

## 30

### **MICROFLORES SULFATORÉDUCTRICES EN MILIEU SUBANTARCTIQUE. RELATIONS AVEC QUELQUES PARAMÈTRES PHYSICOCIMIQUES ET BIOLOGIQUES (MICROFLORES TOTALES ET HÉTÉROTROPHES).**

D. DELILLE et M. BOUVY

Laboratoire Arago. 66650 BANYULS-SUR-MER (FRANCE)

**RÉSUMÉ** - La présence d'un réseau complexe de fjords rend l'archipel de Kerguelen particulièrement intéressant pour l'étude des milieux anoxiques. Durant les années 1968 à 1972, dix stations sédimentaires aussi variées que possible ont été prospectées bimensuellement. Une étude plus régulière d'une des stations les plus représentatives a été reprise durant une année entière (1982) au rythme d'un prélèvement hebdomadaire. Chaque série de prélèvement concerne à la fois la couche aérobie superficielle et la couche anoxique profonde. Sur chacun des échantillons sont effectués une numération bactérienne totale en épifluorescence, un dénombrement des microflores hétérotrophes et sulfatoréductrices, et un dosage du carbone organique et des sulfures.

Les bactéries sulfatoréductrices apparaissent beaucoup moins liées à la biomasse totale qu'à la microflore hétérotrophe, elle-même sous la dépendance des apports organiques. La production de sulfure est directement dépendante de la présence des bactéries sulfatoréductrices mais il n'y a accumulation que si les conditions physiques (texture, position) du sédiment le permettent. La sulfatoréduction joue un rôle capital dans le contrôle de l'anoxie mais n'a qu'une influence limitée sur la minéralisation des apports organiques.

*Mots clés* : comptages directs, microflore hétérotrophe, sulfatoréduction, carbone organique, sulfures, variation saisonnière, subantarctique.

**ABSTRACT** - The archipelago of Kerguelen with its complex fjord distribution is particularly interesting for the study of anoxic systems. Between 1968 and 1972, several stations were investigated fortnightly. One of these was further sampled weekly throughout 1982. Each sample series of sediment included the superficial aerobic and subsuperficial anaerobic levels. Each level was examined for direct epifluorescent counts, heterotrophic and sulfate-reducing bacterial numbers by M.P.N. methods, organic carbon and sulfide measurements. Sulfate reducing bacteria seemed less related to total biomass than the heterotrophic microflora, the latter being dependent on organic supplies. The hydrogen sulfide production was directly related to the presence of sulfate reducers; however there was accumulation only if physical conditions of the sediment allowed it. Sulfate reduction played an essential role in anoxic control but had a limited influence on the mineralization of organic input.

*Key words* : direct count, heterotrophic bacteria, sulfatoreduction, organic carbon, sulfide, seasonal variation, subantarctic region.

### **INTRODUCTION**

La présence d'un réseau complexe de fjords, qui abritent une microflore très réactive constituant un modèle d'une grande simplicité (Delille, 1977), rend l'archipel de Kerguelen particulièrement intéressant pour l'étude des milieux anoxiques. Une première série d'études (Delille et Lagarde, 1974) a montré que la sulfatoréduction était la principale source de production du sulfure, la décomposition de la matière organique soufrée ne jouant qu'un rôle initiateur en favorisant l'installation de l'anoxie. Cette réduction des sulfates s'accompagne d'une importante dégradation du matériel organique dont le rôle dans les mécanismes de la diagénèse précoce n'est plus à démontrer (Jorgensen, 1977 ;

Sorensen *et al.*, 1979); mais son rôle quantitatif exact au sein des processus hétérotrophiques reste à déterminer.

Durant les années 1968 à 1972, dix stations sédimentaires aussi variées que possible ont été prospectées au mieux bimensuellement. La mise en évidence de phénomènes à la dynamique très rapide (Delille et Cahet, 1984) ont rendu nécessaire un resserrement du rythme de prélèvement. Une étude plus régulière d'une des stations les plus représentatives a été reprise durant une année entière (1982) à raison d'un prélèvement par semaine. La régularité des évolutions saisonnières obtenues en milieu subantarctique permet une évaluation *in situ* des vitesses de production des sulfures et de dégradation de la matière organique. Bien que ce type d'expérience ait déjà été envisagé (Sweeney et Kaplan, 1980) la plupart des mesures de taux de sulfatoréduction actuellement réalisées utilisent le  $^{35}\text{S}$  *in vitro* (Sorokin, 1962; Ivanov, 1964; Jorgensen, 1978).

