

Projet de R&D

MAITRISE ET GESTION INNOVANTES DES POPULATIONS MICROBIENNES EN BIO

Compte rendu technique consolidé 2016
Année 2 sur 4

Perspectives pour 2017

Rédaction : Valérie Pladeau, Sudvinbio
AVRIL 2017

Partenaires du projet :



Soutien financier :



Présentation du projet

Introduction (Rappel) :

Ce projet prévu sur 4 ans, vise à fournir des itinéraires techniques innovants et alternatifs au sulfitage en pré-fermentaire pour maîtriser les populations microbiennes en vinification bio, maîtriser la gestion d'un levain indigène et renforcer la maîtrise et la gestion de la fermentation alcoolique.

Ce bilan intermédiaire fait la synthèse des résultats de la 2^{ème} campagne de vinification et définit les orientations pour les essais qui seront suivis en troisième année afin de solliciter leurs accompagnements dans le cadre des mesures de subventions spécifiques de la Région.

Partenaires engagés :

Chef de file : Sudvinbio (SVB), Valérie Pladeau valerie.pladeau@sudvinbio.com

Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV), Philippe Cottereau, philippe.cottereau@vignevin.com

Chambre d'Agriculture des Pyrénées Orientales (CA66), Valérie Didier v.didier@pyrenees-orientales.chambagri.fr

Groupe GIE-ICV-VVS (ICV), Lucile PIC, lpic@icv.fr

Inter Rhône (IR), Nicolas Richard, nrichard@inter-rhone.com

Rappel des objectifs :

Un grand nombre de producteurs bio cherche à réduire drastiquement l'usage des intrants œnologiques et leurs interventions en vinification (diminution des sulfites, réduction des doses de nutrition azotée, utilisation de levain indigène...). Par exemple l'enquête sur les pratiques œnologiques bio (ITAB/FranceVinBio 2014) révèle qu'environ 40% des producteurs en Languedoc-Roussillon utilisent des fermentations spontanées et 20% utilisent des pieds de cuve. De ce fait, les risques de dérives microbiennes s'avèrent plus difficiles à maîtriser dans ces conditions (notamment en région avec des moûts riches en sucres et souvent carencés en azote). Les conséquences peuvent être très problématiques : déviations organoleptiques dès l'étape pré-fermentaire, contamination du moût, contamination du levain indigène, arrêt de Fermentation Alcoolique (FA) ou FA languissante.

Ce projet vise à proposer des itinéraires techniques validés dans le cadre expérimental afin de permettre le développement et la sécurisation qualitative de la filière tout en répondant aux attentes de réduction des intrants souhaitées par le producteur et le consommateur.

Ce projet se décompose en 3 volets :

Volet 1 : Evaluation d'itinéraires techniques innovants pour la gestion des phases pré-fermentaires, des départs en FA et la maîtrise des populations microbiennes en bio (sur ces étapes)

Proposer des itinéraires techniques alternatifs au sulfitage en pré-fermentaire, conformes au règlement de la vinification biologique, pour maîtriser les populations microbiennes indésirables présentes dans le moût (Bio-protection).

Réaliser un protocole de mise en œuvre d'un levain en gérant une population saine de micro-organismes indigènes durant l'ensemble des vinifications. En vue d'optimiser la technique de pied de cuve (PDC) en favorisant l'implantation correcte d'une population suffisante de Saccharomyces pour assurer une FA franche.

Volet 2 : Mise au point d'un usage optimisé de la nutrition azotée organique pour la gestion des fins de FA en bio

Acquérir de nouvelles références sur l'usage des formes organiques d'azote pour la nutrition des levures suite au changement réglementaire sur la définition des dérivés de levures et la modification des doses maximales d'utilisation.

Evaluer concrètement les conditions d'utilisation optimales (dose/efficacité/coût produit) des autolysats pour garantir le bon déroulement des FA dans des conditions de carences sévères.

Les volets 1 et 2 seront rapprochés en année 2 et 3 afin d'optimiser la nutrition azotée d'un levain indigène au sein d'un pied de cuve.

Volet 3 : Diffusion des résultats et transfert des connaissances

Volet prévu en début de projet mais qui sera à confirmer en fonction des objectifs des financements définis dans le cadre de l'appel à projet.

Diffuser le plus largement possible aux professionnels viti-oeno bio les résultats d'essais et les propositions d'itinéraires techniques de sécurisation des FA adaptés à leur mode de vinification.

Résumé des résultats attendus :

Ce projet doit permettre :

- de proposer des itinéraires techniques innovants aux vignerons bio du Languedoc-Roussillon pour gérer les phases pré-fermentaires en absence de SO₂.
- Répondre aux attentes des vignerons en proposant des process nouveaux pour piloter la gestion d'un levain indigène pendant la durée des vinifications.
- Développer des protocoles outils novateurs pour optimiser la nutrition des levures de FA selon des bases réglementaires complètement nouvelles.
- de fournir des références techniques nouvelles en accord avec la modification de la réglementation bio ou avec la réglementation actuelle aux USA (NOP).
- Apporter une réponse et des solutions aux vignerons soucieux de réduire leurs intrants tout en préservant la qualité de leurs vins.
- L'objectif final est l'amélioration de la qualité et la stabilité des vins bio dans une logique de diminution et d'optimisation de l'utilisation d'intrants, pour répondre à la demande des consommateurs

VOLET 1 : Evaluation d'itinéraires techniques innovants pour la gestion des phases pré-fermentaires

Bioprotection : itinéraires alternatifs au SO₂ préfermentaire

RAPPEL DES CONCLUSIONS DE 2015

Des essais de biocontrôles alternatifs au sulfitage pré-fermentaire sont mis en œuvre à partir de levures saccharomyces et de non saccharomyces en petite quantité. La fermentation alcoolique est ensuite réalisée avec ou sans inoculation d'une LSA Saccharomyces.

Sur les essais Vin Doux Naturel, des essais spécifiques ont été mis en place notamment pour étudier des opportunités de réduction d'apport de SO₂ au mutage et faciliter l'arrêt fermentaire.

Les essais ont été réalisés par l'ICV, l'IFV, IR et la CA66 pour les VDN et SVB pour des enquêtes terrain sur les pratiques des professionnels.

Sur les essais blancs et rosés, nous retenons que :

- Le sulfitage réduit nettement les populations de non saccharomyces présentes dans le moût
- Sur l'essai Grenache rosé, les non Saccharomyces cerevisiae et les Saccharomyces cerevisiae apportées sous le pressoir sont sans effet quantitatif et qualitatif sur les populations en présence à l'issue du débordage et à mi-fermentation alcoolique (non analysé sur Chardonnay).
- Sur les modalités non relevurées en sortie de débordage, bien que les Saccharomyces cerevisiae apportées sous le pressoir s'implantent et atteignent un niveau de population compris entre 40 et 80 millions de levures/ml à mi-fermentation alcoolique, les cinétiques fermentaires ne sont pas satisfaisantes (longues et incomplètes), en lien avec une latence importante et les paramètres analytiques post fermentation alcoolique sont marqués par des sucres résiduels et des niveaux de volatile plus élevés.
- Pour toutes les modalités faisant l'objet d'un levurage classique à l'issue du débordage, les cinétiques fermentaires sont comparables entre elles et satisfaisantes. Les populations de Saccharomyces à mi fermentation sont comprises entre 52 et 370 millions).

Sur rouges vinifiés en macération traditionnelle, l'ensemble des partenaires a obtenu des résultats comparables ne mettant pas en évidence d'intérêt ou de préjudice particuliers sur les paramètres cinétiques et analytiques, suite au levurage précoce avec des *Saccharomyces cerevisiae* ou des non *Saccharomyces cerevisiae*.

Sur les essais VDN :

Le déroulement des fermentations avec les souches saccharomyces est identique, quel que soit le traitement de la vendange (sulfité ou non ou Primaflora). Les FA sont plus rapides avec les saccharomyces, toutefois les modalités non saccharomyces permettent de réaliser la FA jusqu'au mutage !

Le mutage a été efficace dans tous les cas, mais il y a eu une mauvaise appréciation du nombre de levures vivantes/mortes.

On note des différences analytiques entre les modalités (acidité volatile et totale) et organoleptiques (les lots non sulfités donnent des vins moins bien notés).

Perspectives pour 2016 :

Sur blancs et rosés, le nombre de modalités sera réduit afin de privilégier des essais en minivinification (30-50 litres) et intégrer le paramètre organoleptique.

Sur rouge, certaines modalités en vinification traditionnelle seront reconduites et les essais seront recentrés sur des techniques de vinification particulières, en développement sur notre région et à risque microbiologique : les macérations préfermentaires à froid (MPF).

Enfin, sur VDN, les essais seront reconduits pour confirmer/préciser les résultats.

Certains protocoles testés la première année seront appliqués sur le terrain en condition réelles de vinification.

LEVURES UTILISEES DANS LE CADRE DES ESSAIS :

Pour les vins tranquilles

Levures Commerciales	Genre	Espèce	fournisseur	Année d'essai	Dose d'essais
Tandem	Non <i>Saccharomyces</i>	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	ICV	2015/2016	5g/hl 10 g/hl NR/R 25 g/hl R/NR
Primaflora VR bio	Non <i>Saccharomyces</i>	<i>Metchnikovia pulcherrima</i> + sacch + écorces	AEB	2015	5 g/hl
Primaflora VB Bio	Non <i>Saccharomyces</i>	<i>Torulaspora delbrueckii</i> + écorces	AEB	2015	5g/hl
Gaïa	Non <i>Saccharomyces</i>	<i>Metchnikovia fructicola</i>	IOC	2016	5g/hl
Frootzen	Non <i>Saccharomyces</i>	<i>Pychia kuyveri</i>	CHR Hansen	2016	5g/hl

Pour les essais VDN :

Levures Commerciales	Viniflora Concerto	Viniflora Prelude	Levulia Torrula Bio	Tandem
Genres	Non- <i>Saccharomyces</i>	Non- <i>Saccharomyces</i>	Non <i>Saccharomyces</i>	Non <i>Saccharomyces</i>
Espèces	<i>Kluyveromyces thermotolerans</i>	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	<i>Torulaspora delbrueckii</i>
Fournisseur / Fabricant	CHR Hansen	CHR Hansen	AEB	ICV
Dose d'utilisation	50g/hL	50g/hL	50g/hl	50g/hl

MATIERES PREMIERES TESTEES EN 2016

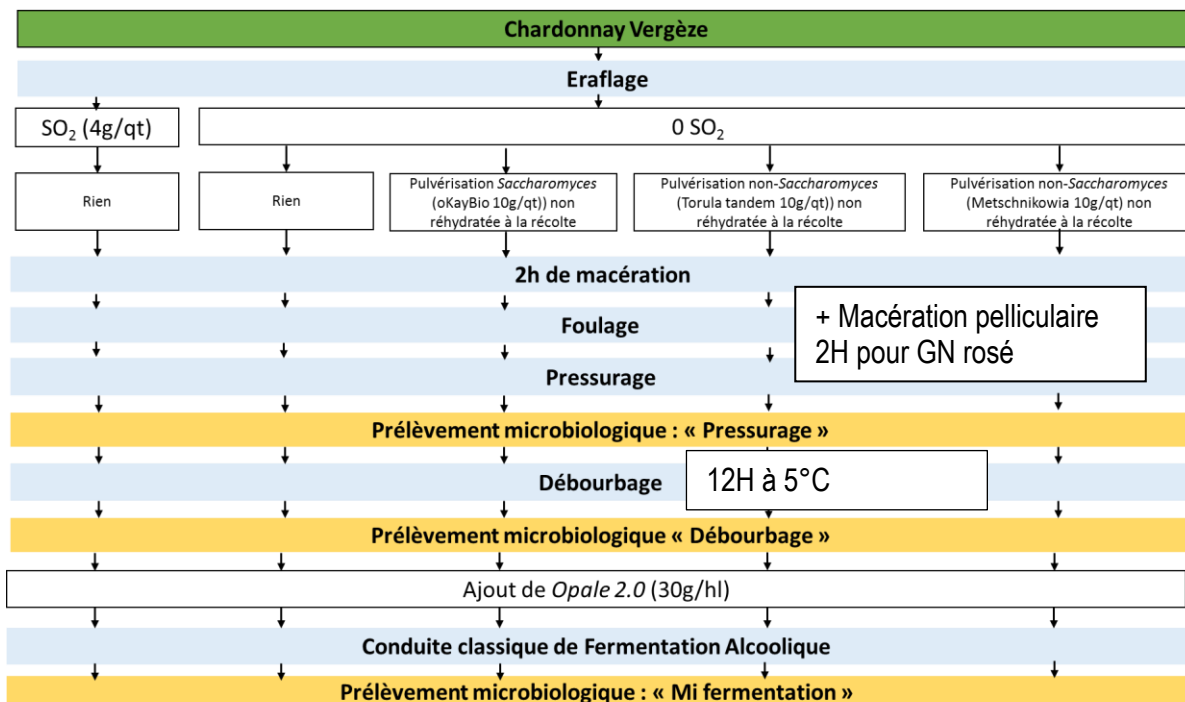
Matrice/Cépage	TAP %	Sucre (G+F) g/l	pH	AT (g/l)	Nass (mg/l)	Type de vinif	Organismes
Chardonnay	12.3		3.59		264	Trad	ICV mini
Vermentino	12.1- 13.2		3.38- 3.43	4.2-4.5	119-154	Trad	IFV mini
Grenache blanc	15.8		3.32	2.88	130	Trad	IR mini
Chardonnay	12.8		3.37- 3.48	2.96- 3.66	155-350	Trad	Essais terrain SVB
Grenache rosé	13.4		3.11		245	Trad avec macération pelliculaire (2H)	ICV mini

