur les lenticelles du pédicelle, sur les stomates et les auréoles pér stomatiques de la baie de raisin et au niveau des restes du stigmate. Les Levures en contact avec des sécrétions se multiplient abondamment. Les cellules peuvent pénétrer, sous la forme de pseudo-mycélium, à l'intérieur des déchirures des lenticelles et des cassures pér stomatiques.

Des cellules isolées, présentant parfois un ou deux bourgeons, sont rares à la surface des diverses parties de la grappe de raisin; leur prolifération est toujours limitée.

Les observations en microscopie électronique à balayage s'opposent à l'hypothèse de VAN ZYL et DU PLESSIS (1961), selon laquelle les cellules de Levures seraient enrobées dans la couche cireuse cuticulaire recouvrant l'épiderme des baies de raisin.

Les cellules de Levures transportées par le vent ou par les insectes semblent se fixer de préférence sur les sécrétions recouvrant la pruine et non sur la pruine elle-même (RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD 1964).

Des travaux récents (RADLER 1965, 1968) montrent que la pruine recouvrant la cuticule de l'épiderme des baies de raisin se compose notamment de 78% d'acide oléanolique, 10,3% d'alcool, 4% d'esters, 2,7% d'acides gras, 2% d'aldéhydes et 0,7% de paraffines. BRECHOT *et al.* (1971) ont montré que l'acide oléanolique est un facteur de croissance de *S. cerevisiae* cultivée en aérobiose et en anaérobiose. Cependant, nos observations semblent montrer que la multiplication végétative des Levures est

### Planche III

Fig. 18: Amas de cellules de Levures dans une zone abondamment déchirée, à la surface d'une lenticelle du bourrelet pédicellaire.

Fig. 19: Développement de Levures à la surface d'une sécrétion masquant la pruine de la baie de raisin.

Fig. 20: Multiplication végétative de cellules de Levures à la surface d'une sécrétion au voisinage de l'insertion de la baie sur le pédicelle.

Fig. 21: Multiplication végétative intense de cellules de Levures à la surface d'un stomate et de son auréole pér stomatique.

Fig. 22: La prolifération des Levures à la surface de l'auréole pér stomatique s'arrête au contact de la pruine.

Fig. 23: Développement de cellules de Levures à la surface de l'auréole pér stomatique. A droite, cellules colonisant une sécrétion provenant de cassures pér stomatiques.

Fig. 24: Cellules engluées dans une sécrétion indéterminée.

Fig. 25: A proximité des restes du stigmate (en bas, à gauche), sécrétions colonisées par des cellules de Levures.

Sauf indication contraire, le trait en bas, à droite, correspond à une longueur de 20  $\mu$ .

la plus intense quand les cellules sont en contact avec des sécrétions de suc cellulaire.

Des procédés nouveaux permettant de «voir» des microorganismes à la surface d'un substrat donné, apportent des renseignements incomparablement plus précieux que les méthodes utilisées jusqu'ici: la localisation peut être étudiée dans ses moindres détails, et la densité des cellules, en fonction du substrat, leur vitesse de prolifération suivant les saisons ou suivant les traitements que subissent les fruits sont des problèmes qu'il est maintenant possible d'aborder avec toute la sécurité désirable.

Bien entendu, ces recherches devront toujours être associées aux méthodes habituelles d'identification et c'est de la combinaison de ces divers moyens d'investigation que découlera le maximum d'information.

Enfin, certaines méthodes couramment utilisées pour isoler la microflore à la surface de la grappe de raisin ne peuvent donner qu'un résultat approximatif: le fait que nombre de cellules de Levures soient engluées dans des sécrétions assez consistantes laisse planer des doutes sur l'efficacité des prélèvements par simples lavages avec agitation. En effet, une proportion notable de cellules peuvent échapper à la mise en culture.

La méthode de prélèvement par addition de jus de raisin (VAN ZYL et DU PLESSIS 1961) peut donner des renseignements peut être plus fiables, bien que ce soit une méthode d'isolement par enrichissement. Afin d'éviter cet enrichissement, il semble qu'un lavage par ultra-sons dans l'eau distillée stérile peut apporter une solution à ce problème (AARONSON 1970).

### Résumé

Les recherches entreprises sur l'écologie des Levures dans le vignoble ont conduit à étudier au microscope électronique à balayage: (1) les divers éléments de la grappe de raisin, rafle, pédicelle, baie; (2) la répartition des Levures à leur surface.

L'étude de la morphologie inframicroscopique de la rafle et du pédicelle ainsi que les travaux d'autres auteurs sur la baie de raisin permettent: (1) de mieux connaître le substrat sur lequel sont déposées les cellules de Levures; (2) d'entreprendre l'étude des conditions écologiques de survie et de prolifération des Levures à la surface de la grappe de raisin.

Nos observations montrent que les Levures ne sont pas uniformément réparties sur toute la grappe:

- a) la rafle semble en être totalement dépourvue;
- b) le bourrelet du pédicelle est abondamment colonisé par les cellules de Levures;
- c) sur la baie, le stomate et son auréole péristomatique sont une zone privilégiée pour la multiplication des Levures.

