

Bull. Inst. r. Sci. nat. Belg. Bull. K. Belg. Inst. Nat. Wet.	Bruxelles Brussel	30-XI-1982
54	B I O L O G I E	3

MICROORGANISMES ASSOCIES A LA NEIGE EN BELGIQUE

PAR

Z. DARTEVELLE-MOUREAU, P. GROOTAERT

et

E. BREDAEL-ROZEN

(Avec 7 photos dans le texte)

1. INTRODUCTION

La neige examinée avant son impact au sol, peut contenir une grande variété de particules : sable, terre, algues, lichens, champignons, levures, ainsi que des dizaines, des milliers, voire des centaines de milliers de bactéries par ml de neige fraîchement fondue.

Les microorganismes peuvent être introduits dans l'atmosphère au départ de sources diverses : le sol, l'eau, la surface des végétaux ou des habitations, les animaux et les activités humaines diverses.

Ainsi CLIFTON (1958) signale que les levures et champignons peuvent être particulièrement abondants au-dessus des vignobles et des vergers, tandis que GELDREICH *et al.* (1968) ont démontré la contamination fécale des eaux d'orage, les coliformes provenant des déjections déposées sur le sol par les animaux.

La résistance des organismes atmosphériques ou aéro-plancton à certains agents physico-chimiques a été plusieurs fois démontrée.

EHRlich *et al.* (1970) ont effectué des essais de survie de *Flavobacterium* sp. et de *Bacillus subtilis* en aérosols de températures différentes. Si *Bacillus subtilis* est avantagé par sa capacité de sporulation, *Flavobacterium* par contre est défavorablement influencé par l'élévation de la tem-

pérature de l'air, principalement au-dessus de 20 °C. Toutefois, ce qui nous intéresse ici, cette cellule végétative possède une mortalité minimale aux basses températures et peut subsister jusque - 40 °C.

S'il est bien connu que le froid affecte peu la survie des bactéries, les ions de l'air par contre exercent en général un effet néfaste.

TCHIJEVSKY *et al.* (1933), cités par KRUEGER (1969), furent les premiers à constater que l'atmosphère d'un espace clos finit par devenir stérile sous l'effet des ions atmosphériques, qui s'avèrent léthaux pour les bactéries.

KRUEGER *et al.* (1957) (1969) ont fait des observations intéressantes sur la signification biologique des ions de l'air.

Dans leur publication de 1975, KRUEGER *et al.* soulignent cet effet sur les bactéries; soit que le contact de celles-ci avec les ions entraîne la formation de radicaux qui serviront de médiateurs physiologiques actifs, soit que les ions provoquent un changement fonctionnel de la cellule hôte par l'intermédiaire de leur charge.

A titre d'information nous avons relevé dans la littérature quelques valeurs de dénombrements de bactéries de l'air. BOURBON *et al.* (1972), lors de prélèvements dans le centre de Toulouse, ont trouvé un nombre total de 440 à 5.660 bactéries par m³ d'air. Ces auteurs constatent un maximum en juin, une diminution au cours de l'été et un nouvel accroissement en automne. Ils n'observent aucune corrélation avec la pollution chimique, celle-ci étant par ailleurs faible. Le pourcentage de microflore fongique par rapport au total varie de 21 à 65 %. Le genre *Bacillus* est dominant (45 à 65 %), les *Micrococcaceae* gram + sont bien représentés et les *Corynebacterium* relativement abondants (2 à 23 %).

Toujours dans l'air de Toulouse, BREUILLAUD *et al.* (1974) ont détecté 1 à 7 % d'actinomycètes, surtout *Streptomyces* et *Nocardia*, dont l'origine est apparemment tellurique.

BOVALLIUS *et al.* (1978) ont dénombré les bactéries de l'air durant une période de 3 ans, dans 4 localités suédoises, avec les résultats suivants :

	Bactéries	Moyenne
Zone côtière	0 à 560/m ³	63/m ³
Parc urbain	100 à 2.500/m ³	763/m ³
Rue urbaine	100 à 4.000/m ³	850/m ³
District agricole	2 à 3.400/m ³	99/m ³

Les chiffres sont plus élevés, tant à la campagne qu'à la côte, lors des périodes de grand vent. En ville, des valeurs plus basses se rencontrent quand le sol est couvert de neige, ce qui semble indiquer que les averses de neige nettoient temporairement l'air de ses microorganismes et que le recouvrement du sol par la neige prévient la dissémination des bactéries telluriques.

Les mêmes auteurs ont eu l'occasion de rencontrer une concentration bactérienne particulièrement élevée, dans l'air du 18-II-1969. Le 5 mars

de la même année ils ont observé une chute de neige rouge qui, comme l'air du 18 février, contenait uniquement des germes sporulés du genre *Bacillus*. Ils ont effectué des recherches sur la trajectoire parcourue et ont constaté, ce qui fut confirmé par l'analyse pollinique, que le matériel était originaire de la mer Noire.

Cette observation met en évidence la possibilité de transfert à longue distance de matériel biologique.

FULTON et MITCHEL (1966), étudiant la haute atmosphère, ont observé une différence significative entre les microorganismes des masses d'air océaniques et des masses d'air continentales, avec un nombre plus élevé dans ces dernières (150 à 1.450/m³).

Au niveau de la côte, il y a approximativement autant de bactéries que de microchampignons, mais la proportion de ces derniers augmente avec l'éloignement de la côte en direction du continent.

LACY *et al.* (1970) sont parmi les quelques chercheurs qui ont travaillé sur la neige, et ceci dans l'Antarctique.

