

**UNIVERSITE DE PROVENCE
UNIVERSITE DE LA MEDITERRANEE**

ECOLE SUPERIEURE D'INGENIEURS DE LUMINY

**Département de Génie Biologique et Microbiologie Appliquée
GBMA**

LE CYCLE DU SOUFRE

**Jean-Louis Garcia
Pierre Roger**

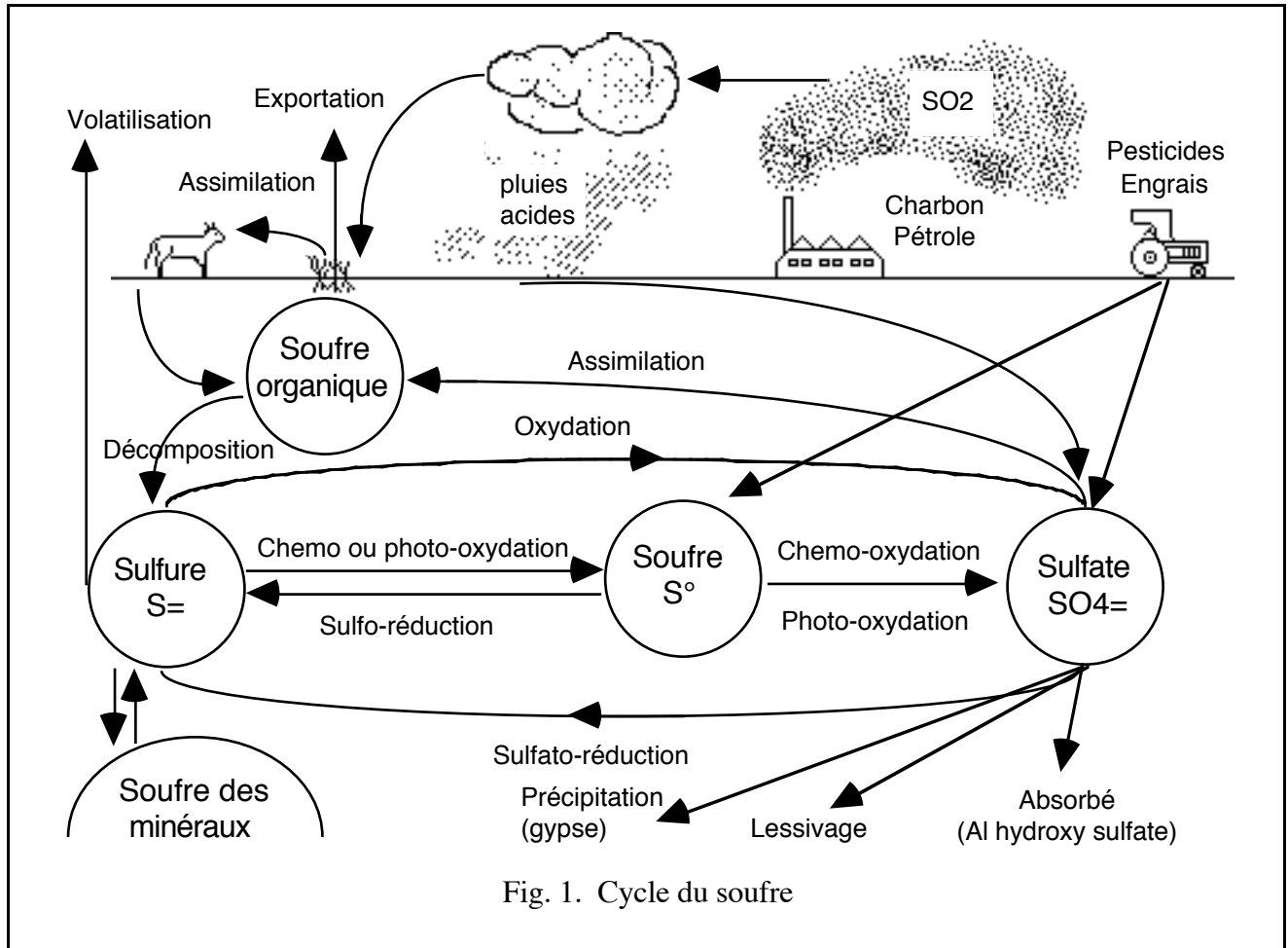
**Laboratoire de Microbiologie IRD
CESB - ESIL Marseille-Luminy
2000**