Syrah rosé	218-231	3.26-3.29	3.56-3.9	41-57	Trad	IFV mini	
Grenache rosé	12.8	3.25	3.32	181	Trad	IR Rosé	
Merlot rosé	13	3.75	2.40	107	Trad	Essais terrain SVB	
Syrah rouge					Trad	ICV mini	
Cabernet Sauvignon rge	13.4	3.11		245	MPF 14°C – 96H	ICV mini	
Syrah rouge	259-262	3.31-3.3	3.48-3.68	72-95	MPF 12°C – 72H	IFV mini	
Grenache rouge	11.9	3.23-3.34	3.42-3.80	166-174	Trad et MPF 12°C – 72H	IR mini	
Merlot rouge					Trad	Essais terrain ICV	
Cabernet sauvignon rge					Trad	Essais terrain ICV	
Cabernet sauvignon rge	11.36-12.19	3.51-4.37	2.95	170	MPF 8°C – 72H	Essais terrain SVB	

RESULTATS DES ESSAIS EN CAVE EXPERIMENTALE – MINIVINIFICATION

Sur blanc et rosé

a) Protocole 2016 - ICV:



A noter :

En 2016, le biocontrôle est mis en œuvre à partir de levures NON REHYDRATEES répartie sur vendage entière, avec une macération de 2H (simulation d'une protection à la parcelle). La vendange est ensuite foulée et pressée.

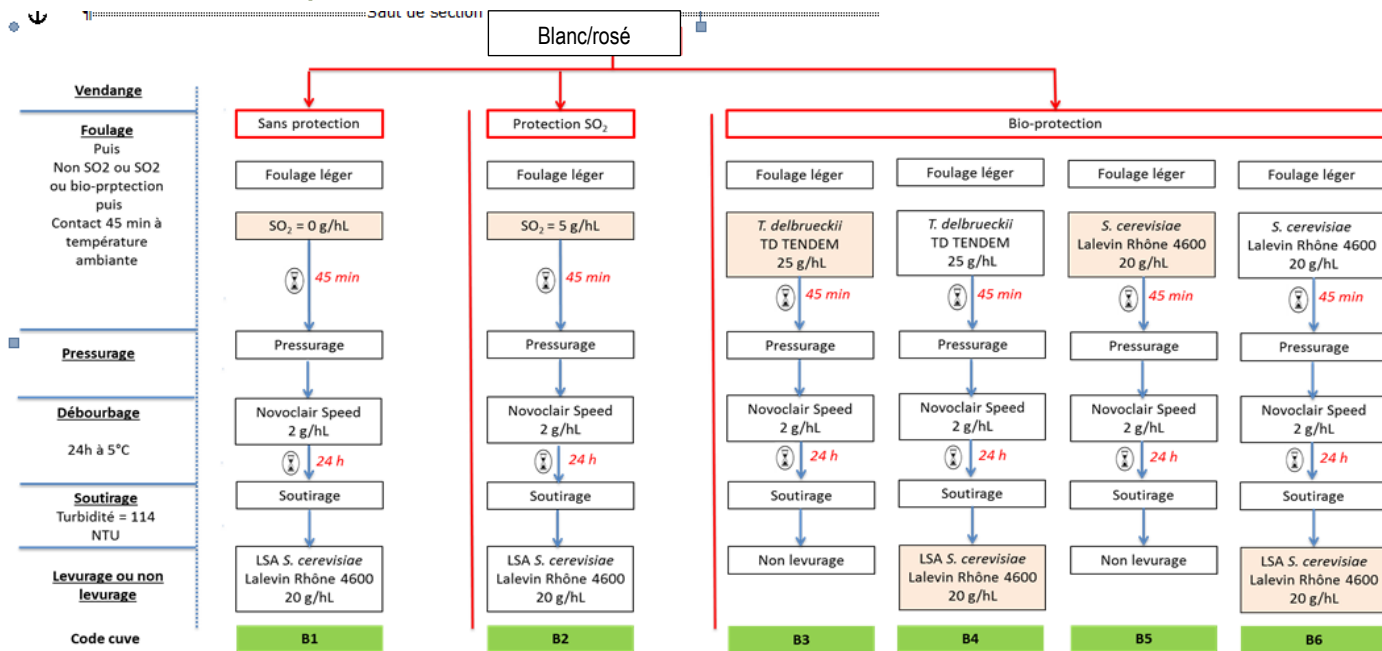
(Contrairement à 2015 : le biocontrôle était positionné en sortie de pressoir à partir de levures réhydratées.)

Sur Grenache rosé, on procède à une macération pelliculaire supplémentaire de 2H pour l'extraction de la couleur !

b) Protocole 2016 IFV

Vermentino (blanc) / Syrah (rosé)					
Témoin SO2 (4g/qt)	Témoin sans SO2	Gaïa (Metchnikowia fructicola) (4g/qt)	TST Sacch IOC (4g/qt)	PDCindigène	
4 h de macération					
Foulage – pressurage					
Débourbage 24H à 12°C					
blanc/rosé	blanc/rosé	blanc/rosé	rosé	blanc/rosé	rosé
X5	X5	X5	rien	X5	rien

c) Protocole IR 2016



d) Résultats

Analyses microbio :

ICV 2016 :

Graphique B1

Sur blanc et rosé, les conclusions sont sensiblement les mêmes.

On confirme par rapport à 2015 que le SO₂ réduit les populations présentes sur l'essai blanc, par contre, sur rosé, le niveau de population sur le témoin non sulfité avant débouillage est comparable à celui de la modalité sulfitée !

A 10g/qt même en non réhydraté, les levures des spécialités commerciales utilisées en biocontrôle se sont bien implantées avant débouillage (en quantité variable). Pour mémoire, ce n'était pas le cas en 2015 avec une bioprotection à 5g/qt.

Le débouillage réduit le niveau de population

Torrula s'est mieux et plus rapidement implantée que Metchnikovia. (même constat que sur les modalités rouges 2015 à 5g/qt de Metchnikovia (de la Primaflora VR) et Torrula)

Graphique B2

Toutes les modalités ont été relevées : à mi FA, on retrouve les souches utilisées pour le relevage.

Les niveaux de populations entre modalités SO₂ et biocontrôle sont sensiblement les mêmes (même niveau de log : sauf sur blanc pour le témoin sans SO₂).

Le biocontrôle (sacch ou non sacch) à 10g/qt en non réhydraté n'empêche pas l'implantation des souches de relevage utilisées pour assurer la FA ensuite.

On peut noter des effets ponctuels :

La souche (Okay bio) utilisée en biocontrôle s'est maintenue pendant la FA (20% de la population totale sur blanc et 88% sur rosé !).

Sur blanc, les non sacch (modalités Torrula et Metchnikovia) ont quasi disparu à mi FA, par contre sur rosé, la torrula s'est maintenue à 20% de la population totale.

IFV 2016 :

Graphique B3

Dans ces essais, le sulfitage ne réduit pas ou très légèrement les populations levuriennes présentes.

A 4g/qt les levures de biocontrôle se sont implantées.

Le débouillage ne réduit pas ou légèrement le niveau de population : toutefois, réalisé à 12°C, on est plutôt en condition de MPF. Dans ces conditions les populations levuriennes peuvent se maintenir, voir se développer.

La Metchnikovia s'est particulièrement bien implantée !

Graphique B4

Le niveau des populations levuriennes à mi FA est sensiblement le même sur toutes les modalités.

La souche TST utilisée en biocontrôle a empêché l'implantation de la souche de relevage (X5) (par manque de compétitivité probablement !)

Le niveau de population de la non sacch Metchnikovia utilisée en biocontrôle est bien implantée en phase préfermentaire se réduit considérablement en FA au profit de la X5 !

Sur la modalité de biocontrôle Metchnikovia non relevée ensuite, on note une diversité des souches de levures plus importante que sur les autres modalités, avec la présence toutefois de la souche de relevage (X5) (contamination du lot)

IR 2016

Il n'y a pas eu d'analyse microbio sur blanc.

Analyse sur rosé en attente

Cinétique FA et analyses oeno :

ICV 2016

Graphique B5

Sur blanc, toutes les modalités finissent leur FA.

On ne relève aucune différence significative sur les paramètres analytiques fin de FA.

Aucune modalité (hors témoin sulfité) ne présente de SO₂ total fin FA (pas de production par les levures).

Sur rosé, la modalité de biocontrôle sacch (Okay bio) présente une cinétique fermentaire plus rapide avec un niveau de population plus élevé à mi FA que les autres modalités !

Sur blanc et rosé, la modalité de biocontrôle Metchnikovia (10g/qt, non réhydraté) suivie d'un relevage a enclenché sa malo.

IFV 2016 :

Graphiques B6 et B7

Sur blanc : la modalité de biocontrôle Metchnikovia présente une cinétique un peu plus lente que les autres (même si la X5 s'est bien implantée)

Sur rosé : on a plus de disparités. Toutes les modalités partent rapidement en fermentation avec des temps de latence très courts, sauf le lot biocontrôle Metchnikovia sans relevage (temps de latence important de 5 jours). Les modalités de biocontrôle Metchnikovia + X5 et biocontrôle sacch (TST) + X5 partent aussi vite que les autres modalités mais leur vitesse maximum est moins élevée et l'activité fermentaire ralentit en fin de FA. Les moûts sont carencés et non suffisamment compensés ce qui peut expliquer une consommation rapide des ressources par la TST et la Metchnikovia et un retard sur le fin de FA.

Tableau B1

Pour rosé, la FML s'enclenche sur les modalités témoin sans SO₂ et Metchnikovia sans relevage. On remarque dans ce cas l'intérêt de la bioprotection suivie d'un relevage pour empêcher la FML sur un moût sensible à la malo (cf la FML sur le témoin).

IR 2016

Graphique B8

Sur blanc on repère deux séries de cinétiques fermentaires:

Les plus rapides : le témoin 0 SO₂ + LSA, et les modalités de biocontrôle non sacch sans relevage. Les autres modalités de biocontrôle suivies d'un relevage et le témoin SO₂ + LSA ont une durée de FA plus longue (6 jours !) avec des sucres résiduels en fin de FA (FA languissantes !)

A noter que les modalités de biocontrôle *Torrula* présentent les niveaux d'acide acétique les plus bas (non retrouvé sur les autres essais en blanc).

Par contre aucune malo ne s'est enclenchée sur ces essais.

Les moûts sont très carencés (Nass = 130 pour un 16% !), et non complétés. Dans ces conditions, les levures de bioprotection ont une consommation rapide des ressources, la croissance de la population de sacch du relevage nécessite une nouveau pic de consommation qui peut provoquer la pénurie d'azote et le ralentissement fermentaire, non observé sur les modalités non relevées.

