

50376
1962
63

50376
1962
63

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DES SCIENCES

Mémoire présenté en vue de l'obtention
du Diplôme d'Études Supérieures de Sciences Naturelles

**ESSAIS SUR L'ÉCOLOGIE
DES MICROORGANISMES
DES SÉDIMENTS DES CAVERNES**



Soutenu en février 1962 par
S. MARCHAL

ESSAIS SUR L' ECOLOGIE DES
MICROORGANISMES DES SEDIMENTS
DES CAVERNES ;

par MARCHAL Serge.

Sous la direction de
Monsieur Caumartin, sous-directeur
du Laboratoire souterrain du C.N.R.S.

Moulis (Ariège). Juillet-Octobre 1961.
Lille, Octobre 1961-Janvier 1962.

Mémoire présenté en vue de l'obtention
du Diplôme d'Etudes Supérieures.
Institut de Botanique.
Faculté des Sciences de Lille.

13 Février 1962.

. INTRODUCTION .

--:--:--:--:--:--:--:--:--

La MICROBIOSPEOLOGIE est une branche jeune de la Biologie. Elle s'adresse à des disciplines fort différentes : Bactériologie, Mycologie, Protistologie ... où se classent les organismes qu'elle décèle. De plus elle s'appuie sur des données géologiques, minéralogiques, chimiques... La Zoologie, par contre, lui fait appel quand il s'agit, par exemple, de connaître les modalités de nutrition des animaux cavernicoles.

Il revient à Monsieur Caumartin d'en avoir souligné et étudié divers problèmes, tant théoriques que pratiques, et d'y avoir tracé des voies de recherche.

Nous nous sommes attachés à une étude succincte de l'écologie des microorganismes dans les sédiments des cavernes. Nous ne saurions trop insister sur le fait que cette étude n'est que l'ébauche d'un travail qui pourrait être largement amplifié et étendu. D'où le titre d'essais qui revient à ce mémoire.

L'hypothèse de travail repose sur la dualité de la microflore des sédiments argileux des cavernes, dualité mise en relief par Monsieur Caumartin (Activité microbienne des sédiments des cavernes, 7) :

- " Dans un réseau s'établissent des zones distinctes :
- une zone aux apports extérieurs, tributaire pour ses peuplements de ces apports et sans originalité.
 - une zone profonde nettement autochtone, fréquemment

protégée par une importante épaisseur de roches, par un plancher stalagmitique, un placage d'argile, ne pouvant recevoir par les eaux qui percolent lentement à travers la voûte que des solutions minérales et dont les peuplements défont la photosynthèse.

Entre ces deux zones s'installent des dispositifs de protection des parties profondes."

Ainsi une microflore endogée est contrebalancée par une microflore exogée, apportée par les eaux, les infiltrations d'air, les visiteurs. L'indépendance de ces flores l'une par rapport à l'autre, ou leur éventuelle interpénétration, leur nature et leur composition, leurs aires d'extension à définir, la séparation des divers groupes et leur importance relative, constituent des problèmes à résoudre expérimentalement.

A ces fins, différentes grottes sont visitées en Ariège, dans la région de Moulis. En divers endroits de la grotte, des prélèvements d'argile le plus souvent, de limons de gour, de dolomie en décomposition, de sables argileux plus rarement, sont échantillonnés.

L'ensemencement de ces prélèvements sur des milieux appropriés permet de différencier diverses séries de microorganismes, qui, cultivés et observés, se groupent de la façon suivante :

- Bactéries autotrophes : - Thiobactériales
 - Ferrobactériales
 - Nitrobactériales ...
- Bactéries hétérotrophes,
- Actinomycètes,
- Champignons inférieurs : - Mucorales
 - Aspergillales ...
- Protistes : Flagellés,
 - Ciliés,
 - Amibes ...

Les résultats, portant sur neuf grottes et sur cinquante prélèvements, étalés sur des tableaux synoptiques, sont ventilés, horizontalement, selon les milieuxensemencés, verticalement, selon les échantillons. Ces tableaux généraux permettent l'observation globale des résultats obtenus et groupent les échantillons dans les catégories suivantes :

- 1- Argiles d'entrée de grotte,
- 2- Limons des ruisseaux,
- 3- Limons des gours,
- 4- Prélèvements en position intermédiaire,
- 5- Argiles sous planchers stalagmitiques défoncés
- 6- Dolomie en décomposition,
- 7- Argile à limonite,
- 8- Argiles de fonds de grotte.

L'interprétation des résultats, ainsi que les conséquences et conclusions déduites, découlent de l'observation de ces tableaux que nous ne reproduisons pas dans le présent travail.

L'inventaire des microorganismes est ici fait de façon complète et explique le grand nombre des milieux utilisés. Cet inventaire se traduira statistiquement par la fréquence de certains types que nous ne déterminerons pas. Déceler, montrer divers types d'espèces, constitue une première étape ; les déterminer, une seconde. La première étape permet de connaître les branches sur lesquelles il reste à travailler, les points qui, ultérieurement, seront à approfondir. La seconde étape demanderait des mois de travail et dépasserait le cadre d'un diplôme d'Etudes Supérieures.

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

PREMIERE PARTIE .

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

METHODES DE TRAVAIL

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

1°. Prélèvements des échantillons.

2°. Préparation des milieux.

3°. Ensemencements.

4°. Observation.

5°. Microphotographies.

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

---:---:---:---:---:---

I°. PRELEVEMENTS DES ECHANTILLONS .

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

Les échantillons sont prélevés avec le maximum de garanties qu'exigent les expériences conduites. Des tubes à essais, fermés à l'aide de coton cardé, perméable à l'air, imperméable aux poussières et microorganismes, sont stérilisés en autoclave à 130°, pendant une demie-heure. Ces derniers sont de plus coiffés d'un bouchon de caoutchouc, passé dans le fluorure de sodium bouillant, palliatif de l'envahissement par moisissures. Entre leur stérilisation et leur utilisation, leur conservation se fait en frigidaire au voisinage de 0 à 1°. Au moment de l'emploi, le tube débouché est flambé à la flamme de la lampe à acétylène. L'argile étant prélevée, l'orifice du tube est à nouveau flambé, puis rebouché. L'ensemencement s'effectue dans les heures qui suivent.

---:---:---:---:---:---

2°. PREPARATION DES MILIEUX.

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

La plupart des milieux liquides, utilisés en tubes à essais, et les milieux gélosés, en boîtes de Pétri, subissent une stérilisation pendant vingt minutes. Les flacons contenant les milieux d'étude subissent également la même stérilisation après chaque emploi. Ils sont conservés constamment en frigidaire au voisinage de 0 à 1°, ce qui diminue considérablement le risque d'un développement de spores de Champignons ou d'une prolifération de germes bactériens.

---:---:---:---:---:---

---:---:---:---:---:---

3°. ENSEMENCEMENTS .

---:---:---:---:---:---:---:---:---

Les tubes à essais sont ensemencés aux approches de la flamme d'un bec Bunsen. L'air chaud montant au dessus d'un bec de gaz peut être considéré comme stérilisé. L'ensemencoir se constitue d'un fil de ferronickel recourbé à son extrémité et fixé sur un manchon métallique. Il est fréquemment passé à la flamme jusqu'au rouge. La quantité de terre glissée dans un tube à essais équivaut à la grosseur d'un petit pois. Orifice du tube et bouchon de coton cardé sont flambés avant leur réajustement. L'argile est de même étalée sur les boîtes de Pétri au voisinage d'un bec de gaz. On n'utilise pas de suspension d'argile dans l'eau pour limiter les causes de pollution.

Tubes à essais et boîtes de Pétri sont alors placés en étuve à 28° pendant une période de dix ou quinze ou trente jours, selon les milieux considérés.

:---:---:---:---:---

4°. OBSERVATIONS .

---:---:---:---:---:---:---:---

Les milieux numérotés des tubes et boîtes sont observés en préparations au microscope. La notation des observations se fait sous formes de symboles et d'abréviations qui, par la suite, seront portés sur les tableaux récapitulatifs. Les microorganismes ne sont pas déterminés en tant qu'espèces, mais inventoriés et symbolisés en vue de résultats statistiques. La détermination des espèces rencontrées se fera plus tard, notre but étant de différencier les divers groupes des êtres vivants dans les sédiments des cavernes, ou qui y demeurent enkystés ou en vie latente ou végétative.

---:---:---:---:---:---:---

---:---:---:---:---:---

5°. MICROPHOTOGRAPHIES .

---:---:---:---:---:---

1°. Cas des bactéries :

Pour être photographiées, les bactéries sont colorées à l'érythrosine phéniquée. Une goutte du milieu étalée sur une lame passe à la flamme jusqu'à l'obtention d'un résidu sec. Imbibée d'alcool, puis flambée, cette plaque est imprégnée d'érythrosine phéniquée, rincée, lavée et séchée.

Dans le cas des Ferrobactériales, la coloration est faite au ferrocyanure de potassium, comme il est indiqué au chapitre s'y rapportant.

2°. Cas des Actinomycètes :

Pour être photographiés, les Actinomycètes doivent être obligatoirement colorés : on utilise le bleu de lactophénol, qui imprègne les filaments des Actinomycètes (voir photos hors-texte).

3°. Cas des Champignons :

Une faible portion de tissu mycélien d'Aspergillales ou de Mucorales, trempé dans le carmin acétique, s'en imprègne. La microphotographie est améliorée par le contraste de couleur entre filament et fond d'une part, entre noyaux, membranes et cytoplasme d'autre part.

---:---:---:---:---

:--:--:--:--:--

SECONDE PARTIE .

--:--:--:--:--:--:--:--:--:--:--

ETUDE DES MILIEUX D'ENSEMENCEMENT UTILISES .

--:--

REPERTOIRE DES MILIEUX .

- I. Milieu à l'extrait de terre.
- II. Peptone à l'extrait de viande
- III. Milieu oxydant du soufre.
- IV. Milieu réducteur des sulfates.
- V. Milieu de nitrosation.
- VI. Milieu de nitrification.
- VII. Milieu d'ammonisation.
- VIII. Milieu pour dénitrificateurs.
- IX. Milieu à Ferrobactériales.
- X. Milieu à l'amidon pour Actinomycètes
- XI. Champignons : Streptomycine Rose Bengale.
- XII. Champignons : milieu de Czapeck.
- XIII. Champignons ; milieu de Raulin.
- XIV. Extrait de pruneaux.
- XV. Extrait de pommes de terre.
- XVI. Extrait de Maïs.
- XVII. Milieu au Maltea Moser.

--:--:--:--:--:--

MILIEU A L'EXTRAIT DE TERRE .

a) Préparation du milieu :

On pèse M grammes de terre que l'on ajoute à M cc d'eau désionisée ; la terre macère durant vingt-quatre heures dans cette eau de façon que les principes minéraux en soient extraits. Le mélange est porté à 130° en autoclave pendant une heure, puis, après décantation, filtré à chaud. Le filtrat est ramené à 500 cc avec de l'eau désionisée. Son pH est vérifié et ramené à 7 avec de la potasse diluée. Après stérilisation à 112° pendant 20 minutes, le milieu est conservé en frigidaire.

b) Rôle :

Ce milieu est utilisé sous forme liquide et gélosée (avec addition de 15 % d'agar-agar). Il nous sert de milieu de références et nous permet de repérer les microorganismes qui, existant dans les argiles souterraines, sont capables de se développer en sol normal. Ce milieu prouvera donc, le cas échéant, l'apport d'organismes à partir des couches pédologiques, qui se développeront ou se conserveront sélectivement dans les sédiments des cavernes.

c) Additif : Remarques sur l'eau utilisée.

L'eau la plus couramment employée dans la série d'expériences ici décrite, fut une eau désionisée sur une colonne à résines. Le départ des anions et cations ramenait le pH à 7, avec une approximation suffisante que confirmaient des contrôles. Une telle eau désionisée facilite la connaissance du pH d'une composition chimique et facilite aussi une éventuelle modification légère à un pH supérieur ou inférieur.

MILIEU POUR HÉTÉROTROPHES .

PEPTONE A L'EXTRAIT DE VIANDE .

a) Composition :

Peptone pour bactériologie	10 g
Extrait Liebig	10 g
Na Cl	5 g
OH ₂ désionisée, complément à	1 000 cc

Le milieu est alcalinisé à pH = 7,5 avec de la soude au 1/10^o et stérilisé à 112^o pendant vingt minutes.

b) Rôle :

Ce milieu est très classiquement et couramment utilisé pour mettre en évidence les bactéries hétérotrophes. Il nous permet d'observer si les germes hétérotrophes se conservent dans une grotte et comment, le cas échéant, ils s'y répartissent.

Les bactéries autotrophes ne trouvent pas dans ce milieu les conditions propices à leur développement. De plus, certaines d'entre elles exigent un certain équilibre : $\frac{Cl^-}{SO_4^{2-}}$ qu'elles ne trouveront pas ici, où seul, l'apport des chlorures est réalisé.

---:---:---:---:---:---:---:---

par l'emploi de Ba Cl₂ qui met en évidence la présence de SO₄⁻⁻⁻ :



Les germes sont contrôlés au microscope.

Cette réaction caractéristique peut aussi mettre en évidence la présence des sulfates dans l'échantillon lui-même. Aussi des tubes témoins sont-ils effectués, où la même quantité d'argile que dans le tube précédent est glissée. On n'étuve pas ces tubes témoins. Si ces derniers réagissent positivement, les résultats sont mis en doute et l'action des bactéries n'est déduite que par comparaison des précipités blancs de Ba SO₄ qui, théoriquement, seront plus abondants dans les tubesensemencés que dans les tubes nonensemencés.

MILIEU REDUCTEUR DES SULFATES .

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---



a) Composition du milieu :

- NH₄ Cl 1 g
- K₂HPO₄ 0,5 g
- Mg SO₄ 2 g
- Na₂ SO₄ 0,5 g
- Ca Cl₂ 0,1 g
- Lactate de sodium à 24% 20 cc
- OH₂ désionisée pour complément à 1 000 cc.

b) Utilisation et rôle du milieu :

Le milieu est stérilisé à 112° pendant 20 mn et conservé comme à l'ordinaire au frigidaire. Après ensemencement et nouvelle stérilisation, sur les tubes encore chauds, on verse quatre gouttes d'un sel de Mohr, non oxydé :

Composition de la solution de sel de Mohr:

- Sel de Mohr 10 g
- OH₂ désionisée pour complément à 100 cc

Ces tubes sont conservés sous vide pendant un mois au moins, selon l'importance de la microflore. La formation éventuelle d'acide sulfhydrique (S⁻⁻⁻) entraîne l'apparition d'un sulfure de fer noir. Dans ce cas les germes sont contrôlés au microscope.

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

. MILIEUX POUR MINERALISATION DES PROTEINES .

Trois milieux mettront en évidence la minéralisation
des protéines :

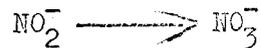
A- Milieu ammonificateur :



B- Milieu pour ferments nitreux :



C- Milieu pour ferments nitriques :



Une grotte est souvent souillée par des apports
dus aux courants d'air ou aux inondations ou à l'homme. Les
débris organiques contiennent des Protides. Quelles sont leurs chances
de subsister ? Resteront-ils intacts ou seront-ils utilisés par les
bactéries ? Remarquons que nous touchons là le seul moyen qui
permette aux sédiments souterrains de se débarrasser des apports
extérieurs et donc de rétablir les équilibres de vie initiaux
et les conditions de milieux endogés .

C- NITRATATION . MILIEUX POUR FERMENTS NITRIQUES.



a) Composition du milieu :

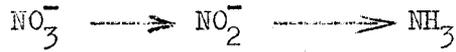
Na NO ₃	1 g
Ca CO ₃	1 g
S.S.W.	50 cc
OH ₂	désionisée pour 1 000 cc.	

b) Utilisation et rôle :

Ce milieu subit une stérilisation de vingt minutes à 112°. Pour l'étudier, on élimine les nitrites à l'aide d'une pincée d'urée. La présence de NO₃⁻ est décelée par le réactif à la diphénylamine, après un séjour de quinze jours à 28° en étuve.

---:---:---:---:---:---:---

MILIEU POUR DENITRIFICATEURS



a) Composition :

K NO ₃	2 g
Glucose	10 g
Ca CO ₃	5 g
S.S.W.	50 cc
OH ₂ désionisée pour ..	1 000 cc

Stérilisation : 20 mn à 112°.

Incubation : 10 jours à 28°.

b) Utilisation :

Les germes sont contrôlés au microscope. Les résultats globaux sont notés par réactions chimiques :

- Les ions NO₃⁻ décelés par le réactif à la diphénylamine.
- Les ions NO₂⁻ décelés par le réactif de Griess :

Griess I : - Acide sulfanvlique 0,5 g
 - H CH₃ CO₂ à 50 % 150 cc.

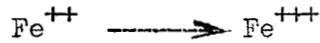
Griess II: - Naphtylamine 0,5 g
 - OH₂ désionisée 50 cc
 - H CH₃ CO₂ 150 cc .

En présence de NO₂⁻, l'addition successive de ces deux réactifs donne une coloration rouge. L'ammoniaque est décelée par la formation d'un précipité noir fugace d'iodure de N₂, après addition d'eau de Javel, puis d'IK .

c) Rôle :

Les bactéries qui réduisent les nitrates sont des germes ubiquistes, qui agissent de préférence en milieu anaérobie, milieu mal aéré et humide. Ils transforment les nitrates en ammoniaque et azote libre. Dans les grottes, de tels milieux existent nombreux. Une analogie peut elle être établie entre les sédiments de grotte et les sols de culture?