TABLE DES MATIERES

LE CYCLE DU SOUFRE

1. Généralités	3
2. Le cycle global du soufre dans la biosphère	4
3. Assimilation du sulfate	5
3.1. Incorporation du sulfate dans la cellule	5
3.2. Mécanismes enzymatiques de l'assimilation du sulfate	5
3.2.1. Activation par l'ATP	5
3.2.2. Réduction de l'APS	6
3.2.3. Réduction du sulfite	6
4. Incorporation du soufre organique dans la fraction organique du sol	6
5. Minéralisation du soufre organique	6
6. Respiration anaérobie du soufre élémentaire	7
6.1. Réduction dissimilatrice du sulfate (sulfato-réduction)	7
6.1.1. Les bactéries sulfato-réductrices	7
6.1.2. Mécanismes enzymatiques de la réduction dissimilatrice de SO_4^{2-}	11
6.2.3. Réduction dissimilatrice du soufre élémentaire (sulfo-réduction) par les procaryotes non sulfato-réducteurs	12
6.2. Réduction dissimilatrice du thiosulfate (thiosulfato-réduction)	12
7. Oxydation des composés inorganiques du soufre: sulfo-oxydation	18
7.1. Oxydation par les bactéries chimiotrophes incolores	19
7.1.1. Thiobactéries	19
7.1.2. Oxydation par les bactéries filamenteuses	19
7.2. Oxydation par les bactéries photosynthétiques	20
7.3. Oxydation chimique	23
8. Quelques problèmes particuliers liés au cycle du soufre	24
8.1. Le biotope d'estuaire	24
8.2. Les eaux douces sulfureuses	24
8.3. La zone réductrice sous l'interface eau-sédiment	25
8.4. Activité des bactéries du cycle du soufre en rizière	25
8.5. Sulfato-réduction spermosphérique et rhizosphérique	26
8.5.1. Sulfato-réduction rhizosphérique	26
8.5.2. Sulfato-réduction spermosphérique	27
8.6. Toxicité des sulfures pour les nématodes phytoparasites	27
8.7. Acidification des sols riches en sulfures par sulfo-oxydation aérobie	28
8.8. L'alimentation en soufre de la plante	28
8.9. Corrosion due aux bactéries du cycle du soufre	28
8.9.1. Rôle des bactéries sulfato-réductrices dans la corrosion du fer	28
8.9.2. Corrosion aérobie du ciment par les Thiobacilles	29

LE CYCLE DU SOUFRE



1. Généralités

Le soufre existe dans la biosphère sous plusieurs états d'oxydation, depuis le soufre hexavalent oxydé +6 (dans H_2SO_4 et ses dérivés) jusqu'au soufre réduit -2 (dans H_2S , HS^- , S^{2-} et les sulfures métalliques).

On estime que la croûte terrestre contient en moyenne 0.06 % de soufre, mais sa distribution dans le sol est très variable, sa concentration pouvant varier de moins de 0,01%, dans des sols carencés, à plus de 0,3 % dans certains sol formés sur alluvions fluviomarines (mangroves). Il existe près de 2000 minéraux sulfurés inorganiques. Le soufre est principalement présent dans les sols sous forme organique (acides aminés, polysaccharides sulfurés, ester sulfates), une faible fraction seulement étant sous forme minérale (sulfate, soufre élémentaire ou sulfure).

Dans les organismes vivants, le soufre est présent sous forme réduite dans des composés organiques essentiels tels que les protéines contenant des acides aminés sulfurés (cystéine, cystine, méthionine), des coenzymes (coenzyme A, acide lipoïque, biotine, thiamine) ou certains métabolites (par exemple le glutathion, $C_{10}H_{16}N_3O_6SH$, et la glutamyl-cystéinyl-glycine). Il se trouve également sous forme oxydée (ester sulfates) dans des composés ayant un rôle structural tels que les polysaccharides sulfatés des parois cellulaires des algues.