Les modalités non relevées finissent parfaitement la FA : étant donné les niveaux d'alcool, on peut toutefois s'interroger sur une contamination possible de ces essais par des *Saccharomyces* du chai.

Sur rosé, les observations sont les mêmes pourtant le rapport TAP/Nass montre que même si l'azote n'est pas en excès dans les moûts, ces derniers ne sont pas spécialement carencés !

Analyses sensorielles

ICV

On ne relève aucune différence significative entre les modalités sur blanc. Par contre sur rosé, les modalités témoin sans SO₂ et *Torrula* sont plus souffrés, rugueux, végétal, le témoin SO₂, plus buis, agrume, fruit exotique et les modalités le biocontrôle sacch (Okay bio) et biocontrôle non sacch Metchnikovia sont positionnés de manière intermédiaire.

IFV : en attente

Sur blanc et rosé, les modalités bio-contrôle ne permettent pas d'obtenir des vins avec une meilleure qualité que les témoins avec ou sans SO2 (proches). Sur les 2 essais, la modalité TST + X5 présente un défaut de réduction.

IR :

Sur rosé, les modalités Torrula sont plus thiolées.

e) Conclusion blanc et rosé

Le débouillage peut réduire les populations levuriennes. Le sulfitage également, mais ce n'est pas le cas sur tous les essais.

Les levures non sacch en biocontrôle s'implantent systématiquement à 10g/qt mais en proportion variable selon la souche.

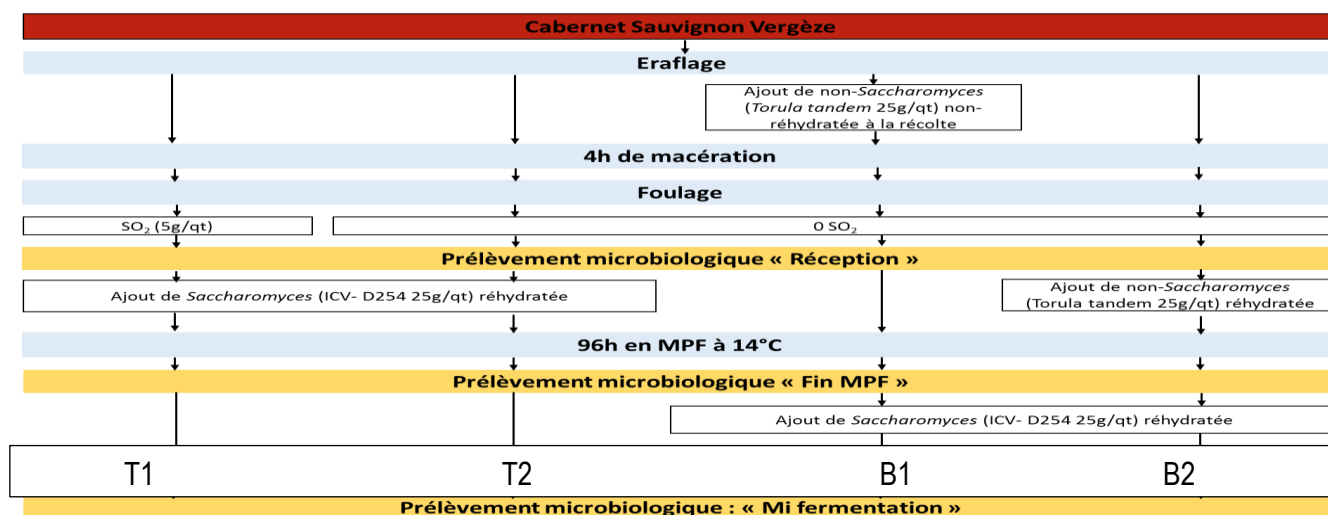
Sur ces essais, en général, ces stratégies de biocontrôle n'empêche pas l'implantation de la souche de sacch utilisée en relevage pour assurer la FA sauf sur un cas dû probablement à un problème de compétitivité des LSA. Par contre, les levures sacch ou non sacch de biocontrôle peuvent se maintenir pendant la FA.

Un biocontrôle à 10g/qt de biocontrôle, suivi d'un relevage garanti, pour des niveaux suffisants d'azote assimilable la fin des FA. Par contre, si la compensation en azote est limitée, l'ensemencement avec plusieurs souches de levures (non sacch en biocontrôle puis sacch en relevage) peut entraîner un épuisement de la ressource azotée et des FA languissantes.

A noter que dans ces essais, les témoins finissent également la FA...

Sur rouge en MPF

a) Protocole ICV – MPF 96H, 14°C

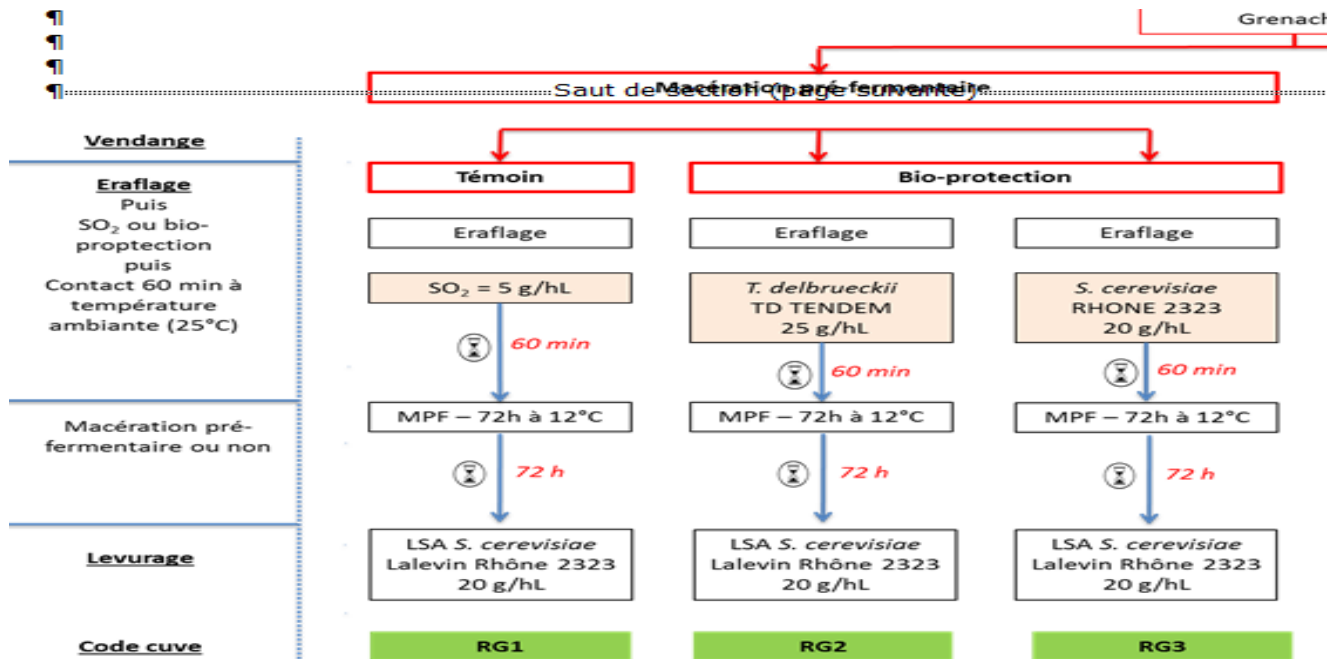


b) Protocole IFV – 2015/16 MPF 72H, 12°C

Témoin SO2 4g/hl	Primaflora (Metchnikowia pulcherima) 4g/qt	Gaïa Metchnikowia fructicola) 4g/qt	TST 4g/qt	TST 4g/qt
---------------------	--	---	--------------	--------------

MPF : 48H à 12°C en 2015				
MPF : 72H à 12°C en 2016				
2015/16	2015	2016	2016	2016
X5	X5	X5	X5	rien

c) Protocole IR 2016 MPF 72H – 12°C



d) Résultats

Analyses microbio :

ICV 2016

Graphique B9 :

Le sulfitage pré fermentaire réduit très légèrement les populations levuriennes.

En fin de MPF les sacch réhydratées des modalités témoin (T1 et T2) présentent un niveau de population supérieur aux non sacch des modalités biocontrôle (B1 et B2) (incorporées avant ou au même moment) : la capacité de multiplication des sacch en condition de froid (14°C) est donc plus rapide que les non sacch ! Ce n'est pas un effet de la non réhydratation de la non sacch qui bloque le développement !

Graphique B10 :

Les FA des 2 témoins sont ainsi plus rapides : là aussi, les niveaux de population totale et des sacch sur les témoins à mi FA restent supérieurs aux niveaux des populations sur les modalités de biocontrôle.

Sur les modalités biocontrôle, la *Torrula* reste très présente à mi FA : 70% des levures totales. L'implantation de la sacch de relevurage a plutôt été compromise : il est envisageable que ça soit la *Torrula* qui ait réalisé la FA !

Pour rappel en 2015, sur les essais IFV : la *Torrula* de la spécialité Primaflora VR s'était maintenue en FA et avait probablement réalisé une partie de la FA !

Ces résultats confirment l'influence du temps de macération sur le développement des populations levuriennes.

IFV 2015/2016:

Graphiques B11 et B12 :

Le sulfitage préfermentaire réduit les populations levuriennes.

Globalement, la MPF ne ralentit pas la croissance levurienne : la croissance des populations de la modalité sacch (TST) est un peu plus rapide que la modalité non sacch Metchnikovia (Gaïa). On atteint en sortie de macération des niveaux de population comparable ensuite à ceux de mi FA.

La sacch utilisée en biocontrôle (TST) provoque un début de FA pendant la MPF.

En FA, la X5 de relevage prend le dessus sur la non sacch Metchnikovia (Gaïa) mais pas sur la sacch de biocontrôle (TST) qui assure là aussi la FA.

IR 2016

La levure non sacch de biocontrôle (Torrula) s'est bien implantée : la proportion sur l'ensemble de la population levurienne est de 60% avant relevage !

Le contrôle d'implantation sur la modalité sacch relève 100% de sacch (souche non identifiée...)

Cinétique FA / analyses oeno :

ICV 2016

Graphiques B13 :

Les modalités témoins présentent des cinétiques fermentaires plus rapides que les modalités de biocontrôle comparables entre elles (ce n'est pas le cas sur les autres sites d'essai !).

Les caractéristiques analytiques sont assez différentes entre les modalités de biocontrôle sacch et non sacch. La Torrula qui semble avoir assuré la FA donne des vins avec un degré de moins d'alcool ! Par contre, l'AV et AT sont plus fortes !

IFV 2016

En 2015, on avait relevé l'enclenchement de la malo sur les essais MPF modalité Metchnikovia (Primaflora) et également sur témoin sans SO₂.

Graphiques B14 :

En 2016, le départ en FA des modalités biocontrôle (sacch et non sacch) est plus rapide que celui des témoins mais la durée de FA est finalement semblable sur toutes les modalités (ralentissement des modalités biocontrôle)

Pas de malo enclenchée en 2016. Pas de différence significative sur les autres paramètres analytiques.

IR 2016

Graphique B15 :

La modalité de biocontrôle sacch (Lalvin) démarre et finit plus rapidement la FA que les autres : la FA démarre pendant la MPF (même observation que sur les essais IFV)

Le témoin est le plus lent. La modalité Torrula est intermédiaire.

Analyses sensorielles :

Sur les essais ICV, le témoin avec SO₂ et la Torrula non réhydratée à récolte sont plutôt souffrés, herbacé et le témoin sans SO₂ et la Torrula réhydratée sont plutôt pruneau, confiture....

Pour les essais IFV, le lot SO₂ + X5 est plus intense et préféré globalement suivi du lot TST + X5.

IR : en attente

e) Conclusion pour la MPF :

La MPF n'a pas empêché le développement des levures sacch ou non sacch réhydratées ou non. Les levures saccharomyces s'implantent à des niveaux de population probablement supérieurs aux non saccharomyces, ce qui peut contribuer à un risque de démarrage de la FA avant la fin de la MPF (constaté sur 2 sites d'essai).

La température de MPF (12-14°C selon les essais) n'aurait pas gêné l'implantation de la *Torula* en forte proportion qui dans certains cas réalise tout ou partie de la FA.