Il nous est ainsi devenu possible d'estimer l'importance relative des bactéries sulfatoréductrices au sein de la microflore hétérotrophe.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Chaque série de prélèvements concerne à la fois la couche aérobie superficielle (toujours inférieure au cm pour la station de référence de l'anse du halage) et la couche anoxique profonde. L'échantillonnage est directement effectué à marée basse à l'aide de microcarottes stériles de 2 ml pour les stations intertidales et au moyen d'un carottier Reineck pour les stations sublittorales.

La population bactérienne totale est estimée par comptage direct en épifluorescence (Hobbie *et al.*, 1977, légèrement modifiée; Bouvy, 1984), à l'aide d'un microscope Olympus BHA.

La population hétérotrophe viable aérobie est évaluée par la méthode du M.P.N. sur le milieu Zobell 2216 (Marine Broth Difco; 6 tubes par dilution). Les microflores sulfatoréductrices sont dénombrées par la méthode du M.P.N. sur le milieu d'Abd el Malek et Risk (1958).

Les microflores minéralisatrices de la matière organique soufrée sont estimées par la méthode du M.P.N. sur un milieu peptoné additionné de cystéine (Lagarde et Cahet, 1964).

Les teneurs en carbone organique sont mesurées sur sédiment préalablement décarbonaté à l'aide d'un analyseur LECO IR 212 (détection à l'infra rouge du  $\text{CO}_2$  dégagé après combustion dans un four à induction à  $1200^\circ\text{C}$ ).

Les concentrations en sulfure sont mesurées par iodométrie après déplacement sulfurique et entraînement par courant d'azote sur le sédiment humide fixé à l'acétate de zinc.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Avec une moyenne de  $6^\circ\text{C}$  la température au sein du sédiment (fig. 1a) est caractéristique du milieu subantarctique. Elle présente une évolution saisonnière régulière et bien marquée qui se retrouve au niveau des deux paramètres chimiques étudiés.

La station de référence choisie (anse du halage) est une vase de teneur en eau moyenne de 72%. Elle est particulièrement riche en carbone organique avec des valeurs dépassant 6% alors que les teneurs reportées pour ce type de sédiment dépassent rarement 2,5% (Dale, 1974, Krom et Berner, 1980, Schröder et Van Es, 1980, Sargent *et al.*, 1983). Minimum en hiver (juillet-août) le carbone organique croît assez régulièrement jusqu'aux maxima estivaux (fig. 1b). Ce type d'évolution a déjà été signalé (Dale, 1974; Hartwig, 1976;

Cadée, 1978 ; Delille, *et al.*, 1979 ; Schröder et Van, 1980 ; Pomroy, *et al.*, 1983) ; mais son amplitude annuelle est particulièrement marquée. Les variations sont plus amorties dans les couches profondes et il existe un recouplement presque parfait des valeurs obtenues d'une année sur l'autre. Le bilan global annuel du carbone apparaît ainsi équilibré ce qui implique une minéralisation de la majeure partie des apports constatés.

