Connaissance Vigne Vin 1976, **10**, N° 1, 1-21.

ETUDE DE LA MICROFLORE LEVURIENNE DU ROUSSILLON

Simone SAPIS-DOMERCQ et Alain GUITTARD *
Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II
351, Cours de la Libération, 33405 Talence (France)

INTRODUCTION

Depuis 1966 divers accidents de fermentation ont été observés successivement dans les Corbières de l'Aude, puis dans les régions à vins doux naturels des Corbières des Pyrénées Orientales, enfin dans la région des Aspres qui fournit des vins doux naturels et des vins secs. Il s'agit parfois de retards importants de fermentation, mais aussi, dans d'autres cas, d'une formation très élevée d'acétate d'éthyle dans les vins, formation qui peut atteindre une teneur de 300 mg par litre, alors que le seuil de l'odeur de « piqué » se situe vers 120 mg par litre.

On a pensé que ces accidents pouvaient être imputables à des traitements antifongiques effectués trop tardivement et, pour y remédier, on a préconisé l'emploi de levurages massifs. Mais les levains d'ensemencement actuellement utilisés dans le Roussillon proviennent de souches de levures originaires de Champagne ou de Bourgogne. Il semble logique de vouloir employer de préférence les levures issues du Roussillon, sélectionnées selon les critères correspondant à la meilleure qualité des vins doux naturels à obtenir. Pour cela, il fallait d'abord connaître la microflore de levures des vins du Roussillon et déterminer les caractères œnologiques des souches isolées. C'est à l'instigation du Comité Interprofessionnel des Vins Doux Naturels du Roussillon et de la Chambre d'Agriculture des Pyrénées Orientales que cette étude de la microflore du Roussillon a été conduite à l'Institut d'Œnologie de Bordeaux, en vue d'une application technique, la préparation de levains plus efficaces à partir des levures les mieux adaptées à l'élaboration des vins doux naturels de la meilleure qualité.

* Adresse actuelle : Chambre d'Agriculture des Pyrénées-Orientales, avenue de la Grande-Bretagne, 66000 Perpignan (France).

HISTORIQUE

Le nombre des travaux effectués sur les levures ne permet pas d'en dresser une liste complète. Toutefois, à la base de tous, il faut placer les études taxonomiques qui permettent de classer les innombrables organismes isolés selon des critères généraux et codifiés auxquels les chercheurs de tous pays peuvent se référer. C'est ainsi que se présentent les ouvrages de LODDER et de ses collaborateurs « The yeasts, a taxonomic study » dans les éditions de 1952 et 1970. Mais la comparaison des deux ouvrages met en évidence les nouvelles orientations de la taxonomie moderne : la classification est maintenant basée essentiellement sur les critères biochimiques, les caractères morphologiques qui occupaient précédemment une grande place sont maintenant au second plan. De cette façon, des espèces, différenciées jusque-là par la morphologie et les dimensions des cellules, ont été groupées parce qu'elles ont un comportement physiologique identique ; leur dénomination a dû être modifiée et, selon le Code International de Nomenclature Botanique adopté en 1964, c'est l'épithète qui bénéficie de la plus grande antériorité qui prévaut dans le choix de la nouvelle désignation. Ces modifications ne sont pas adoptées sans réserve par tous les chercheurs et restent parfois controversées (GUITTARD et al., 1975).

Grâce à ces ouvrages de taxonomie, les études de la microflore des régions viticoles se sont multipliées dans le monde, surtout depuis 1930 ; après la thèse de MUSSO sur les levures d'Algérie (1913) et celle de NITESCU (1915) en Roumanie, on trouve surtout à l'étranger les travaux italiens. Commencés par de ROSSI en 1933, ils ont été poursuivis par CASTELLI et ses nombreux collaborateurs et par VERONA, FLORENZANO, CATALANO, GANDINI et leurs différentes équipes de chercheurs et, en trente années, ont couvert toutes les régions viticoles du Nord au Sud de l'Italie, et même d'autres pays.

Aux Etats-Unis, en 1940, MRAK et Mc CLUNG, puis SCHEFFER et MRAK (1951) ont étudié les levures de Californie ; en Grèce, ce sont KRIMBAS et DAVIDES (1950) et GEORGANTAS (1970, 1972) puis en Italie VERONA (1951), en Yougoslavie SUCEFIC-SAFAR (1955), au Japon YOKOTSUKA et GOTO (1955), en Espagne CASTELLI et INIGO-LEAL (1958 à 1969), en Tchécoslovaquie MINARIK (1960), en Afrique du Sud VAN ZYL et du PLESSIS, en Ukraine TIURINA (1962), en Uruguay CANO MAROTTA et DE CALAMAR (1962-1964), en Argentine RIGONE DE PRITZ (1964), en Allemagne BENDA (1962-1964), au Japon OHARA (1965), en Nouvelle-Zélande PARLE et MENNA (1966), etc...

En France, après les premières études faites par DESCOFFRE en 1904 sur les levures de Charentes et MARTINAND en 1909, il faut attendre 1941 pour que paraisse la thèse de RENAUD sur les levures du Val-de-Loire, et 1952 pour que commencent les études sytématiques entreprises par PEYNAUD et DOMERCQ, d'abord dans le Médoc, puis dans tout le vignoble de la région de Bordeaux (DOMERCQ, 1956).