MILIEU A FERROBACTERIALES



a) Composition du milieu :

K ₂ PO ₄ H	0,1 g
Mg SO ₄	1,68 g
Na Cl	0,05 g
K Cl	3,35 g
Ca CO ₃	2,04 g
Mg CO ₃	0,67 g
Peptone	10 g
Extraits de haricots	50 cc
Filtrats d'argile	65 cc

OLIGOELEMENTS :

Mn Cl ₂	3.10 ⁻⁸	ion-gramme/litre
Zn SO ₄	3.10 ⁻⁸	" " "
TiO ₂	1.10 ⁻⁸	" " "
K I	1.10 ⁻⁹	" " "
Fe Cl ₃	1.10 ⁻⁵	" " "
Al ₂ (SO ₄) ₃	5.10 ⁻⁵	" " "
K Br	1.10 ⁻⁵	" " "
Ni Cl ₂	1.10 ⁻⁶	" " "
Cu SO ₄	3.10 ⁻⁶	" " "
Li Cl	1.10 ⁻⁶	" " "
K ₃ BO ₃	1.10 ⁻⁶	" " "
Na ₂ BO ₃	1.10 ⁻⁶	" " "
Na ₂ MoO ₄	1.10 ⁻⁶	" " "
Co(NO ₃) ₂	1.10 ⁻⁷	" " "

b) Rôle :

Ce milieu résume toutes les études qui furent entreprises les années précédentes, et correspond à un rendement optimum pour le développement des Ferrobactériales.

MILIEUX POUR CHAMPIGNONS .

MILIEU A LA STREPTOMYCINE ROSE BENGALE .

a) Composition du milieu :

Peptone	5 g
Glucose	10 g
Mg SO ₄	0,5 g
K PO ₄ H ₂	1 g
Solution Rose Bengale au I/300	:	100 cc
OH ₂ désionisée	pour complément à	1 000 cc.

b) Utilisation :

Après chaque manipulation, le milieu est stérilisé en autoclave à 110° pendant vingt minutes. Ce milieu est utilisé sous formes gélosée et liquide (15/1 000 d'agar-agar). Après stérilisation des tubes et boîtes à ensemercer, aux abords de la flamme d'un bec Bunsen, on verse une solution de sulfate de streptomycine à raison de 30×10^{-6} grammes, soit 30 gammas par cc, avant le refroidissement complet, vers 50°. Ces tubes et boîtesensemencées séjournent dix jours à l'étuve à 28°.

c) Rôle :

Le milieu à la streptomycine rose bengale permet la séparation et la sélection des Champignons. La streptomycine neutralise le développement bactérien ; les champignons, dont le développement est favorisé par certaines bactéries, se multiplient eux-mêmes plus lentement et donnent des colonies isolées. De plus, les filaments mycéliens qu'on observera par prélèvements sur boîtes de Pétri seront parfois colorés. Pour détecter les divers champignons, on utilisa dès le début trois milieux :

- milieu à la Streptomycine Rose Bengale,
- milieu de Czapeck,
- milieu de Raulin.

Les premiers résultats montrèrent nettement que les champignons se développaient mieux par colonies séparées sur le milieu à la streptomycine, et que les champignons croissants sur milieux de

Czapeck ou de Raulin, croissaient aussi et toujours sur le milieu à la streptomycine, Ce dernier seul fut donc utilisé vers la fin des expériences.

L'observation des Champignons inférieurs comme les Moisissures, plus vulgairement appelées moisissures vertes ou blanches, sont de loin les plus intéressantes. On sait comment les moisissures s'enkystent dans certaines conditions (Caumartin :6,7,8) et peuvent se conserver ainsi des années durant (Photos 7 et 8 ; planche VI). En milieu de culture propice, ces kystes se développent, donnant un foisonnement de moisissures. L'observation des champignons supérieurs ne se fait que fort rarement ; de tels champignons ne croissent que fort accidentellement sur un morceau de bois en décomposition.

-:-:-:-:-:-:-:-

MILIEU DE RAULIN POUR CHAMPIGNONS .

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

a) Composition :

Mg CO ₃	0,4 g
K ₂ SO ₄	0,25 g
Zn SO ₄	0,07 g
Fe SO ₄	0,07 g
NH ₄ NO ₃	4,5 g
K ₃ PO ₄	0,6 g
Na ₂ SiO ₃	0,07 g
Sucre Candi	70 g
Tartrate neutre de potassium ;.	6,5 g
OH ₂ désionisée, complément à I 500 cc .	

b) Utilisation et rôle :

Le milieu est neutralisé, le pH est ramené aux environs de 7. La stérilisation comme à l'ordinaire s'effectue à l'autoclave à 110° pendant un quart d'heure. Onensemence en milieu liquide afin d'y observer le développement éventuel de bactéries, en milieu gélosé à I5/I 000 pour y étudier les Moisissures. Dix jours d'étave à 28° suffisent à faire apparaître sur le milieu de Raulin des mucorales en particulier.

Les filaments mycéliens du genre ~~Fusarium~~ sont pigmentés, ce n'est pas le cas des autres groupes, mucorales et Aspergillales, qui sont colorées au carmin acétique pour être éventuellement microphotographiées (Photos 9 et 10)

.....

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

MILIEU POUR PROTISTES

Les milieux qui vont être décrits nous permettent de déceler des organismes divers, des Protistes en particulier, qui vivent dans les argiles ou sont susceptibles de s'y conserver à l'état de kystes. Ces Protistes ne sont pas exactement connus, ce qui implique l'association d'un certain nombre de milieux (quatre) relativement grand. Ces milieux ont été précédemment expérimentés et ont donné, séparément, de bons résultats. Leur association est mesure de prudence.

EXTRAIT DE PRUNEAUX .

a) Préparation :

Cent grammes de pruneaux secs sont dénoyautés et écrasés dans mille cc d'eau désionisée. Ces pruneaux y trempent 24 heures, puis le tout est porté à l'ébullition une heure.

On filtre ensuite, l'extrait est ramené à un pH voisin de 7, puis stérilisé à 110° pendant 30 minutes.

b) Utilisation :

En milieu gélosé à 15/1000, en milieu liquide, l'incubation dure dix jours en étuve à 28°.

EXTRAIT DE POMMES DE TERRE .

a) Préparation :

Cinq cents grammes de pommes de terre, pesées et pelées, sont découpées en petits morceaux. On y ajoute le même poids d'eau désionisée. On les y laisse tremper, puis on porte le tout à l'ébullition jusqu'à la cuisson. La filtration se fait à chaud. On rince la purée à l'eau désionisée chaude jusqu'à l'obtention des cinq cents cc initiaux. En ajoutant dix grammes de saccharose la concentration de ce dernier s'élève donc à 2 %.

b) Utilisation :

Ce milieu n'est utilisé que sous forme liquide après stérilisation en autoclave à 112° pendant un quart d'heure. L'étuvage à 28° se prolonge pendant dix jours.

EXTRAIT DE MAIS .

Préparation et utilisation :

Quarante grammes de farine complète de maïs, pilé au préalable, sont versés dans un ballon contenant un litre d'eau désionisée. Ce ballon est chauffé au bain-marie pendant une heure aux environs de 55-58°. On filtre et ramène à 1 000 cc sans stériliser.

Ce milieu n'est utilisé que sous forme liquide.

SOLUTION DE MALTEA MOSER .

Préparation et utilisation :

Dix grammes de Maltea Moser, produit pharmaceutique à base de malt d'orge germé et fortement vitaminé, sont dissous dans mille cc d'eau désionisée. Le tout stérilisé à 110° pendant vingt minutes est prêt à l'utilisation qui se fait sous forme liquide.

Remarques préliminaires sur le vocabulaire utilisé :

Les visites de grottes, le relevé rapide de leurs salles et galeries, nécessitent l'emploi de termes spéciaux, propres aux spéologues, termes dont il est difficile de se passer et sur lesquels il est bon de donner quelques précisions dans ce glossaire succinct :

-Dolines :

Affaissement circulaire et peu profond dans la partie supérieure d'un sol calcaire, indice d'effondrements ou d'érosion sous-jacents.

- Aven;

Gouffre béant et vertical à même le sol, ce gouffre s'évase souvent à la partie inférieure en une vaste salle circulaire.

- Siphon :

Portion de galerie retenant l'eau constamment.

- Puits :

Galerie à la verticale, à parois abruptes. Si le puits prend de grandes dimensions et s'il s'ouvre à l'extérieur, on l'appellera : gouffre.

- Chatière :

Passage très resserré d'une galerie où l'on ne peut passer qu'en rampant.

Synonyme de "étroiture".

- Laminioir :

Se dit d'un espace limité par un plancher et un mur très rapprochés, où l'on n'avance qu'en rampant.

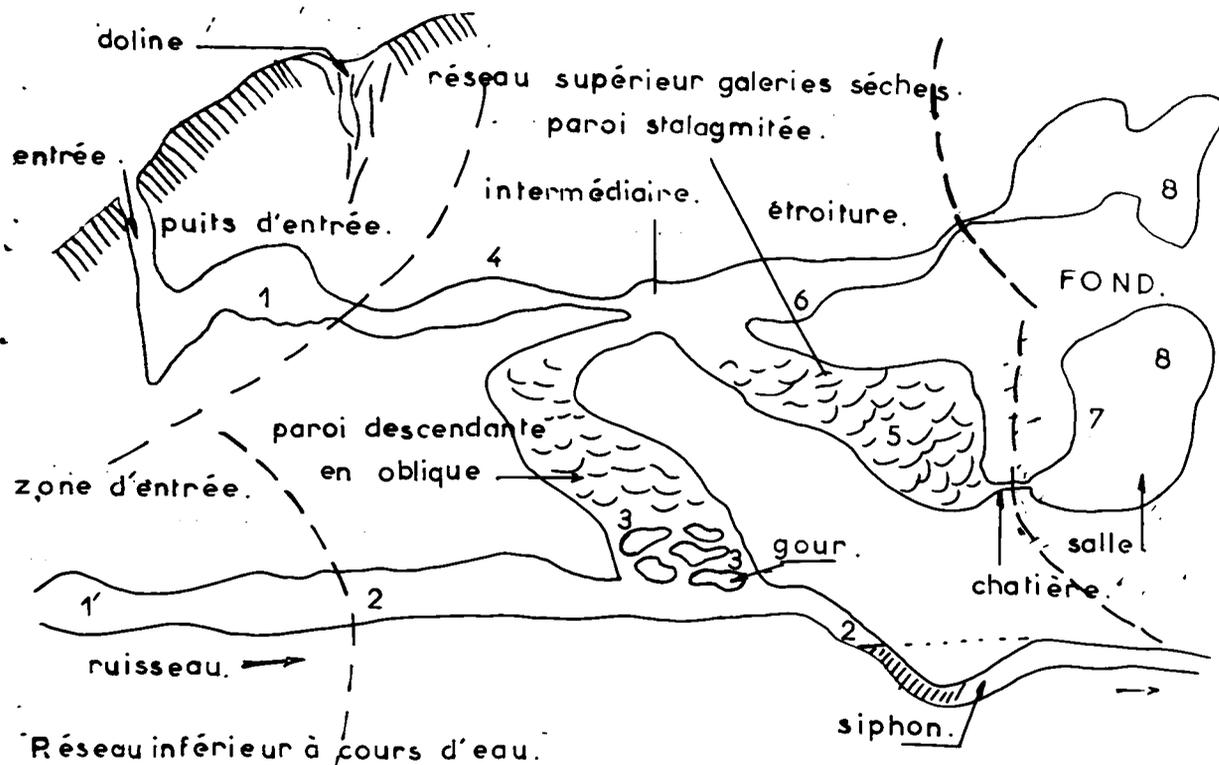
- Plancher stalagmitique :

Sol de grotte recouvert par une couche de calcaire déposée par les eaux qui s'y sont déposées ou qui y ont ruisselé, ce calcaire ayant la même origine que celle des stalagmites classiquement connues.

On parlera de même de parois stalagmitées.

- Gour :

Il s'agit de poches, de trous, à formes caractéristiques le plus souvent, creusées dans un plancher stalagmitique et où séjourne de l'eau. Un plancher stalagmitique peut être sillonné de barrages qui sont des gours et forment autant de vasques.



GROTTE . TYPE . PLAN VERTICAL .

GROTTE DE LIQUE

Département de l'Ariège.

Canton de Saint-Girons.

Commune de Moulis.

Coordonnées au I/20 000 : 496,60 x 74,55 .

Altitude : 590 m

La grotte de Liqué, creusée dans des calcaires secondaires à la faveur d'une faille dont elle épouse la direction générale, s'ouvre par un trou ovale où l'on descend à l'aide d'une échelle de quelques quatre mètres. Des cadavres d'animaux s'accumulent dans un petit puits, lui conférant le nom de "charnier". Au-delà de ce charnier, sur la paroi de droite, se présentent des formations blanches sur argile. Nous y effectuons un prélèvement (L1).

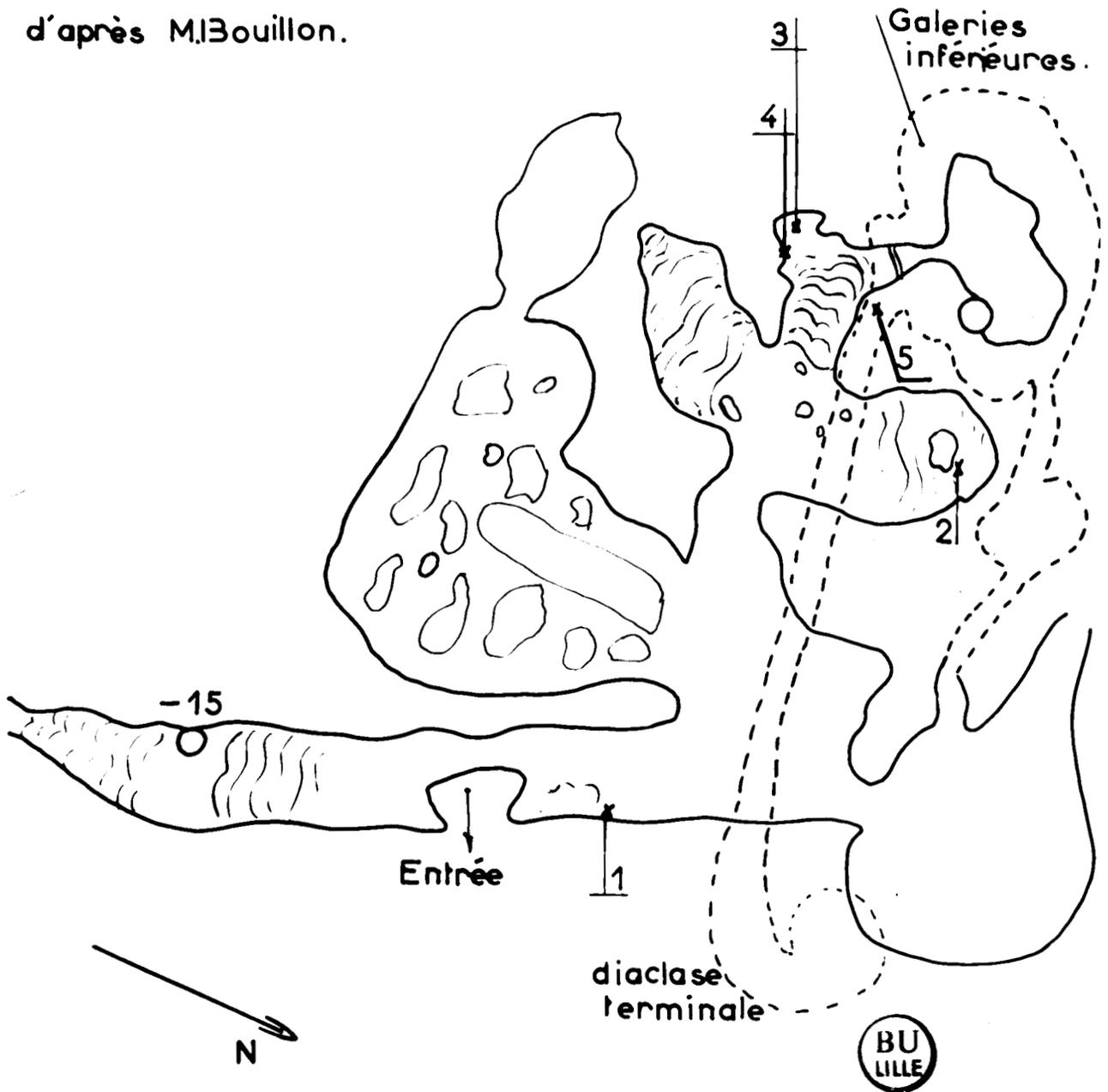
Suit la salle à Aphaenops. A droite, sous un plancher stalagnitique ouvert, nous effectuons un échantillonnage (L2). Toujours dans la salle à Aphaenops en contrebas de la chatière, existe un gour temporaire, où de l'argile boudée et très plastique constitue notre gisement L3. Au même endroit, sur les parois surmontant le gour, un placage de limonite donnera le prélèvement L4. Des couloirs se succèdent, conduisant au fond de la grotte ; à l'entrée de la faille qui mène au puits terminal nous prenons un échantillon L5.

---:--:--:--:--:--:--:--

SCHEMA DE LA GROTTES DE LIQUE

échelle : 10 m

d'après M. Bouillon.



GROTTE DE PEYORT

Département de l'Ariège.

Canton de Saint-Lizier.

Commune de Cazavet.

Hameau de Peyort.