L'ensemble des processus métaboliques par lesquels ces différentes formes peuvent être interconverties constitue le cycle biologique du soufre. L'importance relative des flux de l'élément soufre dans le cycle global et le cycle biologique est conditionnée par

- l'état chimique des intermédiaires, c'est-à-dire la valence du soufre dans les différents composés et

- l'état physique des composés, qui détermine leur distribution entre phases solide, liquide et gazeuse.

Le cycle biologique est dépendant de l'aérobiose ou anaérobiose du biotope.

Le cycle du soufre (**Fig. 1**) présente des analogies avec celui de l'azote, toutefois une différence importante est le caractère autooxydable de la forme réduite S^{2-} en présence d'oxygène ou d'ions métalliques, surtout en conditions acides. Du point de vue physique, tous les composés gazeux du cycle du soufre sont très solubles, ce qui limite leur concentration dans la phase gazeuse. Comme dans le cas du phosphore, les organismes vivants utilisent principalement le soufre à l'état dissous. Il n'en est pas de même pour les autres éléments majeurs (oxygène, carbone, azote) pour lesquels des composés gazeux peu solubles sont disponibles dans l'atmosphère pour les synthèses des organismes vivants.

Comme pour les autres éléments, le microbiologiste du sol ne doit pas limiter son étude aux mécanismes des transformations microbiennes du soufre dans le sol, mais également considérer l'équilibre entre les différents processus. Suivant les conditions du milieu, certains intermédiaires du cycle peuvent s'accumuler, ce qui peut avoir des conséquences importantes sur l'écosystème sol-plante.

2. Le cycle global du soufre dans la biosphère

Les différents flux de soufre entre les roches, les sols et les eaux continentales et marines sont estimés dans la **figure 2** en $Tg\ an^{-1}$ (tera = 10^{12}) c'est-à-dire en tonnes. $10^6\ an^{-1}$. Pour chaque flux est indiqué ce qui est imputable à l'activité humaine, principalement industrielle.

On constate que plusieurs de ces transferts ont été largement augmentés par l'activité anthropique et qu'ils se traduisent par une augmentation sensible de la concentration du soufre dans l'atmosphère. Les rendements agricoles élevés obtenus dans les régions industrielles à agriculture intensive sont probablement partiellement dûs aux retours au sol du soufre émis par l'industrie, qui ont augmenté de 240 % depuis l'ère industrielle. Une diminution de ces émissions pourrait entraîner une carence en soufre dans les sols cultivés.