En 1954, BIDAN et ANDRE ont étudié la flore des vins jaunes du Jura et, en 1962, BRECHOT celle du Beaujolais. En 1970, ROSET s'est intéressé au Nord du Roussillon, mais surtout aux levures qu'il appelle « sauvages », c'est-à-dire autres que **Saccharomyces.** En 1971, CASTELLI a étudié les levures dans la région des Charentes et en 1974 a paru, à l'Institut d'Œnologie de Bordeaux, la thèse de PARK, sur cette même région de Cognac.

C'est à la suite de ces travaux que la présente étude a été conduite dans la région du Roussillon, région très particulière du fait de ses caractères géographiques et climatiques et de la technique spéciale de vinification employée pour produire les vins doux naturels du Roussillon.

MATERIEL ET METHODES

A — LE ROUSSILLON.

Le vignoble du Roussillon occupe la partie orientale du département des Pyrénées Orientales. Il se rattache au nord à celui des Corbières de l'Aude et s'accroche au sud sur les pentes des terrasses schisteuses de la Côte Vermeille. Les prélèvements de levures ont été faits sur les communes de Rivesaltes, Baixas, Passa (cru Rivesaltes), Maury (cru Maury), Banyuls (cru Banyuls).

Le cru Rivesaltes est produit dans la plaine caillouteuse inclinée vers la mer, mais Baixas et Passa se trouvent sur les coteaux et collines entre l'Agly et le Tech.

Le cru Maury est bien délimité sur les sommets et les pentes des mamelons du secondaire ; le cépage est le Grenache noir.

Le cru Banyuls est établi sur les schistes de l'extrémité de la chaîne des Pyrénées.

Toutes ces régions bénéficient d'un ensoleillement privilégié.

L'expérimentation a porté sur les deux campagnes de vendanges de 1972 et 1973. Le but assigné au début pour la première récolte était une étude de toutes les régions à vins doux naturels du Roussillon mais, pour le cru Rivesaltes, il a fallu se limiter à l'étude des souches isolées dans une seule commune ; celle de Baixas a été choisie en raison de son importante production (1/10e de celle de tout le département) et des possibilités offertes par la direction et les installations de la Cave Coopérative de Baixas qui dispose de deux bâtiments séparés consacrés l'un aux vins rouges et l'autre aux vins doux naturels et à leur vinification particulière. Le deuxième cru étudié est celui de Banyuls.

B — PRELEVEMENTS.

Les prélèvements ont été faits en 1972 et 1973, à Baixas et à Banyuls :

à la vigne. — On choisit les grappes saines, à peu près au milieu des vignes à l'écart des chemins poussiéreux ; on en prélève environ 1 kg, avec des ciseaux préalablement trempés dans l'alcool et flambés sur place. On recueille les raisins dans des bocaux stériles. Le lendemain de la récolte, les raisins extraits des bocaux sont pressés entre les mains préalablement lavées à l'alcool, dans un mortier flambé à l'alcool, ou écrasés dans un mixer stérile. On recueille ainsi 500 à 600 ml de jus qui est mis à fermenter en bouteilles stériles de 750 ml à la température de 25 °C.

à la cave : Des prélèvements ont été effectués sur les quais de réception et à l'intérieur des caves de Baixas et de Banyuls, sous forme de raisins dans les comportes arrivant sur les quais et sous forme de moûts non sulfités à la sortie du fouloir, des cuves, des presses.

Composition des échantillons

a — sur le territoire de Baixas

1 — cépage Macabeu traité au phaltane trois semaines avant la récolte.

2 — cépage Grenache noir traité à la véraison.

b — à la cave de Baixas en 1972

1 — Foulage de Carignan (raisins entiers)

2 — Foulage de Carignan

3 — 2ème presse de vinification en rouge

4 — Muscats entiers

5 — Muscats entiers et grappillons

6 — Egouttoir de première presse

7 — Presse V D N (Grenache + Macabeu).

c — à la cave de Baixas en 1973 (Muscat et V D N)

1 — Cuve remplie de vendange fraîche foulée

2 — quelques heures avant le mutage

3 — 5 jours après le mutage.

d — à Banyuls en 1972.
sortie du fouloir — des cuves — des presses.

e — à Banyuls en 1973.

1 — Carignan : 282 g de sucre par litre
Grenache noir : 246 g — —
Grenache blanc : 159 g — —

2 — cuve
a — chargée de vendange fraîche (densité du moût = 1055)
b — 6 h avant le mutage (densité du moût = 1045)
c — 5 jours après le mutage.

C — ISOLEMENTS.

