

Mise en évidence de bactériophages dans le vin Observation of Bacteriophages in Wine

T. SOZZI, R. MARET et J. M. POULIN¹

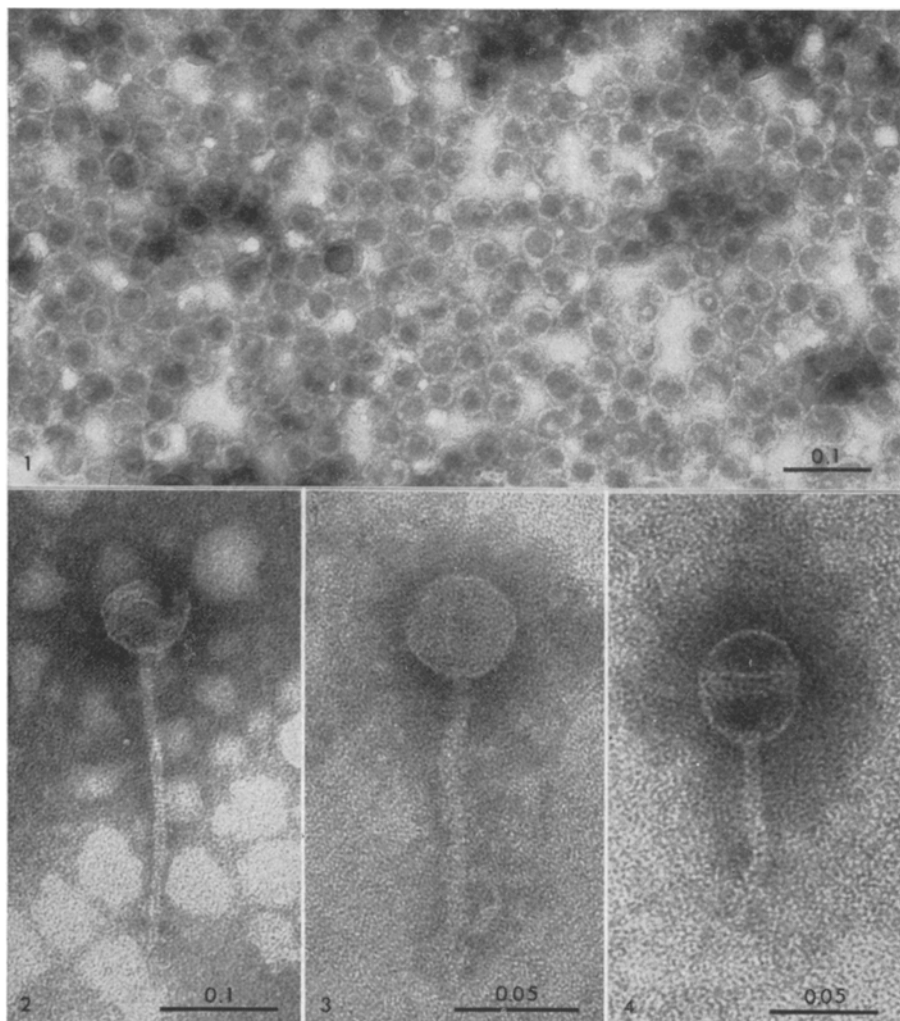
Département de développement technologique, Société d'Assistance Technique pour Produits Nestlé S.A., Laboratoire industriel Orbe, CH-1350 Orbe (Suisse), 17 décembre 1975.

Summary. Electron microscopic examination of samples of Swiss white wine, collected during the malolactic fermentation, revealed the presence of bacteriophages of three different morphological types. It is interesting to note that these phages have been found in a product whose pH is lower than 3.5.

Contrairement à la fermentation alcoolique, qui est actuellement bien maîtrisée par les œnologues, la fermentation malo-lactique, étape non moins importante de l'élevage d'un vin, soulève encore de nombreuses difficultés quant à son contrôle technologique, bien que les recherches dont elle fait l'objet s'intensifient considérablement.

