



Die Hefeflora im Rebberg und während der Weinbereitung*

Jürg GAFNER, Petra HOFFMANN, Franziska ISELIN, Martin SCHÜTZ, und Angelika VIVIANI-NAUER, Eidgenössische Forschungsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau (FAW), CH-8820 Wädenswil

Während der letzten fünf Jahre wurden Untersuchungen über Hefen und Bakterien im Rebberg und während der Weinbereitung durchgeführt. Von den Reben konnte wohl die essigsäurebildende Hefeart *Hanseniaspora uvarum* (*Kloeckera apiculata*), nicht jedoch die für die Weinbereitung wichtigen *Saccharomyces cerevisiae*-Hefen isoliert werden. Auch bei Gärungsbeginn ist diese Hefeart im Traubenmost nur spärlich vorhanden. Sie setzt sich jedoch im Verlauf der Gärung klar gegen andere Hefen durch. Der Einsatz von Hefemischkulturen könnte die Qualität des Weins verbessern.

Während des Frühjahrs und Sommers 1995 haben wir in einem Rebberg am rechten Zürichseeufer bei Reben an verschiedenen Stellen Proben entnommen. Das Ziel dieser Untersuchungen war, die Mikroorganismen, insbesondere die Hefen, auf den Reben zu finden und soweit wie möglich zu charakterisieren. Bei der Probenahme hatten die Reben soeben mit der physiologischen Reife begonnen.

Ökologie der Hefeflora auf Reben

Als erstes Resultat dieser Untersuchung stellten wir fest, dass die Hefen auf den Reben in Form von «Clusters» (Zellhaufen) zu finden sind. Es wurde deutlich, dass die verschiedenen Hefearten unterschiedliche Orte auf den Reben bevorzugen. Die Hefeart *Metschnikowia pulcherrima* bevorzugt zum Beispiel die Blätter als Standort. Die Präferenzen hinsichtlich des Vorkommens der Hefearten können auch von der jeweiligen Vegetationsphase der Standorte abhängen. In diesem Zusammenhang haben wir beobachtet, dass auf Reben die Hefeart *Metschnikowia pulcherrima* bevorzugt auf älteren Blättern zu finden ist, während junge Blätter vor allem mit der Hefeart *Rhodotorula glutinis* besiedelt werden. Am Rebstock selbst fanden wir hauptsächlich Schimmelpilze aller Arten. Die Rinde des Rebstocks ist der favorisierte Aufenthaltsort der Hefe *Rhodotorula fujiisanensis*. Die physiologischen Hintergründe für die Verteilung der Hefen in

«Clusters» und die jeweilige Bevorzugung der Standorte sind uns heute noch unklar. In dieser Studie war es uns nicht möglich, allgemein gültige Beziehungen zu den physiologischen Bedingungen der Reben und den Standorten der Mikroorganismen festzustellen.

Eine wichtige Erkenntnis aus dieser Studie besteht darin, dass es mit den von uns angewandten Methoden nicht gelungen ist, von diesen aus dem Rebberg gesammelten Proben auch nur ein einziges Mal die Hefeart *Saccharomyces cerevisiae* zu isolieren. Aus dem Rebberg soll die Hefeart *Saccharomyces* bisher nur dann zu isolieren sein, wenn man sie in speziellen Medien anreichert. Man kann sie entweder in- oder auf einem Alkohol enthaltenden Medium züchten oder in einem entsprechend sauren Milieu mit pH-Werten unter 4,5 (pers. Mitteilung, Prof. R.K. Mortimer, Universität Berkeley). Aber auch mit verschiedenen Anreicherungsverfahren und Anzuchtmedien unter aeroben und anaeroben Bedingungen (mit und ohne Sauerstoff) gelang es uns nicht, auch nur eine einzige Kolonie von *Saccharomyces cerevisiae* zu finden.

Mit den Techniken der Molekularbiologie war es uns möglich, unsere physiologischen Unterscheidungen der Hefearten im Rebberg zu bestätigen oder zu modifizieren. Wir konnten in diesem Zusammenhang auch zeigen, dass die jeweils isolierten Hefearten aus mehreren mit molekularbiologischen Methoden unterscheidbaren Hefearten bestehen zum Beispiel *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora uvarum* (*Kloeckera apiculata*), *Candida*, *Pichia* usw. (vergleiche auch Viviani-Nauer et al. 1996, in diesem Heft).