Le liquide obtenu par le pressurage des raisins est homogénéisé puis sert à préparer des dilutions successives de 1 ml de jus dans 9 ml d'eau stérile avec lesquelles on ensemence des boîtes de Pétri contenant un peu de diphényl pour éviter le développement des moisissures. Les boîtes sont mises à incuber à 25 °C. Au bout de quelques jours les colonies apparaissent. On en prélève environ 6 par boîte, une à une, avec lesquelles on ensemence des tubes de moût stérile. Les jus recueillis à la cave, à la sortie des fouloirs et des presses sont répartis en trois flacons stériles recevant l'un de l'alcool (4 °) pour éliminer les levures peu alcoogènes, l'autre de l'actidione (10 mg par litre) pour éliminer les divers **Saccharomyces** afin d'obtenir des espèces plus rares. Le troisième flacon sert de témoin. Les trois flacons subissent deux prélèvements, l'un le premier jour, l'autre le 8^{e} jour, afin d'étudier la succession des espèces.

A Banyuls, des dilutions plus nombreuses ont été effectuées (10^{-4} à 10^{-5}) et les additions d'alcool et d'actidione ont été faites directement dans les boîtes de Pétri et non dans les flacons d'enrichissement.

D — IDENTIFICATION.

L'identification des souches isolées est basée sur les caractères morphologiques et physiologiques, selon les méthodes décrites par LODDER (1970). Mais les souches ont été également soumises à des tests œnologiques pour déterminer celles qui peuvent le mieux répondre aux besoins de la vinification des vins doux naturels.

1 — **Caractères morphologiques**

— caractères culturaux en milieu liquide (moût de raisin) ;

— caractères culturaux en milieu solide (gélose ou gélatine nutritives) ;

— forme et dimensions des cellules après 3 à 6 jours de culture sur moût de raisin à 25 °C ;

— formation des spores sur deux milieux de culture (extrait de malt gélosé — moût de bière gélosé).

2 — **Caractères physiologiques**

a — **Fermentation des sucres** sur un milieu de base constitué par de l'extrait de levure à 5 g par litre auquel on ajoute l'un des sucres suivants : glucose, maltose, saccharose, galactose, raffinose, éventuellement amidon soluble, à la dose de 20 g par litre. L'expérience est conduite en tubes de Durham.

Diverses techniques peuvent être utilisées pour mettre en évidence les résultats de la fermentation du raffinose. La méthode employée a été la chromatographie sur papier mise au point par PEYNAUD et **al.** (1962).

b — **Assimilation oxydative.**

Si le nombre des substances susceptibles d'être dégradées en anaérobiose est assez limité, par contre, en présence d'oxygène, les levures sont capables d'utiliser, d'assimiler, un nombre très élevé de substances de diverse nature.

Le test est conduit en tubes à essais contenant un milieu de base synthétique auquel on ajoute l'une des substances suivantes : les sucres qui ne sont pas fermentés, du nitrate de potassium, de l'alcool éthylique, des polyols, des acides organiques, etc...

Le développement est contrôlé par turbidimétrie, par comparaison avec un témoin ne contenant que le milieu de base et un autre témoin contenant une substance pour laquelle le développement est positif, telle que le glucose pour l'assimilation carbonée, ou le sulfate d'ammoniaque pour l'assimilation azotée.

3 — **Tests œnologiques**

a — **Courbes de fermentation. Pouvoir alcoogène**

On définit le pouvoir alcoogène comme le degré alcoolique maximum produit par une levure dans un moût riche en sucre. Le moût de raisin de 10 ° Baumé a été enrichi jusqu'à 18 ° Baumé pour les **Saccharomyces,** à 12-14 ° Baumé pour les levures moins alcoogènes (avec un mélange de glucose et de fructose) et utilisé à l'état naturel pour les **Hansenula** et **Hanseniaspora.**

Les fermentations ont été effectuées en bouteilles de 180 ml contenant 150 ml de moût, stérilisées, puis ensemencées avec 5 gouttes d'une culture de 4 jours. Pour chaque levure, deux flacons ont été ensemencés. L'un bouché avec un tampon de coton assure les conditions d'aérobiose, tandis que l'autre, bouché par un bouchon de caoutchouc traversé par un tube effilé bourré de coton représente les conditions d'anaérobiose. La fermentation dure 25 jours à la température de 25 °C. On la suit par pesées des flacons d'anaérobiose, le 1er, le 3^{e}, le 6^{e}, le 12^{e} et le 25^{e} jour et par comparaison avec un témoin non ensemencé qui indique la perte de poids par évaporation.

Pour la fermentation aérobie, après dosage des sucres résiduels, on déduit du sucre fermenté le degré alcoolique produit en considérant que 18 g de sucre produisent 1 degré d'alcool.

Pour la fermentation anaérobie, on détermine le degré alcoolique par la méthode d'oxydation chimique au bichromate de SEMICHON et FLANZY. (RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD. 1958).

b — **Dosage de l'acidité volatile** formée par la méthode de JAULMES. (RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD. 1958).

c — **Dosage de l'acétate d'éthyle** formé par chromatographie en phase gazeuse au moyen d'un appareil Aerograph 1200 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme ; ce type de détecteur, très sensible aux

composés organiques et pratiquement insensible à l'eau, permet l'introduction directe de l'échantillon sans aucune manipulation préalable, sinon l'addition de l'étalon interne (méthyl-4 pentanol-2). La solution témoin contient les substances suivantes : acétate d'éthyle, méthanol, propanol, butanol-1 et méthyl-3 butanol-1 à la dose de 50 mg par litre.