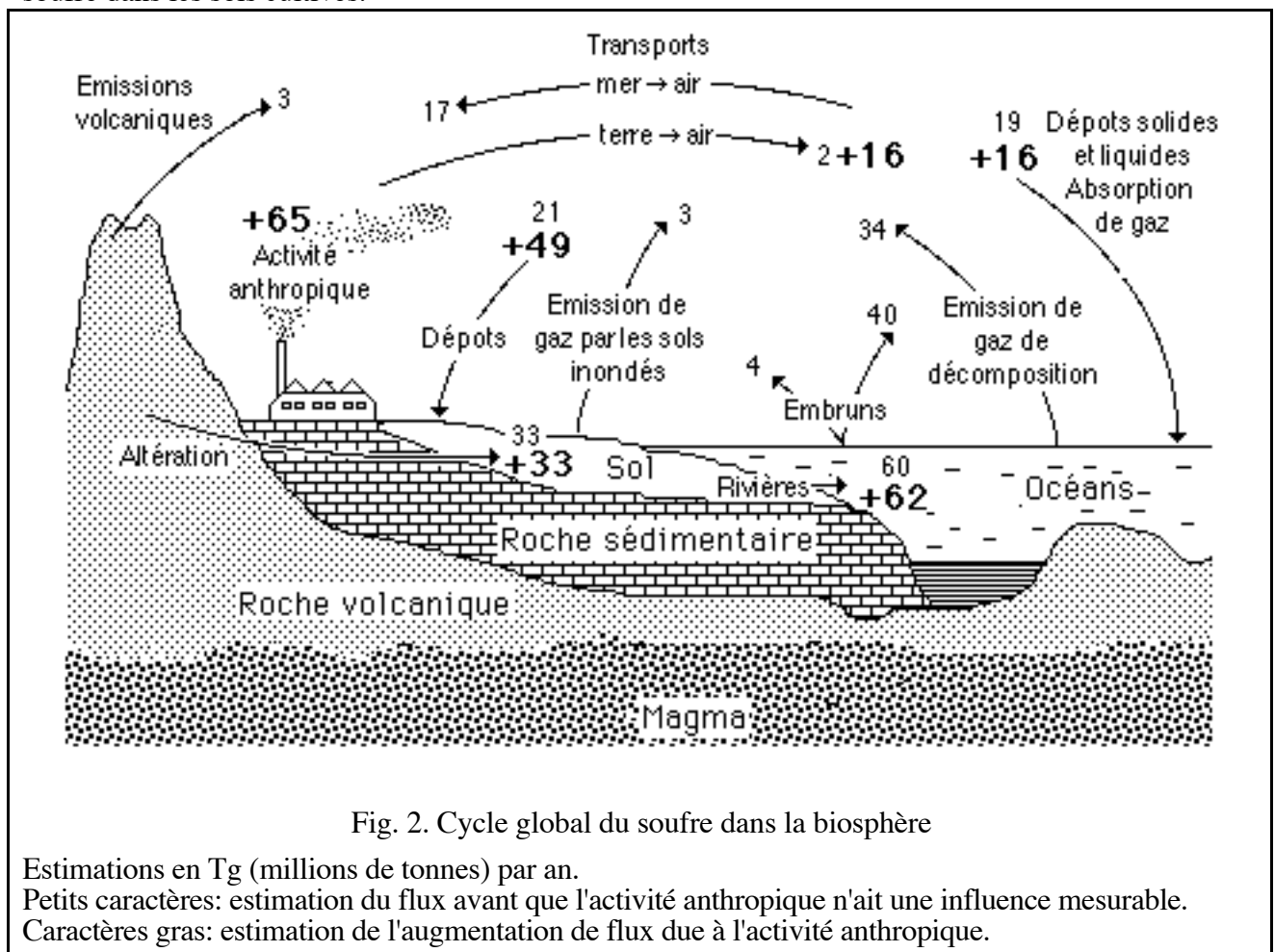


Fig. 2. Cycle global du soufre dans la biosphère

Estimations en Tg (millions de tonnes) par an.

Petits caractères: estimation du flux avant que l'activité anthropique n'ait une influence mesurable.

Caractères gras: estimation de l'augmentation de flux due à l'activité anthropique.

La balance du cycle global dans la pédosphère n'est possible que par le retour au sol de composés volatils réduits formés dans les zones océaniques, marines ou d'estuaires. En raison de la solubilité de

ces composés, seule une faible partie de cette production (estimée à 840 T g an⁻¹ pour les seules zones d'estuaires) retourne dans l'atmosphère puis au sol, mais cette production d'origine microbienne est indispensable pour équilibrer le cycle global. En zone d'estuaire où les ions sulfate sont présents (2,7 g de SO₄²⁻ par litre d'eau de mer), le facteur limitant la production de sulfure est l'apport de matière organique facilement décomposable. La pollution organique des zones d'estuaires due à l'activité humaine peut avoir augmenté cette production de façon sensible.

Certains mécanismes du cycle biologique du soufre ont par conséquent une grande importance dans la balance du cycle global de cet élément dans la biosphère.

3. Assimilation du sulfate

Les animaux peuvent trouver dans leur alimentation des composés réduits du soufre pour satisfaire leurs besoins en soufre hexavalent, car ils ont la possibilité d'oxyder les thiols organiques tels que la cystéine, en sulfate. Cependant ils sont incapables de réduire en thiols les sulfates, et généralement également incapables de synthétiser le squelette carboné de la méthionine. Ils dépendent donc d'un apport de soufre sous forme réduite pour leur croissance. Cet apport est obtenu par l'ingestion d'autres animaux et donc finalement des plantes et microorganismes qui sont seuls capables de réduire le sulfate en sulfure et d'incorporer le soufre ainsi réduit dans des composés organiques. La synthèse des thiols à partir du sulfate, c'est-à-dire l'assimilation du sulfate, est régulée dans les plantes et les microorganismes de telle sorte que ni le sulfure ni les thiols ne sont produits en excès et libérés dans le milieu.