Die Hefeflora im Traubenmost

Im weiteren Verlauf unserer Untersuchungen wollten wir wissen, wie sich die Hefeflora aus dem Rebberg während der Weinbereitung weiterentwickelt. Der nächste Schritt war die qualitative und quantitative Bestimmung der Zusammensetzung der Hefen im Traubenmost. Diese Studien wurden in drei Weinkellereien der Schweiz durchgeführt, die alle an Seen gelegen, aber geographisch und klimatisch gesehen sehr unterschiedlich sind: am Bielersee (Betrieb 1), am Zürichsee (Betrieb 2) und am Thunersee (Betrieb 3). Gemeinsam war den drei Betrieben neben der Seelage, die Rebsorte (Blauburgunder) und die Versuchsdurchführung. Aus dem Traubenmost wurde von den drei Kellermeistern ein spontanvergorener Blauburgunderwein produziert. Diese Spontangärung wurde allerdings nach der Technologie eines «pieds de cuve» mit einem Ansteller (angegärte, mikrobiologisch kontrollierte Vorkultur) beimpft.

Zuerst wurden die Traubenmostmuster von den drei Betrieben 100fach verdünnt, um nach dem Ausplattieren auf den Agarplatten eine vernünftige Anzahl Hefekolonien vorzufinden. Wir haben in diesem Versuch Medien verwendet, welche in dieser frühen Phase des Wachstums hauptsächlich das Hefewachstum fördern. Eine erste Schätzung aufgrund der Morphologie der Hefekolonien auf den Agarplatten ergab, dass mindestens sechs verschiedene Hefearten in den untersuchten Traubenmosten unterschieden werden können (Tab. 1).

Die gefundenen Hefearten: *Hanseniaspora uvarum*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Metschnikowia pulcherrima* und *Pichia* konnten morphologisch recht eindeutig bestimmt werden. Eine sechste Klasse konnte nicht eindeutig klassifiziert werden und wurde deshalb zusammenfassend als «andere Hefen» bezeichnet. Die Verteilung der sechs verschiedenen Hefeklassen nach prozentualen Anteilen in den Maischen war in den drei Betrieben äh-

*Nach einem Vortrag anlässlich des 11. Internationalen Önologischen Symposiums vom 3. bis 5. Juni 1996 in Sopron / Ungarn.

lich. Die Hefeart *Hanseniaspora uvarum* war in allen drei Betrieben im Traubenmost prozentual gesehen am häufigsten vorhanden (50 bis 90 %). Aus der Tabelle wird ersichtlich, dass eine weitere Klassifizierung hinsichtlich einer genauen Zuordnung eher schwierig wird, weil die beiden Parallelproben HMA und HMB (Hauptmaische-proben A und B) jeweils recht variierten. Wir konnten aber feststellen, dass die Hefeart *Rhodotorula* im Traubenmost prozentual häufiger vorkam als *Saccharomyces cerevisiae*, *Metschnikowia pulcherima* und *Pichia*. Die Klasse «andere Hefen» war in diesem Zusammenhang schwierig zuzuordnen, weil wir von der Morphologie her nicht erkennen konnten, welche Hefearten darin enthalten waren. In allen Proben fanden wir *Saccharomyces cerevisiae* in eher geringen Mengen (0,3 % bis 3,0 %). Eine Erklärung, weshalb die Hefearten in den parallel angesetzten Doppelproben unterschiedlich auftraten (vor allem Betrieb 3) findet sich möglicherweise in den unterschiedlich langen Transportwegen bis zu ihrer Bearbeitung im Labor. Die Mikroorganismen waren dadurch verschieden langen Standzeiten ausgesetzt und konnten sich folglich unterschiedlich lange entwickeln. Es ist daher nicht erstaunlich, dass beim Betrieb 2, mit dem kürzesten Transportweg, die Unterschiede zwischen den Parallelproben am geringsten ausfielen. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit basiert auf der oben besprochenen starken Tendenz der Hefen «Clusters» zu bilden, was eine weitere Bearbeitung der Proben im Labor in bezug auf die Homogenität der zu untersuchenden Muster sicherlich beeinflusste.