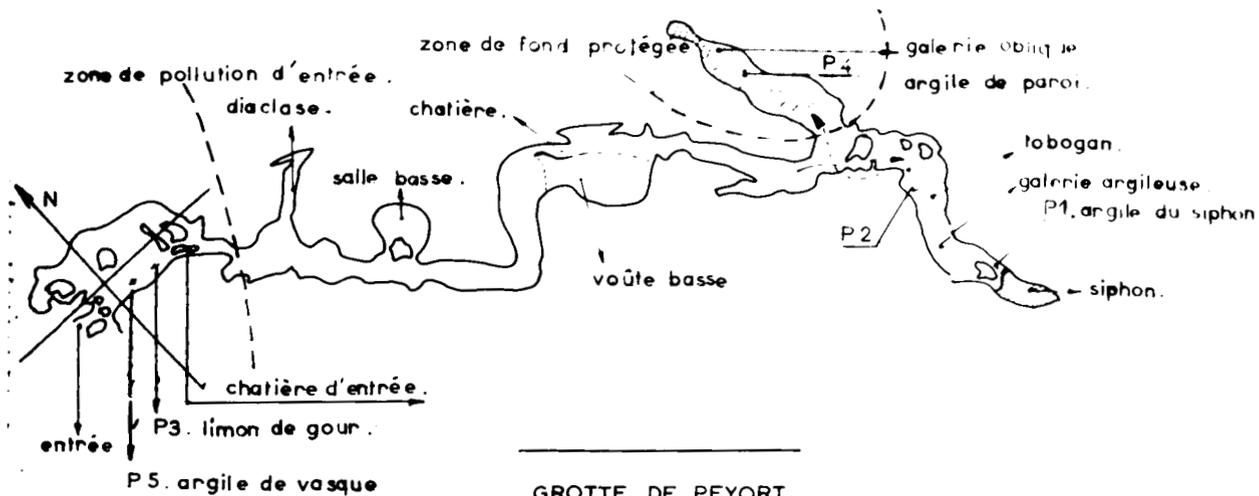
Coordonnées au 1/20 000 : 493,7 x 79,9 .

Altitude : 390 m

La grotte de Peyort s'ouvre au niveau d'un ruisseau creusant son lit dans des calcaires. Il s'agit là d'une vaste galerie, longue de 370 mètres, le plus souvent basse et très humide.

L'entrée est constituée d'une salle basse stalagnitée, possédant plusieurs gours. Dans le fond de l'un de ceux-ci nous prélevons du limon (P3). La galerie devient successivement argileuse, puis à nouveau stalagnitée, puis à nouveau, en approchant du siphon terminal, très argileuse. A trente mètres du siphon, sur une paroi, un placage nous donne l'échantillon (P2). Le dernier (P1) est effectué dans l'argile du siphon, au niveau de l'eau, anormalement bas ce jour-là (23 Juillet 1961).

Au cours d'une seconde visite à Peyort, deux nouveaux prélèvements sont effectués. Le premier (P4) sera considéré comme sis en fond de grotte. Il s'agit d'une argile, jamais inondée, plaquée sur paroi d'un couloir s'élevant en oblique au dessus de la galerie principale. Le second (P5) est constitué d'une argile humide de fond de vasque, dans la salle d'entrée stalagnitée.



. GROTTÉ DE PEYORT .

longueur : 366 m .

échelle : 1/1000^{mm} .

d'après J. Maurisseau.

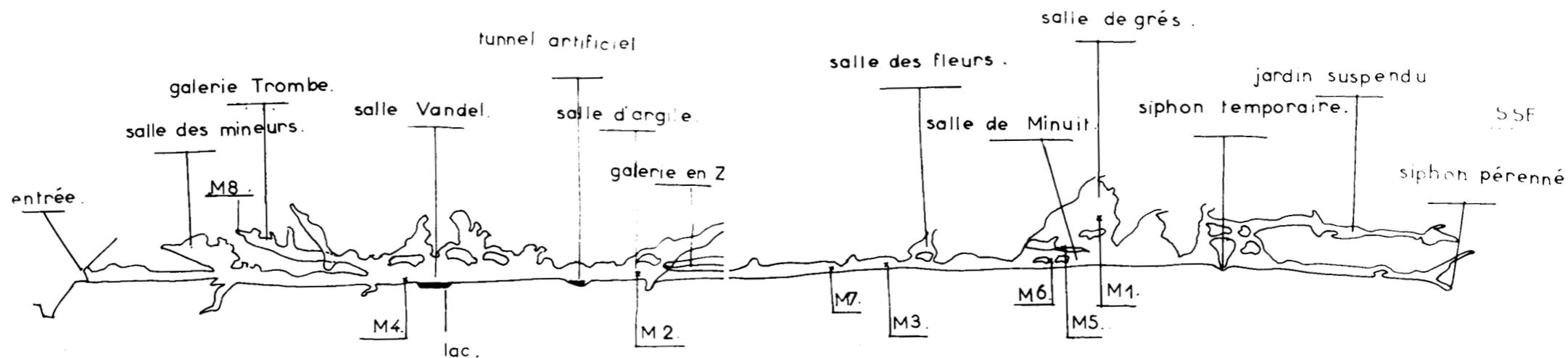


GROTTE DE MOULIS .

La grotte-laboratoire de MOULIS est une grande galerie, subfossile d'un ruisseau souterrain. Ce ruisseau peut encore l'emblir en temps de crue. Longue de 700 m, en développement 1000 m, elle est essentiellement constituée d'une série de couloirs relativement bas, de salles petites.

Nous donnons dans leur ordre d'ensemenement les prélèvements qui y furent faits et que l'on pourra repérer sur la coupe schématique jointe.

- M1 . Argile de l' "affluent fossile", dans la salle de Minuit, sous le plancher stalagmitique.
- M2 . Argile de la salle d'argile, à l'endroit des "sapins d'argile" .
- M3 . Dolomie en décomposition dans le couloir conduisant à la salle de Minuit.
- M4 . Argile du talus d'argile, près du bassin des Protées.
- M5 . Argile à linonite de la salle de Minuit.
- M6 . Argile ordinaire de la salle de Minuit.
- M7 . Argile du ruisseau du couloir conduisant à la salle de Minuit.
- M8 . Dolomie en décomposition de la galerie Trombe.



Dénivellation maximum : 50 m .

Longueur : 700 m .

Echelle 0 50 100 m

COUPE SCHEMATIQUE de la GROTTÉ DE MOULIS

CAVERNE DE L'HERM .

Département de l'Ariège.

Canton de Foix.

Commune de l'Herm.

Forêt de la Vernière.

Les cartes au 1/20 000 de cette région ne sont pas encore parues.

La grotte de l'Herm est constituée de vastes salles et galeries, en grande partie bouleversées par des fouilles et des extractions de "terres" à phosphates. Cette ancienne extraction minière, ainsi que l'existence de nombreuses ouvertures et de courants d'air, laissent présager d'un état de pollution assez poussé. De plus les chauve-souris y demeurent en grand nombre. Des traces d'Actinomycètes, caractérisés par leur odeur de cave et par la présence de gouttelettes d'eau extrêmement brillantes se présentent sur de nombreuses parois. Les prélèvements ont été effectués de la façon suivante :

- dans la salle en contrebas :

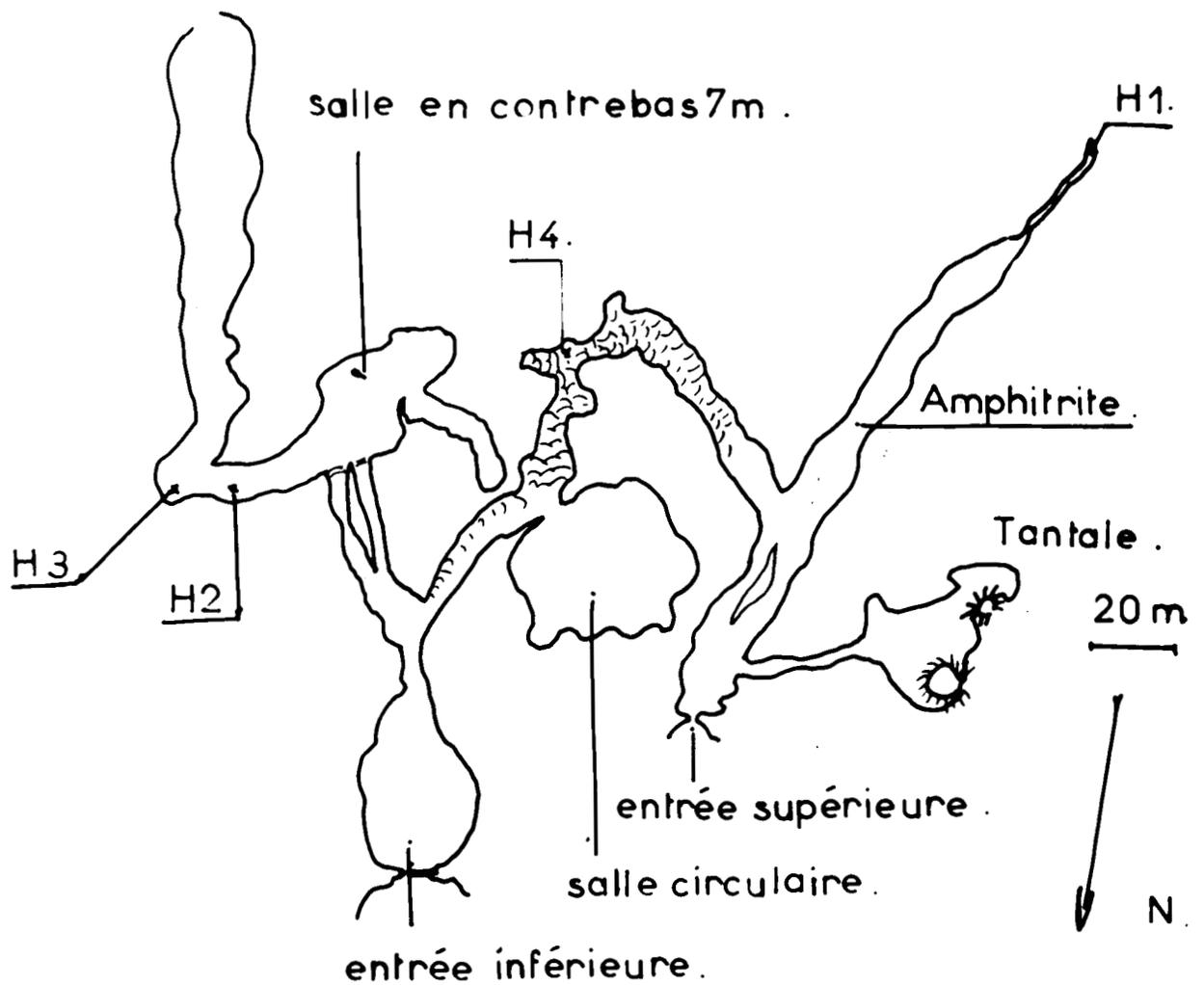
H2 . sous des planchers stalagmitiques superposés et défoncés, de l'argile contenant des ossements.

H3 . Sous le plancher stalagmitique défoncé et sous des planchers stalagmitiques en décomposition, de l'argile à phosphates des cavernes, jadis extraite de ces grottes.

- dans les couloirs menant à la salle circulaire :

H4 . Dépôts sur parois à Actinomycètes présunés.

H1 . Argile ordinaire, sèche, dans un boyau protégé des courants d'air.



CAVERNES DE L'HERM

Echelle : 1/2000

D'après Fagniez et Jeannel.

Biospéologica . VI . p. 372-373 .

GROTTE DE SAINTE CROIX .

Département de l'Ariège.

Canton de Saint Lizier.

Commune de Cajan d'en Haut.

Coordonnées au 1/20 000 : 501,5 × 81,9 .

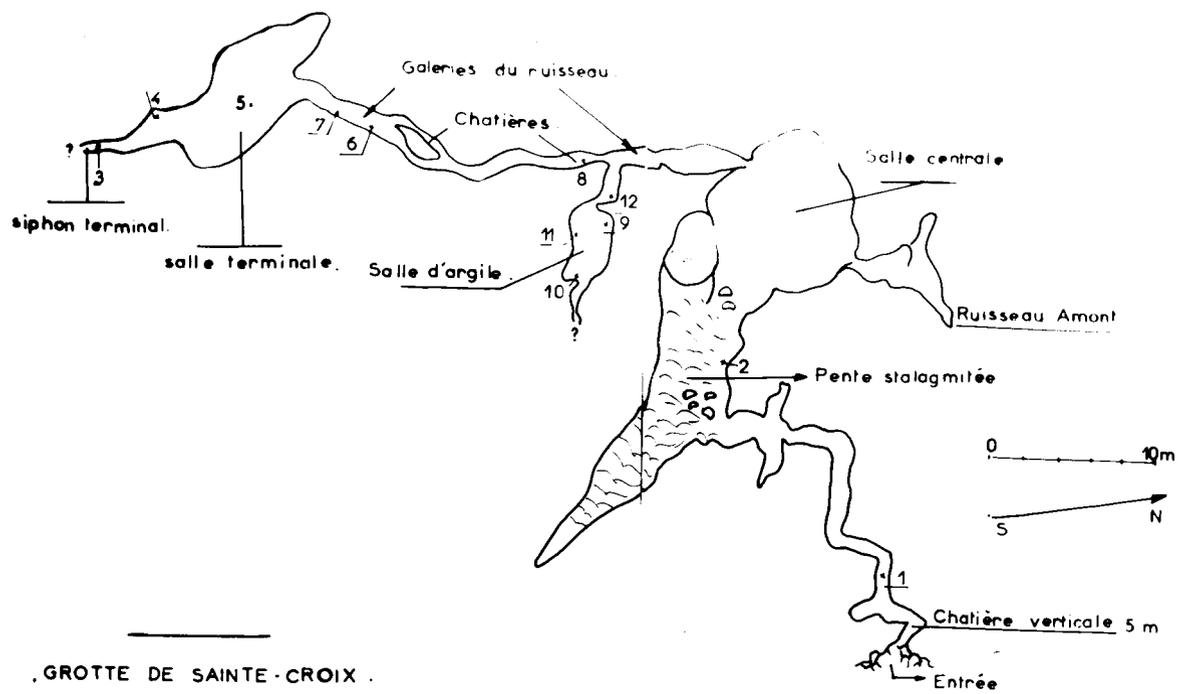
Altitude : 230 m .

S'ouvrant par un étroit boyau vertical en S étiré, cette grotte nous conduit à des dépôts argileux assez exceptionnels.

Dans les couloirs d'entrée, des dépôts argileux retiennent notre attention (C1), taches blanches et odeur caractérisent les Actinomycètes. Dans ces couloirs d'entrée, de vieux placages d'argile sont l'objet d'un prélèvement (C2). La salle centrale, vaste, est atteinte à l'échelle. Il en part les galeries que suit temporairement un ruisseau. Ces galeries sont très basses, à plancher et recouvrement stalagmitiques ou à placages argileux épais. La galerie principale mène à un siphon : l'argile inondée (C3) est différenciée de l'argile non inondée (C4) par les traces que laissent les divers niveaux d'eau sur les parois. Une passée limonitique dans ces argiles (C5) constitue le troisième et dernier échantillon du siphon.

Dans la galerie du ruisseau, une argile dite en "nûres" prend un aspect extérieur assez particulier : il s'agit de formations arborescentes, en choux-fleurs, qui

.../...



GROTTE DE SAINTE-CROIX.

Gageon-d'en-haut. AREGE.

.../...

permettent d'évoquer les "sapins d'argile" de Moulis. Cette argile est siliceuse (C6). En cet endroit des placages d'argile noire, dite à manganèse sont prélevés (C7). Dans la galerie principale, une chatière sous des déblais recouverts d'argile (C8), précède une bifurcation menant à une salle latérale. Son fond se constitue d'argile plastique (C10), alors qu'à l'entrée, les masses argileuses sont recouvertes d'un mince plancher stalagmitique (2 à 3 MM d'épaisseur) (C11). Deux autres prélèvements y sont effectués, l'un présumé d'argile à pyrite (C9), l'autre d'argile humifère (C12).

--:--:--:--:--:--:--:--:--:--

Grotte d' A R N A C .

Aussi appelée : grotte d'Audinac, ou grotte
du bois de Qualem.

Département de l'Ariège.

Canton de Saint Lizier.

Commune de Montjoie-en-Couserans.

Coordonnées au I/20 000 : 508,80 x 80,70 .

Altitude : 540 m.

Dans un gouffre de huit mètres se perd un ruisseau temporaire. Au fond du gouffre une ouverture permet d'accéder au ruisseau souterrain qui suit un long couloir, étroit et surbaissé parfois, plus haut et plus large ailleurs. L'érosion peut faire apparaître la roche à nu. A des placages argileux peu nombreux succèdent des revêtements stalagmitiques.

Dans le fond, en brisant ce plancher mince, on observe de l'argile limonitique (S1). Un sable argileux avant le laminoir terminal (S2) est prélevé. Un limon de gour, de laisse de ruisseau, est numéroté (S3), alors que l'appellation (S4) va à un placage sur paroi, présumé à Actinomycètes, abondants dans la galerie du ruisseau. Les apports extérieurs de ce dernier sont nets : des graines y germent, donnant de longues pousses frêles et blanches.

CAJIRE DE DROITE . GROTTTE DE BEGUET .

Département de la Haute Garonne.

Canton d'Aspet.