Dans un névé constitué depuis une douzaine d'années, ils n'ont pas trouvé de microorganismes. Par contre, *Bacillus subtilis* a été trouvé dans l'air, mais considéré comme un contaminant du camp.

A des sites éloignés du camp, ils ont observé dans l'air quelques bactéries chromogènes qui n'ont, semble-t-il, pas été déterminées.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Sites

5 sites ont été examinés en vue du dénombrement et de l'identification des germes contenus dans la neige :

- a. la plate-forme qui recouvre le 20^{me} étage de l'Institut royal des Sciences naturelles de Belgique à Bruxelles;
- b. les jardins, au niveau du sol, au pied du même bâtiment;
- c. le sommet d'une colline calcaire de la Calestienne sur le territoire de Petigny (Couvin), petit village préservé d'industries polluantes;
- d. un bois de type fagnard, la « taille du vivier », bordé au sud par le lac de Virelles;
- e. accessoirement un chemin forestier à Mirwart en Ardenne.

2.2. Moments de récolte

2 temps de récolte ont été choisis :

- a. récolte de la neige au vol, avant son impact sur le sol, dans une boîte de Petri stérile;
- b. neige ancienne, prélevée sous la surface après avoir écarté celle-ci au moyen d'un instrument stérile.

2.3. D é n o m b r e m e n t d e s b a c t é r i e s

La neige récoltée est immédiatement fondue à la température du laboratoire. Il en est effectué des dilutions décimales. 1 ml de chacune des dilutions est incorporé dans des boîtes de milieu nutritif (Tryptone Glucose Extract Agar, Difco) et incubé à la température de 20 °C.

Les comptages sont réalisés lorsque les colonies sont bien développées, soit après une semaine au minimum.

2.4. I d e n t i f i c a t i o n d e s b a c t é r i e s

La totalité des boîtes de culture contenant une dizaine de colonies nettement différenciées est soumise à une étude systématique au moyen de la méthode « Miniték » déjà éprouvée en nos laboratoires (VLAYEN, 1981) et de tests enzymatiques traditionnels.

Des milieux spécifiques ont été utilisés pour détecter les souches caractéristiques.

L'identification des souches isolées est basée sur la clé de détermination du Bergey's manual (BUCHANAN et GIBBONS, 1975).

2.5. A n a l y s e c h i m i q u e d e l a n e i g e

Des dosages de nitrites et nitrates sont réalisés au moyen d'un analyseur automatique de type CENCO.

2.6. O b s e r v a t i o n s a u m i c r o s c o p e

Le résidu de neige filtrée sur membrane nuclepore 0,40 μm est observé au microscope optique sous contraste interférentiel ou au microscope électronique à balayage.

Pour l'observation au microscope à balayage, nous fixons le matériel selon la technique de PAERL et SHIMP (1973).

Les préparations sont recouvertes d'une couche d'or de 28 nm et examinées avec un appareil de type Philips 501.

2.7. D o s a g e s d e s m é t a u x l o u r d s

Nous avons eu la possibilité d'effectuer quelques dosages de métaux lourds de certains échantillons de neige.

Nous joignons les résultats à ce travail.

Les analyses ont été réalisées sur un spectrophotomètre d'absorption atomique Perkin-Elmer HGA 76 B par P. POULTIER (I. R. S. N. B.).

3. ANALYSE DES RECOLTES

3.1. Résultat des dénombrements de bactéries

Les résultats sont représentés par la moyenne des diverses dilutions significatives exprimées en nombre de germes par ml.

a. neige fraîche récoltée au vol

Lieu	Date et heure	Bactéries ou levures par ml	Fungi
Bruxelles, niveau sol Institut (tempête)	14-II-79	600.000	non comptés
Petigny, colline calcaire .	17-XII-80	12	5
Bruxelles, toit Institut ...	18-II-81 9 h 30	20	25
	11 h 00	25	39
Bruxelles, niveau sol Institut	18-II-81 9 h 30	48	50
	11 h 00	14	16

b. neige ancienne récoltée en profondeur

Bruxelles, niveau sol Institut	Chute le 20-I-79 Réc. le 25-I-79	13.067	non comptés
Bruxelles, niveau sol Institut	Chute le 7-XII-80 Réc. le 10-XII-80	2.070	95
Bruxelles, toit Institut ...	Chute le 7-XII-80 Réc. le 10-XII-80	1.810	140
Virelles, bois fagnard ...	Chute le 7-XII-80 Réc. le 13-XII-80	11.350	8.050
Mirwart, sentier forestier	Neige ancienne de plusieurs semaines Réc. le 13-III-79	540.000	non comptés

On voit que la neige fraîche contient en moyenne, dans le cas de nos échantillons, quelques dizaines de bactéries par ml et autant de champignons.

Après 3 jours, le nombre a centuplé tandis qu'après une semaine, il vaut 1.000 fois plus, tant à la ville qu'à la campagne. Après plusieurs semaines il est 10.000 fois supérieur.

Evidemment la généralisation est abusive puisqu'il s'agit d'échantillonnages qui ne sont pas rigoureusement répétés au même endroit.

La grande quantité de bactéries observées dans la neige récoltée au vol le 14-II-79 peut s'expliquer par la violente tornade qui accompagnait la chute de neige.

3.2. Résultat des identifications de bactéries

132 colonies ont été isolées et purifiées en vue de leur identification. 75 souches se sont développées sur milieu usuel et ont pu être identifiées. Elles se répartissent de la manière suivante :

Corynéformes	24
Levures	11
Incertae sedis	9
<i>Staphylococcus</i>	8
<i>Micrococcus</i>	7
<i>Xanthomonas</i>	5
<i>Bacillus</i>	4
<i>Flavobacterium</i>	3
<i>Pseudomonas</i>	1
<i>Actinomycète</i>	1

Les Corynéformes sont relativement nombreux.