Le soufre alors combiné sous forme organique sera ensuite libéré à la mort de la cellule avant d'être repris dans le cycle biologique.

3.1. Incorporation du sulfate dans la cellule

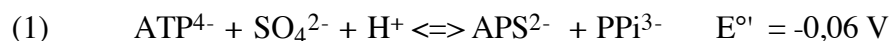
A en juger par les carences en soufre parfois observées chez les plantes, il semble que les formes organiques qui prédominent dans le sol ne soient pas directement utilisables par les végétaux. Le soufre présent sous ces formes organiques doit donc être préalablement converti en sulfate ou en composés simples comme la cystéine ou la méthionine.

Dans le cas des microorganismes, l'absorption active du sulfate a été démontrée pour les bactéries, les algues et les champignons. Ces systèmes de transport actif du sulfate de la solution vers l'intérieur de la cellule sont sensibles à la température et fortement inhibés par le thiosulfate, le sulfite et, en général, par tout composé de forme XO₄²⁻ comme par exemple Cr XO₄²⁻. Bien qu'aucune étude n'ait été faite sur cette question, on peut donc concevoir qu'il existe dans la rhizosphère une compétition pour la nutrition en sulfate entre la plante et la microflore, responsable de certaines carences.

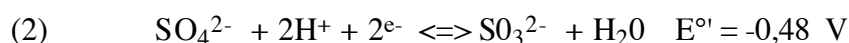
3.2. Mécanismes enzymatiques de l'assimilation du sulfate

3.2.1. Activation par l'ATP

L'étape initiale commune aux plantes et aux microorganismes est la réaction avec l'ATP, catalysée par l'ATP sulfurylase



L'importance de cette première étape réside dans le fait que les agents réducteurs physiologiques (par exemple le NADPH, $E^{\circ} = -0,32\text{V}$) sont trop électropositifs pour réduire le sulfate lui-même



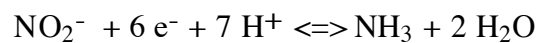
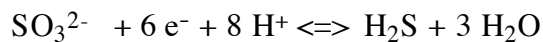
3.2.2. Réduction de l'APS

Le devenir de l'APS ainsi formé est variable suivant les organismes. La partie sulfonate peut être transférée à un transporteur physiologique puis réduite en sulfite chez les algues et les végétaux. Chez les bactéries, l'APS réagit avec une autre molécule d'ATP pour former la phosphoadénosine phosphosulfate (PAPS) qui peut alors être réduite en sulfite par les réducteurs physiologiques (NADPH). De nombreux thiols peuvent également servir de donateurs d'électrons pour la réduction du PAPS en sulfite.

3.2.3. Réduction du sulfite

Chez tous les organismes assimilant le sulfate, la réduction du sulfite en sulfure qui met en jeu 6 électrons est catalysée par des sulfite-réductases en présence de donateurs d'électrons convenables sans formation de composé intermédiaire.

Il est intéressant de noter que toutes ces sulfite-réductases assimilatrices peuvent aussi catalyser la réduction du nitrite en ammonium, ce qui correspond également à un transfert de 6 électrons :



bien que ces activités soient physiologiquement distinctes *in vivo*.

4. Incorporation du soufre organique dans la fraction organique du sol

Quand les résidus des plantes, des animaux ou des microorganismes morts retournent au sol et sont dégradés par la microflore, une partie seulement du soufre organique de ces résidus est minéralisée jusqu'au stade sulfure ou sulfate (voir plus loin § 5), la plus grande partie restant sous forme organique, soit en tant que fraction libre soit combinée à l'humus.

La concentration du soufre organique libre dans le sol est généralement faible: on ne trouve dans le sol non planté que très peu d'acides aminés soufrés, parfois légèrement plus dans le sol rhizosphérique. Cette différence semble due à l'excrétion par les racines: on sait en effet que les exsudats racinaires contiennent des sucres, des acides aliphatiques et des acides aminés (pour le riz, on a mesuré une excrétion de $0,1 \mu\text{g}$ de cystéine $\text{jour}^{-1} \text{plante}^{-1}$). Mais ces composés organiques soufrés simples sont rapidement minéralisés par les microorganismes du sol (voir § 5) et ne s'y accumulent pas.