Im weiteren Verlauf dieses Experimentes haben wir versucht, die Zusammensetzung der Hefen auch quantitativ zu erfassen. Wir haben dazu die beiden Doppelproben (HMA und HMB) von Betrieb 3 ausgewählt. Die Originalmostproben wurden in 0,1prozentiger Kochsalzlösung zehnmal verdünnt. Je 0,1 ml der verdünnten Mikroorganismensuspension haben wir auf zirka hundert Agarplatten ausplattiert. Durch die Wahl des Nährmediums wurde das Wachstum von Hefen auf den Platten selektiv gefördert. Die gewachsenen Hefekolonien wurden innerhalb von 48 bis 96 Stunden auf neue Platten überimpft (Ausschalten von Schimmel) und dann mit einer Reihe physiologischer Tests (insgesamt 25) nach Barnett *et al.* (1990) charakterisiert. Wir konnten auf diese Weise achtzehn verschiedene Hefearten identifizieren (Tab. 2).

Tab. 1. Hefebestimmung mit morphologischen Methoden

Probe	% der ausgezählten Kolonien					
	HMA	HMB	HMA	HMB	HMA	HMB
Betrieb	Betrieb 1		Betrieb 2		Betrieb 3	
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	56,8	59,6	59,5	46,7	89,7	50,7
<i>Rhodotorula</i>	16,2	20,0	23,6	24,0	0,0*	25,0
andere Hefen	25,2	15,8	11,6	24,0	10,8	20,5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,5	0,3	2,5	3,0	0,4	1,3
<i>Metschnikowia pulcherima</i>	0,9	2,0	0,7	0,5	1,7	1,7
<i>Pichia</i>	0,3	0,2	1,4	1,2	0,2	0,9

Im Herbst 1994 wurde die Hefezusammensetzung im Traubenmost von drei verschiedenen Betrieben untersucht: Betrieb 1 am Bielersee, Betrieb 2 am Zürichsee und Betrieb 3 am Thunersee. Es wurden zwei Parallelansätze untersucht: Hauptmaische A (HMA) und Hauptmaische B (HMB).

* Das Wachstum war in diesem Falle während der ersten 48 Stunden verzögert

Tab. 2. Hefebestimmung mit physiologischen Methoden

Hefearten	HMA		HMB	
	ausgezählte Kolonien	Prozente	ausgezählte Kolonien	Prozente
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	6398	89,1	1877	50,9
<i>Candida glabrata</i>	284	4,0	264	7,2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	21	0,3	86	2,3
andere <i>Saccharomyces</i>	4	0,1	4	0,1
<i>Zygosaccharomyces</i>	73	1,0	143	3,9
<i>Debaryomyces</i>	46	0,6	76	2,1
<i>Kluyveromyces</i>	14	0,2	6	0,2
<i>Candida zeylanoides</i>	162	2,3	36	1,0
<i>Candida</i>	67	0,9	19	0,5
<i>Rhodotorula</i>			961	26,1
<i>Metschnikowia pulcherima</i>	67	0,9	100	2,7
<i>Pichia kluyveri</i>	31	0,4	51	1,4
<i>Hyphopichia butonii</i>			10	0,3
<i>Dekkera</i>	1	0,0	13	0,4
<i>Williopsis sat.</i>			7	0,2
<i>Lipomyces</i>			19	0,5
<i>Kryptococcus</i>			8	0,2
nicht identifizierte Hefen	14	0,2	5	0,1
Total	7182	100,0	3685	100,0

Im Herbst 1994 wurde aus einem Betrieb in Spiez am Thunersee die Hefezusammensetzung im Traubenmost qualitativ untersucht und möglichst quantitativ bestimmt: Doppelproben HMA: Hauptmaische A und HMB: Hauptmaische B.

Die Quantifizierung der fünf Hefearten nach morphologischen Bestimmungen korreliert einigermaßen mit den Werten der physiologischen Bestimmungen (Tab. 1 und 2). Mit den physiologischen Methoden konnte der Prozentsatz der nicht bestimmbar Hefen stark verringert werden. Die am häufigsten gefundenen Hefearten im Traubenmost waren: *Hanseniaspora uvarum*, *Rhodotorula*, *Candida glabrata*, *Zygosaccharomyces*, *Metschnikowia pulcherima*, *Saccharomyces cerevisiae* und *Debaryomyces*. Alle anderen wurden zu weniger als 2 % im Traubenmost gefunden. Von den vier Hefen, die in früheren Untersuchungen während des ganzen Verlaufs einer alkoholischen Gärung isoliert werden konnten, identifizierten wir in diesem Versuch nur drei. Die Hefeart *Torulaspora delbrueckii* wurde nicht gefunden. Diese Hefe wird häufig aus Traubenmosten der interspezifischen Rebsorten isoliert (Vivia-