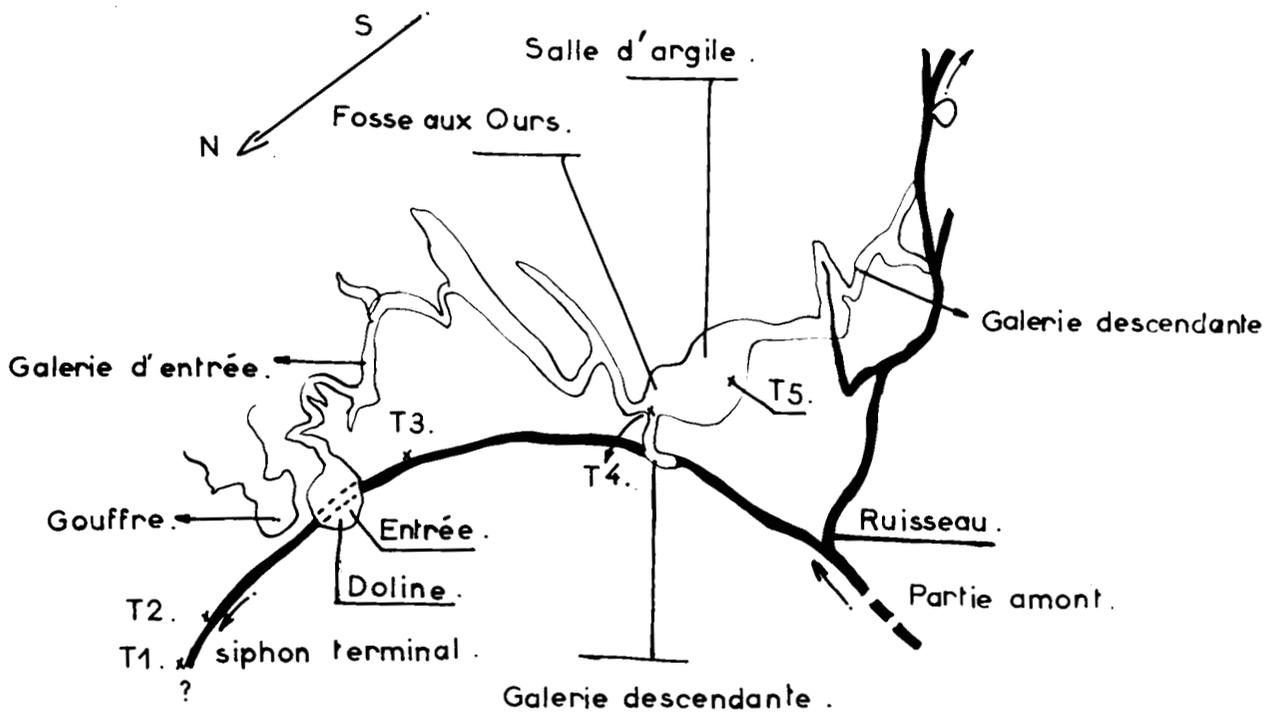
Commune de Juzet d'Izaut.

Coordonnées au I/20 000 : 470,75 x 80,70 .

Altitude ; 530 m

Deux profondes dolines jumelées situées dans un petit boqueteau donnent accès à une grotte et un gouffre très proches, pouvant communiquer entre eux, d'après Casteret, à qui nous empruntons le schéma de la grotte, où furent effectués les prélèvements.

Une fissure reserrée permet l'accès d'une galerie étroite, à passages malaisés, qui s'élargit ensuite pour conduire à une salle recouverte d'argile (T5) : la fosse aux ours lui succède. Une galerie complexe et stalagmitée (T4) permet d'atteindre plus bas le cours d'un ruisseau. Sous une voûte basse un limon sableux est prélevé (T3) . En suivant le ruisseau, on débouche sur un siphon, vaste cavité terminale argileuse. L'argile du siphon immergée est numérotée (T1), celle qui ne l'est pas (T2).



CAGIRE DE DRCITE. D'après CASTERE T.

POUDAC DE LA BAOUSSE .

Département de l'Ariège.

Canton de Saint Giron.

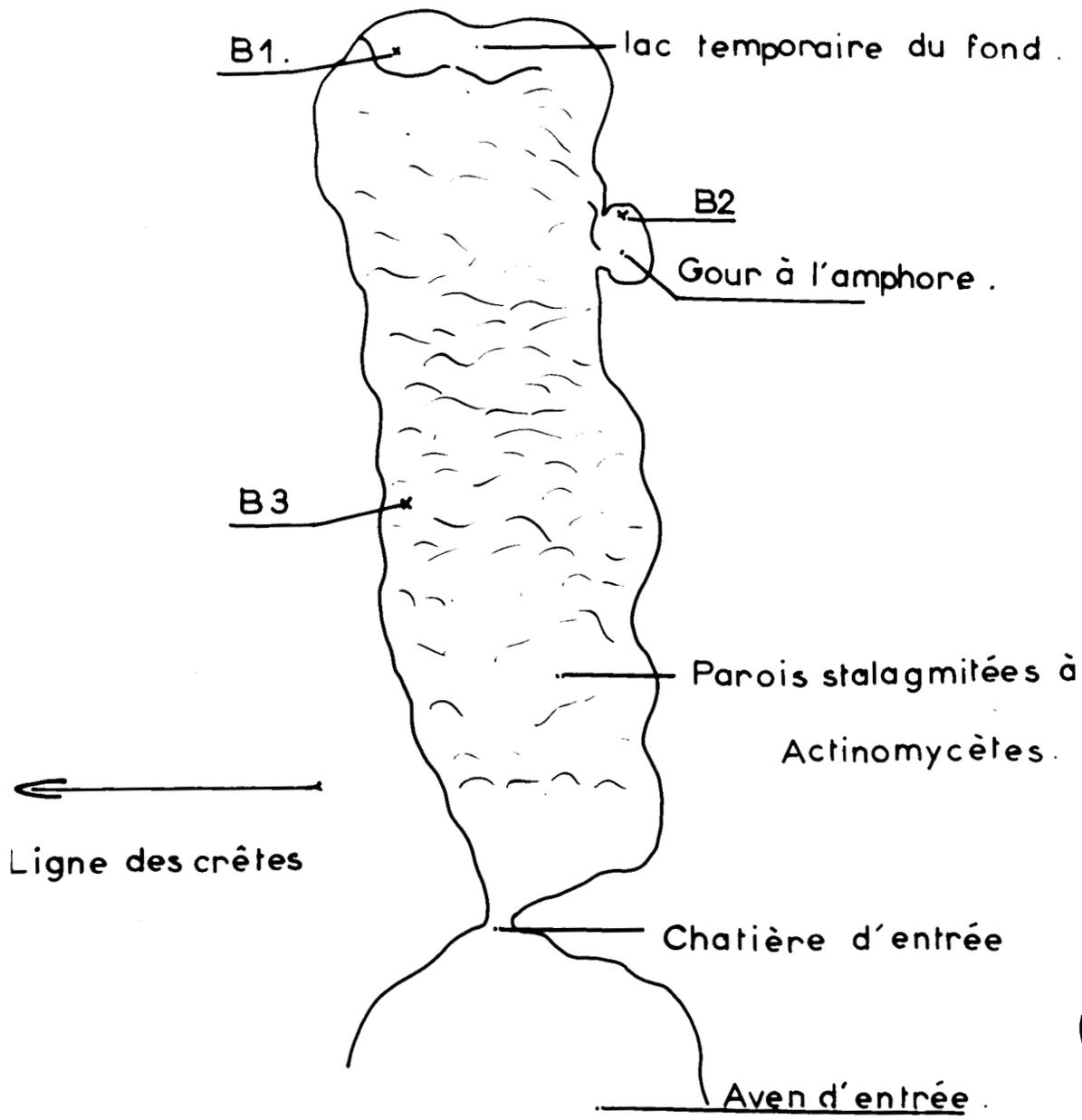
Commune de Moulis.

Hameau de Rame.

Coordonnées au I/20 000 : 499,80 x 72,60.

Altitude : 850 m .

En longeant la ligne de crêtes (arête dolomique) au dessus de Moulis, on aperçoit au milieu de frondaisons, dans une doline, une vaste entrée de grotte. Néanmoins, l'entrée, étroite et reserrée, a dû être déblayée. Un vaste couloir, débutant par des éboulis pierreux, descend alors sur une trentaine de mètres. Les parois sont entièrement stalagmitées. L'argile ne peut être recueillie que sous plancher stalagmitique, au milieu (B3), dans le fond (BI). Cette argile est mêlée à des déblais. Dans un ancien gour, le plancher stalagmitique étant brisé, on accède à un mondmilch humide, qui fait l'objet d'un dernier prélèvement (B2).



POUDAC DE LA BAOUSSE .

AVEN DE SAINTE CATHERINE .

Département de l'Ariège.

Canton de Castillon.

Commune de Balaguères.

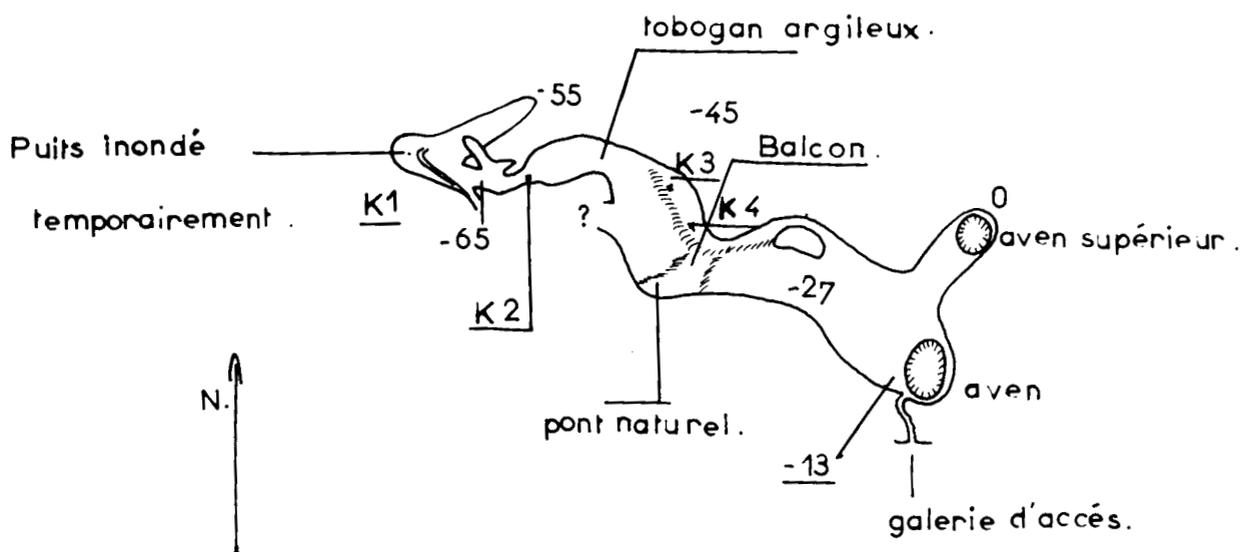
Coordonnées au 1/20 000 : 493,40 x 73,80 .

Altitude : 560 m

Deux avens béants au flanc des collines sises au-dessus de Balaguères attirent l'attention du spéologue. Une galerie d'entrée, puis une échelle de bois permettent d'atteindre le fond de l'aven principal, qui se continue par une vaste galerie, à parois mi-stalagmitées, mi-argileuses.

On atteint ainsi le balcon où des placages d'argiles rouges (K4) et un revêtement noirâtre sous un plancher stalagmitique (K3) que l'on a défoncé, sont l'objet de prélèvements.

La galerie se poursuit par un vaste tobogan d'argile où l'on descend à la corde pendant une vingtaine de mètres. Le fond très argileux n'était pas inondé. Des prélèvements (K1) sont effectués au fond et sur paroi en remontant le tobogan (K2).



Echelle: 1/1000 .

d'après J.Chotty .

AVEN DE SAINTE CATHERINE . SCHEMA .



REPARTITION DES ECHANTILLONS DANS LES TABLEAUX
D'OBSERVATION RECAPITULATIVE ;

1- Entrées de grottes :

- LI. Argiles sur parois d'entrée de Liqué.
- P5. Argile de fond de vasque de la première salle : Peyort.
- M4. Argile du talus d'argile de Moulis.
- CI. Argile de l'entrée de Sainte Croix.
- S4. Placage argileux d'entrée d'Arnac.
- B3. Argile sous plancher stalagmitique du Poudac de la Baousse.
- C2. Vieux placages d'argile (Sainte Croix).

2- Limons de ruisseaux :

- PI. Argile du siphon de Peyort.
- M7. Argile du ruisseau de Moulis.
- C3. Argile inondée du siphon de Sainte Croix.
- C6. Argile sableuse du ruisseau de Sainte Croix.
- C8. Argile limoneuse du ruisseau de Sainte Croix.
- S2. Argile sableuse du laminoir terminal de Arnac.
- T3. Limon sableux de la grotte de Beguet.

3- Limons de gour :

- L3. Argile de fond de gour de Liqué.
- P3. Limon de gour de Peyort.
- S3. Limon de gour d'Arnac.

4- Intermédiaires :

- P2. Argile sur parois de Peyort.
- M2. Argile de la salle d'argile de Moulis.
- M6. Argiles à phosphates de la caverne de l'Herm
- H3. Argile à phosphates de la caverne de l'Herm.
- H4. Dépôts sur parois de la caverne de l'Herm.
- C7. Argile noire de Sainte Croix.
- T4. Argile de parois de Beguet.
- T5. Argile de la salle précédant la Fosse aux Ours de Beguet.
- CI2. Argile humifère de Sainte Croix.
- K2. Argile sur paroi près du tobogan de Sainte Catherine.

.../...

.../...

5- Argiles sous planchers stalagmitiques :

- L2. Argile de la salle à Aphaenops de Liqué.
- MI. Argile de l'affluent fossile de Moulis.
- H2. Argile à ossements des cavernes de l'Herm.
- CII. Argiles sous plancher stalagmitique mince de Sainte Croix.
- BI. Argile sous plancher du Poudac de la Baoussc.
- K3. Revêtement noirâtre sous plancher de Sainte Catherine.

6- Dolomie en décomposition :

- M3. Dolomie de la galerie Trombe de Moulis.
- M3. Dolomie des galeries terminales de Moulis.
- B2. Mondmilch sous plancher stalagmitique du Poudac de la Baoussc

7- Argiles à limonite :

- L4. Argile limonitique sur paroi de Liqué.
- M5. Argile rouge de la salle de Minuit de Moulis .
- C5. Passée limonitique près du siphon de Sainte Croix.
- SI. Argile à pyrite de Sainte Croix.
- K4. Argile rouge du balcon de Sainte Catherine.

8- Argiles de fonds de grottes :

- L5. Argile sur parois devant le puits terminal de Liqué.
- P4. Argile de fond de la galerie supérieure de Peyort.
- HI. Argile ordinaire d'un boyau de l'Herm.
- C4. Argile non inondée du siphon de Sainte Croix.
- TI. Argile du siphon immergée de la grotte de Beguet.
- T2. Argile du siphon non immergée de la grotte de Beguet.
- CIO. Argile plastique du fond de la salle latérale de Sainte Croix.
- KI. Argile plastique de Sainte Catherine.

.../...

.../...

Remarques concernant cette répartition des prélèvements en tableaux récapitulatifs :

La ventilation des échantillons selon de tels ensembles peut paraître à première vue assez arbitraire. Néanmoins cette répartition est nécessaire pour l'observation globale des résultats. De plus ces échantillons sont préférentiellement groupés :

- soit selon leur nature (argiles à limonite, dolomies en décomposition).
- soit selon leur lieu de prélèvement :
 - entrées de grottes,
 - fonds de grottes,
 - limons de gour,
 - limons des ruisseaux ...

Nous appliquons là les hypothèses de départ que nous avons exposés en introduction. On peut poser en postulat que, si une microflore exogée pénètre et envahit une grotte, l'état de pollution qui en résulte est décroissant de l'entrée au fond de cette grotte. Cet axiome entraîne la subdivision adoptée.

Des échantillons n'entrent pas dans les classes précédentes. Nous les groupons en intermédiaires, ensemble auquel une certaine hétérogénéité des éléments rend floue sa caractérisation.

--:--:--:--:--:--:~--

QUATRIEME PARTIE

- A. ANALYSE DES RESULTATS .
- B. CONCLUSIONS ET SYNTHESSES .
- C. CONCLUSION GENERALE .

ANALYSE DES RESULTATS

I- REMARQUES SUR LES BACTERIES

DES MILIEUX I (milieu de référence à l'extrait de terre)
DES MILIEUX II (milieu à l'extrait de viande pour
hétérotrophes).

L'observation des tableaux récapitulatifs permet immédiatement la remarque suivante :

Excluons les milieux III, IV, V, VI, VIII, IX, qui sont spécifiquement destinés à la caractérisation de bactéries de groupes bien précis. Si l'on considère alors dans une série de cultures d'un échantillon donné les milieux X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII, les bactéries qui s'y développent et y sont observées, se développent également et toujours dans les milieux I et II. Ainsi donc l'unique étude des milieux I et II nous donne une idée des peuplements bactériens d'hétérotrophes.

Pourrait-on affirmer que toutes les bactéries des argiles trouvent dans les milieux I et II leurs conditions favorables de développement ? Ou serait-ce plutôt que certaines conditions de culture soient répétées dans divers milieux ?

Les bactéries rencontrées sont décrites et désignées par leur symbole dans le tableau I ci-joint.

Y figure leur pourcentage de fréquence :

Soit la forme -d- (long bacille allongé). Cette forme est rencontrée pour le milieu I onze fois dans les cinquante échantillons prélevés. Nous disons alors que son pourcentage de fréquence est de $II \times 2 = 22 \%$.

Dans le tableau II figurent également leurs coefficients de probabilité d'existence selon la nature ou la prove-

.../...