Ces bactéries constituent un des éléments importants de la microflore de l'air et se comportent en général comme des saprophytes (BREUIL-LAUD *et al.*, 1974).

On sait que leur origine est souvent tellurique. Nous avons nous-mêmes constaté leur importance quantitative dans les sols et dans la microflore épiphyte des choux (VLAYEN et DARTEVELLE, 1982).

Ce sont des batonnets gram +, non sporulés, immobiles, pléomorphes, de taille variable, contenant quelquefois des granules métachromatiques et étant le plus souvent pigmentés.

Les souches étudiées ici ne prennent pas de formes coccoïdes et n'hydrolysent pas la cellulose, ce qui permet d'exclure les *Arthrobacter* et les *Cellulomonas*.

Etant donné qu'elles ne cultivent pas à 37 °C, nous pouvons les considérer comme non pathogènes pour l'homme et les animaux (BUTTIAUX *et al.*, 1969).

Dans la dernière édition du Bergey's manual, les genres *Brevibacterium* et *Kurthia* ne sont plus considérés que comme « genus incertae sedis ».

Notre but n'étant pas de déterminer l'espèce, nous nous bornons à attribuer à nos souches le terme de Corynéformes saprophytes ou, éventuellement, pathogènes de végétaux.

Les Staphylocoques et Microcoques se retrouvent normalement dans l'air. Ils se sont même révélés dominants lors d'une étude faite par DIAB *et al.* (1976) sur l'atmosphère de Koweït. Les espèces rencontrées sont difficiles à identifier car elles ne répondent pas aux critères habituels, ce

qui est d'ailleurs le cas de la majorité des germes saprophytes. Ils sont ubiquistes, variés, et nous ne disposons pas, pour les identifier, d'un arsenal de tests spécifiques comme ceux qui ont été longuement mis au point pour les bactéries pathogènes.

Les Microcoques, quoique répondant aux critères du genre, n'oxydent aucun sucre et ont d'ailleurs des réactions négatives envers la plupart des tests enzymatiques.

Les Staphylocoques, quant à eux, distincts des microcoques par leur métabolisme oxydo-fermentatif, résistent à la novobiocine et n'ont pas de coagulase, ce qui permet d'exclure les formes pathogènes.

Les levures rencontrées sont également des organismes saprophytes. Elles ne sont pas identifiées mais nous avons néanmoins réalisé les tests de sporulation et filamentation requis pour la détection des levures pathogènes du genre *Candida* (Segretain *et al.*, 1979) auquel il s'avère exclu qu'elles appartiennent.

La particularité de ces levures réside dans le pouvoir d'hydrolyse de l'urée et de réduction de l'esculine. Elles n'oxydent pratiquement pas les glucides à l'exception du raffinose. 9 sur 11 sont pigmentées.

Nous ne ferons pas de commentaires sur les autres germes, qui sont moins bien représentés et qu'il est logique de rencontrer dans tout milieu naturel.

Il n'existe pas de différence qualitative significative, entre les bactéries en fonction du temps ni en fonction du lieu, que la neige soit recueillie au vol ou au sol. Par contre les levures, quoique présentes dans la neige à Bruxelles, proviennent principalement des sites ruraux (11/15).

Parmi les 132 colonies, 44 souches ont dégénéré en cours de culture. 13 autres souches ont eu une croissance trop faible pour pouvoir réaliser les tests d'identification.

Ces résultats mettent en évidence la nécessité d'identifier les germes qui croissent difficilement sur milieu usuel. Ceci fait l'objet de la seconde partie de ce travail.

Les microchampignons n'ont pas été déterminés si ce n'est le genre le mieux représenté (31/43) qui s'est avéré être un *Penicillium*.

3.3 Résultats du dosage de métaux lourds (neige de Bruxelles)

Exprimés en ppm	Cd	Cu	Fe	Pb	Zn
<i>Neige du 21-XII-1979</i>					
Récoltée au vol, toit Institut ...	0,001	0,032	0,250	0,110	0,090
<i>Neige du 07-XII-1980</i>					
Récoltée au sol					
Niveau toit Institut	0,006	0,220	6,20	1,4	0,250
Niveau sol Institut	0,0058	0,067	7,06	0,734	0,265

4. EXPERIMENTATION

4.1. Problèmes posés

Afin de parfaire la compréhension des observations réalisées précédemment, il nous a paru indispensable de pouvoir répondre aux questions suivantes :

- Les bactéries continuent-elles à proliférer au sein de la neige ?
- La culture *in vitro* est-elle favorisée à basse température ?
- Quelles sont les bactéries dominantes qui ne peuvent croître ou croissent difficilement sur milieu au Tryptone ?

4.1.1. Les bactéries prolifèrent-elles au sein de la neige ?

Il est possible que les bactéries de l'air servent de noyau de condensation aux flocons de neige. Afin de vérifier si les bactéries, arrivées au sol, peuvent proliférer, nous avons installé un cadre de bois de 1 m² sur la plate-forme du 20^{me} étage de l'Institut royal des Sciences naturelles. Il a été partiellement comblé par la neige et lorsque celle-ci a cessé de tomber nous avons recouvert le cadre d'un couvercle afin d'empêcher l'apport atmosphérique ultérieur.

Un thermomètre à minima-maxima a été placé dans un coin de la surface ainsi délimitée.

La neige fut prélevée dans le cadre après 1, 2 et 4 jours afin d'effectuer des dénombrements.