On retrouve au contraire une importante fraction du soufre des résidus sous forme de sulfates organiques, tels que phénol sulfate, choline sulfate, ester sulfates de carbohydrates ou de lipides. Une autre fraction semble être directement liée au carbone: dans un sol canadien on trouve 58 % du soufre total sous forme de liaison C-S qui se forment surtout par réaction entre les quinones et les thiols. Les composés phénoliques qui sont synthétisés par les microorganismes lors de la décomposition de la lignine sont oxydés en quinones qui réagissent avec les amines pour former des complexes colorés en brun. Les thiols réagissent également avec les sucres réducteurs en donnant les liaisons C-S. La stabilité du soufre organique lié au carbone dans les substances humiques à haut poids moléculaire est alors beaucoup plus grande que celle des composés soufrés simples.

5. Minéralisation du soufre organique

La conversion du soufre organique en soufre minéral est réalisée par les microorganismes du sol, qui utilisent une fraction du sulfure ou du sulfate produit pour leurs synthèses (voir § 3), le reste étant utilisable par les plantes. Les mécanismes du processus de minéralisation ne sont pas clairement élucidés, mais il semble que de nombreux microorganismes interviennent dans la chaîne des réactions. Les produits finaux diffèrent suivant les conditions du sol, en particulier les conditions d'oxydo-réduction (sol exondé ou sol submergé).

Par exemple en sol exondé on a pu reconnaître à partir de la cystéine les étapes suivantes:

cystéine → cystine → cystine disulfoxyde → acide cystéine sulfinique → acide cystéique → sulfate

En sol submergé la décomposition de la méthionine produit principalement des composés volatils, tels que H_2S , méthylmercaptan ($\text{CH}_3 \text{SH}$) et diméthylsulfure ($(\text{CH}_3)_2 \text{S}$).

Plusieurs facteurs influent sur la libération dans le sol des composés minéraux à partir du soufre organique. En particulier, la richesse relative en soufre de la matière organique semble être importante: si le rapport C/S est inférieur à 200, le sulfate est libéré dans le sol, si ce rapport est supérieur à 400 il n'y a pas de libération de sulfate.

Cette rétention du soufre minéral est également mise en évidence en comparant les rapports N/S dans les résidus avant l'incubation et dans les formes minérales de l'azote et du soufre après l'action des microorganismes; ces rapports sont en général très différents.

On montre également un effet rhizosphère positif sur la minéralisation du soufre organique, mais cet effet n'est pas spécifique et résulte de l'augmentation générale de l'activité microbienne au contact des racines. Comme pour les autres activités biologiques dans le sol, la minéralisation du soufre est influencée par la température et l'humidité.

6. Respiration anaérobie des composés oxygénés du soufre

6.1. Réduction dissimilatrice du sulfate (sulfato-réduction)

6.1.1. Les bactéries sulfato-réductrices

Les bactéries sulfato-réductrices se distinguent de tous les autres organismes vivants par leur capacité à utiliser les composés minéraux du soufre comme accepteurs d'électrons pour l'oxydation des composés carbonés. Le sulfate ou le soufre élémentaire sont alors réduits en sulfure, dont la plus grande part est excrétée dans le milieu extérieur. Cette respiration du sulfate ou du soufre élémentaire est particulièrement active dans les biotopes riches en matière organique, tels que le fond des mares, étangs, cours d'eau, dans les sédiments fluvio-marins, les zones d'estuaire. On estime qu'environ la moitié de la matière organique décomposée dans ces biotopes est oxydée anaérobiquement par sulfato-réduction, avec une forte production de sulfure.

Les deux premiers genres de bactéries sulfatoréductrices à avoir été isolés sont des vibrios (*Desulfovibrio*) et des bâtonnets sporulés (*Desulfotomaculum*), qui ne peuvent utiliser que quelques composés carbonés en C₃ (lactate, CH₃CH₂COOH; pyruvate, CH₃COCOOH) ou l'hydrogène moléculaire comme donneurs d'électrons. Quelques souches peuvent également se développer sans sulfate, les électrons provenant du pyruvate ou du fumarate (COOHCH-CHCOOH) étant utilisés pour réduire les ions H⁺ avec formation d'hydrogène moléculaire. Dans tous les cas, l'oxydation de ces composés s'arrête à l'acétate (CH₃COOH) qui n'est pas dégradé.