-nance des échantillons prélevés. Ce coefficient est un rapport du nombre des échantillons où l'on rencontre la bactérie étudiée au nombre d'échantillons de l'ensemble considéré. Ce coefficient varie de 0 à 1 :

- 0 = la bactérie n'existe jamais dans les conditions de l'ensemble donné.
- 1 = la bactérie existe toujours dans les conditions de l'ensemble donné.

Exemple : Fréquence de la forme -b- dans les argiles à limonite :

$$\frac{3}{6} = 0,50 .$$

Notre nombre d'échantillons réduits dans une catégorie précise confère à ce coefficient une valeur approximative. Nous ne l'accepterons donc que comme notion approximative de probabilité d'existence d'une bactérie selon la nature ou la provenance d'un échantillon donné. Des études ultérieures pourraient rendre plus réels ces coefficients.

Le tableau II résume les coefficients de probabilité d'existence relatifs au milieu I de référence. Nous reportons de même dans le tableau III les coefficients de probabilité de rencontre d'une bactérie dans un ensemble donné, relatif aux cultures sur extraits de viande.

Interprétons ces résultats.

I°) DANS LE MILIEU REFERENTIEL :

- a- Les formes -a- et -c- semblent omniprésentes et ne sauraient être spécifiques d'un prélèvement.
- b- La forme -b- semble moyennement fréquente quelque soient les lieux et la nature des prélèvements étudiés.
- c- Les formes -f- et -g- sont peu fréquentes.
- d- Les formes -d- et -e- présentent des coefficients de probabilité variables selon les ensembles considérés. Cette variabilité confère à ces formes des caractères originaux. Nous verrons à propos du milieu pour hétérotrophes, comment ils peuvent

.../...

.../...

caractériser certains prélèvements.

Le tableau IV donne le gradient de probabilité d'existence en fonction des lieux de prélèvement, pour la forme -d-, d'après le milieu I. La forme -d- est plus fréquente dans le fond qu'à l'entrée d'une grotte.

2°) DANS LE MILIEU POUR HETEROTROPHES :

- a- Les formes -a- et -c- semblent omniprésentes et ne sauraient être caractéristiques d'aucun prélèvement.
- b- La forme -b- semble moyennement fréquente quelque soient les lieux de prélèvement et leur nature.
- c- Les formes -f- et -g- sont peu fréquentes.
- d- Les formes -d- et -e- présentent des coefficients de probabilité d'existence variables selon les ensembles considérés. Ils sont appelés de ce fait : "hétérotrophes caractéristiques".

Le tableau V donne le gradient de probabilité d'existence du bacille -d- en fonction des lieux ou de la nature des prélèvements.

Le tableau VI donne les coefficients de probabilité existentielle de la forme -e- en fonction de la nature ou des lieux de prélèvement.

Le tableau VII résume les deux tableaux précédents en considérant la moyenne arithmétique des coefficients de probabilité des deux formes.

Il découle de ces tableaux les observations suivantes :

- a- Le tableau IV présente des affinités avec le tableau V : il existe donc des analogies frappantes pour la forme -d-, qu'elle soit considérée dans le milieu I ou dans le milieu II.
- b- La forme -d- (long bacille) est plus fréquente dans le fond qu'à l'entrée d'une grotte.
- c- La forme -e- (long bacille ponctué) est plus fréquente à l'entrée que dans le fond d'une grotte. Son comportement s'oppose donc à celui du long bacille non ponctué. La présence prédominante de l'une de ces deux formes caractérise donc, soit l'entrée, soit le fond d'une grotte.

.../...

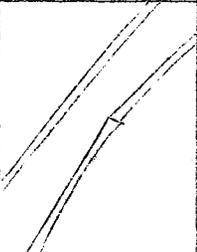
Symboles	Schémas des bactéries	Description sommaire des bactéries	Tailles données en microns	Pourcentage. Milieu I	Pourcentage. Milieu II.
-a-		Cocci, isolés ou groupés	5 à 8	96 %	94 %
-c-		Bacilles moyens et dits cloutés. En forme de clou. Présentent une certaine aptitude à sporuler.	2 à 3 x 15	48 %	42 %
-c-		Bacilles moyens peu allongés. Différents des précédents par leur sporulation difficilement obtenue sauf en vieilles cultures.	2 à 5 x 10 à 20	82 %	80 %
-g-		Bacille en forme d'ellipse A l'avant, vacuole avec granulation. (Serait une forme de dispersion des Actinomycètes ?).	4 à 5 x 10 à 15	6 %	4 %
-f-		Bacilles massifs et rectangulaires.	4 à 5 x 15	6 %	8 %
-d-		Bacilles très allongés, parfois mobiles. Afrinités avec les Actinomycètes.	Epaisseur : 1 à 3 μ Longueur variable	22 %	44 %
-e-		Bacilles allongés et ponctués. Parfois mobiles (Forme végétative de multiplication du genre Streptomyces : Actinomycètes ?).	Epaisseur : 1 à 2 μ Longueur variable.	12 %	32 %

TABLEAU I : Symboles, schémas, description sommaire et pourcentages de fréquence des bactéries pour les milieux I et II.

	0	0,33	0,50	0,66	I
0,50	Fonds de grottes				X
0,33	Argiles à limonite		X		
0,33	Dolomie en décomposition		X		
0,33	Argiles sous planchers stalagmitiques		X		
0,40	Intermédiaires		X		
0	Limons de gour	X			
0,14	Limons de ruisseaux	X			
0	Entrées de grottes	X			

TABLEAU IV :

Coefficients de probabilité d'existence du bacille -d- selon la nature ou le lieu de prélèvement d'un échantillon dans une grotte.

D'après le milieu I à l'extrait de terre.

---:---:---:---:---:---:---:---:---

.../...

d- Le tableau VII permet de différencier deux catégories de milieux
- celle où se développent ou se conservent préférentiellement les
hétérotrophes caractéristiques, et qui comprend :

- Fonds des grottes,
- Limons des gours,
- Limons des ruisseaux,
- Entrées des grottes.

- dans la seconde catégorie, constituée de :

- Argiles à limonite,
- Dolomie en décomposition,
- Argiles sous planchers stalagmitiques,
- Intermédiaires,

les hétérotrophes caractéristiques se développent relativement
peu.

Considérons ces deux formes -d- et -e- comme étant
le type de tous les hétérotrophes et généralisons ces derniers
résultats dans la discussion suivante :

a- Les apports extérieurs évidents font comprendre

l'existence d'hétérotrophes dans les classes :

- entrées de grottes,
- limons des gours où vivent sélectivement nombre de
cavernicoles originaux,
- argiles des ruisseaux.

b- Les apports extérieurs n'expliquent pas la présence des hétéro-
trophes dans le fond des grottes, selon le postulat posé page 3.

Il faut admettre :

- qu'une grotte polluée (toute grotte visitée est polluée) peut
faire disparaître des apports extérieurs par les bactéries hété-
rotrophes qui y sont contenues et retrouver son équilibre anté-
rieur : équilibre entre microflore endogée et microflore exogée.
Du reste, ce dernier est sans cesse remis en cause, ses fluc-
tuations ne se conçoivent que comme très complexes et toujours

.../...

	0	0,33	0,50	0,66
0,37	Fonds de grottes			
0	Argiles à limonite			
0	Dolomie en décomposition			
0	Argiles sous planchers Stalagmitiques			
0,10	Intermédiaires			
0,66	Limons de gours			
0,57	Limons de ruisseaux			
0,57	Entrées de grottes			

TABLEAU VI :

Gradient des coefficients de probabilité d'existence de l'hétérotrophe selon la nature ou le lieu de prélèvement dans une grotte.

D'après le milieu II à l'extrait de Viande.

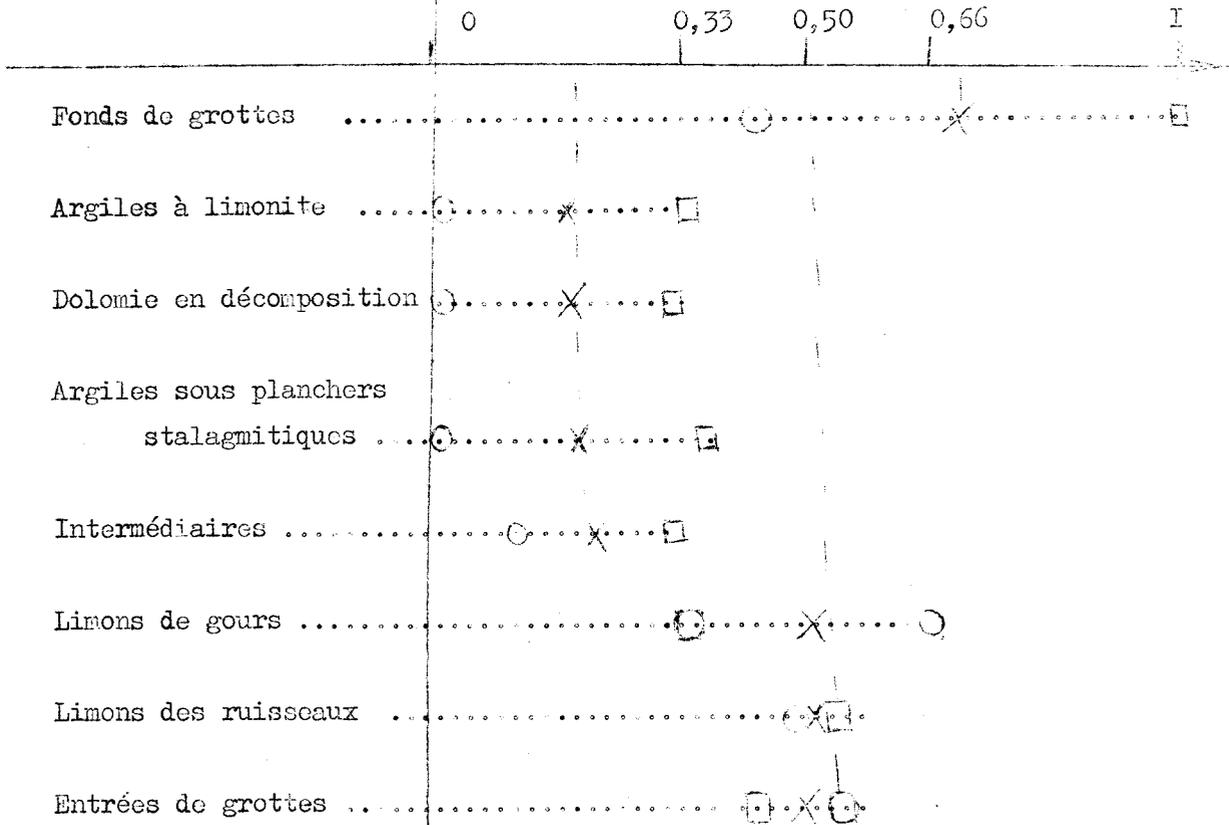


TABLEAU VII :

Moyenne arithmétique des coefficients de probabilité d'existence des hétérotrophes -d- et -e- selon la nature ou le lieu de prélèvements effectués, d'après le milieu II.

○ = Forme -e-

□ = Forme -d-

× = Coefficient moyen.

.../...

mouvantes.

- parfois, après rétablissement de l'équilibre, les hétérotrophes se conservent et subsistent sous forme de germes ou spores ou éléments végétatifs.

c- La présence de limonite dans les argiles n'est pas favorable à celle des hétérotrophes caractéristiques, cette propriété peut être rapprochée des propriétés des sels ferriques en général.

d- Il en va de même des argiles sous planchers stalagmitiques.

La pellicule qui recouvre une argile est donc un bon protecteur. A la longue les germes bactériens des argiles sous planchers disparaissent. Ceux, et bien rares sont-ils, qui demeurent, ne s'entretenaient que par le peu de matières organiques qui existe toujours dans les argiles.

e- La dolomie en décomposition ne favorise pas la conservation des hétérotrophes. Cette absence s'expliquerait par les équilibres ioniques du milieu, en particulier par l'excès d'ions magnésiens.

f- Cas des Intermédiaires :

Dans les intermédiaires se classent le plus souvent des argiles récoltées sur parois en des endroits divers de la grotte. Les apports extérieurs peuvent y être aisés ou non. Mais, comme à propos des fonds de grottes, nous pouvons admettre le même processus de conservation des hétérotrophes, par germes ou spores, que dans le fond.

Toutefois il faut tenir compte de la nature de l'argile prélevée : ici, soit limonitique, soit manganifère, soit magnésienne... Ces argiles nuisent au développement des hétérotrophes caractéristiques et expliquent les faibles coefficients d'existence.

CONCLUSION :

Les bactéries hétérotrophes sont aptes à subsister dans un sédiment qui ne lui est pas défavorable par sa nature (argile à limonite, à manganèse, à phosphates, dolomies en décomposition, argile trop bien protégée sous plancher stalagmitique).

.../...

II. RESULTATS CONCERNANT LES FERROBACTERIALES .

.....

Les tubes ensemencés deviennent le plus souvent rouilles, indiquant la présence sûre de Ferrobactériales. Sous le microscope, on peut observer les petits granules polymorphes qui constituent des formes de propagation de *Perobacterium speleï*. Sur cinquante échantillons étudiés, neuf seulement ne permettent pas le développement des Ferrobactériales. Ainsi, il est possible d'affirmer que les Ferrobactériales sont fréquentes dans les sédiments argileux, corroborant ce qu'écrivait Caumartin (7) à propos de l'étude de *Perobacterium speleï* :

" Pour qu'une banale réaction d'oxydation comme :



soit utilisable à des fins biologiques, il faut des conditions précises de milieu qui ne se rencontrent que dans des stations privilégiées ; la plupart des sédiments souterrains argileux appartiennent à de telles stations. "

Les neuf échantillons qui échappent à cette loi constituent des exceptions sur lesquelles il est bon de s'attarder et qui sont reportées dans le tableau VII.

Ces derniers se subdivisent en deux lots, dont le premier comporte trois tubes qui ont noirci. Cette coloration ne peut être due qu'au FeS puisque le milieu contient une bonne proportion de FeSO_4 . Elle suppose la formation d'acide sulfhydrique. Le milieu à Ferrobactériales contenant des matières organiques et donc protéiniques, subit une fermentation sulfhydrique, et le H_2S libéré se précipite sous forme de sulfure de fer noir. Le fer ferreux, ainsi insolubilisé, le mécanisme physiologique est empêché. La microflore des milieux noircis est alors bien différente de ce qu'on observe ordinairement. De longs bacilles se développent et se scindent, semblables à ceux qu'on observe en milieu hétérotrophe.

.../...

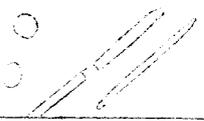
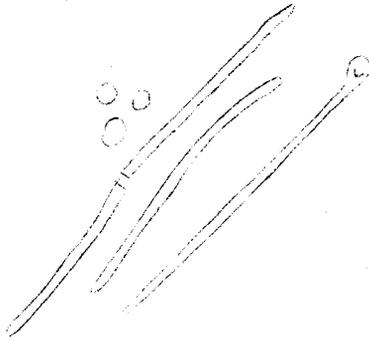
	Description des bactéries rencontrées.	VII.	III.	IV.
B3		Incolore	+	-
B2		Incolore	-	-
BI	Neant	Incolore	-	-
KI		Incolore	+	-
K2		Incolore	-	-
K3		Incolore	+	-
TI		Noir	-	-
T2		Noir	-	-
T3		Noir	+	-

TABLEAU VIII : Etude des échantillons donnant des résultats négatifs avec le milieu à Ferrobactériales.

.../...



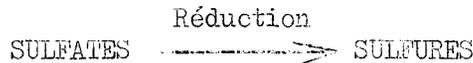
Cette même microflore est également abondante dans tous les milieux et l'on a pu noter un tube à la Streptomycine Rose Bengale décoloré. La production de H_2S à partir d'éléments protéiques est donc plausible : elle appartient à des processus de protéolyse banale de grotte.

Remarquons que ces bactéries d'argile résistent à des concentrations considérables de Fe^{++} , à de très bas potentiels d'oxydo-réduction. Il s'agit là d'un caractère original de la microflore des argiles des cavernes.

Il reste à expliquer le noircissement des tubes T1, T2, et T3 par opposition aux tubes T4 et T5 qui restent rouilles. T1, T2, T3 sont des sédiments amenés ou inondés par un ruisseau, les apports extérieurs y sont donc évidents. En ce sens, T4 et T5, plus proches de l'entrée, et appartenant aux galeries sèches supérieures, peuvent être considérés comme mieux protégés des apports extérieurs et plus aptes à recèler une microflore endogée.

Le second lot est constitué de tubes où la couleur rouille n'est pas apparue. Nous les avons dits "incolorés", parce que leur teinte blanc verdâtre tranchait nettement sur les tubes à fond rouille. Les bactéries qui s'y développent n'ont plus l'aspect polymorphe et coccoforme habituellement observé. Il s'agit le plus souvent de bacilles relativement abondants. Sainte Catherine, où des ferrobactériales ne sont pas observés, est une grotte très fréquentée et qui n'a de cesse d'être polluée par des apports extérieurs fréquents. Il en va de même de la Poudac de la Bourne, où l'on peut observer sous plancher stalagmitique, un résidu de dolomie poudrée, et une odeur de rancid milch.

IV . Résultats concernant les milieux bactériens
réducteurs des sulfates et oxydants du soufre .



Remarque préliminaire :

On a dit par ailleurs comment les Thiobactéria-
les, bactéries autotrophes, oxydantes ou réductrices, entrant dans le
cycle de transformation des composés soufrés, se retrouvaient dans
les argiles ou les parties supérieures des substratums dolomitiques
Monsieur Caumartin (7 ; 8 ; 3 ; 4) montre comment cette microflore
intervient dans l'origine de certaines formations des cavernes.