Cette plate-forme, réchauffée inévitablement par le bâtiment, n'a pas conservé la neige plus d'une semaine. Par la suite nous avons effectué des examens et des photographies de la neige du sol, où elle s'est maintenue près de 3 semaines.

4.1.2. La culture est-elle favorisée à basse température ?

Afin de résoudre cette question, des dénombrements ont été effectués en parallèle sur des cultures incubées à 4 °C.

4.1.3. Quelles sont les bactéries caractéristiques de la neige ?

Afin d'identifier les germes qui croissent difficilement sur milieu usuel nous avons repiqué les souches sur milieux spécifiques (POCHON et TARDIEUX, 1962) :

- a. milieu entièrement minéral;
- b. milieu à base d'urée ou d'asparagine;
- c. milieu dépourvu d'azote.

4.2. Résultats des expérimentations

4.2.1. Résultats des dénombrements

	Bactéries et levures	Fungi
Chute le 11-I-82		
Récolte du 12-I-82	128/ml	187/ml
Récolte du 13-I-82	8/ml	43/ml
Récolte du 15-I-82	10/ml	40/ml

La température au sein de la neige était à peine négative le 1^{er} jour. Durant la nuit du 12 au 13, elle est descendue à -9°C , et durant la nuit du 14 au 15 à $-8,5^{\circ}\text{C}$. Ce refroidissement a empêché la reproduction bactérienne normale.

Par la suite la température est devenue positive et la neige a fondu rapidement.

4.2.2. Isolement des souches dénombrées

Parmi les colonies dénombrées sur les boîtes de culture du 12-I-82 nous avons isolé 86 souches, dont 24 levures et 62 bactéries :

- 17 jaune-orange;
- 17 roses;
- 15 jaunes;
- 10 blanches;
- 2 orange;
- 1 corail.

Les coques sont jaunes tandis que les bactéries caractéristiques de la neige, croissant difficilement sur milieu usuel, se composent toujours de souches roses ou jaune-orange (34/86). Les autres couleurs correspondent aux bactéries que l'on rencontre habituellement.

La pigmentation ne peut servir de critère de détermination; néanmoins une longue habitude nous permet de l'utiliser pour effectuer un premier tri.

Cette fois nous n'avons pas tenté de déterminer les genres, nous contentant d'effectuer des colorations de gram et d'essayer de nouveaux substrats pour les souches difficiles, caractéristiques de la neige.

4.2.3. Culture à basse température

Les cultures incubées à 4°C ont révélé après 5 semaines, un nombre de colonies près de 10 fois inférieur à celui obtenu après incubation à 20°C .

Les levures et champignons étaient cette fois en nette majorité. Toutefois, comme cet essai a été réalisé sur milieu usuel et non sur milieu spéci-



Fig. 1. — Microscopie optique. 1200 ×.
Protococcus sp.



Fig. 2. — Microscopie à balayage.
Résidu de neige filtrée. Spores, coques, et matériel inorganique.

fique, il est certain que nous avons défavorisé les bactéries caractéristiques de la neige qui sont inhibées par la matière organique.

4.2.4. Observations au microscope

Une première observation optique de neige fondue, sur matériel frais, nous a permis de visualiser d'innombrables particules minérales, des algues du genre *Protococcus* et des spores de champignons, ovoïdes ou sphériques (photo 1).

Après 15 jours de stagnation de la neige au sol, sous température positive le jour, un nouvel examen a montré les mêmes particules. En outre certaines spores de champignons avaient germé et nous avons observé 1 rotifère et 1 infusoire. Les bactéries étaient abondantes dans chaque champ microscopique, ce qui indique une multiplication du nombre d'origine.

Une première observation des particules retenues par filtration sur membrane nuclépore de $0,40\ \mu\text{m}$ a été réalisée au microscope électronique à balayage. Ceci nous a permis de constater que la neige contenait un grand nombre de fines bactéries aptes à traverser les pores de la membrane, c'est-à-dire ayant un diamètre inférieur à ceux-ci.

Nous avons alors filtré de la neige et coulé des parties aliquotes de 5 ml de filtrat en Tryptone Glucose Extract Agar. Nous avons obtenu des centaines de petites colonies à peine visibles, croissant difficilement, gram -, dont la morphologie est malaisée à préciser au microscope optique à grossissement 1.200 X. Même isolées et repiquées, les colonies restent minuscules et ne permettent pas les tests d'identification habituels. Elles ne fixent en tout cas pas l'azote atmosphérique.

Lors de la même observation au microscope à balayage nous avons photographié les éléments les plus représentatifs de la neige : bactéries mais aussi algues et spores de champignons, plus un élément qui pourrait être un grain de pollen (photos 2, 3 et 4).

Comme ces éléments étaient dispersés et que nous souhaitions avoir un aperçu plus dense des formes bactériennes présentes, nous avons cultivé un ensemble de souches pures isolées de la neige. Leur mélange a été filtré, fixé et photographié par la même technique. On peut observer de gros *Bacillus*, des bâtonnets moyens et petits ainsi que des coques de divers diamètres (photo 5).

Toutefois les bactéries à croissance lente sont désavantagées dans la culture mixte, ou tout au moins se développent trop tardivement. On ne les observe pas parmi les autres.

En conséquence une troisième série de photos a été réalisée uniquement sur des cultures de ces germes irréguliers, non sporulés, gram -, catalase +, contenant généralement aux extrémités des granules de nature lipidique colorables au noir Soudan B. Ces caractères ne se reconnaissent évidemment pas au balayage si ce n'est l'irrégularité de la forme (photos 6 et 7).