IDENTIFICATION DES SOUCHES

Les prélèvements effectués en 1972 et 1973 ont donné 557 souches de levures qui ont été identifiées et se répartissent selon les chiffres du tableau I.

TABLEAU I

Nombre de souches de levures isolées

	1972	1973	Total
Baixas	213	153	366
Banyuls	75	116	191
Total	288	269	557

Ces souches appartiennent à six genres sporogènes **(Saccharomyces, Debaryomyces, Kluyveromyces, Pichia, Hanseniaspora, Saccharomycodes)** et un genre non sporogène **(Torulopsis)** qui se placent comme suit (Tableau II) dans la classification générale de GAUMANN à laquelle se réfère LODDER.

A. — REGION DE BAIXAS.

Deux prélèvements de raisins (Macabeu et Grenache noir) ont été faits à la vigne en 1972, mais les colonies isolées sur boîtes de Pétri ne se sont pas développées sur moût de raisin et n'ont pu être identifiées.

Seules les 213 souches isolées en 1972 et les 153 isolées en 1973 à la cave, sur les quais de réception ou à l'intérieur des installations, ont pu être identifiées. Elles n'appartiennent qu'à quatre genres sporogènes et à un genre non sporogène (tableau III).

TABLEAU II

Répartition des souches isolées dans la classification générale des levures

Ordre	Famille	Sous-famille	Genre	Espèces
		Levures sporogènes		
Endomycétales	3e	3e		
	Saccharomycetaceae	**Saccharomycoideae**	**Saccharomyces**	**bayanus**
				capensis
				chevalieri
				ellipsoideus
				globosus
				italicus
				montanus
				norbensis
				pretoriensis
				uvarum
			Debaryomyces	**phaffii**
			Kluyveromyces	**veronae**
			Pichia	
		2e Nadsonioideae	**Hanseniaspora**	**uvarum**
			Saccharomycodes	**ludwigii**
		Levures non sporogènes		
	Cryptococcaceae		**Torulopsis**	**stellata**

Au cours des deux années de prélèvements on constate que **Hanseniaspora uvarum** ne représente en moyenne que 10 p. 100 de la population ; la majorité des souches isolées appartient aux trois espèces de **Saccharomyces ellipsoideus, italicus, capensis,** qui, à elles seules, représentent près de 80 p. 100 de la population. En 1973 est apparue l'espèce **Torulopsis stellata** qui n'avait pas été isolée en 1972. Par contre, en 1972, on relève une présence notable de **Saccharomyces uvarum** et **Saccharomyces bayanus.**

TABLEAU III

Répartition des souches isolées à Baixas au cours des vendanges 1972 et 1973.

	1972		1973		Total	
	Nombre de souches	p. 100	Nombre de souches	p. 100	Nombre de souches	p. 100
Hanseniaspora uvarum	19	8,9	18	11,7	37	10,1
Sacch. ellipsoideus	132	61,9	88	57	220	60
italicus	20	9,4	19	12,4	39	10,6
capensis	18	8,4	12	7,8	30	8,2
uvarum	8	3,7			8	2,2
bayanus	7	3,3	1	0,6	8	2,2
norbensis	6	2,8			6	1,6
pretoriensis	2	0,9			2	0,5
montanus	1	0,4	1	0,6	2	0,5
globosus			1	0,6	1	0,2
chevalieri			1	0,6	1	0,2
Debaryomyces phaffii			1	0,6	1	0,2
Pichia			1	0,6	1	0,2
Torulopsis stellata			10	6,5	10	2,7
Total	213		153		366	

En 1973, les prélèvements ont été faits à trois stades de la vinification : 1° dans la vendange fraîchement foulée ; 2° à mi-fermentation (soit 6 heures avant mutage) et 3° 5 jours après mutage (tableau IV).

Le nombre de souches isolées dans les muscats (110) est beaucoup plus élevé que dans les V.D.N. (43), mais il semble que la population y

soit également beaucoup plus variée. Cependant, dans les V.D.N., le troisième prélèvement n'a donné aucune souche ce qui est assez compréhensible, car il a été réalisé 5 jours après le mutage à l'alcool.

TABLEAU IV

Répartition des souches isolées

à Baixas au cours de la fermentation

	Muscats			V D N		
	1er	2e	3e	1er	2e	3e
Hanseniaspora uvarum	14	0	0	3	1	0
Sacch. ellipsoideus	8	32	12	12	24	0
italicus	3	11	3	1	1	0
capensis	9	2	1	0	0	0
bayanus	1	0	0	0	0	0
montanus	1	0	0	0	0	0
globosus	0	0	1	0	0	0
chevalieri	0	0	1	0	0	0
Debaryomyces	1	0	0	0	0	0
Pichia	1	0	0	0	0	0
Torulopsis stellata	7	2	0	1	0	0
	45	47	18	17	26	0

Par contre, dans les muscats, 18 souches de **Saccharomyces** ont été isolées au cours du troisième prélèvement. **Hanseniaspora uvarum** et **Torulopsis stellata, Debaryomyces** et **Pichia** sont apportés par le raisin ; **Hanseniaspora uvarum** et **Torulopsis stellata** se maintiennent parfois jusqu'au second prélèvement.