Résultats positifs pour le milieu IV, réducteur des sulfates :

- P5. Peyort, argile de gour desséché ;
- L5. Liqué, faille terminale humide ;
- C8. Sainte Croix, déblais avant la chatière ;
- S3. Audinac, limon de gour ;
- C7. Sainte Croix, argile à Fe_2O_3 et MnO , humide .

La réduction des sulfates exigent deux conditions :

- un apport des sulfates qui est souvent réalisé,
- un milieu anaérobie, qui n'est réalisé que lorsque les parois, où
sont effectués les prélèvements, sont inondées.

Nos prélèvements se sont faits en plein été et
nous avons signalé à plusieurs reprises déjà la sécheresse qui les
caractérisait : les siphons à niveau d'eau très bas, les rivières
souterraines à sec. De là sorte, les réactions enregistrées avec le
milieu réducteur des sulfates ont été en majorité négatives.

Les déductions suivantes s'imposent :

- a). Le rythme des saisons et les anomalies climatiques
se répercutent sur les actions des bactéries réductrices des sulfates

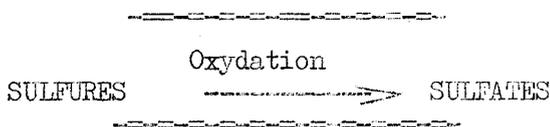
.../...

sur parois.

b). Les propriétés réductrices peuvent se prolonger d'hiver en été, persister en saison sèche lorsque les prélèvements sont fortement humidifiés : c'est le cas ici de L5 ; O8 ; K4 ; C7.

P5 et S5 s'expliquent d'eux-mêmes, étant des échantillons prélevés en milieu aqueux.

c). Les propriétés réductrices peuvent ne pas s'observer en saison sèche, ce qui implique la disparition des germes. Cette réduction de SO_4^{2-} en S^{2-} se fait à l'intérieur de la roche, milieu anaérobie par excellence, en particulier au sein des masses dolomitiques (Caumartin : 3, 7). Donc les germes sont amenés sur parois ou sur des voûtes par les eaux d'infiltration, les eaux de percolation, du sein même de la roche.



Résultats positifs :

- O6. Sainte Croix, limons des ruisseaux ;
- S2. Audinac, limons des ruisseaux ;
- T3. Cajire, limons des ruisseaux ;
- S3. Audinac, limons des gours ;
- O5. Sainte Croix, argile à limonite ;
- SI. Audinac, argile à limonite ;
- B3. Poudac de la Baousse, argile sous plancher ;
- K3. Sainte Catherine, argile sous plancher ;
- T4. Cajire, argiles intermédiaires ;
- T5. Cajire, argiles intermédiaires ;
- O12. S. Catherine, argile intermédiaire
- O10. Sainte Croix, fonds de grotte ;
- KI. Sainte Catherine, fonds de grotte.

Nous pouvons définir deux conditions sine qua non pour l'obtention de l'oxydation suivante :

- la présence des sulfures, d'où provient l'acide sulfhydrique. Cette présence n'est pas rare, les sulfures existants ou pouvant être produits à partir de la réduction des sulfates au sein même des masses dolomitiques.
- la nécessité d'un milieu anaérobie, les bactéries utilisant l'oxygène pour former des sulfates.

Le tableau ci-dessus des prélèvements positifs rend compte de situations très diverses :

- a). L'apparition des sulfates à partir des sulfures se produit en principe sur parois, dans les meilleures conditions d'aération. L'exemple type est celui des grottes à gypse : la Cigalère est une grotte de ce genre bien connue en Ariège.
- b). Dans le cas des argiles de ruisseaux et des limons de goud, l'apparition des sulfates est parfois liée à la présence de la calcite flottante (Caumartin et Renault : 3).
- c). Dans les argiles à limonite, la présence de H_2S est due à celle de sulfures de fer et donc l'oxydation est possible. Ainsi la limonite côtoie parfois le gypse.

Mais, comme au sujet du paragraphe précédent, une série d'expériences étalée dans le temps serait de grande utilité.

---:---:---:---:---:---:---:---

V. Résultats concernant la transformation des Protéines :
Ammonification (Millon et présence de NH_3) et
nitrification (NO_2^- et NO_3^-).

Le compte-rendu de ces résultats peut être donné en
trois chapitres :

- 1°- Dans le premier cas, les quatre essais sont
négatifs.
 - 2°- Dans le second cas, seule la réaction des protéines
devient positive, les trois autres restant négatives.
 - 3°- Dans le troisième cas, les protéines subissent une
minéralisation.
-

1^{er} CAS : Réaction de Millon : négative.

Présence de NH_3 : négative.

Présence de NO_2^- : négative.

Présence de NO_3^- : négative.

Le tableau IX rassemble les prélèvements qui entrent
dans ce cas. Y sont également adjointes les associations de bactéries
courantes, d'Actinomycètes rencontrés, ainsi que celle des Protistes
les plus fréquents.

Interprétons ce tableau.

Des prélèvements divers sont rassemblés. L'associa-
tion des bactéries a, b, c, (cocci, bacilles moyens, bacilles en
clou) les caractérise, ainsi que l'absence d'Actinomycètes et la
présence de Protistes nus et de Thecamoebiens.

Conséquences déduites :

Les protéines ne sont pas détruites car il en
resterait des traces (traces de NH_3 ou traces de NO_2^- et NO_3^-).
Il est fort vraisemblable que des germes utilisent directement
et rapidement ces protéines. Ainsi, dans ces cas, les apports

.../...

	M I	L 2	B 2	M 3	P I	C 7	M 2	B 3	L 4
Millon	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NH_3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NO_2^-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NO_3^-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flagellés	-	-	+	+	-	-	-	+	+
Thecamoeba	+	-	-	+	+	-	+	+	+
Protistes nus	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Bactérie a	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bactérie b	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Bactérie c	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bactérie d	-	-	-	+	-	+	+	+	-
Bactérie e	-	-	+	+	+	-	+	+	-
Act. a	-	+	-	+	+	+	-	+	+
Act. p	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Act. s	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Act. c	-	-	-	-	-	-	-	-	+

TABLEAU IX : Cas des protéines non ammoniées ni minéralisées.
Corrélations avec les diverses bactéries et les
associations de Protistes et d'Actinomycètes.

.../...

organiques seraient détruits sans dommage pour les autotrophes. Les réseaux pollués sont vite régénérés et retrouvent leur équilibre initial en microflore endogée. Tel est le cas de la grotte de Liqué dont la régénération a demandé un an depuis la pose de la grille. La grotte était auparavant connue comme polluée.

Les Protistes utilisent, soit directement les protéines, soit - et préférentiellement - par l'intermédiaire des associations bactériennes, ces mêmes protéines.

D'après le tableau, l'incrimination même partielle des Actinomycètes ne doit pas être négligée. En effet, la situation des prélèvements correspond à des sédiments en contact avec des roches à concentration minérale fort élevée, qui sélectionne les espèces d'Actinomycètes et nuit à leur développement. Par contre, nous connaissons le caractère original des sédiments argileux qui consiste en la conservation des bactéries. Les formes -d- et -e-, dont nous avons souligné l'ambiguïté de leur nature (bactéries ou actinomycètes ?), se développent de façon plus constante. Réagissent de cette manière typique les échantillons P1, M3, M2 ...

2^{ème} CAS : La réaction de Millon est positive.
Présence de NH_3 négative.
Présence de NO_2^- négative.
Présence de NO_3^- négative.

Deux exemples L5 et P2 donnent le cas des protéines, ni utilisées, ni transformées. La présence des bactéries même à partir de deux exemples, peut être considérée comme probante. Les Protistes et les Actinomycètes par contre manquent. Le cas reste à approfondir ultérieurement.

.../...

	P2	L5
Millon	+	+
NH_3	-	-
NO_2^-	-	-
Flagellés	-	-
Thécamoebiens	-	-
Protistes m s	-	-
Bactérie a	+	+
Bactérie b	+	+
Bactérie c	+	+
Bactérie d	-	-
Bactérie e	+	-
Act. a	+	-
Act. p	-	-
Act. s	-	+
Act* c	-	+
NO_3^-	-	-

TABLEAU X :

Cas des protéines existantes,
non ammoniées, ni minéralisées.
Corrélations avec les associations
de bactéries, de Moisissures, d'Acti-
tinomycètes et de Protistes .

3ème CAS : Les protéines sont minéralisées.

Les prélèvements de cette catégorie sont consignés dans les tableaux XI .

- a). La minéralisation des protéines, partielle ou non (ammonisation seule ou nitrification) s'effectue le plus souvent en présence de l'association bactérienne (a ; b ; c : cocci, bacilles en clou et longs bacilles ou bacilles moyens). Des bactéries du type -d- et -e- y sont adjointes : longs bacilles et longs bacilles ponctués.
- b). La présence des Actinomycètes semble facultative. Elle est en corrélation cependant avec une minéralisation poussée (L3. LI . CI ..). Citons des contre-exemples: C5 . M5 . L5 . SI . C9 . K4 . où la minéralisation absente est corrélative au manque d'Actinomycètes.
- c). Lorsqu'il y a minéralisation des protéines, les Protistes sont toujours présents. Mais la présence d'un groupe plutôt que d'un autre (Protistes nus ; Flagellés ; Thécamoebiens) ne semblerait pas obéir à une loi précise.
- d). Ces résultats ne peuvent exclure ceux du premier chapitre, mais les complètent. L'association bactérienne : a - ^b - c - peut assimiler une partie des protéines directement, cependant que les formes d et e, ou une autre forme de cocci ou de bacilles masquée par l'association -a-b-c-, joueraient un rôle prépondérant dans les processus de l'ammonisation et de la nitrification. Les Protistes pourraient conserver le rôle qui leur fut dévolu au premier chapitre.

CONCLUSION :

Dans l'apport de déchets organiques, les Protistes sont l'objet, dans la plupart des cas, soit de processus de disposition par un procédé rapide pour rétablir dans un sédiment son état antérieur à la pollution, soit de processus de protéolyse. Dans ces deux modalités les actions bactériennes ne sont pas uniques, il s'y adjoint les actions des Protistes et des Actinomycètes. L'action des formes -d- et -e-, compte-tenu de ce que nous en avons déjà dit, serait à approfondir.

VI. Résultats concernant les réducteurs de nitrates :

LES DENITRIFICATEURS .

Dans un sol mal aéré et trop humide, sous l'influence de bactéries dénitrifiantes, les nitrates sont réduits en NO_2^- et NH_3 qui se dégage. Dans les sédiments souterrains, ces conditions d'anaérobiose sont fréquentes, et en même temps que les apports organiques, peuvent provenir du dehors des germes dénitrifiants. L'action de ces dénitrificateurs complexifie à l'extrême ce problème du devenir des substances azotées tant organiques que minérales dans les sédiments souterrains.

- Nos résultats prouvent la fréquence des dénitrificateurs en conditions d'anaérobiose (Pour exemples : C10 ; KI ; T5 ; L3).

- Les milieux aérés ne se prêtent pas à la survie des germes : pour exemples : S2 ; CI ; M8 ; N3 .

- Les milieux à forte concentration minérale ne permettent pas le développement des dénitrificateurs (pour exemples : C7 ; B2. BI).

-- Le stade $\text{NO}_3^- \longrightarrow \text{NO}_2^-$ est plus fréquemment observé que le suivant : $\text{NO}_2^- \longrightarrow \text{NH}_4^+$. Les processus de dénitrification ne sont donc pas complets : d'autres processus interviennent, les entravant. Ainsi :

- Le milieu de dolomie ne permet pas la conservation des germes dénitrifiants, ce qui implique la toxicité de l'excès des ions magnésiens .

-- Les argiles à limonite permettent bien la transformation de NO_3^- en NO_2^- , mais il semble que le stade NH_4^+ soit plus difficilement atteint.

- De même on ne décèle pas le stade NH_4^+ pour les sédiments sous planchers stalagmitiques.

VII . Résultats concernant les ACTINOMYCÈTES .

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

Le tableau XII résume les formes essentielles des Actinomycètes observés et indique leur pourcentage de fréquence dans les échantillons prélevés. Le tableau XIII indique les coefficients de probabilité d'existence des Actinomycètes dans un milieu donné. Ce tableau assure :

- l'existence certaine des Actinomycètes dans les entrées de grottes.
- que les Actinomycètes ne trouvent pas un milieu favorable dans les argiles sous plancher stalagmitique, les argiles limonitiques, les limons de gour et de ruisseaux.

Les Actinomycètes seraient dus à des apports extérieurs et aériens. Des dizaines d'espèces vivent dans le sol, ce nombre est plus réduit dans les sédiments des cavernes. Une sélection s'opère donc, les critères de cette sélection faisant appel à la nature du sédiment, aux conditions d'aération (les Actinomycètes ici décrits sont tous aérobies).

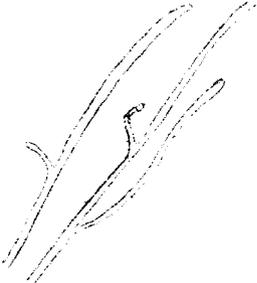
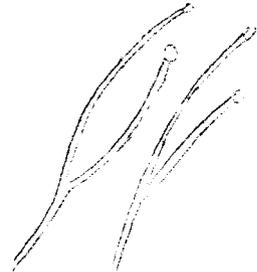
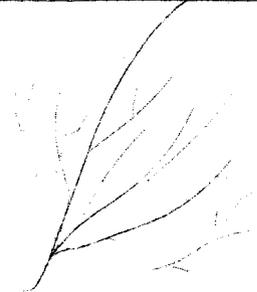
Il ne semble pas, compte tenu des tableaux IX, X, XI, qu'on puisse établir des relations, des lois de corrélation entre Actinomycètes et associations bactériennes et Protistes.

Par contre, lorsque les Actinomycètes existent en un lieu donné, existent également des Moisissures. La réciproque n'est pas exacte. Le test des Actinomycètes semble un bon indice de pollution, mais ce test de pollution reste sous-jacent à celui des Moisissures.

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

TABLEAU XII : ACTINOMYCETES .

Description, symbolisation, pourcentage de fréquence dans l'ensemble des échantillons .

Symbole	Schéma de la forme considérée.	Description succincte de cette forme.	% de Fréquence
a		<p>Photo hors-texte. Mycélium végétatif indivis à longs filaments simples. De petites excroissances orthogonales au filament principal. Colonie en touffe ou en anneaux. Colonies adhérentes au milieu. Epaisseur des filaments de 1 à 3 microns. Apparentés au groupe des STREPTOMYCES.</p>	36 %
s		<p>Mycélium végétatif indivis, à filaments simples souvent bifurqués aux deux extrémités en deux ramifications ponctuées. Apparentés au groupe des STREPTOMYCES .</p>	20 %
p		<p>Mycélium végétatif segmenté en éléments bacillaires. Longs filaments ponctués sur toute leur longueur. Cloisonnement latéral possible. Epaisseur du filament de 1 à 3 microns. Photo hors-texte. Apparentés au groupe des NOCARDIA.</p>	32 %
c		<p>Filaments très minces se développant de façon chevelue. Epaisseur des filaments de 0,5 à 1 microns.</p>	10 %

	0	0,33	0,50	0,66	I
I... Entrées de grottes					X
0,42 Limons des ruisseaux		X			
0,33 Limons des gours		X			
0,40 Intermédiaires		X			
0,33 Argiles sous plancher		X			
0,66 Dolomie en décomposition				X	
0,33 Argile à limonite		X			
0,60 Argiles de fonds de grottes				X	

TABLEAU XIII : ACTINOMYCETES

Coefficients de probabilité d'existence des Actinomycètes dans un milieu donné.

VIII . Résultats concernant les Moisissures.

Premier cas : les Moisissures sont absentes.

Parler de Champignons à propos des sédiments souterrains, c'est avant tout parler de Moisissures. Ces dernières ne croissent pas, ne se développent pas en certains endroits. Etudions ces endroits.

La dimension des spores de Moisissures ainsi que celle d'autres éléments de propagation exclue l'apport par percolation à travers la voûte. Contrairement aux bactéries, il faudrait tout un système de fentes, de diaclases, pour que les spores puissent se propager par l'eau de percolation. L'apport ne peut donc se faire exclusivement^{que} par courant d'air.

En outre, Caumartin a décrit par ailleurs (4, 6) le comportement des Moisissures en milieu réducteur. Il a pu ainsi montrer expérimentalement qu'en présence de H_2S (ou $NaHS$) le protoplasme des filaments se résolvait en kystes (voir photos hors texte : 7 et 8). Au contraire, en présence de Fe^{+++} soluble les mycelia prolifèrent exagérément et la sporulation apparaît vite. Les kystes mycéliens s'opposent donc à la sporulation et marquent donc un certain arrêt de la propagation des Champignons.

Pour ces raisons existent dans les grottes des endroits privilégiés, des parties protégées : soit à l'abri des courants d'air, soit constitués d'un sédiment de nature réductrice.

Pour ces raisons également, le fait de pouvoir faire se développer, en milieu aéré et gélifié, des kystes à partir d'ensemencement d'échantillons, prouve un certain état de pollution du sédiment étudié. Des spores ou des kystes de Moisissures qui se développent, prouvent des apports venus de l'extérieur, sans toutefois qu'il soit possible de préciser s'il s'agit d'apports anciens ou récents.

.../...

.../...