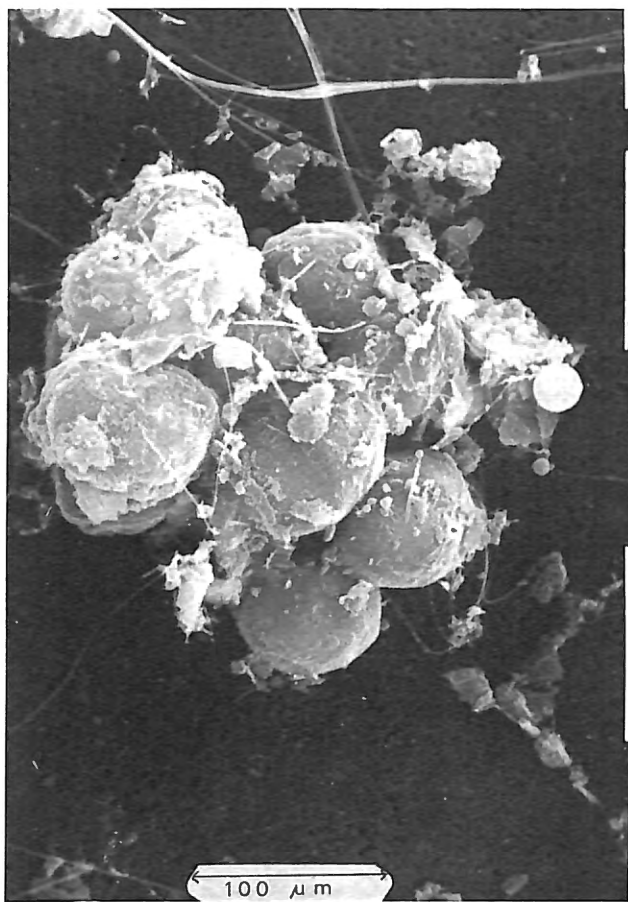


Fig. 3. — Microscopie à balayage.
Protococcus sp.

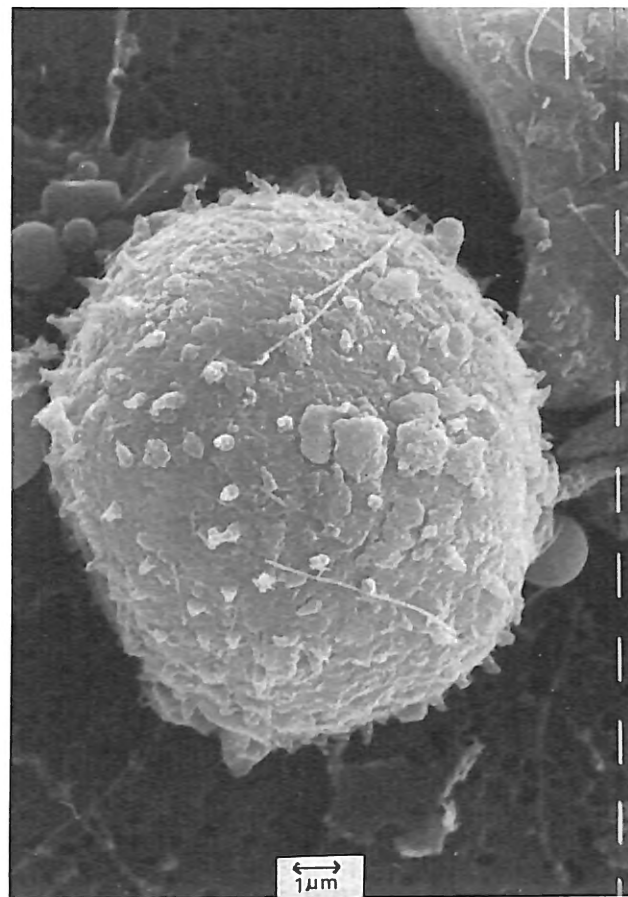


Fig. 4. — Microscopie à balayage.
Structure sphérique présente dans la neige.