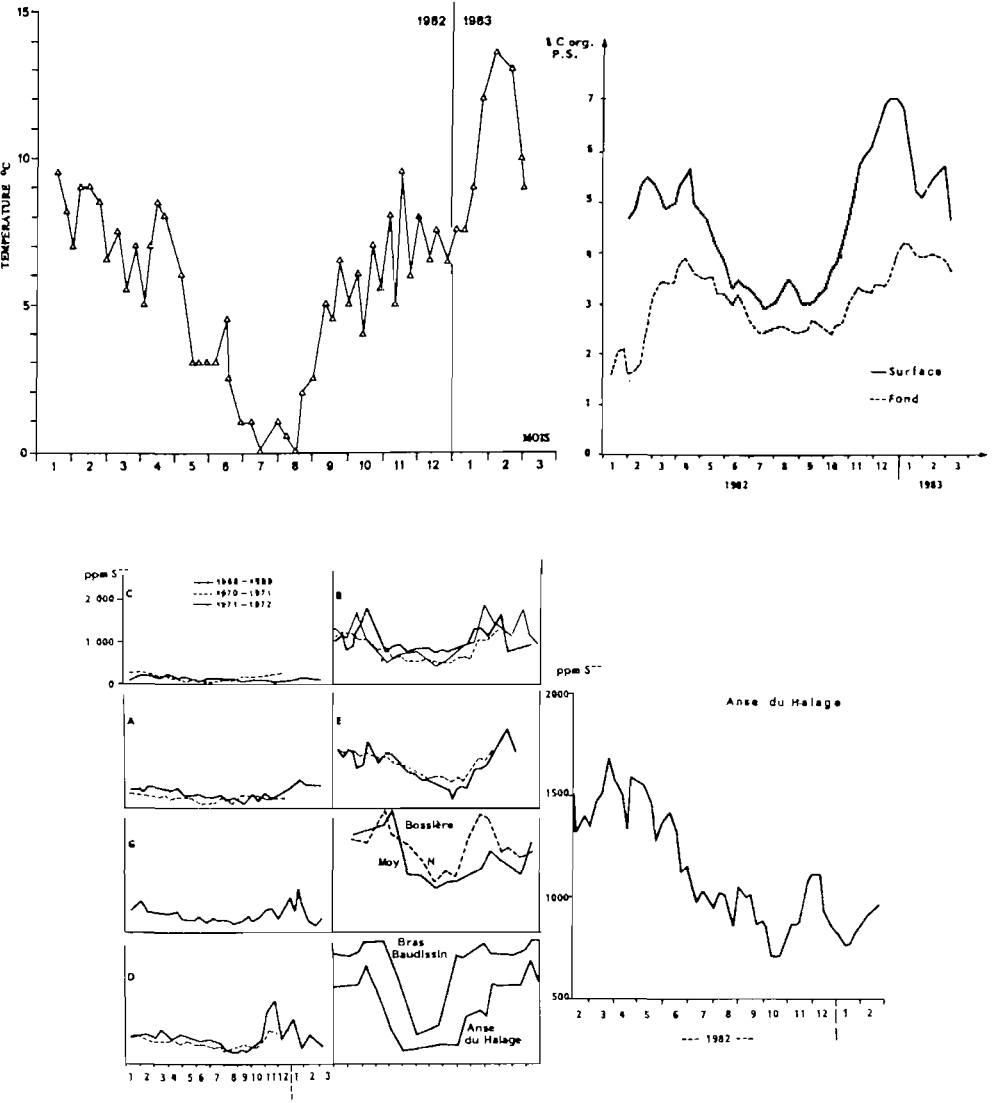


Figure 1 : Variations saisonnières des paramètres physicochimiques  
 a) Température du sédiment à l'anse du halage  
 b) Teneur en carbone organique des sédiments superficiels et profonds de l'anse du halage  
 c) Teneur en sulfure de divers sédiments de la baie du Morbihan.  
 (C,B,A,E,G, Bossière, D, Bras Baudissin, Anse du halage)

Le sulfure (fig. 1c) présente des concentrations très variables d'un sédiment à l'autre. Il est absent (ou présent uniquement à l'état de traces) des dépôts aérobies : sable (station C) et couches superficielles des vases. Il existe toutefois quelques exceptions à ce schéma général puisqu'il est possible d'observer des sables fortement anoxiques tel celui de Port-Elizabeth dans la région centrale de l'archipel. Les sédiments anoxiques peuvent être par contre très riches en sulfure puisque les teneurs atteignent des valeurs supérieures à 62 mg/l (2000ppm), chiffre important comparé à ceux cités dans les travaux récents tels ceux de Vosjan *et al* (1977), Blake *et al* (1982), Skyring *et al* (1983) et Ahmed *et al* (1984). Lorsqu'il est présent, le sulfure suit une évolution saisonnière très voisine de celle du carbone organique.