ni-Nauer *et al.* 1995). In unseren Untersuchungen hat sich gezeigt, dass die Hefeart *Saccharomyces cerevisiae* zu Beginn der alkoholischen Gärung nur bis zu einem Anteil von 3,0 % vorhanden ist. Im weiteren Verlauf der Gärung haben sich die Hefestämme dieser Art hundertprozentig durchgesetzt, vor allem sobald 10 % des Zuckers vergoren waren.

Hefeökologie während Spontangärungen

In den letzten fünf Jahren haben wir die Hefedynamik im Verlaufe von mehreren Spontangärungen bei Rot- und Weissweinen aus geographisch und klimatisch unterschiedlichen Weinbauregionen verfolgt (Schütz und Gafner 1993; Gafner 1994). Die Hefestämme der Art *Hanseniaspora uvarum* konnten in allen unseren Versuchen am Anfang der alkoholischen Gärung



Tab. 3. Hefedynamik eines Nebbiolo aus dem Piemont

Prozentualer Anteil der verschiedenen Hefestämme bzw. Hefearten			
Hefestämme	Gär-Beginn	Gär-Mitte	Gär-Ende
<i>Metschnikowia pulcherima</i> 1	30		
<i>Hanseniaspora uvarum</i> 1	20		
<i>Hanseniaspora uvarum</i> 2	12		
<i>Hanseniaspora uvarum</i> 3	20		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1	9	19	52
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2	9	30	24
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 3		17	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4		17	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 5		17	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 6			24

Die Proben wurden zu bestimmten Zeiten der alkoholischen Gärung entnommen. Die Hefen wurden mit molekularbiologischen Methoden bestimmt. Die Zahlen geben den prozentualen Anteil der gefundenen Hefestämme wieder.

Tab. 4. Das Verhalten von Mischkulturen aus verschiedenen Hefestämmen in Traubenmosten

Ansätze 15B:S6U	Gär-Anfang 15B:S6U	Gär-Mitte 15B:S6U	Gär-Ende 15B:S6U
Riesling x Silvaner			
1. Ansatz 50 : 50	49 : 51	100 : 0	100 : 0
2. Ansatz 30 : 70	34 : 66	100 : 0	100 : 0
3. Ansatz 10 : 90	4 : 96	52 : 48	84 : 16
Blauburgunder			
1. Ansatz 50 : 50	67 : 33	87 : 13	98 : 2
2. Ansatz 30 : 70	48 : 52	80 : 20	100 : 0
3. Ansatz 10 : 90	41 : 59	39 : 61	100 : 0
Synth. Medium			
1. Ansatz 50 : 50	50 : 50	65 : 35	82 : 18
2. Ansatz 30 : 70	25 : 75	43 : 57	80 : 20
3. Ansatz 10 : 90	14 : 86	22 : 78	51 : 49

In der ersten Spalte sind direkt hinter dem Ansatz die erwünschten Verhältniszahlen der beiden *Saccharomyces cerevisiae*-Stämme 15B und S6U aufgeführt. In der zweiten Spalte sind die tatsächlich gemessenen Verhältnisse der beiden Hefestämme nach dem Beimpfen der jeweiligen Medien, Müller-Thurgau-Most (RxS), Blauburgunder-Most und synthetisches Medium, angegeben. Aus der dritten und vierten Spalte sind die Verhältnisse in der Mitte - und am Ende der alkoholischen Gärung abzulesen.