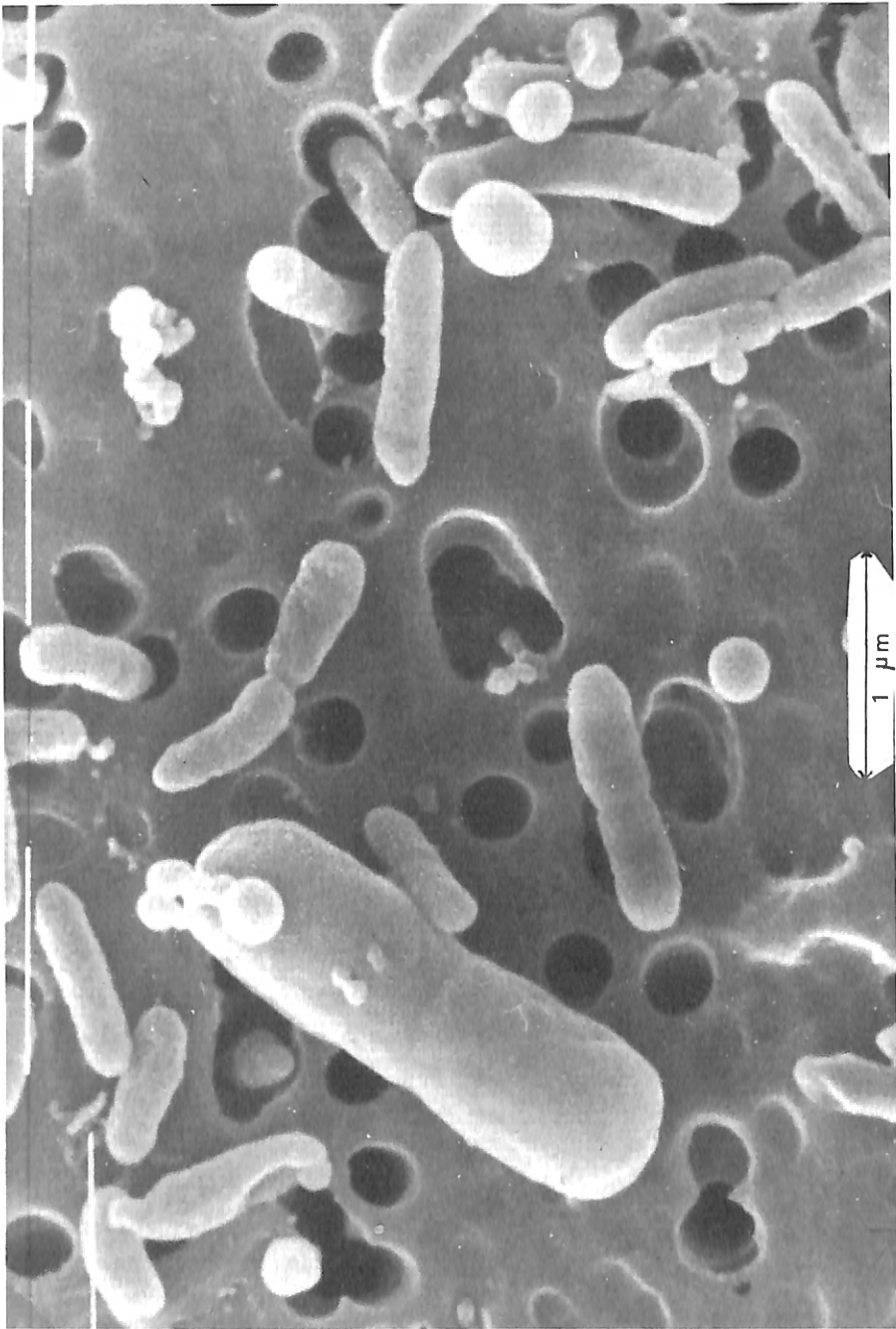


Fig. 5. — Microscopie à balayage. Culture de bactéries isolées de la neige.

4.2.5. Culture des germes caractéristiques sur milieux spécifiques

Les cultures sur milieu minéral se sont révélées négatives.

Par contre les 34 souches roses et orangées, à l'exclusion des autres, ont pu croître sur milieu dépourvu d'azote et contenant du carbone organique.

Il résulte de ceci que les souches caractéristiques de la neige sont des *Azotobacteraceae*.

Il est hors de doute que ces organismes doivent également se retrouver dans l'air, quoique le fait n'ait jamais été signalé à notre connaissance, probablement parce que le milieu sélectif approprié n'a pas été essayé.

Le Bergey's manual signale que leur habitat est le sol, l'eau ou la surface des feuilles.

Il distingue parmi ceux-ci un seul groupe qui correspond aux caractéristiques de nos souches, c'est le genre *Beijerinckia* qui répond aux critères suivants : cellules isolées, droites, légèrement courbées ou en forme de poire, aux extrémités arrondies, occasionnellement branchues, contenant un granule lipophile à chaque extrémité, mobiles ou non mobiles, développant une sorte de sécrétion qui rend la colonie difficilement détachable de la gélose et fixant l'azote atmosphérique si le milieu est déficient en azote, à condition de disposer de molybdène.

Il signale en outre que les cellules ne peuvent croître sur agar peptoné alors que c'est sur ce milieu que nous avons isolé nos souches. Remarquons cependant que les colonies étaient minuscules mais que nous avons eu l'attention attirée par leur couleur, tirant notre expérience de la première partie de ce travail.

Les souches roses, rebelles aux substrats usuels, croissent sur urée et asparagine.

Rappelons, ainsi que nous l'avons déjà signalé, que les levures observées hydrolysent également l'urée, ainsi que l'esculine. Résistant mieux aux grands froids que les bactéries et supportant plus facilement un substrat contenant de l'azote organique, elles représentent des organismes particulièrement bien adaptés à la neige, dont il serait intéressant de connaître la capacité de résistance à la pollution atmosphérique.

4.2.5. Analyse chimique de la neige

La matière sèche est malheureusement trop peu abondante pour pouvoir y étudier le rapport C/N.

Les circonstances ont été telles que nous avons dû nous borner à la détermination des taux de nitrites et nitrates d'un seul échantillon.

La neige tombée le 11 janvier et récoltée le 20 janvier 1982 contenait : NO_2^- : 0,072 mg/l, NO_3^- : 0,300 mg/l.

Il est difficile de faire des commentaires sur le résultat d'une seule analyse, mais il est certain que des formes combinées de l'azote peuvent être présentes dans la neige, comme dans les pluies.