B. — REGION DE BANYULS (1972 et 1973).

a — **Prélèvements sur les raisins.**

Les trois cépages Carignan, Grenache noir, Grenache blanc doux, dont les moûts contenaient respectivement 282, 240 et 159 g de sucre par litre, ont permis d'isoler 28 souches dont la répartition est donnée dans le tableau V.

Hanseniaspora uvarum représente 50 p. 100 de la flore de ces raisins et **Torulopsis stellata** 39 p. 100, mais en réalité, c'est dans les raisins riches en sucre que cette espèce a été trouvée et elle y représentait 50 p. 100 de la population. Ce fait confirme l'adaptation de cette espèce aux milieux riches en sucre. En Gironde, en effet, elle a été trouvée dans 91 p. 100 des moûts de raisins pourris et 53 p. 100 des moûts de raisins blancs où elle représentait respectivement 17 et 7 p. 100 de la flore isolée.

TABLEAU V

Répartition des souches de levures isolées sur les raisins de Banyuls

	Carignan	Grenache noir	Grenache blanc
Hanseniaspora uvarum	7	2	5
Torulopsis stellata	8	3	0
Kluyveromyces veronae		2	
Saccharomyces ellipsoideus	1		

b — **Prélèvements à la cave.**

Les résultats obtenus en 1972 et 1973 sont rassemblés dans le tableau VI.

TABLEAU VI

Répartition des souches isolées dans la cave de Banyuls en 1972 et 1973.

	1972		1973		Total	
	Nombre de souches	p. 100	Nombre de souches	p. 100	Nombre de souches	p. 100
Debaryomyces phaffii	4	5,3			4	2,5
Torulopsis stellata	6	8	1	1,4	7	4,3
Saccharomycodes ludwigii	2	2,6			2	1,2
Sacch. ellipsoideus	18	24	66	76	84	51,6
italicus	36	48	8	9,1	44	27
capensis	5	6,6	11	12,4	16	9,8
chevalieri	3	4			3	1,8
bayanus	1	1,3			1	0,6
globosus			1	1,4	1	0,6
pretoriensis			1	1,4	1	0,6
	75		88		163	

On note l'absence de **Hanseniaspora uvarum,** expliquée par le fait que certains jus recueillis étaient déjà en fermentation ainsi que la présence de **Torulopsis stellata** qui, après avoir été trouvé sur les raisins, s'est maintenu alors que **Hanseniaspora uvarum** disparaissait.

On remarque également l'importance de **Saccharomyces italicus** qui, en 1972, représentait même deux fois plus de souches que **Saccharomyces ellipsoideus**.

En 1973, les prélèvements effectués à trois stades de la vinification donnent les résultats rassemblés dans le tableau VII.

Contrairement à ce qui a été observé dans les V.D.N. de Baixas, le troisième prélèvement a donné un certain nombre de colonies. On observe la présence constante de **Saccharomyces ellipsoideus** (70 à 85 p. 100), **Saccharomyces capensis** (7 à 15 p. 100) et **Saccharomyces italicus** (8 à 18 p. 100) ce qui, pour l'ensemble des trois prélèvements, constitue 97 p. 100 de la population recueillie en 1973 à la cave de Banyuls.

Malgré la richesse en sucre des moûts étudiés aucun **Saccharomyces bayanus** n'a été isolé. Il semble que le mutage à l'alcool bloque la flore dans la composition qu'elle présentait à ce moment.

CARACTERES ŒNOLOGIQUES

Parmi les 557 souches identifiées, 45 souches de Baixas et 34 souches de Banyuls ont été soumises aux tests œnologiques en aérobiose et en anaérobiose : détermination du pouvoir alcoogène, de l'acidité volatile et de l'acétate d'éthyle formés. Les tableaux VIII et IX donnent les résultats concernant quelques souches seulement.

Les résultats des tableaux VIII et IX justifient quelques commentaires. Tout d'abord, ils ont été obtenus sur un milieu de culture qui est du moût de raisin contenant environ 110 g de sucre par litre, généralement enrichi par addition de glucose et de fructose. Il faut remarquer que les pouvoirs alcoogènes sont en général assez faibles ; les formations d'acidité volatile sont, au contraire, importantes, très supérieures à ce que l'on obtient dans la pratique. Ces milieux qui ont subi deux pasteurisations sont assez peu fermentescibles et ne peuvent donner des résultats comparatifs que pour le même moût utilisé : on peut ainsi remarquer que les résultats obtenus à partir des souches isolées en 1973 montrent des pouvoirs alcoogènes plus élevés que dans le cas des

TABLEAU VII

Répartition des souches de levures isolées

au cours de la fermentation en 1973 à Banyuls

	1er prélèvement		2e prélèvement		3e prélèvement		Total	
	Nombre de souches	p. 100	Nombre de souches	p. 100	Nombre de souches	p. 100	Nombre de souches	p. 100
Torulopsis stellata	1						1	1,4
Saccharomyces ellipsoideus	25	71	22	85	19	70	66	76
italicus	3	8,5			5	18,5	8	9,1
capensis	5	14,2	4	15	2	7	11	12,4
globosus	1						1	1,4
pretoriensis					1		1	1,4
	35		26		27		88	