Les cinétiques fermentaires ne présentent pas les mêmes profils selon les sites (les témoins démarrent plus rapidement sur les essais ICV (à 14°C) ce n'est pas le cas pour les essais IFV/IR mais à 12°C). Est-ce que cette différence de température générerait plus le développement des non sacch ?

Enfin, les 2 témoins avec et sans SO₂ réalisent généralement correctement leur fermentation.

En serait-il de même si on les matières premières présentaient des niveaux de carences azotées plus importants et des états sanitaires moins bons ?

Sur rouge traditionnel

a) Protocole ICV 2016 :

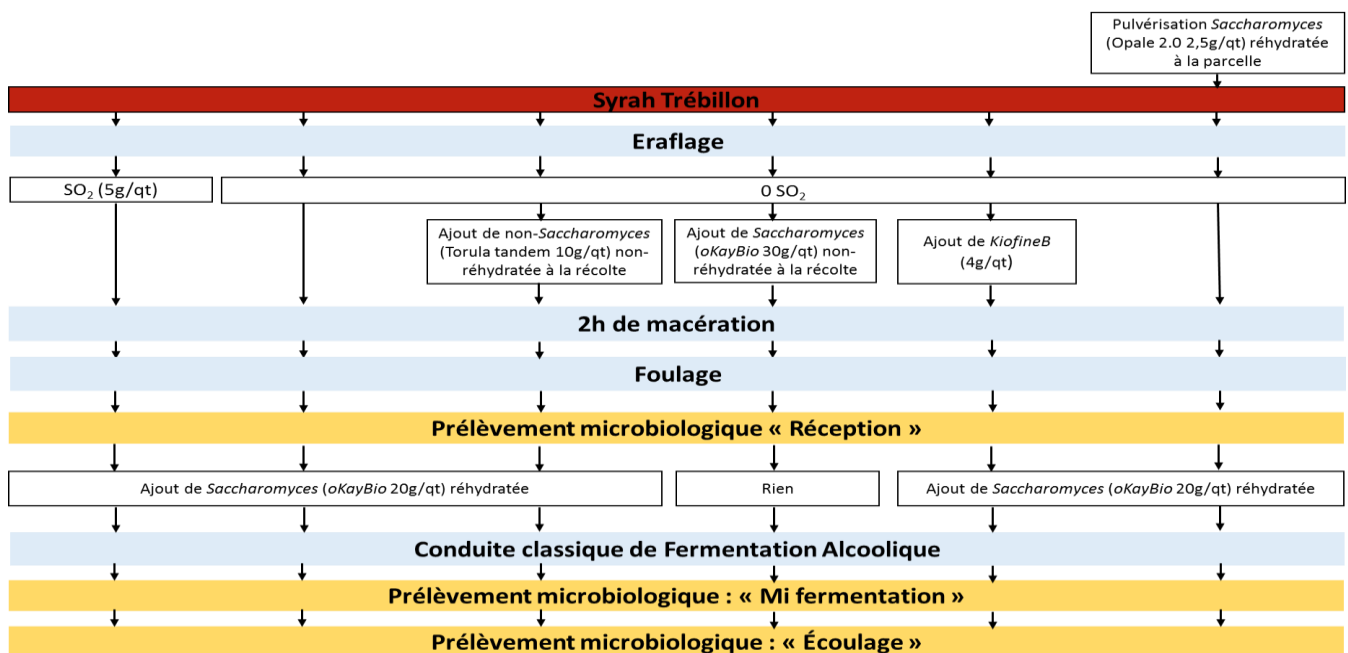
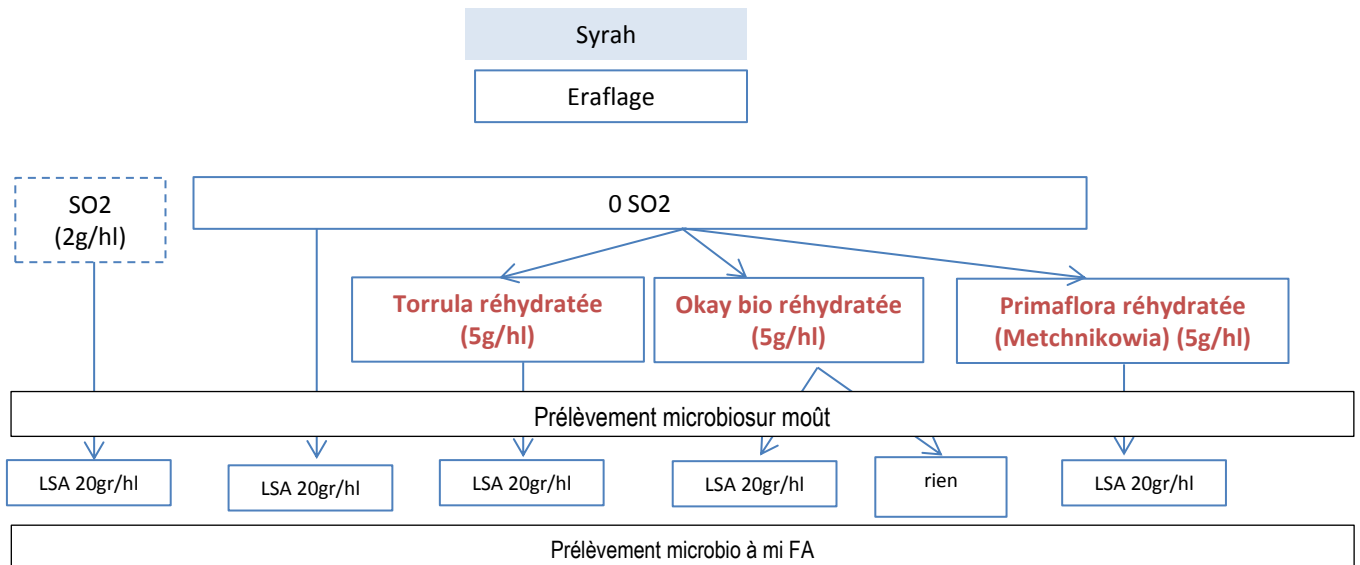


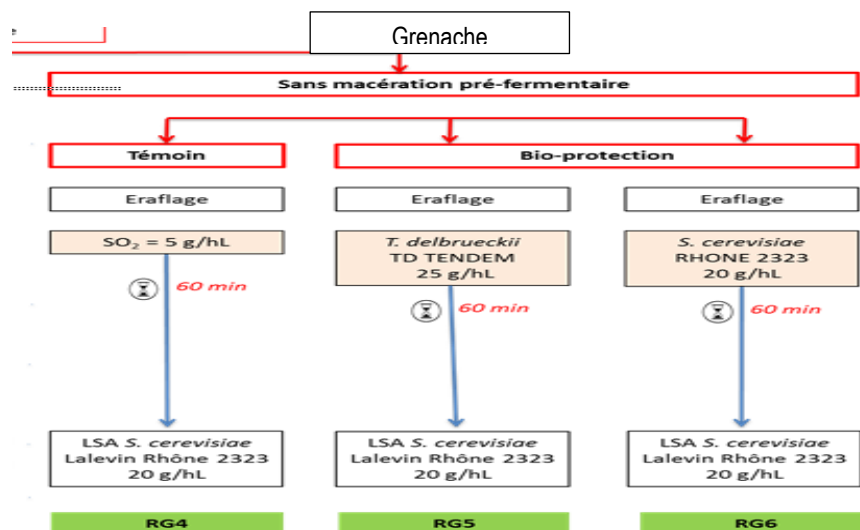
Figure 1 - Organigramme récapitulatif pour les essais de vinification en rouge traditionnel

A noter : La *Torula* est utilisée à 10g/ qt mais la sacch de biocontrôle(*Okay bio*) à 30g/qt !

b) Protocole IF 2015



c) Protocole IR 2016



d) Résultats :

Microbio et cinétique fermentaire :

ICV 2016

Graphiques B16 et B17 :

Les observations rejoignent celle des essais en blancs/rosés.

On confirme que le SO₂ réduit les populations présentes.

A 10g/qt même en non réhydraté et seulement après 2H de macération : on retrouve les Torrula bien implantées (même mieux que la sach de biocontrôle (Okay bio) pourtant utilisée à 30g/qt !

Pour mémoire, sur rouge, on peut remarquer que même à 5g/qt les levures de biocontrôle s'étaient implantées systématiquement sur les essais 2015 rouge.

Par contre, la modalité de pulvérisation à la parcelle de sacch (Opale) n'a pas fonctionné : la levure n'est pas retrouvée lors des comptages.

La modalité Kiofine ne permet pas de réduction de population...

Toutes les modalités ont été relevées : à mi FA, on retrouve les sacch utilisées pour le relevage. Les niveaux de populations des sacch sont sensiblement les mêmes sur toutes les modalités (même niveau de log).

Toutes les modalités (y compris les témoins) achèvent leur FA avec des cinétiques fermentaires identiques. Le biocontrôle à 10g/qt en non réhydraté n'empêche donc pas l'implantation des sacch du relevage pour assurer la FA ! Et c'est donc la sacch de relevage qui a assuré la FA dans ce cas.

On peut noter les effets ponctuels sur cet essai :

La *Torrula* utilisée en biocontrôle s'est maintenue pendant la FA (20% de la population totale).

La modalité de biocontrôle sacch (okay bio) à 30g/qt à la récolte non relevée ensuite permet de garantir la FA au même titre que les autres modalités. (On retrouve la même tendance qu'en 2015 sur l'essai Cabernet Sauvignon à 25g/qt).

IFV 2015 (pour rappel) :

Graphique B18 et B19 :

Les non sacch de biocontrôle se sont implantées à 5g/hl (mais restent en faible proportion). Même si on ne retrouve pas la sacch sur la modalité de biocontrôle (okay bio), elle s'implante puisqu'à mi FA, elle représente 100% de la population et réalise la FA !

Sur les modalités non sacch de biocontrôle, relevées ensuite, le biocontrôle n'empêche pas en général l'implantation de la sacch de relevage (X5), mais les non sacch peuvent se maintenir en FA (jusqu'à 50% pour *Metchnikowia* !)

IR 2016 :

Graphique B15 :

Les modalités de biocontrôle se sont bien implantées avant relevage jusqu'à des proportions assez fortes notamment pour la *Torrula* : 60% de la population pour une dose initiale de 25g/hl en 1 heure de macération !

Toutes les modalités achèvent leur FA avec des cinétiques comparables.

Analyses oeno et sensorielles :

ICV 2016

On ne relève pas de différence significative sur les paramètres oeno.

En dégustation, le témoin avec SO₂ et la modalité *Torrula* sont plus confiture, poivre, vanille que le témoin sans SO₂ plus souffré/végétal.

IFV 2015

On ne relevait pas de différence très significative entre les vins concernant les paramètres oenologiques.

Globalement, il existe une préférence significative pour la modalité de biocontrôle *Primaflora* puis X5 par rapport aux lots témoins et *Torrula* qui sont proches.

Primaflora et X5 et Okay relevé sont jugés moins acides. Les lots *Torrula* et X5 sont jugés moins gras / alcool.

IR 2016

On ne relève pas de différence significative entre les modalités concernant les paramètres oenologiques.

Dégustation : en attente

e) Conclusion rouge Trad :

En vinification traditionnelle sur rouge, les levures de biocontrôle (sacch ou non sacch) s'implantent dans le moût même en un temps de macération très réduit (1 à 2H) avant le relevage et même à des doses d'ensemencement faible (5g/hl) ! La proportion des non sacch de biocontrôle sur la population totale identifiée sur moût avant relevage pourrait dépendre des doses d'ensemencement en levure des moûts (de 5 à 25 g/hl).