in hohen Konzentrationen bis zu 90 % festgestellt werden. Die Hefeart *Metschnikowia pulcherima* wurde bei Gär-Beginn gefunden. Im weiteren Verlauf der Gärung verschwand diese Hefe wegen ihrer Alkoholintoleranz. Die Hefeart *Saccharomyces cerevisiae* war zu Gär-Beginn von allen im Traubenmost häufig gefundenen Hefen prozentual deutlich in der Unterzahl. In den meisten Fällen setzten sich Hefestämme der Art *Saccharomyces cerevisiae* mehr oder weniger rasch durch. So wurde aus Proben von der Gär-Mitte in der Regel nur noch diese Hefeart isoliert (Tab. 3). Die Qualität von Weinen ist nur garantiert, wenn es gelingt, das Durchsetzungsvermögen von *Saccharomyces cerevisiae* von Gär-Beginn an zu fördern. Die Zusammensetzung und die Dynamik der Hefearten und der Hefestämme ist in allen von uns untersuchten Weinbaugebieten ähnlich (Schütz und Gafner 1993; Gafner 1994). Weinbaugebiete in wärmeren und kühleren Klimazonen zeigen eine ähnliche Hefeökologie, das heisst die mikrobiologische Population in spontangärenden Traubenmosten ist sowohl in Griechenland als auch in Italien oder in der Schweiz vergleichbar.

Wir konnten zeigen, dass Hefestämme von *Saccharomyces cerevisiae* eine ausgeprägte Dynamik im Verlauf der alkoholischen Gärung auf pasteurisiertem und nicht pasteurisiertem Most zeigen (Schütz und Gafner 1994a). In der Tabelle 3 ist die Hefeökologie im Verlauf einer Spontangärung eines Nebbiolo-Weines aus dem Piemont wiedergegeben. Die Nicht-*Saccharomyces cerevisiae* Hefen *Hanseniaspora uvarum* und *Metschnikowia pulcherima* sind am Anfang der Gärung dominant. Im weiteren Verlauf der Gärung werden in der Hefepopulation ausschliesslich *Saccharomyces cerevisiae* gefunden. Aus Tabelle 3 wird die Dynamik dieser Hefestämme ersichtlich.

Hefeökologie in Mischkulturen

Seit einigen Jahren ist bekannt, dass Weine aus dem selben Traubenmost, aber mit verschiedenen Reinzuchthefen vergoren, zu unterschiedlichen Weinen führen (Pulver *et al.* 1991). Jede Hefe erzeugt ein anderes Spektrum von Metaboliten, welche sich im Wein sensorisch auswirken. Es wäre nun denkbar, zur Gärung verschiedene Hefe-

stämme von *Saccharomyces cerevisiae* einzusetzen, um komplexere Weine zu erhalten. Dazu müsste jedoch eine optimale Mischkultur, bestehend aus verschiedenen Hefen, hergestellt werden. Die Wiederholbarkeit der Produktion solcher Mischkulturen im grossen Massstab ist extrem schwierig, weil eine optimale Zusammensetzung nicht garantiert ist. Nun wissen wir aber, dass gerade Spontangärungen solche Arten von Mischkulturen auf natürliche Art und Weise produzieren (Schütz und Gafner 1993). Diese spontanen Mischkulturen enthalten jedoch nicht definierte, reproduzierbar herstellbare Hefezusammensetzungen. In einigen wenigen Praxisversuchen konnten wir zeigen, dass «gezielte Spontangärungen», an denen mehrere Hefestämme beteiligt waren, in bezug auf die Komplexität der Aromen sehr schöne Weine hervorbrachten (Schütz *et al.* 1995). «Gezielt spontan» vergorene Weine werden aus Traubenmosten erzeugt, welche mit einem Ansteller geimpft wurden. Dieser Ansteller besteht aus einer 10prozentigen Vorlese aus gesundem Traubengut, das zum Gären gebracht wird. Die Mikroflora in diesem Gäransatz wurde mikroskopisch bezüglich der erwünschten Hefezusammensetzung kontrolliert. Sobald die Gärungsrate und die Hefezusammensetzung des Ansatzes optimal waren, wurde der Rest der Trauben geerntet und der Most mit dem gärenden Ansatz beimpft. Parallel zu diesem Spontanansatz wurde derselbe Traubenmost mit Reinzuchthefen vergoren. Es zeigt sich, dass die beschriebenen «gezielt spontan vergorenen» Weine bezüglich Aromakomplexität und Alterung den mit Reinzuchthefen zubereiteten Weinen aus dem gleichen Ausgangsmaterial qualitativ überlegen sind. Solche Versuche wurden bisher nur mit roten Traubenmosten und mikrobiologisch gut kontrollierten Anstellern durchgeführt.