Nos prélèvements qui peuvent, par ce test de pollution à Champignons, être considérés comme protégés, sont :

- C10 : Argile plastique dans la salle retirée.
- C11 : Argile sous plancher stalagmitique minde.
- C12 : Argile humifère de la salle retirée.
- L4 : Argile limonitique sur parois.
- L5 : Argile sur parois devant le puits terminal.
- K3 : Revêtement noirâtre sous plancher stalagmitique.
- K4 : Argile rouge du balcon.
- TI : Argile du siphon immergée.

Le coefficient de probabilité d'existence ou de persistance de Moisissures dans ces argiles est faible. La présence de limonite, donc d'hydroxyde complexe ferrique, insoluble, ne peut favoriser le développement des filaments mycéliens. Remarquons que nous ne sommes pas en contradiction avec l'assertion ci-dessus : ce n'est que sous forme ionique libre, donc en solution que les ions ferriques favoriseraient des développements de Moisissures.

Souvent la limonite est accompagnée de pyrites partant la présence de H_2S se conçoit aisément. Elle s'opposerait aussi au développement de filaments mycéliens, à la sporulation.

Les deux cas positifs : C5 (passée limonitique près du siphon) et C9 (Argile à pyrite) ne recèle qu'une seule trace d'Aspergillales. Il ne peut s'agir que de spores plaquées très récemment et n'ayant point subi l'influence du milieu.

Par contre l'argile de la faille de Liqué (L5) subit l'action des sulfatoréducteurs ($SO_4^{--} \Rightarrow S^-$) : donc, l'enkystement pourrait avoir lieu : mais les spores ne parviennent pas à cet endroit protégé des courants d'air par une série de chatières.

.../...

TABLEAU XV :

Nomination des types essentiels rencontrés parmi les Moisissures. Leur pourcentage de fréquence dans les échantillons étudiés.

ASPERGILLIALES80 %	et dont :	
		Aspergillus type20 %
		Penicillium type	4 %
FUNGI IMPERFECTI	42 %	et dont :	
		Fusarium 22 %
MUCORALES	20 %		

Second cas : les Moisissures sont présentes .

Deux grandes modalités régissent la présence des Moisissures :

- d'une part, les percolations de printemps et les grands apports de l'extérieur qui sont maxima en cette saison et qui favorisent le développement des Moisissures sous formes sporulées.

Or en temps ordinaire il est rare d'observer le développement de filaments mycéliens dans une grotte, sauf lorsqu'il s'agit de déchets organiques grossiers. C'est que les périodes maxima d'humidité, ces dernières étant favorables au processus de réduction.

- d'autre part, les milieux à potentiel d'oxydo-réduction plus faibles, donc réducteurs, qui entraînent l'enkystement des Moisissures.

Le tableau XV porte les pourcentages de fréquence de divers groupes de Champignons calculés en considérant les cinquante échantillons de la façon suivante :

- si, sur les cinquante échantillons, quarante ont permis sur culture le développement d'Aspergillales, nous dirons que le pourcentage des Aspergillales est de 80 %.

- si, parmi ces Aspergillales, dix cultures d'échantillons différents ont permis la différenciation d'Aspergillus typiques, nous dirons que le pourcentage des Aspergillus type, inclus dans celui des Aspergillales, est de 20 %.

Certaines formes sont groupées sous le terme de FUNGI IMPERFECTI. Il s'agit là de moisissures, qui, se développant après enkystement, donnent des filaments mycéliens peu précis, ne sporulant que difficilement ou ayant perdu leurs caractères de détermination, même partiellement. Une dégradation d'espèce caractérise ces formes ; leur détermination apparaît peu aisée (Caumartin 4 et 6). C'est une des difficultés de la classification des moisissures souterraines (Hennebert : I4)

Le tableau XIV indique un coefficient de probabilité d'existence ou de persistance des Aspergillales, mais cette fois, en fonction de la nature ou de la provenance des échantillons considérés.

.../...

Ces tableaux permettent de conclure que les Moisissures les plus fréquemment rencontrées sont des Aspergillales, (80 %). La grande fréquence des Aspergillales s'expliquerait volontiers par leurs larges aptitudes à l'enkystement.

Les Mucorales semblent moins fréquentes (20 %) : les kystes de Mucorales sont très fragiles et ne résistent pas aux conditions d'humidité du milieu.

Le tableau XIV montre un gradient de fréquence d'Aspergillales, décroissant de l'entrée vers le fond d'une grotte : ceci confirme l'hypothèse de départ : les apports extérieurs diminuent de l'entrée d'une grotte vers son fond ou ses parties protégées : la présence de Moisissures est un indice certain de pollution. Mais on comprend que les processus d'enkystement des formes mycéliennes atténuent les résultats observés sous cet angle et estompent la loi ci-dessus, puisque ceux-ci ne peuvent être repérés dans le temps : la durée de conservation des kystes n'est pas encore connue.

Les limons de gour et des ruisseaux sont propices à la conservation des kystes ou au transport des spores de Moisissures.

--:--:--:--:--:--:--

IX . Résultats concernant les Protistes.

Deux tableaux synthétisent les résultats concernant l'observation de Protistes. Le tableau XVI donne le pourcentage de fréquence et une description rapide des types distingués. Le tableau XVII donne le coefficient de probabilité d'existence des Protistes essentiels en fonction de la nature et du lieu de prélèvement.

La forme K est un mauvais témoin : son pourcentage de fréquence faible (6 %) reste l'indice de son extrême rareté. De plus il ne se trouve qu'en milieu aquatique : gours, ruisseaux ou siphons. Peut-être s'agit-il là d'une espèce aquatique ?

Les Ciliés C n'ont été observés que rarement, dans une argile de fond de vasque plus particulièrement (P5).

Les Flagellés F (certains ne possèdent qu'un flagelle et s'apparentent aux Bodonidés, les autres sont biflagellés) semblent posséder des modes de conservation propres, qui les rendent indépendants des autres microorganismes. Leur coefficient de probabilité existentielle dans les limons des ruisseaux (0,14) et les argiles des gours (0,33), loin d'être élevés, laissent supposer que c'est à la faveur du ruissellement lent qu'ils se maintiennent dans les grottes, l'usage de leur flagelle facilitant leur locomotion.

L'association Thécamoebiens T et Protistes nus N à pseudopodes semble la règle, quoique les pourcentages de fréquence des Thécamoebiens (59 %) soit toujours inférieur à celui des Protistes nus (80 %). Les coefficients de probabilité d'existence en fonction des milieux de prélèvements confirment cette association.

Il est remarquable qu'aucun Protiste ne soit décelé dans l'analyse d'un échantillon lorsque les Moisissures en sont absentes: (CII, K3, K4, TI, CI2, I5), ou lorsque ces dernières ne

..../....

TABLEAU XVI : Symboles ; schémas ; descriptions ; pourcentages
de fréquence des divers types de Protistes
rencontrés.

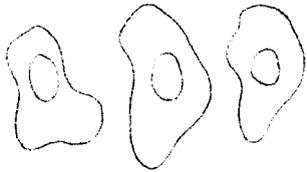
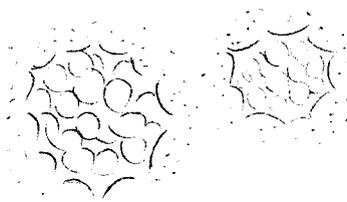
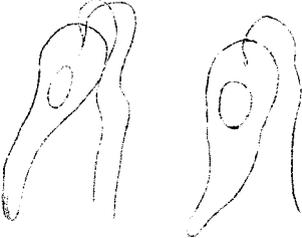
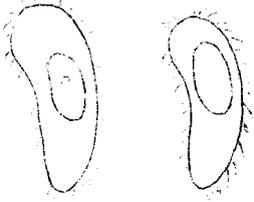
Sym- boles	Schémas correspondants	Nominations et descriptions som- -maires	%
N		<p>Protistes nus de type Amoebiens Déformables par la production de pseudopodes. Mouvements lents.</p>	80 %
T		<p>Type Thecamoeba verrucosa Teinte rouille ou foncée. Coque irrégulière imprégnée de carotène et souvent de limonite.</p>	59 %
F		<p>Flagellés à déplacements rapides Munis parfois d'un seul Flagelle: il s'agit de Bodonidés. Ou alors formes nanties de deux flagelles Genres Bodo et Cercobodo.</p>	32 %
C		<p>Rencontrés en P5 et C9. Ciliés ordinaires, à déplacements rapides, observés peu fréquemment</p>	4 %
K		<p>Rencontrés peu fréquemment. Formes aquatiques de Protistes à coque épaisse.</p>	6 %

TABLEAU XVII :

Coefficients de probabilité d'existence des
Protistes essentiels en fonction de la nature
et du lieu de prélèvement.

	- N -	- T -	- F -
Entrées de grottes	0,85	0,57	0,43
Limons des ruisseaux	0,71	0,43	0,14
Limons des gours	0,66	0,66	0,33
Intermédiaires	0,80	0,60	0,20
Argiles sous planchers stalagmitiques	1	0,33	0,33
Dolomies en décomposition	0,66	0,66	0,66
Argiles à limonite	0,83	0,83	0,50
Argiles de fonds de grottes	0,75	0,48	0,25

.../...

sont que peu fréquentes : S4 . P2 . C7 . L5 .

L'association Champignons Protistes serait donc un test sûr indiquant une protection efficace d'un endroit d'une grotte, lorsque des derniers ne sont pas simultanément observés: L5. CI2. K4 Toutefois, lors d'essais rapides, l'unique mise en culture de Moisissures suffirait à titre de test. Il s'agit là d'un contrôle rapide, les résultats s'observant macroscopiquement sur boîtes de Pétri. L'absence de Champignons impliquerait celle de Protistes. La réciproque ne serait pas exacte. Dans ce sens, nous disons que la pollution par les Protistes reste sous-jacente à la pollution par les Moisissures.

QUATRIEME PARTIE

CONCLUSIONS ET SYNTHESES .

Les résultats synthétisés permettent d'abstraire et de caractériser des types de sédiments souterrains.

Mais qu'un sédiment puisse posséder les caractéristiques de deux types, et même qu'un intermédiaire entre ces deux types, constitue un état de faits à admettre. Et que des circonstances imprévues qui nous échappent momentanément, puissent rendre à tel autre sédiment une certaine originalité, entrerait dans un état de faits également plausibles.

L'isolement et la caractérisation de types souterrains n'ont de valeur que celle de nous clarifier les idées, mais ne sauraient rendre compte de la complexité des facteurs régissant la nature et la répartition de la microflore en un sédiment donné.

Types décrits :

- a- Entrées de grottes.
 - b- Parties protégées de grottes.
 - c- Argile sur paroi : milieu anaérobie.
 - d- Argile sur paroi : milieu aérobie.
 - e- Sédiments sous planchers stalagmitiques.
 - f- Argiles à limonite .
 - g- Dolomie en décomposition.
 - H- Limons des gours.
 - i- Limons des ruisseaux.
-

a- ENTREES DE GROTTES :

Les sédiments d'entrée de grottes sont soumis à tous les apports extérieurs, tant par voie aérienne que par voie aqueuse.

Le test de pollution aux Moisissures donne toujours des résultats positifs. Cette présence de Moisissures implique celle des Protistes, puisque nous avons dit que les pollutions par Actinomycètes et par Protistes sont sous-jacentes à celle des Champignons.

Cette corrélation importante est le témoignage sûr d'apports extérieurs.

Les apports extérieurs sont fréquents. Ceux-ci disparaissent sous l'action des hétérotrophes, puis peut-être de certains Protistes. Cette hétérotrophie est peut-être sous-jacente également à l'association bactérienne : a, b, c. Les ferrobactériales restent omniprésentes : leurs formes de conservation ne sont pas détruites. La minéralisation des protéines est facilitée.

Cet état de pollution se continue et persiste dans le temps.

Nous sommes très proches des horizons pédologiques. Ceux-ci impriment leurs caractéristiques, en les simplifiant, aux sédiments d'entrée, qui constituent un prototype de sol.

b- PARTIES PROTEGEES DE GROTTES :

Théoriquement, les parties protégées des grottes, les fonds bien isolés par des systèmes de chatières arrêtant les courants d'air, isolés aussi des grandes arrivées d'eau, les ramifications latérales (Salle latérale de Sainte Croix par exemple), que nous dirons non polluées, réagissent négativement au test des Moisissures. Pas de Moisissures, ni sous forme enkystée, ni sous forme sporulée, partant aucune présence décelable d'Actinomycètes ou de Protistes. L'absence simultanée de ces trois groupes est un indice sûr de la non pollution du sédiment étudié.

Ferrobactériales et association bactérienne a, b, c sont présentes. Cette association prouve que la vie autotrophe est possible en milieu souterrain. Elle confère aux argiles des grottes leur originalité microbiologique : les synthèses vitaminiques ne

.../...

sont pas contrariées, les germes d'agents de mycose pour les larves d'insectes cavernicoles restent absents.

Les bactéries du soufre existent aussi.

Une région moins protégée sera celle qui de temps en temps sera polluée. L'apport extérieur sera alors détruit par les hétérotrophes, qui pourront se conserver sous formes de germes. Les Champignons pourront persister sous formes de kystes, ces derniers enrayant la propagation par spores, si le milieu est réducteur. Actinomycètes et Protistes ne se conserveront pas faute de matières organiques abondantes.

Donc un état de pollution est toujours dans le temps en régression. Une partie protégée tend à retrouver son équilibre initial.

c- Argile sur paroi : milieu anaérobie :

Il s'agit d'un milieu temporairement inondé, constamment humidifié. Le potentiel d'oxydoréduction y est faible, à tendance réductrice:

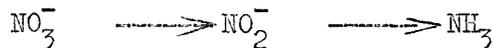
pas de présence d'oxygène : pas d'oxydations possibles.

Cependant les Ferrobactériales oxydant le Fe^{++} en Fe^{+++} pour un rH faible, la présence de ces dernières est plausible, sinon obligatoire. Elles fonctionnent par intermittence, leur action s'arrêtant lorsque les pollutions sont trop grandes.

Des germes, amenés du sein de la roche, permettent en surface la continuité de la réduction des sulfates qui s'effectue toujours au milieu de la dolomie, milieu anaérobie par excellence $SO_4^{--} \longrightarrow S^{--}$. L'oxydation $S^{--} \longrightarrow SO_4^{--}$ ne peut avoir lieu.

L'association bactérienne a, b, c, persiste.

Contrairement à la minéralisation des protéines se déroulent les processus de dénitrification :



Un tel sédiment est propice aux dénitrificateurs.

Persiste également l'association Protistes-Champignons Les Moisissures en milieu réducteur s'enkystent, s'opposant ainsi à la propagation implicite par la sporulation.

d- Argile sur paroi : milieu aérobie .

Ces argiles sont largement aérées. L'oxygène présent permet les oxydations.

Est obligatoire l'oxydation : $Fe^{++} \longrightarrow Fe^{+++}$

La réduction des sulfates ne saurait persister, SO_4^{--} ne peut donner S^{--} . Les germes amenés au sein de la roche disparaissent. Par contre l'oxydation des sulfures se conçoit.

Si la minéralisation des protéines reste plausible :

$NH_2^- \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow NO_3^-$, la dénitrification est à rejeter.

Persistent l'association bactérienne : a-b-c-, l'association Champignons-Actinomycètes s'il existe des courants d'air venant de l'extérieur, l'association Champignons-Protistes s'il existe des apports extérieurs par voie aqueuse.

e- Sédiments sous planchers stalagmitiques :

Les Ferrobactériales persistent. Par contre les hétérotrophes perdent de l'importance et meurent. L'association bactérienne trop commune : a-b-c- se retrouve là aussi. Des dénitrificateurs existent : leur action n'est jamais complète : $NO_3^- \longrightarrow NO_2^-$, mais le stade NH_4^+ ne semble pas devoir être atteint. Ce milieu n'est pas favorable aux Actinomycètes qui ne s'y maintiennent pas. La présence de rares Champignons s'expliquerait par l'enkystement.

f- Argiles à limonite :

L'association des bactéries a-b-c- y demeure, mais non les longs bacilles hétérotrophes d et e.

Les Ferrobactériales agissent intensément. La présence de sulfures de fer facilite la réaction : $S^{--} \longrightarrow SO_4^{--}$. Cette réaction d'oxydation superficielle s'oppose à la réduction des sulfates au sein de la roche mère sous-jacente. Les dénitrifiants agissent, mais ne dépassent pas le stade des nitrites : $NO_3^- \longrightarrow NO_2^-$.

La trop grande concentration en sels du milieu nuit au développement des Actinomycètes, nuit aux développements mycéliens ; la présence de fer ferrique sous forme d'hydrate insoluble ne saurait favoriser la sporulation des Champignons.

.../....

g- Dolomie en décomposition :

Les bactéries du type a-b-c- subsistent et non celles des types d et e.

Les tests des Ferrobactériales se révèlent positifs.

Les germes dénitrificateurs ne s'y conservent pas.

La trop importante concentration en ions minéraux nuit au développement des Actinomycètes.

L'association Champignons-Protistes s'explique par des apports extérieurs par voie aqueuse.

h- Limons de gours :

Les gours sont des pièces d'eau dont nous avons exclu la photosynthèse par les Algues. Elles recueillent tout ce qui vole dans une grotte.

Les bactéries des cinq types a-b-c-d-e- sont fréquentes. La présence des hétérotrophes se révèle indispensable au déblaiement des substances organiques étrangères.

L'oxydation $S^{--} \longrightarrow SO_4^{--}$ est liée à la formation superficielle de pellicules de calcite flottante.

La présence des dénitrificateurs s'explique par le milieu réducteur. Les Ferrobactériales peuvent néanmoins agir, leur potentiel d'oxydoréduction étant peu élevé.

Des Protistes spéciaux peuvent apparaître, rarement il est vrai : Ciliés et types K. Peu de Flagellés dans ce milieu, mais par contre les germes de Moisissures se conservent préférentiellement.