TABLEAU VIII

Caractères œnologiques de quelques souches de levures isolées dans la région de Baixas

Souches			Acidité volatile (g H_2SO_4 par litre))		Degré alcoolique		Acétate d'éthyle (mg par litre)	
			Anaérobiose	Aérobiose	Anaérobiose	Aérobiose	Anaérobiose	Aérobiose
1972	**Sacch. ellipsoideus**	n° 329	0,88	1,37	9,0	11,0	65,0	17,9
	Sacch. ellipsoideus	n° 359	1,17	1,17	10,9	11,0	85,0	18,6
	Sacch. ellipsoideus	n° 362	1,12	0,91	9,5	12,9	89,2	18,6
	Sacch. ellipsoideus	n° 535	1,10	1,07	9,5	11,6	466,3	19,7
1973	**Sacch. ellipsoideus**	n° 893	0,78	0,80	12,2	14,4	52,6	8,8
	Sacch. ellipsoideus	n° 995	0,98	1,17	12,2	14,3	90,6	11,7
	Sacch. bayanus	n° 537	1,08	1,07	11,0	12,4	61,0	17,1
	Sacch. bayanus	n° 340	0,83	0,52		7,9	154,8	144,3
	Sacch. italicus	n° 235	1,54	1,29	9,8	11,3	143,2	39,2
	Sacch. italicus	n° 157	0,99	1,27	2,5	3,4	536,8	72,6
	Sacch. italicus	n° 173	1,29	1,44	9,7	9,9	77,8	32,8
	Sacch. capensis	n° 683	0,41	0,21	7,5	6,6	16,0	12,0
	Sacch. capensis	n° 455	0,45	0,62	4,0	8,1	15,0	90,3
	Sacch. capensis	n° 249	0,73	0,66	4,4	12,0	13,6	377,5
	Sacch. uvarum	n° 342	1,42	1,02	9,1	10,3	62,2	31,5
	Hanseniaspora uvarum	n° 158	1,10	0,76	4,2	3,9	211,1	190,1
	Hanseniaspora uvarum	n° 163	1,83	0,73	3,2	4,2	382,0	169,0
	Hanseniaspora uvarum	n° 393	0,78	1,19	4,6	3,5	756.9	250,0

TABLEAU IX

Caractères œnologiques de quelques souches isolées dans la région de Banyuls

Souches		Acidité volatile (g H_2SO_4 par litre))		Degré alcoolique		Acétate d'éthyle (mg par litre)	
		Anaérobiose	Aérobiose	Anaérobiose	Aérobiose	Anaérobiose	Aérobiose
Sacch. ellipsoideus	n° 80	0,83	0,88	12,2	14,2	137,1	40,2
Sacch. ellipsoideus	n° 17	0,93	0,98	12,0	13,3	54,2	22,8
Sacch. ellipsoideus	n° 144	0,96	1,13	12,9	12,7	79,4	72,0
Sacch. ellipsoideus	n° 105	0,78	0,86	12,0	11,8	111,5	29,2
Sacch. bayanus	n° 747	0,78	0,88	12,9	13,0	136,0	26,2
Sacch. italicus	n° 22	0,93	1,10	11,7	12,5	153,9	22,0
Sacch. italicus	n° 108	0,66	0,76	13,6	13,8	—	35,2
Sacch. italicus	n° 176	0,91	0,98	11,6	12,1	114,7	49,0
Sacch. capensis	n° 81	0,91	1,13	10,2	12,6	138,0	26,5
Sacch. capensis	n° 83	0,93	1,15	11,2	11,9	—	31,5
Sacch. capensis	n° 146	0,88	1,13	11,2	11,7	127,8	31,1
Kluyveromyces veronae	n° 40	0,34	0,22	6,2	9,1	102,8	44,8
Torulopsis stellata	n° 4	0,49	0,59	6,0	8,4	44,8	28,3
Torulopsis stellata	n° 150	0,49	0,66	6,2	8,8	26,6	75,0
Torulopsis stellata	n° 152	0,51	0,66	6,5	8,4	33,6	20,4
Hanseniaspora uvarum	n° 34	0,61	0,56	3,8	4,5	509,5	270,5
Hanseniaspora uvarum	n° 35	0,51	0,74	3,8	4,0	217,8	169,7
Hanseniaspora uvarum	n° 37	0,56	0,61	3,6	4,5	942,6	113,5

souches isolées en 1972. Il conviendrait donc de répéter ces tests sur des moûts naturellement plus riches en sucres et après un temps de conservation plus court.

Dans ces conditions, on note le faible pouvoir alcoogène des souches de **Hanseniaspora uvarum,** toujours inférieur à 5 °, leur formation élevée d'acidité volatile et surtout d'acétate d'éthyle. Les souches de **Torulopsis stellata** forment peu d'alcool, peu d'acidité volatile et assez peu d'acétate d'éthyle.