Cette limitation du nombre de substrats utilisables par les 2 genres connus de bactéries sulfato-réductrices et leur incapacité à oxyder l'acétate jusqu'au CO₂ avait conduit les microbiologistes à formuler des hypothèses variées quant aux associations nécessaires entre la respiration du sulfate et d'autres processus de dégradation de la matière organique dans les biotopes réducteurs. Une hypothèse associait la cellulolyse anaérobie produisant des composés en C₃ ou C₄, les bactéries sulfato-réductrices utilisant ces composés pour former l'acétate; les bactéries sulfo-réductrices (voir 6.2) oxydant anaérobiquement l'acétate en CO₂, et les bactéries méthanogènes réduisant le CO₂ en CH₄.

Les études ultérieures ont montré qu'il existe en fait une grande variété de bactéries sulfato-réductrices, qui peuvent oxyder anaérobiquement tous les acides organiques depuis C₁ (acide formique) jusqu'à C₁₄ (acide myristique) inclus (**Tableau 1b**) Certaines espèces peuvent également oxyder des composés cycliques (benzoate) ou réaliser la déchloration de composés aromatiques (*Desulfomonile tidjei*). Il est maintenant évident que la respiration du sulfate est un processus métabolique permettant la dégradation d'un grand nombre de composés carbonés jusqu'au stade final du CO₂.

La diversité des formes (coques, bâtonnets plus ou moins allongés, bactéries filamenteuses) et du Gram, indiquent que les bactéries sulfato-réductrices n'ont pas de parenté phylogénique étroite, la réduction dissimilatrice du sulfate étant, comme la réduction des composés oxygénés de l'azote, partagée par des genres bactériens très éloignés les uns des autres. Le genre *Desulfotomaculum* est classé dans le groupe des *Bacteria* Gram positif à faible GC% tandis que les sulfato-réducteurs mésophiles non sporulés sont regroupés dans la sous-classe delta des Protobactéries à Gram négatif. Le genre *Thermodesulfobacterium* représente, quant à lui, une lignée des branches basses du domaine




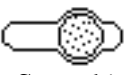
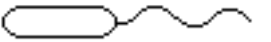
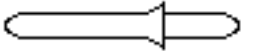
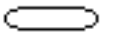

des *Bacteria*, distincte des autres lignées de sulfato-réducteurs et des *Archaea* hyperthermophiles du genre *Archeoglobus*.

Les **tableaux 1a,b** résument les caractéristiques morphologiques et nutritionnelles des bactéries sulfatoréductrices qui sont classées en deux grands groupes:

- Le groupe 1 comprend des homoacétogènes utilisatrices de lactate n'effectuant qu'une oxydation incomplète de leur substrat en acétate.
- Le groupe 2 comprend les espèces qui effectuent une oxydation complète du substrat et utilisent des acides gras ou d'autres composés comme les aromatiques.

Le **tableau 1c** reporte la liste exhaustive des genres et espèces de sulfato-réducteurs décrites à ce jour et la **Figure 3** leur répartition phylogénétique.

Tableau 1a. Bactéries sulfato-réductrices du premier groupe: homoacétogènes utilisatrices de lactate (s'arrêtent à CH_3COOH)

Genres		Espèces (exemples)	Donneurs d'électrons et source de carbone			Sulfite - réductase
			Ethanol	Lactate	Acétate	
 <i>Desulfovibrio</i>	Utilise H_2+CO_2 , éthanol, lactate, pyruvate pour former de l'acétate. Cytochrome c	<i>africanus</i> <i>baculatus</i> <i>desulfuricans</i> <i>gigas</i> <i>saalexigens</i> <i>thermophilus</i> <i>vulgaris</i>	+	+	-	Desulfo- viridine
 <i>Desulfobotulus</i>	Décompose les acides gras à longue chaîne	<i>sapovorans</i>	+	+	-	?
 <i>Desulfotomaculum</i>	 Sporulé Cytochrome b	<i>nigrificans</i> <i>ruminis</i>	+	+	-	P 582
 <i>Desulfomicrobium</i>		<i>apsheronum</i> <i>baculatum</i>	±	+	-	?
 <i>Desulfomonile</i>	Peut déchlorer le cycle benzénique. Important pour la dépollution.	<i>tiedjei</i>	-	-	-	Desulfo- viridine
 <i>Desulfohalobium</i>	Hyperhalophile (150 g/l NaCl)	<i>retbaense</i>	+	+	-	Désulfo- rubidine
 <i>Thermo- desulfobacterium</i>	Thermophile	<i>commune</i> <i>mobile</i>	-	+	-	Désulfo- fuscidine