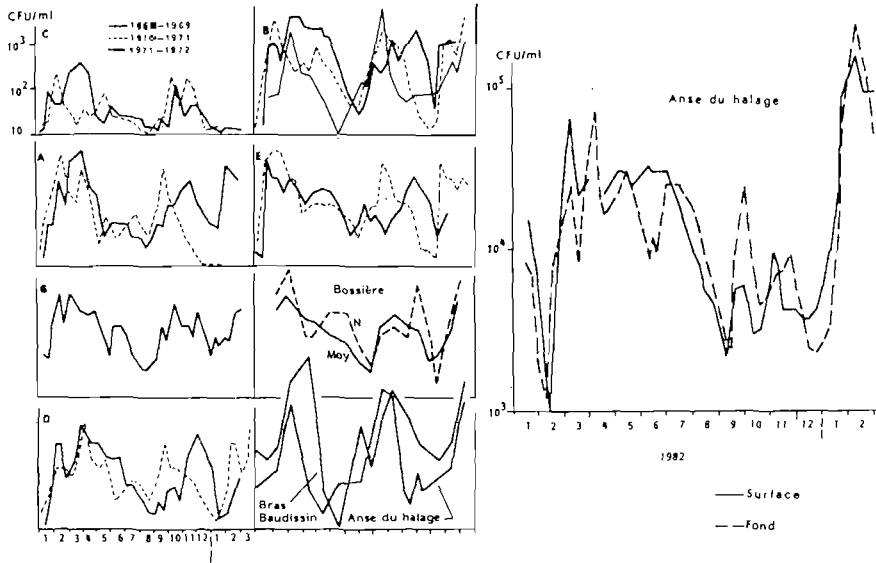


Figure 2 : Variations saisonnières des microflores sulfatoréductrices de divers sédiments de la baie du Morbihan.

Les bactéries sulfatoréductrices (fig. 2) ne sont pas limitées aux seuls sédiments anoxiques. Elles sont présentes, bien qu'en quantité restreinte, dans les sables de la station C et sont aussi nombreuses dans les couches superficielles aérobies que dans les couches anoxiques profondes des vases telles que celle de l'anse du halage. Cette présence indiscutable de la microflore sulfatoréductrice dans des environnements typiquement aérobies confirme l'existence de microniches avancée par Jorgensen (1977 b). La présence de phases de croissance intense de cette population semble exclure toute hypothèse basée sur l'existence de cellules inactives. La respiration anaérobie à partir du sulfate peut donc s'effectuer sans apparition mesurable de sulfure. Si les bactéries sulfatoréductrices apparaissent bien comme responsables de la majeure partie de la production du soufre réduit, il n'y a accumulation de ce dernier que si les conditions physiques du sédiment (texture, hydrodynamisme etc...) et les phénomènes de bioturbation le permettent en réduisant la diffusion et la réoxydation qui est effective dans la région étudiée, au moins durant la période estivale (Delille, 1977).

Les variations saisonnières de la microflore sulfatoréductrice apparaissent beaucoup plus directement liées à celles des autres microflores hétérotrophes (microflore hétérotrophe

aérobie, microflore minéralisatrice de la matière organique soufrée) qu'à celle de la population bactérienne totale qui est relativement stable et significativement corrélée à la température (fig.3 et 4). Avec deux phases de croissance bien individualisées au printemps et en automne, les différents types de microflores hétérotrophes évoluent, à l'exception des périodes hivernales, indépendamment de la température. En fait, cette dernière qui commande l'évolution saisonnière des apports organiques en contrôlant la fonte des glaces continentales et l'assèchement estival des franges de végétation (Bouvy, Cahet, Delille en préparation) pourrait n'avoir qu'un rôle indirect sur l'ensemble de la microflore bactérienne. La microflore sulfatoréductrice apparaît finalement comme strictement inféodée aux microflores hétérotrophes aérobies dont elle dépend directement pour son approvisionnement en molécules simples (acétate, lactate, etc...) qui lui sont indispensables.