Quant aux espèces de **Saccharomyces,** leurs caractéritiques sont individuelles et dépendent des souches. Les souches de **Saccharomyces bayanus,** connues pour leur pouvoir alcoolgène élevé, ne se distinguent guère de **Saccharomyces ellipsoideus.** De même, **Saccharomyces capensis** très proche de **Saccharomyces rosei** qui forme très peu d'acidité volatile, ne possède ce caractère qu'à Baixas ; les souches de Banyuls ont au contraire une acidité volatile élevée.

Le choix de souches intéressantes pour la vinification du Roussillon s'avère donc difficile. Cependant 9 souches ont été retenues :

Sacch. ellipsoideus n° 362
Sacch ellipsoideus n° 893
Sacch. ellipsoideus n° 995
Sacch. ellipsoideus n° 80
Sacch. ellipsoideus n° 17
Sacch. capensis n° 249
Sacch. italicus n° 235
Sacch. italicus n° 108
Sacch. bayanus n° 747

Ces souches, dans les conditions utilisées possèdent un pouvoir alcoogène élevé et une faible aptitude à former de l'acidité volatile et de l'acétate d'éthyle.

CONCLUSIONS

L'identification des 557 souches de levures isolées dans les deux crus de Rivesaltes et de Banyuls au cours des vendanges 1972 et 1973, a permis de dégager quelques caractères de la microflore de cette région.

Sur les raisins, comme dans toutes les régions viticoles, on trouve **Hanseniaspora uvarum** et, sur les raisins les plus sucrés, **Torulopsis stellata.** Cependant, à partir de la vendange entrée dans la cave de Banyuls, il n'a pas été isolé de **Hanseniaspora uvarum.**

La fermentation, à Baixas et Banyuls, est assurée par les espèces de **Saccharomyces,** à 90 p. 100 au moins. Parmi ces espèces **Saccharomyces ellipsoideus** a un rôle prépondérant, mais deux espèces, **Saccharomyces italicus** et **Saccharomyces capensis,** gardent une place très importante. Par contre, **Saccharomyces bayanus** ne joue qu'un rôle très limité, peut-être à cause du mode de vinification particulier des vins doux naturels.

Parmi ces souches, 9 ont été retenues pour la préparation éventuelle de levains d'ensemencement. Il paraît intéressant d'envisager des levains associés de plusieurs espèces, mais il est nécessaire auparavant de vérifier les propriétés de ces souches sur des moûts du Roussillon, naturellement plus riches en sucre que ceux qui ont servi à la détermination de leurs caractères œnologiques.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre gratitude au Comité Interprofessionnel des Vins Doux Naturels du Roussillon et à la Chambre d'Agriculture des Pyrénées-Orientales qui ont eu l'initiative de ce travail et ont permis sa réalisation à l'Institut d'Œnologie de Bordeaux.

Manuscrit remis le 19 Novembre 1975.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BENDA I., 1964. Die Gefeflora des frankischen Weinbaugebietes. **Weinberg u. Keller, 11,** 67-80.

BERTRAND A., 1968. Utilisation de la chromatographie en phase gazeuse pour le dosage des constituants volatils du vin, **Thèse doctorat 3e cycle,** Bordeaux.

BIDAN P. et ANDRE L., 1954. **Xe Congrès international des industries agricoles et alimentaires,** Madrid.

BRECHOT P., 1962. Communication personnelle à E. PEYNAUD.

BRUGIRARD A. et ROQUES J., 1972. **Rapport d'activité,** Chambre d'Agriculture des Pyrénées-Orientales, Perpignan.

CANO-MAROTTA C.R. et DE KALAMAR D.B., 1962. I lieviti della fermentazione vinaria in Uruguay. **Atti Acc. ital. vite vino, 14,** 275-285.

CANTARELLI C., 1953. **Rivista viticolt. enol.,** Conegliano, **6,** 82.

CANTARELLI C. et CAPRIOTTI A., 1952. Gli agenti della fermentazione vinaria della provincia di Trevisio. **Rivista viticol, enol. Conegliano,** N° 6, 7 et 8.

CASTELLI T., 1954. Recherche microbiologiche sull uve di moscato di Pantelleria. **Riv. Vitic. Enol.,** N° 3, 81-86.

CASTELLI T., Ecologie et systématique des levures de vin. **II[e] Symposium International d'Œnologie,** Bordeaux-Cognac.

CASTELLI T., 1971. **Vini d'Italia, 13,** 523.

CASTELLI T., 1973. L'écologie des levures. **Colloque International d'Œnologie,** Arc-et-Senans.

CASTELLI T. et GEORGANTAS S., 1972. **Vini d'Italia, 81.**

CASTELLI T. et INIGO LEAL, 1957. **Ann. Fac. Agric. Perugia, 13.**

CATALANO M., 1957. **Ann. Fac. Bari,** 11.

DEMEAUX M., 1968. **Thèse de 3[e] cycle,** Caen.

DESCOFFRE A., 1904. Etude sur les levures œnogènes des Charentes, **Thèse Doctorat Pharmacie,** Bordeaux.