Zur industriellen Herstellung von Mischkulturen sind zwei weitere wichtige Beobachtungen zu berücksichtigen: das Durchsetzungsvermögen der Hefen und die Bevorzugung der Medien, auf denen die Hefen optimal wachsen, zu berücksichtigen. Hefen haben eine Art Gedächtnis: sie fühlen sich in der Gärphase und auf den Medien am wohlsten, aus denen sie ursprünglich isoliert wurden. Alle Reinzuchthefen wurden aus Spontangärungen selektioniert. Dies hat Folgen auf das Verhalten von einzelnen Hefestämmen in Mischkulturen (vergleiche Tab. 4). Ein Hefestamm setzt sich im allgemeinen in der Gärphase und in der Traubenmostsorte durch, aus der er

isoliert wurde (Schütz und Gafner 1994b; Iselin 1996). Zum Beispiel setzte sich ein Hefestamm, der aus gärendem Müller-Thurgau Most (Riesling x Silvaner) isoliert wurde, in pasteurisiertem Müller-Thurgau Most klar gegen alle anderen Hefen durch.

Folgerungen und Erkenntnisse für die Praxis

■ Auf den Reben werden Mikroorganismen in «Clusters» gefunden. Die einzelnen Pflanzenorgane sind von ganz verschiedenen Mikroorganismen besiedelt. Es können verschiedene Hefearten gefunden werden. In keinem Fall ist es uns jedoch gelungen, die für die Weinbereitung wichtige Hefe *Saccharomyces cerevisiae* von Reben zu isolieren.

■ Die Hefezusammensetzung und die Hefedynamik sind in den verschiedenen Weinbauregionen der Welt ähnlich, unabhängig davon, ob es sich um wärmere oder eher kühlere Gebiete handelt.

■ Im Traubenmost und zu Gär-Beginn wird die Weinhefe *Saccharomyces cerevisiae* eher selten isoliert. Allerdings setzen sie sich unter optimalen Bedingungen im Verlauf der Weinbereitung schnell durch.

■ *Hanseniaspora uvarum*, die mit 50 % bis zu 90 % am häufigsten vertretene Hefe im Traubenmost, muss am Anfang der Gärung möglichst schnell verdrängt werden, damit keine Qualitätseinbußen wegen der Essigsäurebildung im Wein entstehen.

■ Zu lange Anwesenheit von *Hanseniaspora uvarum* im gärenden Traubenmost kann zu Essigsäurebildung und späterer Essigesterbildung führen. *Saccharomyces cerevisiae* muss *Hanseniaspora uvarum* rasch verdrängen.

■ Ein optimales Aromaspektrum finden wir in gezielten Spontangärungen. In diesen Fällen können wir auch von natürlich erzeugten Mischkulturen sprechen. Diese Technologie wurde in der Praxis bisher nur in der Rotweinbereitung eingesetzt und bedarf einer guten mikrobiologischen Überwachung.

■ Die industrielle Produktion von Mischkulturen ist sehr schwierig. Auch wenn das Verhalten der eingesetzten Hefen bekannt ist, kann eine optimale und wiederholbare Mischung nicht gewährleistet werden.

LITERATUR

Barnett J. A., Payne R. W. and Yarrow D., 1990. Yeasts: Characteristics and Identification. (2nd ed.), Cambridge University Press, Cambridge.

Gafner J., 1994. Angewandte Forschung in der Getränkemikrobiologie - ein Beitrag zur Weinforschung.

Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau 129, 66-68.

Iselin F., 1996. Dynamik und Durchsetzungsvermögen zweier Hefestämme in Mischkulturen im Verlauf der alkoholischen Gärung. Diplomarbeit, Universität Zürich.

Pulver, D., Pause, G. und Gafner, J., 1991. Praxisversuche mit Trockenhefen. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau 127, 503-512.

Schütz M. and Gafner J., 1993. Analysis of yeast diversity during spontaneous and induced alcoholic fermentations. *Journal of Applied Bacteriology* 75, 551-558.

Schütz M. and Gafner J., 1994a. Dynamics of the yeast strain population during spontaneous alcoholic fermentation determined by CHEF gel electrophoresis. *Letters in Applied Microbiology*, 19, 253-257.

Schütz M. and Gafner J., 1994b. Population dynamics of a mixed yeast culture during fermentation. ECB6: Proceedings of the 6th European Congress of Biotechnology, 1107-1110.