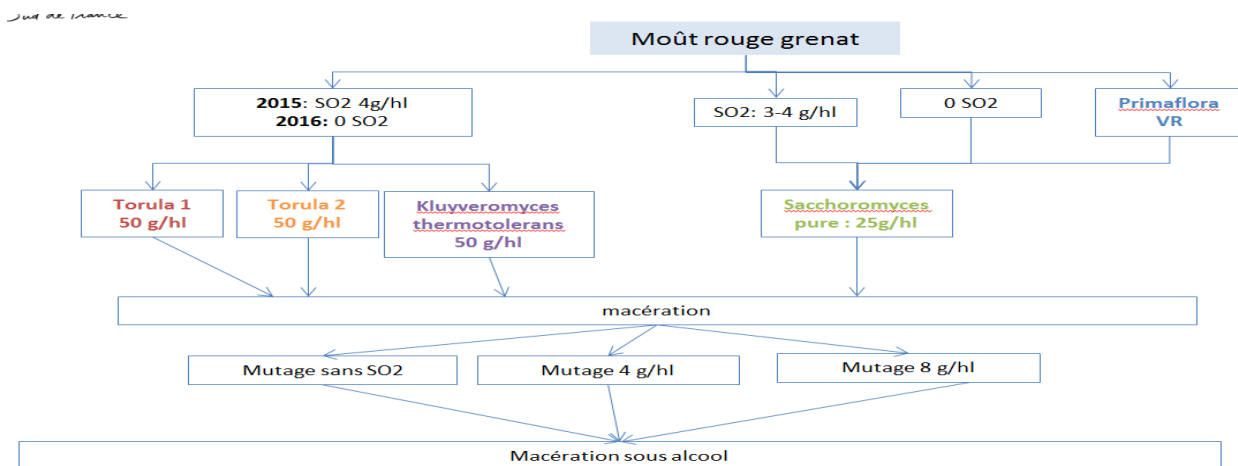
Les levures non sacch de biocontrôle (réhydratées ou non), sur ces vinifications traditionnelles (avec un temps de macération de 2 heures max) n'empêchent pas l'implantation de la levure sacch du relevage mais peuvent se maintenir pendant la FA.

Le biocontrôle avec une levure sacch quelle que soit la dose (réhydratée à 5g/hl sur essais IFV ou non réhydratée à 30 g/hl sur essais ICV) peut empêcher l'implantation de la sacch de relevage et réaliser la FA !

Les FA s'achèvent correctement mêmes sur les modalités témoin...

Essais sur VDN

a) Protocoles



b) Résultats

Les cinétiques fermentaires

Graphique B20 :

Les profils fermentaires sont assez comparables à 2015 : les non sacch engendrent des durées de FA plus longues que les modalités sacch. La FA jusqu'au mutage est réalisée.

La modalité Kluyveromyces est intermédiaire aux sacch / non sacch.

La modalité Primaflora (Metchnikovia+ sacch) relevurée (K1) est légèrement plus rapide que les autres modalités sacch (la Primaflora contient également une sacch).

Analyses oeno :

Sur vin fini, on peut noter un niveau un peu plus faible d'acidité volatile sur la modalité Torrula (Levulia)
Les autres paramètres analytiques sont comparables.

Microbio :

Graphiques B21 et B22 :

Toutes les levures testées se sont implantées correctement.

En 2015, après mutage, le niveau des populations de levures vivantes est de l'ordre de $10 \text{ exp } 7$, ce qui correspond plutôt à une activité fermentaire, hors, les FA sont bien stoppées par les mutages (problème d'appréciation du nombre de levures). En 2016, les niveaux de populations des levures vivantes sur les modalités non sacch sont de l'ordre de $10 \text{ exp } 6$: les FA sont stoppées par les mutages. Ils sont par contre plus élevés sur les modalités sacch ($10 \text{ exp } 6$ - $10 \text{ exp } 7$) sur lesquelles les FA se sont poursuivies après mutage !

Le niveau de population totale sur les modalités sacch et Primaflora VR (Metchnikovia + sacch) est légèrement supérieur à celui des non sacch sur les 2 années et le niveau de la modalité Torula Tandem est inférieur à celui de Kuyvero.

Analyses sensorielles

En 2015, C'est la modalité Torrula Tandem avait la meilleure appréciation globale. 2016 confirme ce résultat : la modalité Torrula Tandem est la plus appréciée, au même niveau que la Torrula Levulia. Les modalités Sacc sont assez homogènes entre elles en 2016, plus qu'en 2015, et moins appréciées globalement que les non sacch : sur ce point il n'y avait pas de tendances en 2015.

Par contre la modalité Primaflora est la moins appréciée globalement en 2016 alors qu'elle faisait partie des meilleurs échantillons en 2015.

On ne voit pas d'effet du niveau de sulfitage du mutage sur les paramètres organoleptiques en 2 ans d'essais.

c) Conclusion VDN

Les 2 années d'essai montrent des similitudes de comportement sur les modalités sacch, Kuyvero et Torrula Tandem. La modalité Primaflora ne montre pas de résultat régulier.

Les cinétiques fermentaires sont plus rapides sur les modalités sacch (dont Primaflora VR) et plus lentes sur les Torrula. Kuyvero est toujours intermédiaire.

Les durées de FA sont assez corrélées au niveau de population levurienne totale.

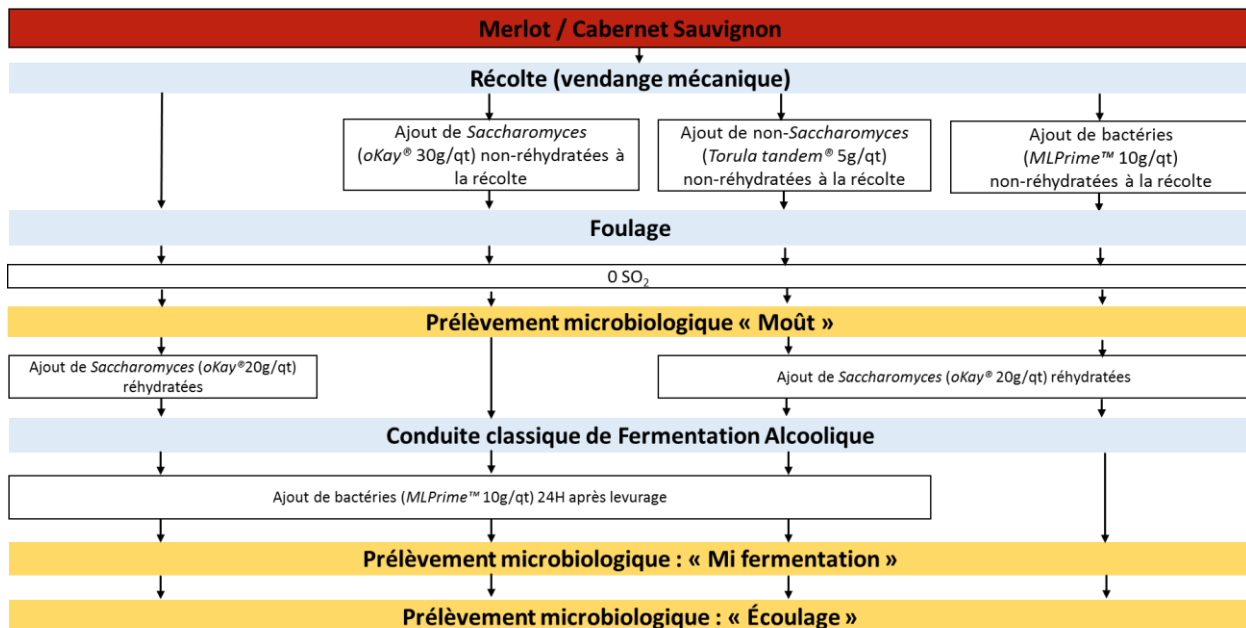
Les souches de levure ont donc une incidence sur la vitesse de fermentation. Avec une fermentation plus lente mais suffisante pour atteindre le point de mutage, les non saccharomyces présentent un intérêt pour la vinification de VDN, d'autant plus que les profils organoleptiques sont intéressants notamment pour les Torrula.

RESULTAT DES ESSAIS EN GRAND VOLUME SUR LE TERRAIN

Essais terrain (cave coopérative) suivis par l'ICV – Vinification en rouge Trad

Mise en application des essais de la cave expérimentale sur le terrain.

a) Protocole :



2 répétitions sur chaque essai

b) Résultats :

Microbio :

Graphiques B23 et 24 ::

A mi FA, sur chaque répétition, le niveau des populations totales de levure est le même sur l'ensemble des modalités.

Par contre, les proportions de levures ne sont pas tout à fait les mêmes entre les 2 répétitions : on note cette variabilité liée à flore microbienne.

On peut noter que sur ces essais, la *Torula* s'est implantée malgré la faible dose d'utilisation pour ensemercer le moût (5g/qt) avec une forte proportion sur la répétition 2.

Sur les essais Cabernet, des sach du chai non utilisés pour les essais ont pu entrer en compétition avec les levures testées (contamination des lots).

C'est la sach du relevrage qui fait la FA, mais on observe un maintien régulier de la *Torula* pendant la FA (niveau de pop plus ou moins important)

Pour l'essai bactérie, l'implantation de la sach se fait comme sur les autres modalités

Sur la modalité *Torula* de la répétition 2, le niveau de population de sach du relevrage est assez faible, probablement dû à la compétition de la *Torula*

Analyse sensorielle :

On note des différences entre les modalités mais des tendances variables selon la matière première.

Sur Merlot : la modalité *Torula* non réhydratée est jugée globalement de manière intermédiaire par rapport aux autres lots ?

Le témoin est plus amylique, végétal/herbacé, vanillé, acide astringent et sec à l'opposé des modalités sacch non réhydratées.

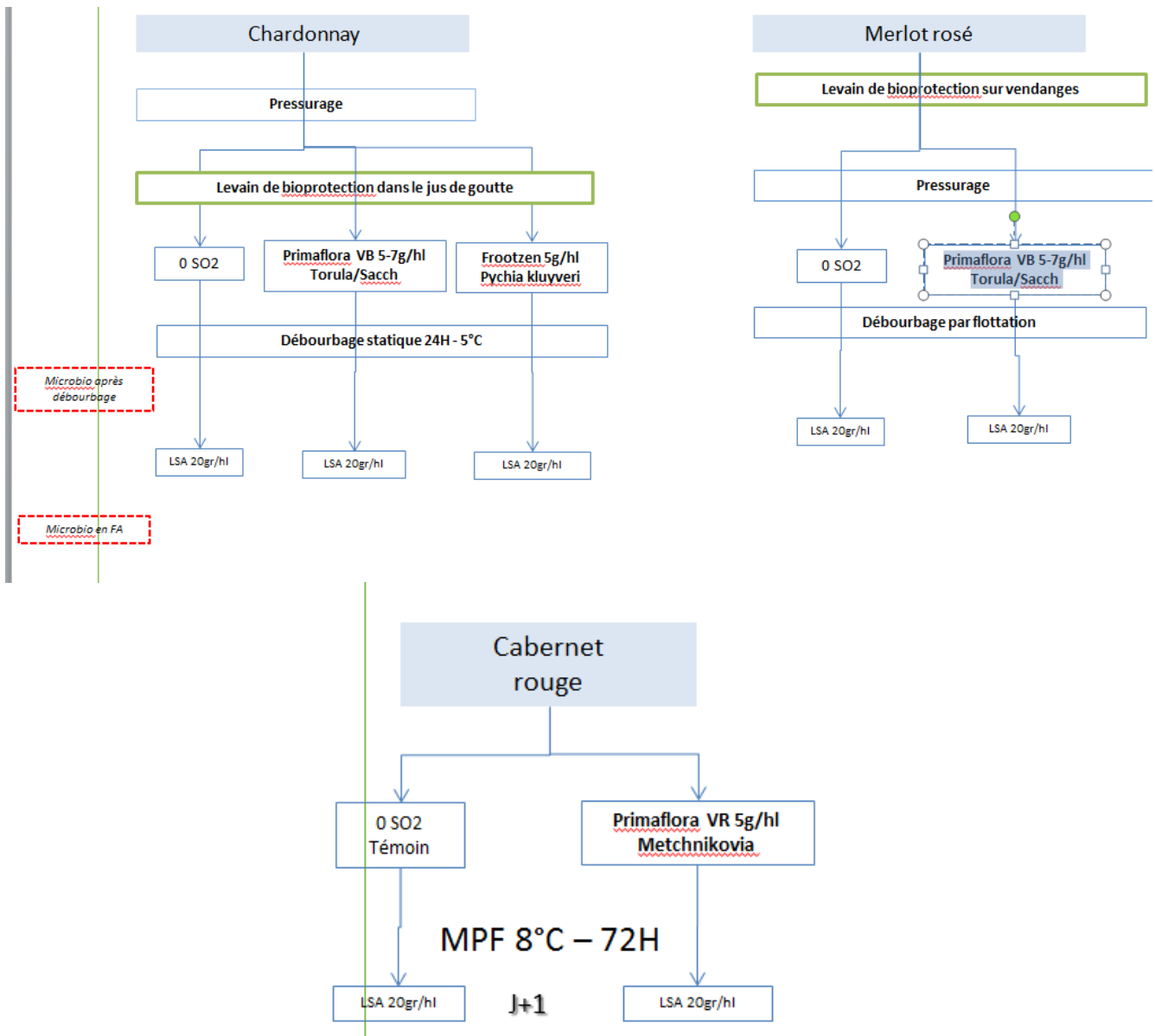
Sur Cabernet : la modalité Torrula non réhydratée est plutôt végétale/herbacée, pruneau, poivre noir, acide, astringent, sec à l'opposé de la modalité sacch non réhydratée plus amylique, vanillé, fruit rouge, confiture. Le témoin est intermédiaire.