Les microorganismes qui la provoquent appartiennent tous à la catégorie des ferments lactiques, seuls microorganismes bactériens capables de se multiplier dans le vin en conditions anaérobiques. On y rencontre principalement des Lactobacilles (*L. brevis*, *L. hildegardii*, *L. trichodes*, *L. plantarum*, *L. casei*), des Leuconostocs (*L. oenos*), et des Pédicocques.

Nos connaissances sur les problèmes de phages dans les industries de produits fermentés²⁻⁵ nous ont amenés à envisager l'éventualité d'une attaque de phages dans certains vins, qui pourrait expliquer, au moins partiellement, les difficultés du contrôle de la fermentation malo-lactique. Nous avons donc cherché à révéler la présence de phages dans le vin, en orientant nos études dans deux voies distinctes: a) voie «biologique»: isoler des phages d'un vin (vin blanc de Suisse romande) ayant terminé sa fermentation malo-lactique en utilisant, comme souches-hôtes, des bactéries isolées du même vin avant (ou au début de) cette fermentation. Jusqu'à présent, cette voie n'a pas produit de résultats positifs. b) voie «physique»: mise en évidence directe de phages dans le même échan-



Figs. 1-4. Phages du vin; coloration négative à l'acide phosphotungstique: 1. Type morphologique $2 \times 166\,500$. 2. Type morphologique $1 \times 220\,000$. 3. Type morphologique $1 \times 470\,000$. 4. Type morphologique $3 \times 400\,000$.

tillon de vin par examen au microscope électronique après concentration des phages éventuellement présents au moyen d'une série de centrifugations (basse vitesse, haute vitesse et centrifugations zonales).

Les fractions susceptibles de contenir des phages ont été examinées à l'aide d'un microscope électronique Philips EM 300, après coloration négative à l'acide phosphotungstique à 2%, tamponné à pH 7,0.

Des bactériophages de 3 types morphologiques différents ont ainsi pu être mis en évidence: Type 1: a) phage à longue queue, non contractile et peu flexible, type B de BRADLEY⁶ (Figure 2); b) petit phage à queue de longueur moyenne, non contractile, mais relativement flexible, type B de BRADLEY (Figure 3). Type 2: petit phage, enrobé dans une couche de mucopolysaccharides, capsomères non visibles, apparemment type E de BRADLEY (Figure 1). Type 3: petit phage, tête allongée, queue non contractile, relativement flexible, se rapprochant des phages du type ML de BRADLEY (Figure 4).

Notre hypothèse de départ a donc été vérifiée: le vin en fermentation malo-lactique est exposé, tout comme

les autres produits fermentés à l'aide de germes lactiques, aux attaques de bactériophages. Il est intéressant de relever que ces phages proviennent d'un produit dont le pH est inférieur à pH 3,5. En effet dans la plupart des autres cas, où des phages ont été mis en évidence, ils se trouvaient dans des milieux beaucoup moins acides.

L'existence de trois types morphologiques différents laisse en outre supposer, a priori, que l'ensemble des bactéries responsables de la fermentation malo-lactique est susceptible de subir une attaque de phages. Ce point ne devra donc pas être négligé si l'on veut un jour pouvoir maîtriser parfaitement cette fermentation.

¹ Nous remercions M. O. DEPIERAZ de son assistance technique, Melle E. DENTAN de ses micrographies électroniques ainsi que Mme M. WEBER pour les travaux photographiques.

² T. SOZZI, *Ann. Microsc.* 16, 33 (1966).

³ T. SOZZI, *Ann. Microsc.* 16, 37 (1966).

⁴ T. SOZZI et F. SELLA, *Ann. Microsc.* 20, 73 (1970).

⁵ T. SOZZI et R. MARET, *Le Lait* 55, 269 (1975).