DOMERCQ S., 1956. Etude et classification des levures de vin de la Gironde, **Thèse Docteur-Ingénieur,** Bordeaux.

FLORENZANO G., 1949. La microflora blastomicetica dei mosti e dei vini di alcune zone Toscane. **Ann. sperim. agrar., 3,** 887.

GANDINI A., 1964. Contributo alla conoscenza dei lieviti della vinificazione del 1963 nell'astigiano. **Atti Accad. ital. vite vino, 16,** 447-468.

GUITTARD A., 1973. Identification des levures du cru de Rivesaltes, **Mémoire Diplôme National d'Œnologue,** Bordeaux.

GUITTARD A., SAPIS-DOMERCQ S., RIBÉREAU-GAYON J. et PEYNAUD E., 1975. **Ann. Microb. Perugia,** numéro spécial.

KRIMBAS B.D. et DAVIDES V. X., 1950. **VI[e] Congrès Intern. de la Vigne et du Vin,** Athènes.

LODDER J., 1970. The Yeasts. A taxonomic study. **North Holland Publish Co,** Amsterdam.

LODDER J. et KREGER VAN RIJ N.J.W., 1952. The Yeasts. A taxonomic study. **North Holland Publish Co,** Amsterdam.

MARTINAND V., 1909. Les levures cultivées dans la vinification de la vendange. **Revue de vitic., 32,** 174-206.

MINARIK E., 1965. **Mikrobiologija, 2,** 29.

MINARIK E., 1973. **Vinhorad, 11,** 184.

MRAK E.M. et Mc CLUNG L.S., 1940. Teasts occuring on grapes and grape products in California. **Journ. of Basteriology, 40,** 395.

MRAK E.M. et PHAFF H.J., 1948. **Yeasts Annual Rev. of Microb.**

MUSSO L., 1913. Les levures sélectionnées de vinification, **Thèse Doct. Sciences,** Paris.

NITESCU M.A., 1915. Contribution à l'étude des levures roumaines, **Thèse Doct. Sciences,** Paris.

OHARA Y., 1965. **Jap. Soc. enol.**

PARK Y.H., 1974. Contribution à l'étude des levures de Cognac, **Thèse 3[e] cycle,** Bordeaux.

PARLE J.N. et DI MENNA M.E., 1966. **New Zealand J. Agric. Res. 9,** 98.

PEYNAUD E., 1956. Sur la formation d'acétate d'éthyle par les levures de vin. **Ind. Agric. Alim., 73,** 253-257.

PEYNAUD E. et DOMERCQ S., 1953. Etude des levures de la Gironde. **Ann. Techn. Agric., 4,** 265-300.

PEYNAUD E., GUIMBERTEAU G. et DOMERCQ S., 1962. Application de la chromatographie des sucres à la caractérisation des bactéries lactique des vins. **Mitteilungen,** 183-192.

RENAUD J., 1941. Les levures des vins du Val de Loire. **Thèse Sciences,** Paris.

RIBÉREAU-GAYON J. et PEYNAUD E., 1958. **Analyse et contrôle des vins,** Lib. Béranger, Paris.

RIGONE de PRITZ, 1958. **Bol. Tecn. Univers. Nac. Cuyo,** 17, Mendoza.

ROSET M., 1970. Etude de quelques levures dites « sauvages ». Essais en vue de leur emploi dans l'industrie des jus de raisin. **Thèse Docteur-Ingénieur,** Toulouse.

ROSSI G., 1917. **Staz. Sperim. Agrar. ital., 50,** 529.

ROSSI G., 1920. **Staz. Sperim. Agrar. ital., 53,** 233.

ROSSI (de) G., 1935. I lieviti della fermentazione vinaria nella regione umbra. **IV^e Congrès intern. de la Vigne et du Vin,** Lausanne.

SAPIS-DOMERCQ S., 1967. Isolement et identification des levures, **Conn. Vigne Vin, 1,** 39-50.

SAPIS-DOMERCQ S., 1969. Comportement des levures apiculées au cours de la vinification, **Conn. Vigne Vin, 3,** 379-392.

SAPIS-DOMERCQ S., 1970. Nouvelles études de la microflore en vinification, **Conn. Vigne Vin, 4,** 45-61.

SCHEFFER W.R. et MRAK E.M., 1951. Charasteristies of yeast causing clouding of dry white wines. **Mycopathologia mycologia applicat, 5,** 236.

STEPHANOPOULOS O. et GEORGANTAS S., 1972.**Vini d'Italia, 81.**

SUCEFIC-SAFAR O., 1955, **Biljne Proizrodvje, 4,** 127.

TIURINA L.V., 1962. **C.R. Station Rech. Œnol. Magaratch, 11,** 42.

VAN ZYL J.A. et DU PLESSIS L., 1961. **S. Afri. J. Agric. Sci., 4,** 393.

VERONA O., 1951. Aspetti e problemi relativi agli agenti della fermentazione vinaria. **Atti Accad. ital. vite vino, 3,** 203.

YOKOTSUKA I. et GOTO S., 1955. **J. Agric. Chem. Soc. Jap., 29,** 39 et 123.