Schütz M., Barbic I., Marugg D., Hoffmann P. and Gafner J., 1995. Mikrobiologische Aspekte der Weinqualität: eine Pilotstudie. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau 131, 119-123.

Viviani-Nauer A., Hoffmann-Boller P., Basler P. and Gafner J., 1995. Zusammensetzung und Dynamik der Hefeflora auf Trauben von pilzresistenten Rebsorten. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau 131, 390-393.

Viviani-Nauer A., Hoffmann-Boller und Gafner J., 1996. Hefecharakterisierung und -identifizierung. *Agrarforschung* 3 (8), 377-380.

RÉSUMÉ

Développement de levures dans la vigne et au cours de la vinification

Dans les vignes, on trouve des microorganismes sous forme d'amas. Nous avons constaté que la microflore de levures et de moisissures présente dans les vignes varie selon sa localisation sur les feuilles, les fleurs et les bourgeons. La composition de la microflore dépend également du stade végétatif de la plante. Sur les feuilles jeunes, on trouve d'autres microorganismes que sur les feuilles plus âgées. Dans le moût de raisin, au moins dix-huit espèces différentes de levures ont été dénombrées par des méthodes physiologiques ou de génétique moléculaire. Les levures de l'espèce *Hanseniaspora uvarum* (*Kloeckera apiculata*) représentent entre 50 et 90 % de la population totale des levures, tandis que l'espèce *Saccharomyces cerevisiae* survient très rarement en très petites quantités. Ces deux espèces sont capables de terminer la fermentation alcoolique. Dans ce contexte, il faut mentionner que les levures *Hanseniaspora uvarum* sont capables de produire jusqu'à quarante fois plus d'acide acétique que les levures *Saccharomyces cerevisiae*, ce qui peut sérieusement compromettre la qualité du vin fini. Il arrive dans quelques rares cas que les levures des espèces *Candida glabrata* ou *Torulaspora delbrückii* puissent être isolées pendant toute la durée de la fermentation. Nos re-

cherches sur le développement de différentes souches de *Saccharomyces cerevisiae* ensemencées simultanément ont montré que la puissance des souches dépend du degré de fermentation et de la composition du milieu de culture. Chaque souche a ses conditions de prédilection. Certaines affectionnent tout particulièrement les conditions du début de la fermentation, d'autres celles du milieu ou de la fin. Une souche isolée d'une fermentation spontanée d'un moût de Müller-Thurgau a été capable de s'imposer dans tous les essais face aux autres souches d'une culture mixte, inoculée dans un moût de Müller-Thurgau pasteurisé.

SUMMARY

Development of the yeast flora in the vineyard and during the wine production

Microorganisms on grapes occur in so-called „clusters“. We have detected that the microflora of such „clusters“ on the root stock, on grape leaves, on grape flowers and buds differ in respect to yeast and mould populations. The microbial composition is also dependent on the development of the vegetation, i. e. young grape leaves are populated by other microorganisms than old leaves. Using molecularbiological and physiological techniques we are able to distinguish eighteen different yeast species within the grape musts. The yeast species *Hanseniaspora uvarum* also called *Kloeckera apiculata* is the most common yeast, comprising with 50 % to 90 % of the whole yeast population. Interestingly, we could only find yeast species of *Saccharomyces cerevisiae* in the grape must but not on the root stock. The two yeast species described are the only one which are capable of being present throughout the whole alcoholic fermentation. In this connection it is an important practical point that *Hanseniaspora uvarum*, in comparison with *Saccharomyces cerevisiae*, is able to produce from thirty to forty times more acetic acid. This can lead to a loss of quality within the finished wines. In rare cases, the yeasts *Candida glabrata* and *Torulaspora delbrueckii* could be isolated during the course of alcoholic fermentation. Our studies on the behaviour of different yeast strains of *Saccharomyces cerevisiae* in mixed cultures demonstrated that the success of the yeast strains is dependent on the degree of fermentation and the media. We could show that different yeast strains prefer different stages within a mixed culture, either at the beginning, in the middle or at the end of fermentation. A further yeast strain which was isolated from a spontaneous fermented Müller-Thurgau wine, was able to dominate other yeast strains in a mixed culture in a pasteurized Müller-Thurgau grape must.

KEY WORDS: Yeast oecology in the vineyard and during vinification, volatile acid formation, mixed yeast cultures, conclusions for winemaking