f) Conclusion

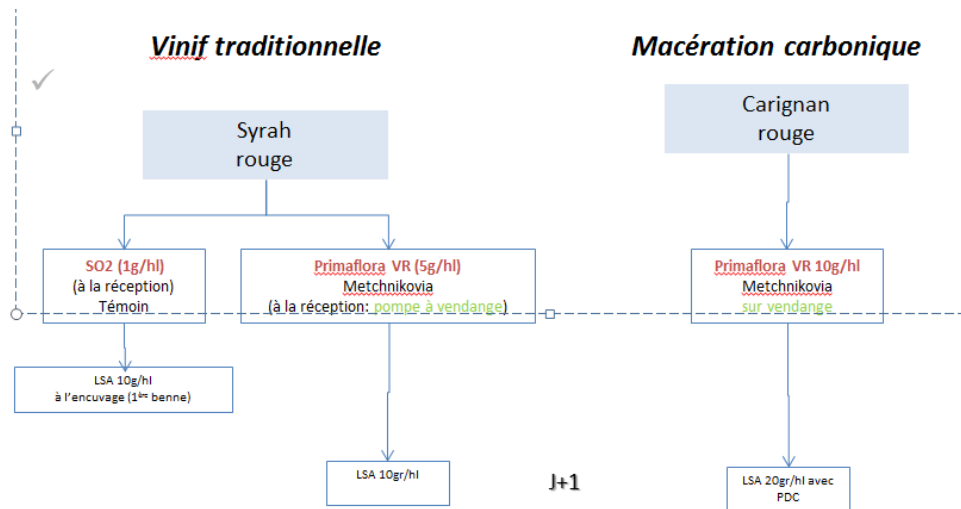
Ces essais terrain confirment la possibilité d'apdater une stratégie de biocontrôle à la vendange en utilisant des levains non réhydraté, sans préjudice sur les cinétiques fermentaires et avec un profil aromatique intéressant sur certaines modalités.

Essais terrain suivis par SVB

a) Protocoles domaine 1



b) Protocoles Domaine 2 :



c) Résultats :

Domaine 1

Cinétique fermentaire et analyse

Tableau B2 :

Sur blanc : les modalités de biocontrôle non sacch terminent leur FA 4 jours après le témoin sans SO2 qui démarre très rapidement la FA.

Les niveaux d'azote assimilable sur les moûts sont très variables et le niveau du témoin très élevé expliquant sans doute la vitesse de lancement de la FA. L'acidité volatile sur la modalité *Pichia kluyveri* est plus élevée est traduit un démarrage de FML sous marc. Le niveau d'azote assimilable sur cette modalité est bien plus faible, proche de la carence. Pas de différence significative sur les autres paramètres analytiques.

Sur rosé, les cinétiques fermentaires sont les mêmes : le témoin et le biocontrôle non sacch accusent un départ de malo ! Dans ce cas on le biocontrôle suivi d'un relevage n'a pas jouer de rôle protecteur vis-à-vis des risques de FML.

Sur rouge : les cinétiques fermentaires ne sont pas interprétables : un problème de froid est à noter sur le témoin provoquant le ralentissement de la FA. Les 2 FA se finissent mais la malo s'est enclenchée sur la modalité de biocontrôle !

Analyses microbio :

En attente

Analyse sensorielle :

Pas de traitement statistique des résultats de dégustation.

Sur blanc, le témoin paraît plus aromatique et les stratégies de biocontrôle plus réduites.

Rosés et rouge vins finis en bouteille non dégustés.

Domaine 2 :

Cinétique fermentaire et analyse

En vinification rouge traditionnelle, le témoin (SO₂ + LSA) présente une cinétique légèrement plus rapide (un jour de moins) que la modalité de biocontrôle Primaflora, mais cette dernière spécialité commerciale contient également une saccharomyces ayant pu se développer !

La malo s'est déclenchée sur les 2 essais.

Concernant les paramètres analytiques, on ne relève pas de différence significative entre les 2 essais. Sur l'essai macération carbonique, il n'y a pas eu de témoin. La fermentation s'achève sans sucre résiduel. Par contre la FML s'enclenche sous marc mais sans montée spécifique de volatile sur vin fini.

d) Conclusion

Les essais en vinification traditionnelle (sans macération) sont peu probants dans des conditions de vinification testées par rapport au témoin non sulfité. Sur blanc On ne note pas d'effet organoleptique particulièrement marqué sur les modalités de biocontrôle non sacch.

Sur les essais pour lesquels le témoin est sulfité, le biocontrôle est envisageable en alternative au SO₂, toutefois les risques de malo sous marc n'ont pu être maîtrisés dans ce cas.

CONCLUSIONS BIOCONTROLE :

a) Caractéristique des moûts de départ :

Le sulfitage en préfermentaire (à 5g/qt) ne réduit pas systématiquement de manière significative les populations de levure en présence sur moût à l'encuvage. Cela dépend également du niveau initial de la population levurienne. Dans les essais, ce niveau peut être assez variable selon les moûts.

Sur les témoins non sulfités on peut retrouver des saccharomyces (autre que les LSA utilisées en labo) après pressurage et débouillage

b) Quelle dose pour assurer l'implantation du biocontrôle :

Sur des vinifications traditionnelles on observe régulièrement :

- Que la mise en œuvre d'un biocontrôle à 10g/qt permet engendre une implantation des levures en pré fermentaire. A 5g/qt, l'implantation est plus aléatoire avec des échecs observés sur certains blancs notamment.
- Que les levures de biocontrôle (sacch ou non sacch réhydratée ou non) s'implantent même après seulement 2H de macération.
- Que les levures sacch utilisées en biocontrôle (même en non réhydratée) pouvaient empêcher l'implantation de la LSA sacch de relevage et réaliser la FA. Ce peut être un avantage en vinification traditionnelle : un seul levurage permet le contrôle microbien en préfermentaire et la réalisation de la FA ensuite.
- Que les levures non sacch de biocontrôle utilisées à 10g/hl même non réhydratées n'empêchent pas, en général, l'implantation de la LSA sacch de relevage.

On relève les tendances suivantes (qui restent à confirmer) :

- Les levures saccharomyces s'implantent quasi systématiquement en biocontrôle sur moût par rapport aux non sacch avec une tendance à développer une population plus importante par rapport aux non sacch (à confirmer).
- La *Torrula* en général s'implante mieux (avec un niveau de population supérieur) que la *Metchnikowia* (essais ICV). La *Metchnikowia* sur les essais IFV a montré qu'elle pouvait néanmoins s'implante très correctement (jusqu'à 100% de la population !)

c) Sur des stratégies de macération en pré-fermentaire,

La MPF (14°C, 96 h ou 12°C 72H) peut limiter le développement des non sacch (*Torrula*) sans l'inhiber et dans une moindre mesure celui des sacch.

L'impact de la température sur le développement des non sacch serait à préciser dans des prochains essais. En effet, le débouillage, à 5°C réduit les populations (sacch et non sacch) en général.

En contrepartie, la durée de macération favorise le développement des levures. On note également une tendance des levures sacch à s'implanter mieux que les non sacch en cas de longue macération.

En cas de relevage, les levures non sacch de biocontrôle utilisées jusqu'à 10g/hl même non réhydratées n'empêchent pas, en général, l'implantation de la LSA prévue pour la FA (on relève pourtant sur des essais ICV un cas observé sur lequel une *Torrula* aurait pu réaliser la FA. Par contre, les sacch utilisées en biocontrôle, même en non réhydratées sont susceptibles d'inhiber l'implantation de la LSA prévue pour la FA et de réaliser la FA.

Pour ces itinéraires de vinification, il faudra donc être vigilant vis-à-vis d'une réelle concurrence avec la levure du relevage.

d) Relevurage ou non pour assurer la FA :

Les premiers essais de biocontrôle à 5g/qt sans relevurage sur chardonnay blanc en 2015 se sont soldés par des FA languissante ou des arrêts de FA. Le relevurage sur blanc serait donc plutôt conseillé.

Les essais debiocontrôle à 25g/hl de levures non sach non relevurés ensuite ont permis de finir les FA sans problème et même plus rapidement que les relevurées !.

Il faudrait confirmer ces observations avec des essais comparatif relevurés/non relevurés et des doses de levure de biocontrôle non sach de 10g/hl au moins, sur blanc/rosé et rouge et identifier les levures qui font réellement la FA.

e) Les risques de malo sous marc :

Le biocontrôle n'est pas une solution pour empêcher le déclenchement de la FML sous marc. Les essais terrain notamment l'ont montré et également des essais en blanc/rosé 2016 sur lesquels la FML se réalise sur une modalité de biocontrôle mais pas sur le témoin non sulfité !

Cet élément serait peut être dépendant de la souche de levure de biocontrôle, puisque sur un essai IFV, la modalité biocontrôle Metchnikovia non relevurée n'a pas fait sa malo alors que le témoin non sulfité et relevuré a relâché sa FML.

f) Cinétique de FA / Paramètres analytiques :

La durée de FA dépendante des niveaux de population de saccharomyces mais pas seulement !

On a observé des essais sur lesquels les modalités présentant des niveaux de population de sach les plus élevés à mi FA ont les durées de FA les plus courtes. Mais d'autres sur lesquelles, des modalités de biocontrôle avec des non sach non relevurés ont les cinétiques fermentaires les plus rapides !

La nutrition azotée des levures non examinée attentivement jusqu'à présent dans ces essais peut être un facteur limitant de la FA : le biocontrôle sach ou non sach peut épuiser les ressources en azote sur des moûts un peu carencés et risquer de provoquer un ralentissement de la FA ensuite.

La nutrition azotée dès l'implantation du biocontrôle pourrait être un facteur étudié par la suite.

Les essais menés jusqu'à présent ne montrent pas de décrochage des modalités témoin (sans SO₂), ne justifiant pas spécifiquement l'intérêt du biocontrôle selon les types de vinifications menés.

Il serait donc intéressant de cibler les essais sur des itinéraires particuliers de vinification et surtout prendre en considération des modalités liées à l'état sanitaire ou le niveau d'azote assimilable.

Le corolaire est que le biocontrôle selon des protocoles qui restent à affiner peut se substituer au SO₂ pour la gestion préfermentaire des levures indésirables sans préjudice de la qualité des vins.

Par contre, il est important de signaler que d'un point de vue analytique, on ne relève pas d'effet marquant du biocontrôle sur les paramètres œnologiques des vins.

Les effets organoleptiques peuvent être intéressants et sont à confirmer avec l'ensemble des résultats. RAS sur les analyses œnologiques.

g) Mise en œuvre à grande échelle

La mise en œuvre du biocontrôle à grande échelle peut être plus délicate vis-à-vis des risques de contamination et de concurrence par les levures présentes en cave.

Les essais réalisés en cave coopérative sont assez concluants pour s'affranchir du SO₂ en préfermentaire et travailler le profil aromatique des vins.

Par contre, sur les autres essais, le déclenchement récurrent des malos notamment n'est pas très encourageant.

h) Le cas des VDN

Les modalités non sacch permettent la réalisation de la FA jusqu'au mutage qui assure un arrêt de fermentation (à 4 ou 8g/hl et même sur le témoin non sulfité !)