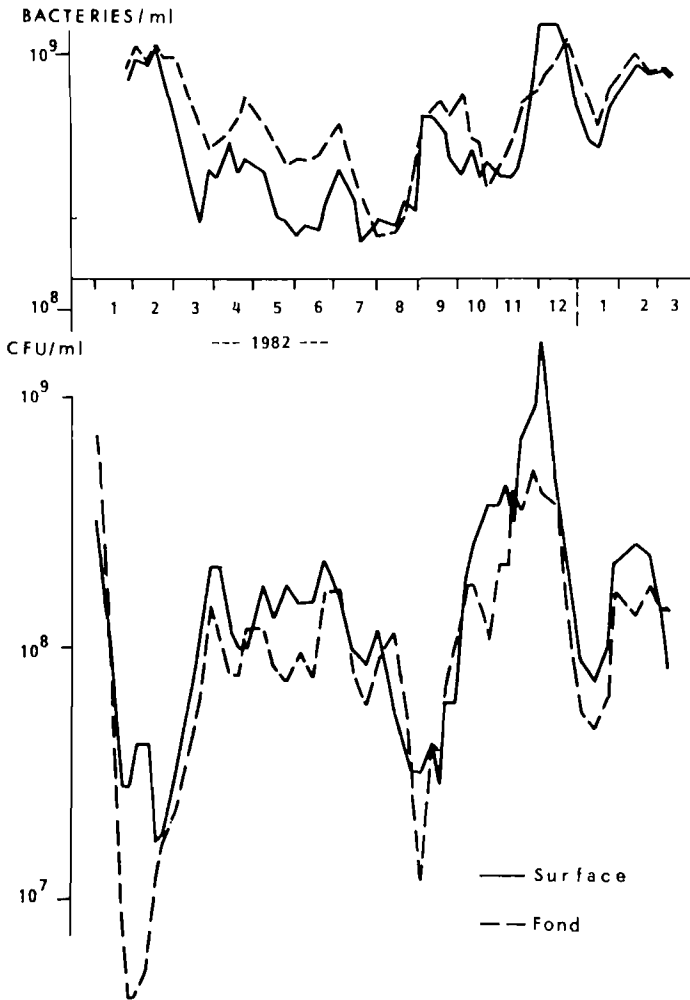


Figure 3 : Variations saisonnières des populations totale (en haut) et hétérotrophe viable (en bas) dans les dépôts de l'anse du halage.

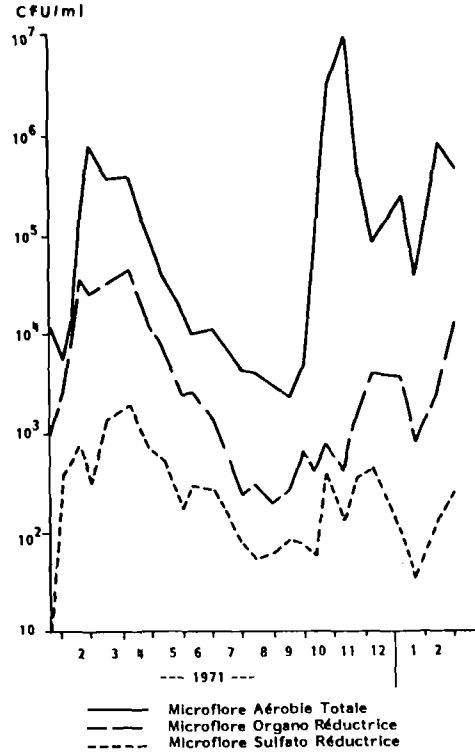


Figure 4 : Comparaison des variations saisonnières des microflores :  
 - hétérotrophe aérobie viable (-)  
 - minéralisatrice de la matière organique soufrée (---)  
 - sulfatoréductrices (---) (moyenne de 10 stations de la baie du Morbihan).

Pour les sédiments où l'anoxie est assez prononcée, une apparition moyenne de 30 matg/l de sulfure est constatée dans un délai de 2 à 3 mois, cette quantité pouvant doubler dans les cas extrêmes. Ces valeurs correspondent à une production minimum de 0,3 à 0,6 matg S<sup>2-</sup>/1/jour, chiffres importants mais qui s'accordent avec les études utilisant le <sup>35</sup>S (tab. 1).

Auteurs	Taux de sulfatoréduction	Observations
Ahmed <i>et al</i> 1984	0,02 mole/1/j	Fjord canadien
Jorgensen, 1977	0,005 à 0,3 mole/1/j	Fjord danois, 2 premiers cm
Christensen, 1984	0,05 à 0,1 mole/1/j	Sed. danois, 2-4 premiers cm
Rheinheimer, 1984	0,02 à 0,2 mole/1/j	Mer baltique
King, 1983	0,4 à 0,6 mole/1/j	USA, 0-8 premiers cm
Sorensen <i>et al</i> 1981	1,2 mole/1/j	Sédiment danois
Winfrey et Ward, 1983	2,77 mole/1/j	Marais salants français

Tableau 1 : Valeurs de taux de sulfatoréduction (travaux récents).