De plus les Actinomycètes ne persistent pas en de tels milieux.

i- Limons des ruisseaux :

L'association bactérienne va de pair avec celle des hétérotrophes (ensemble a-b-c-d-e-). Ce milieu ne facilite pas les oxydations ; les dénitrificateurs y sont ainsi présents. Par contre les Ferrobactériales agissent et restent présentes. L'oxydation de S^{--} en SO_4^{--} va de pair avec la formation d'une pellicule de calcite flottante. Comme dans le milieu précédent, les Actinomycètes ne demeurent pas dans les limons des ruisseaux, les Flagellés persistent rarement, mais les germes mycéliens se conservent préférentiellement.

Nature du sédiment		Bactéries a-b-c	Bactéries hétérotro- phes.	Ferro- bactériales	Protéines	Thio- bactériales	Actino- mycètes	Moisis- sures.	Protistes
Argiles d'entrée de grottes	Apports extérieurs certains et persistants. Affinités avec les horizons pédologiques superficiels	+	+	+	Minéralisa- tion		+	+	+
Limons des ruisseaux	Peu d'oxygène. rH faible.	+	+	+	Dénitri- fication		Peu favors- ble	+	Peu favors- ble
Limons des gours	Milieu aqueux. Apports extérieurs.	+	+	+	Dénitri- fication	$S^{--} \rightarrow SO_4^{--}$	Peu favors- ble	+	Ciliés
Argiles sur parois : milieu anaérobie.	Milieu humide. rH faible. Apports extérieurs plausibles	+	Plausible	+	Dénitri- fication.	$S^{--} \rightarrow SO_4^{--}$		+ par enkys- tement.	+
Argiles sur parois : milieu aérobie.	Oxygène. rH élevé. Apports extérieurs plausibles	+	Plausible	+	Minérali- sation	$S^{--} \rightarrow SO_4^{--}$	+	+	+
Argiles sous planchers stalagmitiques défoncés.	Protégé des apports extérieurs	+	Peu favorable	+	Dénitri- fication		Peu favors- ble	Peu favors- ble	
Dolomie en décomposition.	Apports extérieurs plausibles	+	Plausible d et e absents	+	Minérali- sation		Peu favors- ble	+	+
Argiles à limonite.	Apports extérieurs plausibles	+	Plausible d et e absents	+	Dénitri- fication	$S^{--} \rightarrow SO_4^{--}$	Peu favors- ble	Peu favors- ble	
Argiles de fonds de grottes	Pas d'apports extérieurs Sédiments originaux de grottes.	+		+	Minérali- sation.	Existent	-	-	-

TABLEAU XVIII : Tableau synoptique : Ecologie des Microorganismes dans les sédiments des cavernes.

C. CONCLUSION GENERALE .

Complexifiée, notre hypothèse de départ doit l'être en superposant aux notions spatiales de l'équilibre des microflore endogées et exogées, aux notions spatiales de la pollution d'une grotte par courants aériens, par circulations internes d'eaux sous toutes leurs formes, par les activités humaines, des notions temporelles. Le facteur temps se doit ici d'entrer en jeu. Tel endroit de grotte inondée en mauvaise saison se verra superficiellement devenir milieu d'anaérobiose, lors même qu'à la saison sèche suivante, les conséquences et les résultats pourront s'opposer, les conditions se rapprochant de l'aérobiose et la microflore changeant. Telle grotte non découverte n'a pu qu'élaborer et conserver au cours des siècles une microflore qui ne peut que lui être spécifique. La découverte de cette dernière entraîne la présence humaine, l'apport de déchets organiques de l'extérieur, l'apport de germes supplémentaires et nouveaux. Ce qui se traduit non pas tant par un déséquilibre floral spatial, mais bien temporel. Combien d'années faudrait-il à cette grotte virtuellement pensée, et n'étant qu'une fois et une seule visitée par les spéléologues, pour retrouver son équilibre initial ?

La juxtaposition ou l'interpénétration, la suite continue ou discontinue des sédiments dans une grotte se révèle complexe également. Des échantillonnages fréquents et plus nombreux, des nombres plus abondants, pallieraient une certaine imprécision de nos premiers résultats. Une analyse plus précise, un champ d'expérimentation étendu dans le temps, l'intervention de la nature physico-chimique du sédiment, pallieraient de même ces imprécisions.

Les premiers résultats sont prometteurs, cette étude mérite d'être poursuivie, d'autant plus, le microscope électronique étant utilisé, qu'une ultramicroflore vient d'être décelée dans les sédiments argileux des grottes.



Planche I. Photo I.

Bactéries du milieu II à l'extrait de viande.

Colorées à l'érythrosine phéniquée.

Immersion : 8×105

Types a-b-c-d (longs hétérotrophes flexueux)

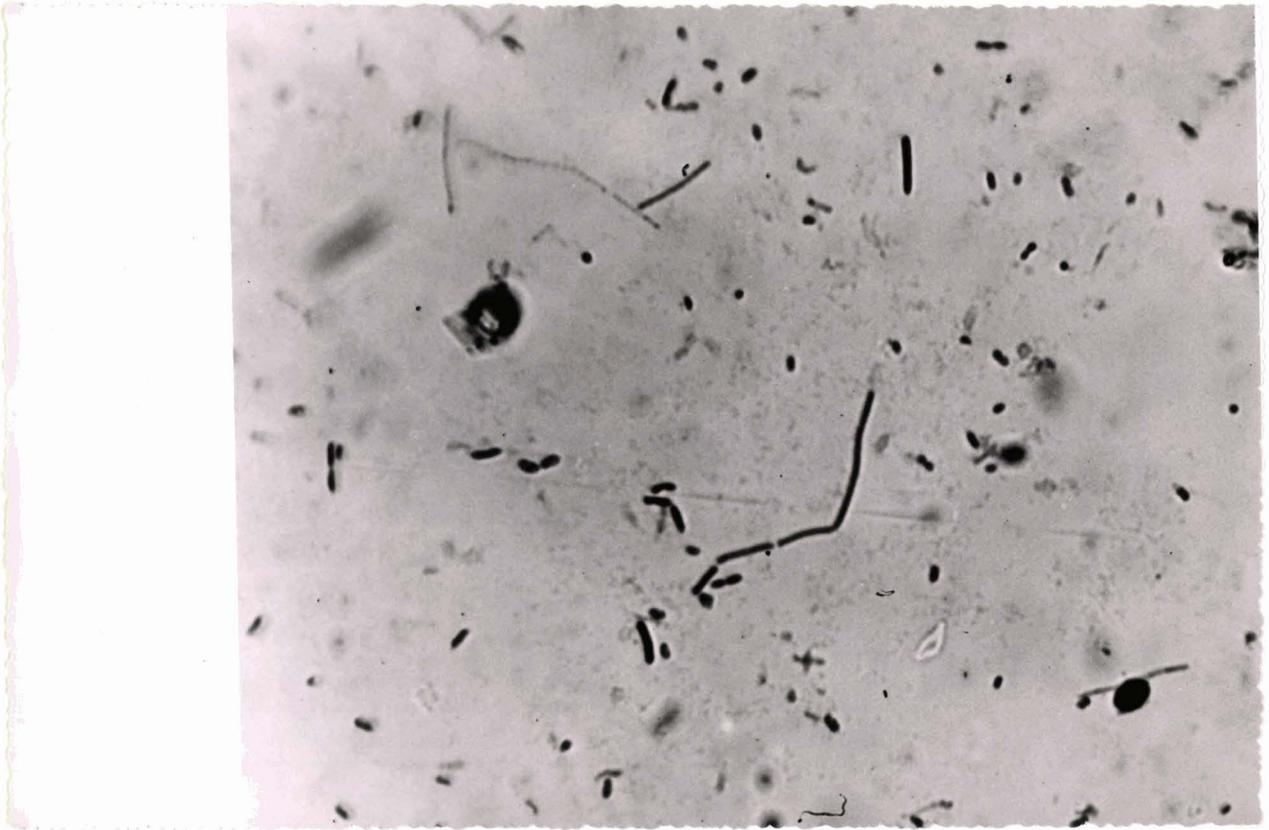


Planche II. Photo 2.

Bactéries du milieu I à l'extrait de terre.

Colorées à l'érythrosine phéniquée.

Immersion : 8 x 105.

Types a-b-c-d-e- (hétérotrophes ponctués et non ponctués).

Planche III. Photo IV

Bactéries à contour rectangulaire .f.

Colorées à l'érythrosine phéniquée

Immersion 8 x 105



Planche III. Photo III.

Cocci du milieu à la streptomycine

Immersion: 8 x 105

X1.





Planche IV. Photo V

Actinomycètes: type: p.

Mycélium végétatif segmenté, en éléments

Apparentés aux Nocardia.

Colorés. au bleu de lactophénol.

Microscope: 8 x 60



Planche V. Photo VI.

Actinomycètes type a.

Mycélium indivis à ramifications latérales.

Apparentés aux Streptomyces.

Colorés au bleu de lactophénol.

Microscope: 8 x 60

Planche VI. Photo VII.

Kystes en formation sur filaments de Rhizopus

après aspersion de la culture par NaSH

Coloration au carmin acétique ferrique

Grossissement: 450

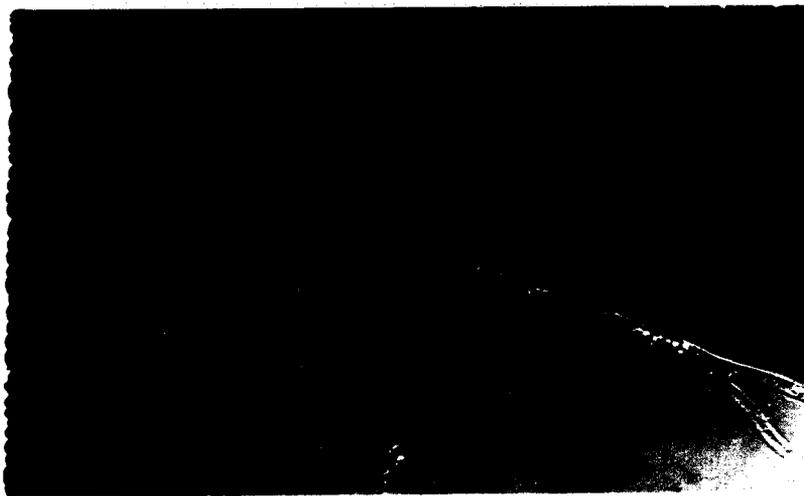


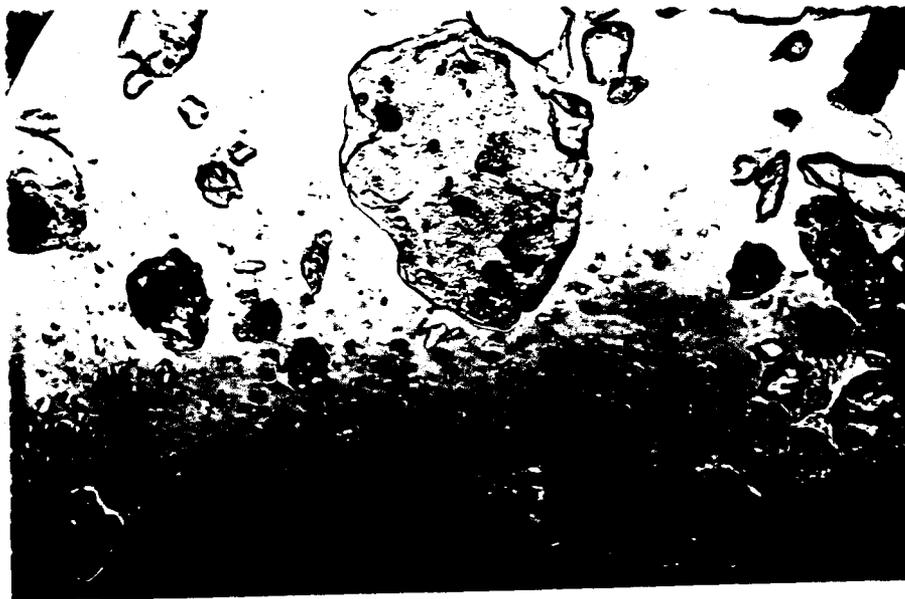
Photo VIII.

Kystes de champignons sur pellicule de calcite flottante,

préparés et photographiés après passage à la colonne filtrante.

Sans coloration.

Grossissement: 450



BU
LILLE

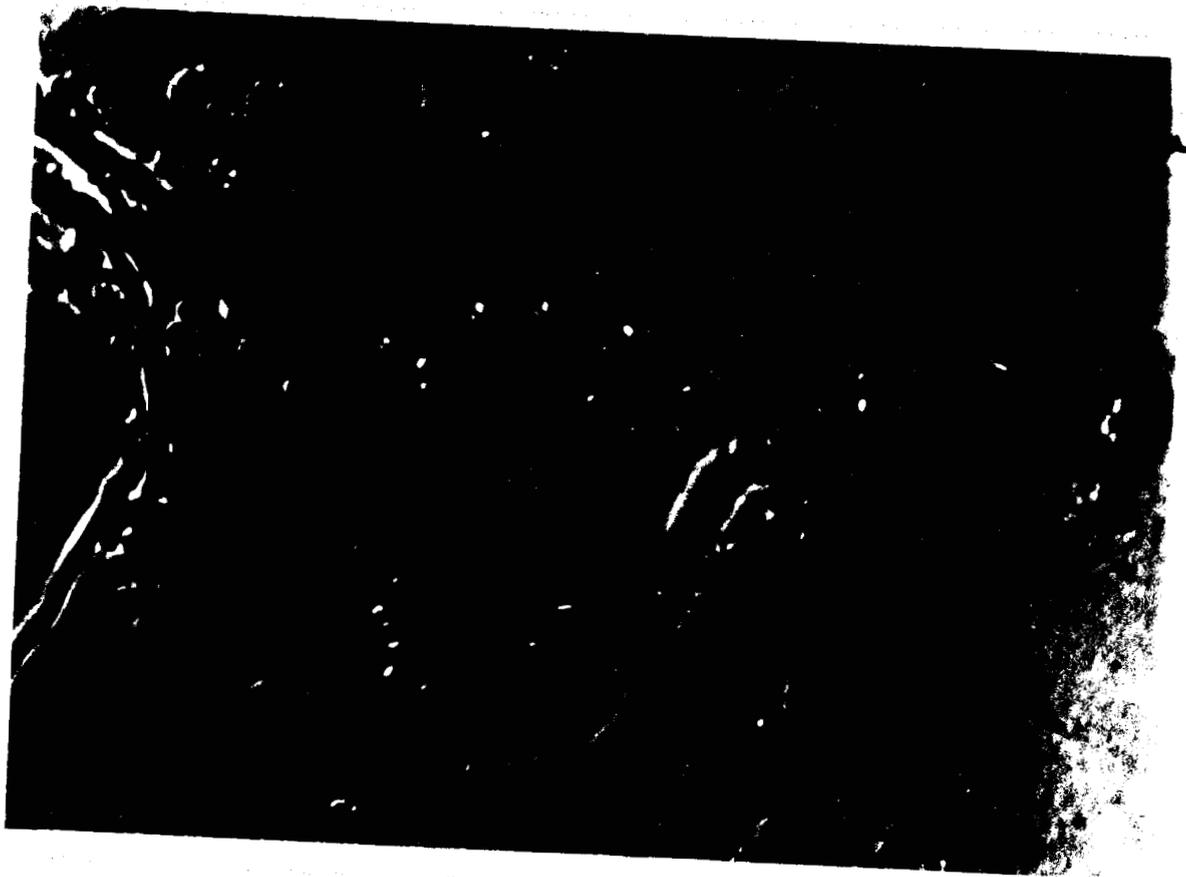


Planche VII. Photo IX.

Tête de Penicillium.

d'après le milieu à la streptomycine rose Bengale.

Colorée au carmin acétique ferrique

Microscope: 8 x 60



Planche VIII. Photo X
Penicillium et piceaux
sans coloration
8 x 25



BIBLIOGRAPHIE .

OUVRAGES GENERAUX .

- I. Traité de microbiologie des sols.
Pochon J. et de Barjach H. Dunod. Paris. 1958.
- II. Manuel technique d'analyse microbiologique du sol.
Par Pochon J. 1954. Masson et C^o. Paris.
- III. Microbiologie Pratique . Par Sartory et Meyer.
1950. Maloine. Paris.
- IV. Microbiologie du sol. Problèmes et méthodes. Cinquante ans de
recherches. Winogradsky S. Masson . 1949.

MICROBIOSPELEOLOGIE .

- I. Caumartin V. 1957.
La microflore des cavernes. Notes biospéologiques. Tome XII, p.59-64.
2. Caumartin V. 1957.
Recherches sur une bactérie des argiles des cavernes et des
sédiments ferrugineux.
Compte-rendu des Séances de l.^a Académie des Sciences. Tome 245.
p.I 758-I 760
3. Caumartin V. et Renault P. 1958.
La corrosion biochimique dans un réseau karstique et la genèse du
mondmilch. Notes biospéologiques. Tome XIII. p 87-109.
4. Caumartin V. 1959.
Quelques aspects nouveaux de la microflore des cavernes.
Annales de spéologie. Tome XIV.^a FASC. I-2. P. 147-157.
5. Caumartin V. 1959.
Aspect morphologique et position systématique du Perabacterium
spelei. Bulletin de la Société de Botanique du Nord , 2^o trimestre 59.
6. Caumartin V. 1961.
Le comportement des Moisissures des cavernes.
Congrès de Biospéologie de Vienne, Septembre 1961 .