Ces résultats permettent d'envisager des stratégies de vinification nouvelles des VDN à partir de levures non sacch, d'autant plus que le mutage n'est pas toujours efficace même à 8g/hl sur les modalités sacch ou Primaflora (contenant une sacch) alors qu'il l'est systématique sur les modalités non sacch quel que soit le niveau de SO₂ apporté.

En dégustation, la Torruella Tandem donne de bons résultats. Sur les 2 millésimes, on confirme que les modalités sacch ne sont pas les plus appréciées !

Ces effets très encourageants sont à confirmer pour définir des protocoles sûrs.

PERSPECTIVES 2017

a) Les essais en cave expérimentale (ICV, IFV, IR, CA66)

Pour la 3^{ème} année d'essais, le volet « biocontrôle » sera poursuivi. Dans les essais réalisés jusqu'à présent en condition expérimentale, les témoins sans SO₂ « décrochent » peu ou pas par rapport aux modalités de biocontrôle testées.

Il serait intéressant de valider l'efficacité des différentes stratégies de biocontrôle selon les caractéristiques des moûts de départ, en tenant compte de l'état sanitaire de la matière première, du degré potentiel et des niveaux de carence azotée.

Les essais 2016 ont mis en évidence l'impact de certains facteurs de vinification sur le comportement des souches de levures de biocontrôle (sacch et non sacch) : les temps de macération, la température et les niveaux d'azote. Les cinétiques fermentaires peuvent être impactées également.

Les essais 2017 ont donc but de confirmer l'importance de l'impact de ces facteurs, en ciblant notamment :

- les situations critiques à risque dans le cadre de stratégies 100% biocontrôle : en travaillant sur des qualités de matière première variables ces nouveaux essais permettront d'identifier les situations pour lesquelles le biocontrôle sécurise réellement la fermentation et celles à risque (essais prévus par IR et ICV).
- les stratégies de vinification sur lesquelles le biocontrôle est le plus pertinent et efficace : les essais sur des macérations préfermentaires seront reconduits en testant des températures différentes
- l'évaluation des capacités de croissance, d'implantation et le métabolisme des non saccharomyces (implantation, maintien en FA, conséquence analytique et organoleptique sur vin fini) en renouvelant les essais avec des souches pures de non saccharomyces comparées à des souches de saccharomyces
- la confirmation des doses de mise en œuvre du biocontrôle (à préciser en fonction notamment du type de levure (sacch ou non sacch), du relevage ou non ensuite, de l'usage en réhydraté ou non).
- la gestion de la nutrition azotée dès la phase préfermentaire pour garantir les fin de FA

Le cas des VDN :

Les essais seront reconduits en 2017 également à partir de spécialité de levure pure. .

Les modalités seront adaptées pour mimer des apports à la compote avec et sans SO₂.

Les mutages seront reconduits pour confirmer les effets notamment au niveau de la dégustation.

Certains protocoles sont d'ores et déjà définis par les partenaires (cf annexes)

b) Les essais terrain (Sudvinbio)

Certains protocoles réalisés à l'échelle expérimentale en 2016 seront proposés aux professionnels pour la reconduction des essais terrain.

Les protocoles testés seront précisés en fonction des itinéraires de vinification souhaités par les professionnels. Vraisemblablement les vinifications en blanc/rosé ou en macération préfermentaire rouge seront privilégiées.

Les propositions prendront en compte (si possible) les facteurs suivants :

- L'usage de sacch ou non sacch selon les objectifs de vinification
- l'usage de levure non réhydratée ou réhydratée selon le moment d'apport.
- un apport à minima de 10g/hl et un relevage ensuite pour garantir les fin de FA (les conditions de réussite de la FA sans relevage sont encore à valider à l'échelle expérimentale)
- une meilleure prise en compte de la gestion de l'azote dès le positionnement du biocontrôle

Il serait intéressant de pouvoir réaliser sur certains essais des contrôles d'implantation avec identification des levures de biocontrôle avant relevage et à mi-FA.

Un budget spécifique pour ces analyses microbio sera donc proposé pour 2017 (alors qu'il n'était pas prévu initialement au dépôt du projet), tout en restant dans le montant prévisionnel global prévu pour 2017-2018.

VOLET 1 : Evaluation d'itinéraires techniques innovants pour la gestion des phases pré-fermentaires

PDC : Optimisation des protocoles de PDC indigènes

RAPPEL DES CONCLUSIONS DE 2015

Rappel des modalités techniques :

Ce volet expérimental vise à travailler à l'adaptation du protocole PDC défini dans le cadre du programme Casdar Levain Bio) aux volumes de vinification régionaux. L'objectif est aussi de tester la qualité du PDC après rechargement et optimiser le départ du pied de cuve par le pilotage de la nutrition azotée (à partir de la 2^{ème} année).

Les essais ont été réalisés par l'IFV, l'ICV et IR

Résultats

Les différents résultats observés chez les partenaires montrent que le seul facteur « population viable des levures en présence » dans le pied de cuve ne semble pas suffisant pour permettre un pilotage des essais. En effet ce simple facteur n'a pas permis d'éviter des arrêts fermentaires notamment lors de l'utilisation à une densité inférieure à 1020. En revanche sur certains sites où une complémentation azotée du pied de cuve a été mise en place nous observons des résultats très satisfaisants, avec néanmoins, une incertitude vis-à-vis de l'effet nutrition du fait de la « pollution » par une levure du chai...

Les différences pourraient être liées aux modalités de gestion de la complémentation azotée lors de la préparation du pied de cuve:

- 1- en cas de forte complémentation en azote, le pied de cuve introduit à 2% dans des cuves permet une fermentation alcoolique régulière et satisfaisante de celles-ci, quelle que soit la densité du pied de cuve au moment de son utilisation
- 2- en l'absence de complémentation azotée lors de la fabrication du pied de cuve, les cinétiques fermentaires des jus dans lesquels il est introduit à 2% sont d'autant plus difficiles et longues que le pied de cuve est utilisé tardivement (densité de 1060 à 1010). Il est notable que le niveau de levures viables dans le pied de cuve a fortement décru au cours du temps.

La gestion de la nutrition azotée semble donc jouer un rôle déterminant dans la conservation de celui-ci et sa longévité.

Pour l'année 2 et afin de valider les premiers résultats un protocole mettant en place un suivi plus spécifique du pied de cuve est envisagé par les partenaires.

Les facteurs étudiés seront :

- La mise en place d'un pied de cuve à une température fixe (autour de 18°C)
- Mise en place de deux types de nutrition azotée. (ce point permet de relier les volets 1 et 2 du projet).

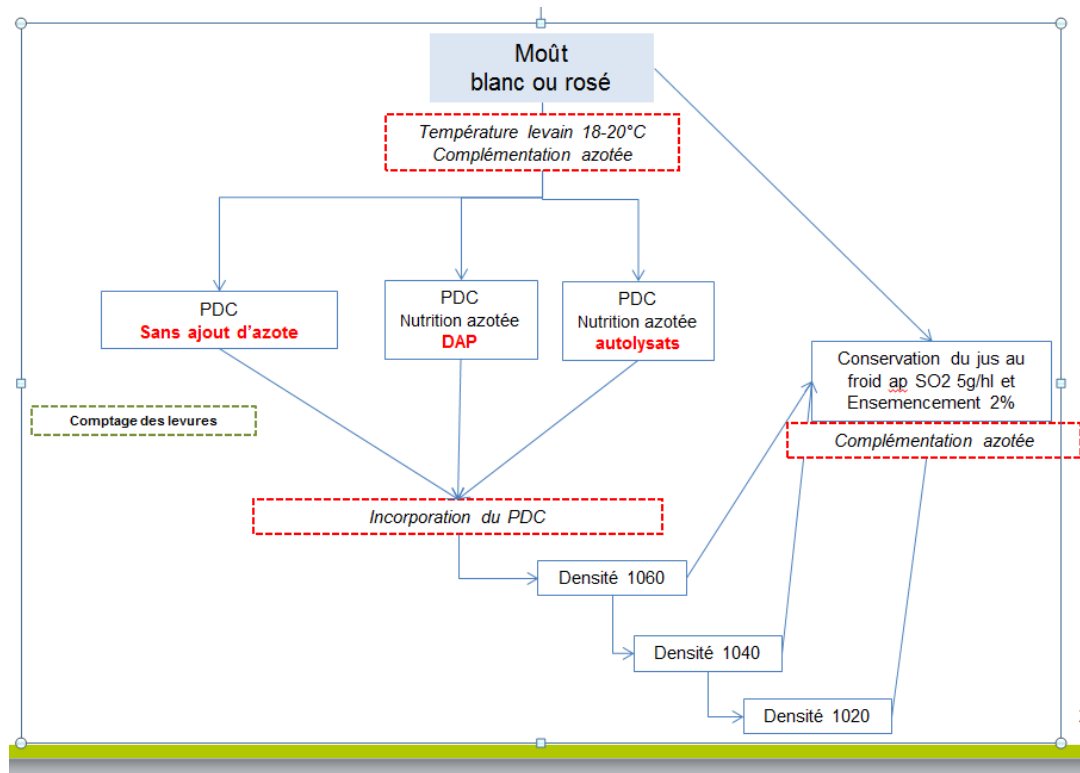
MATIERES PREMIERES TESTEES EN 2016

Matrice/Cépage	Degré	pH	AT (g/l)	Nass (mg/l)	Type de vinif	Essais
Caladoc	13%			60-80 mg/l	rosé	Micro IFV
Chardonnay	12.6	3.53	3.45	268	blanc	Micro ICV
Grenache	13.3	3.39	3.43	245	rosé	Micro ICV
Grenache blanc	15.5	3.03	3.34	142	blanc	Micro IR

RESULTATS DES ESSAIS EN CAVE EXPERIMENTALE - MICROVINIFICATIONS

a) Protocoles

Protocole PDC : référence du protocole Casdar Levain Bio



Quelques précisions sur la réalisation des PDC :

Les PDC en phase liquide non débourbé (environ 150 NTU) sont sulfités à 2g/hl

Placés à 25°C pour démarrage de FA, ils sont ensuite redescendus à 18°C pour ralentir la FA et faciliter les manipulations aux différentes densités.

Le moût conservé à 0°C pour la cuvée est sulfité à 5g/hl

Apports réalisés pour compléter les niveaux de carence (à ½ dose de compensation)

	PDC				Cuvée	
	Nass moût (mg/L)	Apport d'Nass (mg/l)	DAP (g/hl)	Autolysat (g/hl)	DAP (g/hl)	Autolysat (g/hl)
Caladoc	68-80	+ 100	50	200	8	
Chardonnay	268		8	20		10
Grenache rosé	245		16	40		
Grenache blc	142	+ 113	54	A confirmer		

b) Résultats :

IFV

Cinétiques des PDC et des cuvées ensemencées :

Graphique PDC1 :

Le temps de latence est identique pour les 3 PDC : 4 jours.

Les cinétiques des PDC sont assez comparables, toutes très lentes à l'image des FA de la cave dont le moût est issu. On note juste que la vitesse max est légèrement plus rapide pour les modalités autolysat puis DAP.

Les durées de FA des cuvées ensemencées par les 3 PDC aux 3 densités sont semblables (45 jours)

Les vitesses de FA présentées par type de nutrition sont équivalentes aux 3 densités !

Analyses oeno :

Les profils analytiques sont proches (sucres consommés, AV)

L'intensité colorante et la teinte ont légèrement baissé sur les PDC entre les densités 1065 et 1045.

Microbio :

Graphiques PDC2 et PDC3 :

Le niveau de population levurienne est comparable pour toutes les modalités de PDC : entre 10exp 7 et 10 exp 8. On relève un légère baisse de la population à la densité 1005 mais toujours dans la même fourchette de log !

On ne constate pas d'effet d'apport d'azote (organique ou minéral) sur le niveau de population de levure sur des moûts très carencés !! Pas d'effet entre les 2 formes de nutrition azotée également. De même, les niveaux de populations des PDC utilisés jusqu'à la densité 1025 sont comparable à ceux comptabilisés 50-75% de la FA des cuvées ensemencées!

ICV

Cinétiques des PDC et des cuvées ensemencées :

La cinétique des PDC n'est pas suivie.

Sur ces essais, les durées de FA des cuves ensemencées sont différentes : on note un effet dominant du facteur « densité » par rapport au facteur « nutrition azotée ». Les PDC utilisés à 1020 engendre des vitesses max de FA plus élevées et des durées de FA plus courtes.