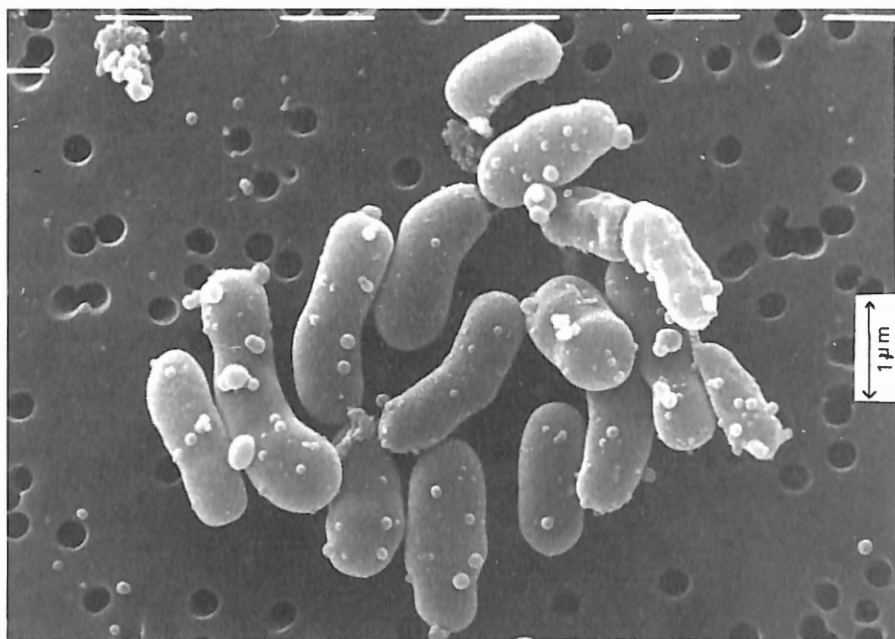


Fig. 7. — Microscopie à balayage.
BEIJERINCKIA Sp.

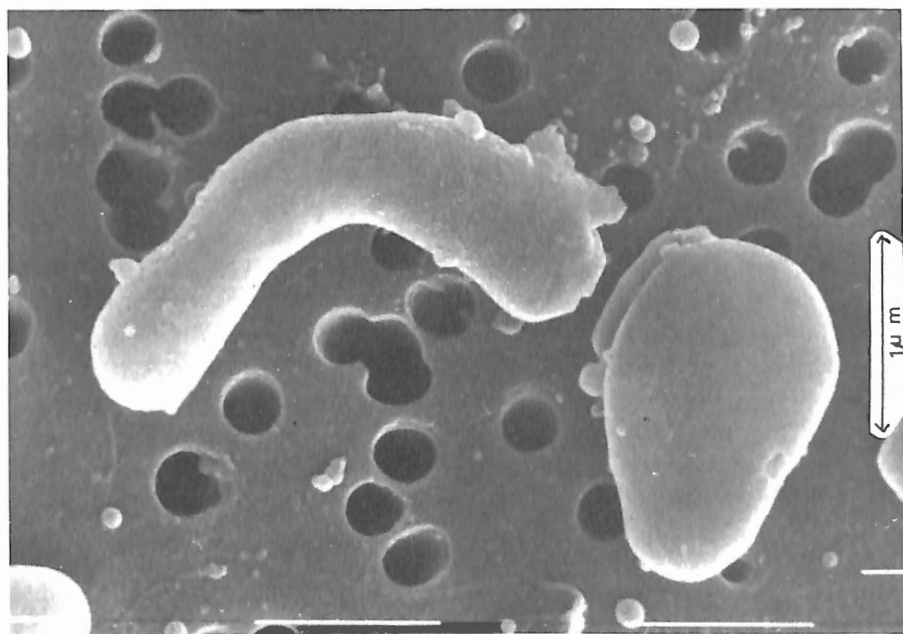


Fig. 6. — Microscopie à balayage.
BEIJERINCKIA Sp.

VOSTERS (1971) a procédé à l'analyse chimique de différents névés de l'Antarctique. Il a constaté qu'il retombe annuellement une moyenne de 28 kg/km² de sels minéraux sur le continent antarctique, dont 17 kg de matière d'origine marine, 11 kg de matière terrigène et 100 g de poussière extra-terrestre.

Il ne s'est pas attaché à l'analyse de l'azote. Par contre, il cite JUNGE (1963) qui a établi une moyenne des concentrations annuelles d'ions dans les précipitations au-dessus des Etats-Unis. La teneur en NO₃⁻ s'élevait de 0,5 à 1,5 mg/l au-dessus des continents et de 0,1 à 0,3 mg/l au-dessus des côtes.

5. CONCLUSIONS

La neige contient une microflore active dont l'abondance et la prolifération dépendent des conditions atmosphériques.

Il est manifeste que les microorganismes s'y multiplient au cours du temps, lorsque la neige se maintient au sol plusieurs jours ou semaines. Toutefois lors des fortes gelées ils subissent une réduction de leur nombre, encore que les champignons soient plus résistants que les bactéries puisqu'ils sont présents sous forme de spores. Cette réduction n'empêche pas le développement ultérieur, lorsque les conditions météorologiques s'améliorent. Des levures sont particulièrement bien adaptées à la neige.

Les bactéries sont représentées par divers genres, où les corynéformes sont abondants.

Toutefois la famille la plus caractéristique est celle des *Azotobacteracées*, aptes à survivre dans les conditions rencontrées, par leur faculté de fixation de l'azote atmosphérique. Les souches que nous avons isolées appartiennent au genre *Beijerinckia*.

C'est la première fois à notre connaissance que ces organismes sont observés dans la neige et il est évident qu'ils doivent se retrouver dans l'air. Leurs réserves lipidiques favorisent sans doute leur résistance aux mauvaises conditions d'environnement.

Nous avons mis en évidence un grand nombre de petites formes bactériennes gram⁻ susceptibles de traverser une membrane filtrante à pores de 0,40 μm. Ceci n'est pas habituel dans le sol et les eaux, ce qui laisse croire que les petites formes sont plus abondantes dans l'atmosphère.

Elles échappent facilement aux investigations.

Les photographies montrent plus clairement les diverses morphologies que ne peuvent faire les descriptions.

Des substrats énergétiques ou nutritifs pourraient être fournis aux microorganismes de la neige par les aérosols et par du matériel organique tel des algues ou des bactéries mortes, initialement présentes ou amenées ultérieurement par l'intermédiaire de l'atmosphère.