Les taux obtenus correspondent à un maxima saisonnier (octobre à décembre) mais ne représentent, en valeur absolue, qu'une valeur minimum nettement sous-estimée. Les phénomènes de diffusion et de réoxydation peuvent en effet entraîner une disparition très importante du sulfure qui pourrait atteindre 90 % selon Jorgensen (1977 a). Si l'on admet que deux moles de carbone organique sont nécessaires pour la réduction d'une mole de sulfate (Orr et Gaines, 1973) une production de 0,6 mg/l/j de sulfure consommerait 14,4 mg/l/j de carbone organique. Au regard des concentrations en carbone le taux global de dégradation du carbone organique peut être estimé à 300 mg/l/j. Même en admettant que seuls 10 % de la production de sulfure sont réellement observés, la consommation de carbone liée à la sulfatoréduction ne représenterait que la moitié de la dégradation totale.

Bien que jouant un rôle capital dans le contrôle de l'anoxie, les bactéries sulfatoréductrices n'ont donc qu'une influence relativement limitée sur la minéralisation des apports organiques. Leur rôle apparaît ainsi en accord avec la proportion qu'elles représentent au sein de la microflore hétérotrophe totale.

#### REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé avec l'aide financière des Terres Australes et Antarctiques Françaises (Programme Microbioker).

---

ABDEL MALEKY. et S.G.RISK, 1958. Counting of sulfate reducing bacteria in mixed bacterial population. *Nature (Lond.)*. 182 : 538.

AHMED S.I. et S.L.KING, 1984. Organic matter diagenesis in the anoxic sediments of Saanich inlet, British Columbia, Canada : a case for highly evolved community interactions. *Mar. Chem.* 14 : 233-252.

BLAKE D., J.W. LEFTLEY et C.M. BROWN, 1982. The Loch eil project : the bacterial flora and heterotrophic nitrogen fixation in sediments of Loch eil. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* 56 : 115-122.

BOUVY M., 1984. Interrelations entre les paramètres physicochimiques et microbiologiques au sein d'une station intertidale subantarctique. Rapp. DEA. Université Claude Bernard Lyon1. 49p.

CADEE G.C., 1978. On the origin of organic matter accumulating on tidal flats of Balgzand, Dutch Wadden sea. *Hydrobiol. Bull.* 12(2) : 145-150.

CHRISTENSEN D., 1984. Determination of substrates oxidized by sulfate reduction in intact cores of marine sediments. *Limnol. Oceanogr.* 29 : 189-192.

DALEN G., 1974. Bacteria in intertidal sediments : factors related to their distribution. *Limnol. Oceanogr.* 19(3) : 509-518.

DELILLE D., 1977. Cycles bactériens du soufre et de l'azote dans les dépôts sédimentaires du fjord Bossière (Archipel de Kerguelen), in : *Adaptations within Antarctic Ecosystems. Proc. 3th. SCAR. Symp. Antarctic Biology*, G.A. Llano edit. 159-180.

DELILLE D. et E.LAGARDE., 1974. Recherches sur les cycles biologiques du soufre et du carbone dans les dépôts sédimentaires de la baie du Morbihan (archipel de Kerguelen). *Rev. Inst. Pasteur Lyon* 7 : 149-165.

DELILLE D., F.GADEL et G.CAHET., 1979. La matière organique dans les dépôts de l'archipel de Kerguelen. Distribution spatiale et saisonnière. *Oceanol. Acta* 2 : 181-193.

DELILLE D. et G.CAHET., 1984. Croissance de populations hétérotrophes subantarctiques soumises à des enrichissements azotés. 2nd cong. *Bacteriologie Marine Marseille 1982* CNRS edit.

HARTWIG E.O., 1976. Nutrient cycling between the water column and a marine sediment. I. Organic carbon. *Mar. Biol.* 34 : 285-295.