Microbio :

Graphiques PDC4 et PDC5 :

Sur des moûts bien moins carencés que sur l'essai Caladoc, on a des niveaux de population levurienne de un à deux log inférieur (Entre 10exp 5 et 10exp 7 sur Chardonnay et entre 10exp 6 et 10 exp 7 sur Grenache).

On ne constate pas d'effet d'apport d'azote sur le niveau de population de levure sur des moûts non carencés!!

Sur Chardonnay, on note un log de différence sur le niveau des populations levurienne entre les densités 1040/1060 et 1020 : la plus faible densité a la population la plus forte et engendre des durées de FA sur les cuvées plus courtes.

Par contre sur Grenache, c'est le même niveau de population sur toutes les densités ! Pourtant on note des différences de durée de FA des cuvées ensemencées.

De plus, l'apport d'azote sur Grenache (un peu plus important que sur Chardonnay fait remonter légèrement les valeurs de vitesse max vers celle de la modalité 1020.

IR

Les 3 modalités de PDC présentent exactement la même cinétique fermentaire : pas d'effet de la nutrition azotée ni du type d'azote utilisé. La carence réelle en azote était peut être trop faible, même

s'il y avait une carence induite par le niveau d'alcool avec, de ce fait un apport d'azote assez conséquent.

Sur les modalités de PDC sans nutrition azotée on relève un niveau de population levurienne assez élevé aux 3 densités de l'ordre de 8 log !

L'utilisation d'un pied de cuve à 1060, 1040 ou 1020 de densité permet une implantation rapide et suffisante de levure fermentaires.

L'utilisation d'un pied de cuve à 1060, 1040 ou 1020 de densité permet la réalisation sans problème des FA dans les conditions testées ici.

Il resterait à déterminer l'impact organoleptique de ces différentes modalités sur la qualité du vin fin FA.

ESSAIS EN GRAND VOLUME SUR LE TERRAIN

a) Protocoles

Référence du protocole Casdar Levain Bio

Deux PDC ont été initiés à partir de Chardonnay et de Grenache en rosé.

Caractéristique des moûts :

Moûts utilisés pour les PDC	TAP	G+F	AT	pH	Ac malique	Nass
Chardonnay	12,78	215	3,66	3,37	2,7	350
Pinot rosé	14.52					

Pour le PDC en rosé, le lancement de la FA se fait en phase solide : la vendange foulée/egrappée non pressurée et mise en macération 3 jours avant de récupérer le jus.

b) Résultats

L'essai PDC Chardonnay est stoppé après 5 jours sans déclenchement de la FA. Il est probable qu'il ait fallu attendre un peu plus longtemps pour observer le démarrage de la FA.

Le PDC Pinot démarre sa FA. A 1040 de densité, l'observation microscopique montre des levures essentiellement non saccharomyces. Il est utilisé pour ensemercer une cuve mais dont la FA ne s'enclenche pas.

L'essai est également stoppé.

CONCLUSIONS GESTION DES PDC :

Les essais 2016 en cave expérimentale confirment la possibilité d'utiliser un PDC jusqu'à 1025 (mais pas forcément à 1010 !).

Sur les essais de l'ICV, les seuls où l'on relève des différences sur les cinétiques fermentaires des cuvées ensemencées, on peut noter :

- qu'il n'y a pas de corrélation entre le niveau de population de levures et la durée de FA ou la vitesse max. Lorsque des différences sont observées, ce sont les modalités dont les populations sont les plus basses qui engendrent les FA les plus rapides !
- qu'il y a une bonne corrélation entre la durée de FA et la vitesse max.

Ni l'apport azoté sur le PDC, ni la nature de l'azote utilisé sur le PDC ne sont des facteurs déterminants du niveau de population des levures qu'on soit sur moût carencé ou non.

La durée de FA des cuvées ensemencées n'est pas seulement dépendante des niveaux de population (confirmation essais 2015 et ex du Grenache rosé ICV 2016)

Par contre, on peut penser, au vu des résultats 2016 que quel que soit le niveau de carence (carence vraie ou induite par le niveau d'alcool potentiel du moût, l'apport d'azote sur le PDC pourrait faciliter ensuite la FA des cuvées (vit max plus homogène.)

Par contre, on note plutôt un effet de la densité d'utilisation sur la durée de FA des cuvées et sur la vitesse de FA. Mais cet effet ne se retrouve que sur un seul site d'essai (sur 3) !

Enfin, le niveau de population de 10×10^6 peut suffire pour le bon déroulement des FA des cuves ensemencées.

En condition réelle d'utilisation, la mise en œuvre d'un PDC à grande échelle reste compliquée. Le temps de latence est assez long malgré les teneurs en azote assimilable fortes des moûts.

PERSPECTIVES 2017 :

Les essais de complémentation azotée des PDC seront renouvelés avec une seule qualité d'azote (DAP) mais avec des niveaux de compensation et des moments d'apport de l'azote différents afin de vérifier l'effet de la nutrition sur la cinétique fermentaire des cuvées ensemencées par le PDC.

Sur le terrain, des essais seront relancés en proposant l'élaboration d'un PDC en privilégiant le choix de la matière 1^{ère} (cépage différent, degré), des températures un peu plus élevées avec un temps de d'attente plus long pour le démarrage de la FA et une nutrition azotée spécifique du PDC pour favoriser son lancement.

Les protocoles seront précisés veille de vendanges en fonction des objectifs de vinification de la cave et des contraintes d'organisation.

Un comptage des levures du PDC avant utilisation et éventuellement une identification des souches de levures sera envisagé pour cet essais afin d'évaluer la qualité du PDC. Un budget spécifique pour ces analyses microbio sera donc proposé pour 2017 (alors qu'il n'était pas prévu initialement au dépôt du projet), tout en restant dans le montant prévisionnel global prévu pour 2017-2018.

VOLET 2 : Mise au point d'un usage nouveau et optimisé de la nutrition azotée organique et gestions des fins de FA en bio

RAPPEL DES RESULTATS 2015

Les résultats confirment que les autolysats peuvent apporter la même compensation en azote assimilable que le DAP mais avec une dose 4 fois supérieure de spécialité commerciale. En terme de durée de FA, ces dérivés de levures semblent légèrement plus intéressants que le DAP. Les doses de compensation 50% dans tous les essais ont permis de terminer les fermentations sans entrainer l'apparition de défaut.

Les compléments azotés en cas de carence importante entraînent la présence de plus d'esters et d'acétate par rapport au vin sans ajout. Les essais ne permettent pas de conclure sur des différences éventuelles entre les formes organiques et minérales. En dégustation, les associations Autolysats puis DAP ont permis d'élaborer les vins avec des notes qualitatives qui semblent plus intéressantes qu'avec les produits seuls.

L'impact sur le coût de traitement par l'utilisation des formes organiques n'est pas négligeable et doit se réfléchir en fonction de la nécessité réglementaire. Le choix entre DAP et autolysats pourra être raisonné en fonction du prix et des règles du standard à respecter.

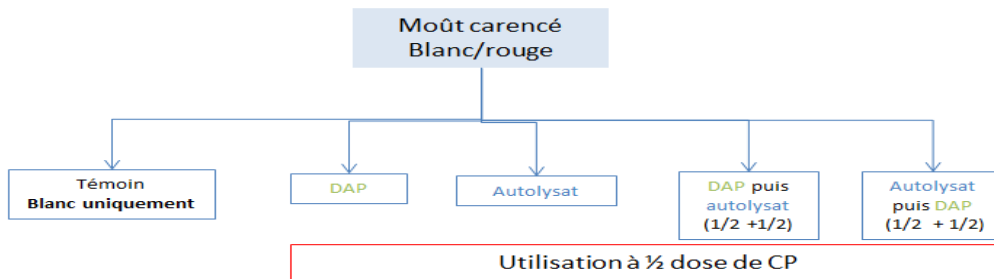
MATIERES PREMIERES TESTEES EN 2016

Matrice/Cépage	Sucre	TAP	pH	AT (g/l)	Nass (mg/l)	Type de vinif	Organismes
Caladoc	220		3.27	2.96	76	rosé	IFV mini
Merlot	240-250		3.54-3.58	2.5-2.7	49	rouge	IFV mini
Roussanne/Marsanne	226	13.4	3.25	3.75	81	blanc	IR mini
Grenache rouge	227	13.5	3.33	4.5	100	rouge	IR mini

RESULTATS DES ESSAIS EN CAVE EXPERIMENTALE 2016

a) Protocoles

IFV et IR 2016



Détermination de la CP :

150mg d'N Ass pour un vin à 12% + 30 mg par degré sup

Choix des spécialités commerciales :

- Fermaid 0 pour l'autolysat
- DAP

Dose de CP = dose de compensation de la carence azotée du moût

b) Résultats

Rosé IFV

Graphiques N1 et N2 :

Les apports en nutriment azoté sont de: 25 g/hl de DAP et 100 g/hl d'autolysat pour les modalités correspondantes pour une complémentation calculée à 180 mg/l de Nass.

Les cinétiques des modalités sont assez proches. Toutes les modalités finissent leur FA, mais le témoin est franchement plus long (avec des restes de sucre en fin FA). La modalité autolysat est légèrement plus rapidement que les autres.

On note une bonne corrélation entre la vitesse max et le niveau d'azote assimilable disponible.

Analyse oeno et sensorielle:

Il reste des sucres sur le témoin. L'AV est plus basse sur le DAP seul les autres sont du même ordre de grandeur.

Pas de différences significatives sur l'analyse des composés volatiles

Pas de différence significative sur le profil aromatique global des vins. On note plus de réduction sur la modalité DAP seul et plus d'oxydation sur la modalité Autolysat seul

Blanc IR

Graphique N3 :

Les cinétiques fermentaires des modalités sont toutes comparables mais la FA est languissante avec un peu de sucres résiduels ! (effet millesime possible.)

Les vins sont trop oxydés pour évaluer l'impact sensoriel

Rouge IFV :

Les apports en nutriment azoté sont de: 40 g/hl de DAP et 120 au lieu de 160 g/hl d'autolysat pour les modalités correspondantes.

Les cinétiques fermentaires sont très proches avec la modalité autolysat légèrement plus rapide.

Toutes les modalités achèvent leur FA (il n'y a pas de témoin sur ces essais)

On ne relève aucun effet de la forme d'azote apportée et de l'ordre d'apport.

Concernant les analyses : on ne note aucune différence significative entre les lots sur les analyse oenologiques et celles des arômes.

Aucune différence significatve non plus concernant l'analyse sensorielle des lots.

Rouge IR

Les cinétiques fermentaires sont identiques selon les modalités. Toutes les FA s'achèvent (pas de témoin sans nutrition dans ces essais.)

Les conclusions sont identiques à celles des essais IFV

Résultats analyses sensorielle à venir

CONCLUSIONS NUTRITION AZOTEE:

Les fermentations ont été lentes cette année mais toutes les modalités compensées ont achevé leur FA (essais sur blanc).

On observe une bonne corrélation entre le niveau d'azote disponible et la vitesse max (contrairement à certains essais 2015 : problème de fermentescibilité des moûts autre que l'azote)

Les complémentations à 50% de la dose de CP sont donc envisageables (meilleur résultat est observé sur rouge que sur rosé cette année).

Les cinétiques fermentaires sont proches entre la forme minérale et organique, sachant que pour une même dose de CP on amène 4 fois plus d'organique ! L'ordre d'apport (minéral puis organique ou inversement) n'a pas d'effet sur les cinétiques fermentaires dans le cadre de ces essais.

Sur les essais IFV seulement, on met en évidence cette année encore un niveau d'AV plus faible sur la modalité DAP pur.

L'ajout d'une dose réduite d'azote permet d'obtenir néanmoins des vins de qualité. Le choix du type d'azote sera donc fonction du cahier des charges et du coût.

PERSPECTIVES 2017 :

Cette thématique spécifique nutrition organique/minérale ne sera pas reconduite, les derniers résultats confirmant les hypothèses et proposition d'itinéraires faites en 2015.

Par contre, le sujet de la nutrition azotée via le DAP uniquement constitue une nouvelle modalité testée dans les essais de protocole de pied de cuve.