Citons l'expérience de KILLHAM et WAINWRIGHT (1981) qui ont récolté, tamisé et analysé le dépôt de poussières et polluants retenus sur des feuilles d'*Acer pseudoplatanus* situés près d'une cokerie. Ce dépôt

était riche en acides aminés et nitrates, en soufre élémentaire et organique, en phénols et en hydrates de carbone. Ajoutées à des milieux de culture dépourvus de soufre et de carbone ces substances ont permis la croissance de microorganismes sulfo-oxydants.

Ce travail n'aurait pu être réalisé sans l'aide et la compétence de Myriam GOESSENS-CANON, première technicienne à la recherche.

La reprographie est l'œuvre de Constant SCHOEMAKER.

BIBLIOGRAPHIE

BOURBON, P. *et al.*

1972. Etude sur la pollution bactériologique et clinique de l'air de Toulouse : Méthode de prélèvement et premiers résultats. — *La Tribune du Cebedeau*, 343-344, 325-328.

BOVALLIUS, A., BUCHT, B., ROFFEY, R. and ANÄS, P.

1978. Three-Year Investigation of the Natural Airborne Bacterial Flora at Four Localities in Sweden. — *Applied and Environmental Microbiology*, 35, 5, 847-852.

1978. Long-range air transmission of bacteria. — *Applied and Environmental Microbiology*, 35, 6, 1231-1232.

BREUILLAUD, J., LEMOINE, A., MICHEL, G. et OLLE, J.

1974. Etude des Actinomycètes aérobies rencontrés dans l'air de Toulouse. — *Revue de l'Institut Pasteur de Lyon*, 7, 3, 269-278.

1974. Etude des microconstituants atmosphériques. Caractère des bactéries corynéformes de la microflore de l'air. — *Revue de l'Institut Pasteur de Lyon*, 4, 309-319.

BUCHANAN, R. E. and GIBBONS, N. E.

1975. BERGEY'S Manual of determinative bacteriology, 8^e ed.

BUTTIAUX, R., BEERENS, H. et TACQUET, A.

1969. Manuel des Techniques Bactériologiques, 3^e éd.

CLIFTON, C. E.

1958. Introduction to the Bacteria. — *Mc GRAW-HILL Book Company*, 558 p.

DIAB, A., BATRAN, F. G. and AL ZAIDAN, A.

1976. Airborn Bacteria in the Atmosphere of Kuwait. — *Zbl. Bakteriol., Abt. II, Hyg.*, 131, 6, 535-544.

EHRLICH, R., MILLER, S. and WALKER, R. L.

1970. Effects of Atmospheric Humidity and Temperature on the Survival of Airborne *Flavobacterium*. — *Applied Microbiology*, 20, 6, 884-887.

FULTON, J. D. and MITCHELL, R. B.

1966. Microorganisms of the upper atmosphere. — *Applied Microbiol.*, 14, 2, 232-236 and 241-243.

GELDREICH, E. E., BEST, L. C., KENNER, B. A. et VAN DONSEL, D. J.

1968. Les eaux d'orage : leurs aspects bactériologiques. — *Journ. Water Poll. Control Fed.*, 40, 11, 1861.

JUNGE, C. E.

1963. Air chemistry and radioactivity. — *Acad. Press.*, New-York.

KILLHAM, K. and WAINWRIGHT, M.

1981. Microbial release of sulphur ions from atmospheric pollution deposits. — *J. appl. Ecol.*, 18, 3, 889-896.

KRUEGER, A. P., SMITH, R. F. and GO, I. G.

1957. The action of air ions on bacteria. I. Protective and lethal effects on suspension of staphylococci in droplets. — *J. Gen. Physiol.*, 41, 359-381.

KRUEGER, A. P.

1969. Preliminary considerations of the biological significance of air ions. — *Scientia*, Sept./Oct., 1-17.

KRUEGER, A. P., REED, E. J., BROOK, K. B. and DAY, M. B.

1975. Air Ion Action on Bacteria. — *Intern. J. Biometeor.*, 19, 1, 65-71.

LACY, G. H., CAMERON, R. E., HANSON, R. B. and MORELLI, F. A.

1970. Microbiological Analyses of Snow and Air from the Antarctic Interior. — *Antarctic Journal U. S.*, 5, 4, 88-89.

PAERL, H. W. and SHIMP, S. L.

1973. — Preparation of filtered plankton and detritus for study with scanning elektron microscopy. — *Limn. Oceanogr.*, 18, 802-805.

POCHON, J. et TARDIEUX, P.

1962. Techniques d'analyse en Microbiologie du Sol. — *Editions de la Tournelle*, 111 p.

SEGRETAIN, G., DROUHETE, E. et MARIA, F.

1979. Diagnostic de laboratoire en mycologie médicale. — *Maloine*, Paris, 150 p.

TCHIJEVSKY, A. L.

1933. Trans Central Laboratory Sci. Res. Ionification. — *Publishing House, The Commune Voronej*.

VLAYEN, P.

1981. Contribution à l'étude de *Bacillus thuringiensis* Berl. Aspects bactériologiques, éco-pathologiques et écologiques. — *Thèse de doctorat U. C. L.*, 416 p.

VLAYEN, P. et DARTEVELLE, Z.

1982. Identification de la flore intestinale de *Mamestra brassicae* L. (*Lepidoptera, noctuidae*). Importance de l'environnement. — *Ann. Soc. r. Zool. Belg.*, 112, 1, 23-39.

VOSTERS, M.

1971. Contribution à la chimie des neiges antarctiques. Composition et origine des aérosols atmosphériques. — *Thèse doctorat U. L. B.*, 214 p.