Il apparaît nettement que les Levures sont abondantes dans les régions présentant des cassures superficielles des tissus où peuvent se produire des sécrétions. Contrairement aux Levures isolées à la surface de la cire cuticulaire de l'épiderme, les cellules engluées dans des sécrétions ont une multiplication végétative intense.

Ces observations permettent d'affiner les méthodes actuellement utilisées pour l'isolement de la microflore liée aux grappes de raisin.

## Bibliographie

- AARONSON, S., 1970: Experimental microbial ecology. Acad. Press, New York.
- BEECH, F. W. and DAVENPORT, R. R., 1970: The role of yeasts in cider-making. Dans: ROSE, A. H. and HARRISON, J. S. (Ed.): The Yeasts. Vol. 3. Acad. Press, New York, pp. 74—146.
- — and — —, 1971: A survey of methods for the quantitative examination of the yeast flora of apple and grape leaves. Dans: PREECE, T. F. and DICKINSON, C. H. (Ed.): Ecology of leaf surface micro-organisms. Acad. Press, New York, pp. 139—157.
- BELIN, J.-M., 1972: A study of the budding of *Saccharomyces uvarum* Beijerinck with the scanning electron microscope. Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. (Sous presse).
- — et HENRY, P., 1972: Contribution à l'étude écologique des Levures dans le vignoble. I. Répartition des Levures à la surface du pédicelle et de la baie de raisin. C. R. Hebd. Séances Acad. Sci. (Paris). (Sous presse).
- BENDA, I., 1962: Ökologische Untersuchungen über die Hefeflora im fränkischen Weinbaugebiet. Bayer. Landwirtsch. Jahrb. 39, 595—614.
- BESSIS, R., 1972 a: Etude de l'évolution des caractères morphologiques des cires cuticulaires au cours de la vie du fruit de la Vigne. C. R. Hebd. Séances Acad. Sci. (Paris). (Sous presse).
- —, 1972 b: Etude de l'évolution des stomates et des tissus péristomatiques du fruit de la Vigne. C. R. Hebd. Séances Acad. Sci. (Paris). (Sous presse).
- BRÉCHOT, P., CHAUVET, J., DUPUY, P., CROSON, M. et RABATU, A., 1971: Acide oléanolique, facteur de croissance anaérobie de la levure de vin. Ann. Technol. Agric. 20, 103—110.
- CHAMBERS, T. C. and POSSINGHAM, J. V., 1963: Studies of the fine structure of the wax layer of Sultana grapes. Austral. J. Biol. Sci. 16, 818—825.
- DOMERCQ, S., 1956: Etude et classification des levures de vin de la Gironde. Thèse Ingénieur-Docteur, Bordeaux.
- HOLLOWAY, P. J., 1971: The chemical and physical characteristics of leaf surfaces. Dans: PREECE, T. F. and DICKINSON, C. H. (Ed.): Ecology of leaf surface micro-organisms. Acad. Press, New York, pp. 39—53.
- KUNKEE, R. E. and AMERINE, M. A., 1970: Yeasts in wine-making. Dans: ROSE, A. H. and HARRISON, J. S. (Ed.): The Yeasts. Vol. 3. Acad. Press, New York, pp. 5—71.
- MRAK, E. M. and McCLUNG, L. S., 1940: Yeasts occurring on grapes and in grape products in California. J. Bacteriol. 40, 395—407.
- PARLE, J. N. and DI MENNA, M. E., 1966: The source of yeasts in New Zealand wines. New Zealand J. Agricult. Res. 9, 98—107.
- RADLER, F., 1965: The main constituents of the surface waxes of variety and species of the genus *Vitis*. Amer. J. Enol. Viticult. 16, 159—167.
- —, 1968: La cire cuticulaire des grains de raisin et des feuilles de la vigne. Connaiss. Vigne Vin (Talence), 2, 271—294.
- RIBÉREAU-GAYON, J. et PEYNAUD, E., 1964: Traité d'oenologie. Vol. 1. Librairie Polytechnique Béranger. Paris.
- SVEICAR, V., 1968: Die Hefeflora an Trauben der Weinrebe in den Weinbergen der Landwirtschaftlichen Hochschule von Lednice na Morave. Wein-Wiss. 6, 251—254.
- THEILER, B., 1970: Anatomische Untersuchungen an Traubenstielen im Zusammenhang mit der Stiehlähme. Wein-Wiss. 25, 381—417.
- VAN ZYL, J. A. and DU PLESSIS, L. de W., 1961: The microbiology of South African winemaking. Part 1. The yeasts occurring in vineyards, musts and wines. S. Afr. J. Agricult. Sci. (Pretoria) 4, 393—401.
- VERONA, O. e ZARDETTO DE TOLEDO, O., 1954: Indagini speciologiche sopra alcuni lieviti isolati dai fiori di vite nel territorio di S. Paolo in Brasile. Ann. Fac. Agric. Pisa 15, 163—191.

Eingegangen am 30. 3. 1972

J.-M. BELIN  
 Lab. de Botanique Appliquée  
 I.B.A.N.A. — Fac. des Sciences de  
 la Vie et de l'Environnement  
 21-Dijon  
 France