⁶ D. E. BRADLEY, *Bact. Rev.* 31, 230 (1967).

Comparison of the Effects of Illumination on the Melanophores of Intact and Eyestalkless Fiddler Crabs, *Uca pugilator*, and Inhibition of the Primary Response by Cytochalasin B

T. P. COOHILL and M. FINGERMAN¹

Departments of Biology and Physics, Western Kentucky University, Bowling Green (Kentucky 42101, USA), Department of Biology, Tulane University, New Orleans (Louisiana 70118, USA), and Marine Biological Laboratory, Woods Hole (Massachusetts 02543, USA), 16 September 1975.

Summary. Approximately 100 times more illumination is required to produce pigment dispersion in the melanophores of eyestalkless fiddler crabs (*Uca pugilator*) than in the melanophores of intact crabs. The pigment in melanophores of isolated legs will normally disperse in response to irradiation, but this response is inhibited by cytochalasin B.

The melanophores of the fiddler crabs, *Uca pugilator* and *Uca pugnax*, exhibit two responses to illumination. The primary response is a direct response² of the melanophore to bright illumination, causing melanin dispersion, which darkens the animals' color³. Near UV-light is more effective than visible light in eliciting this response⁴. The secondary response involves color changes that are mediated through the eyes of the animal. Responses to the shade of background are secondary responses whereby the animal typically darkens when placed on a black background and blanches on a white one^{5,6}. This response shows no preference to UV- or visible light⁷. In previous

experiments^{4,7}, we found differences in pigment dispersion in intact and eyestalkless *Uca pugilator* due to the illumination required to stage the melanophores. We devised the experiments described below to test this difference in animals in which the pigment of both intact and eyestalkless individuals was maximally concentrated at the outset. There has been no similar previous investigation in crustaceans nor has there been any quantitative study of the exposures of illumination required to produce the same amount of pigment dispersion through primary and secondary responses in any animal. The final aim of this investigation was to determine whether the melanin dispersions that can be induced by direct illumination of the melanophores (the primary response) can be inhibited by cytochalasin B as is pigment dispersion that is mediated by the melanin-dispersing hormone⁸.

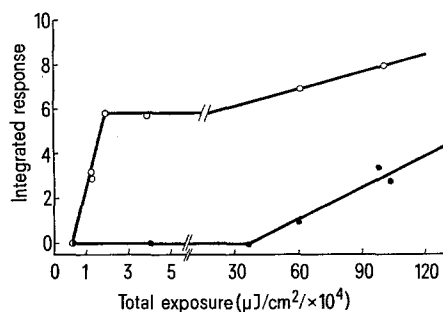


Fig. 1. Relationships between the integrated responses of melanophores of intact (open circles) and eyestalkless (closed circles) crabs as a function of exposure to illumination. Each point represents the average IR of 4 animals.

¹ This investigation was supported by a Faculty Research Grant from Western Kentucky University to T. P. COOHILL and by Grant No. GB-27497 to M. FINGERMAN from the National Science Foundation.

² F. A. BROWN JR., in *Comparative Animal Physiology*, 3rd edn. (Ed. C. L. POSNER; W. B. SAUNDERS, Philadelphia 1973), p. 921.

³ F. A. BROWN JR., and M. I. SANDEEN, *Physiol. Zool.* 21, 361 (1948).

⁴ T. P. COOHILL, C. K. BARTELL and M. FINGERMAN, *Physiol. Zool.* 43, 232 (1970).

⁵ F. A. BROWN JR., and M. N. HINES, *Physiol. Zool.* 25, 56 (1952).

⁶ K. R. RAO and M. FINGERMAN, *Proc. La Acad. Sci.* 31, 27 (1968).

⁷ T. P. COOHILL and M. FINGERMAN, *Physiol. Zool.* 48, 57 (1975).

⁸ D. T. LAMBERT and J. H. CROWE, *Comp. Biochem. Physiol.* 46A, 11 (1973).