Les autres caractéristiques des bactéries sulfato-réductrices, dont certaines sont utilisées pour la taxonomie des souches, incluent:

La présence de
 Cytochromes b,c, c₃,
 Ferrédoxines I et II,
 Flavodoxines, Rubrédoxines, Rubrérythrine ou Ménaquinone (marqueur taxonomique);
 La nature des hydrogénases (responsables du processus de transfert interspécifique de H₂)
 les hydrogénases à [Fe] et à [Ni, Fe] sont périplasmiques, situées sur la paroi cellulaire
 les hydrogénases à [Ni, Fe, Se] sont cytoplasmiques, liées à la membrane cytoplasmique.

Tableau 1b. Bactéries sulfato-réductrices du deuxième groupe:
 effectuent une oxydation complète du substrat et utilisent les acides gras


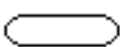
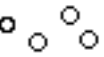

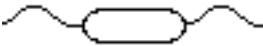
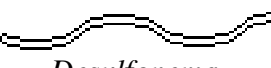



Genres		Espèces (exemples)	Donneurs d'électrons et sources de carbone						Sulfite-réductase
			H ₂ CO 2	For- mate	Acé- tate	Propi- -onate	Ac. gras (n)	Ben- zoate	
 <i>Desulfobacter</i>	Flagellation - ou polaire. Cytochrome b,c	<i>curvatus</i> <i>postgatei</i>	-	-	+	-	2	-	Désulfo- rubidine
 <i>Desulfobacterium</i>		<i>auto-- trophicum</i> <i>phenolicum</i>	±	±	+	±	±	-	?
 <i>Desulfococcus</i>	Cytochrome b,c	<i>biacutus</i> <i>multivorans</i>	-	+	+	+	1-14	+	Desulfo- viridine
 <i>Desulfoarculus</i>		<i>baarsii</i> <i>versutus</i>	-	+	+	+	3-18	-	?
 <i>Desulfotomaculum</i>	Représenté également dans le groupe 1 Cytochrome c	<i>acetoxidans</i> <i>sapomandens</i>	-	-	+	-	2,4, 5	-	P 582
 <i>Desulfonema</i>	déplacement par glissement Cytochrome b,c	<i>limicola</i> <i>magnum</i>	+	+	+	+	1-12	-	Désulfo- viridine P 582
 <i>Desulfosarcina</i>		<i>variabilis</i>	+	+	+	+	1-14	+	?
 <i>Desulfobulbus</i>	Citriforme Flagellation - ou polaire Cytochrome b,c	<i>elongatus</i> <i>propionicus</i>	-	-	-	+	3	-	Désulfo- rubidine
 <i>Archaeoglobus</i>	Archaea	<i>fulgidus</i> <i>profundus</i>	+	±	±	-	-	-	?

Tableau 1c. Les deux groupes de bactéries sulfato-réductrices

	Groupe 1		Groupe 2
<i>Desulfovibrio</i>		<i>Desulfobacter</i>	
<i>aespoeensis</i>	<i>indonensis</i>	<i>curvatus</i>	<i>postgatei</i>
<i>acrylicus</i>	<i>inopinatus</i>	<i>hydrogenophilus</i>	<i>vibrioformis</i>
<i>africanus</i>	<i>litoralis</i>	<i>latus</i>	
<i>alcoholivorans</i>	<i>longreachensis</i>	<i>Desulfobacterium</i>	
<i>aminophilus</i>	<i>longus</i>	<i>anilini</i>	<i>macestii</i>
<i>burkinensis</i>	<i>oxyclinae</i>	<i>autotrophicum</i>	<i>niacini</i>
<i>carbinolicus</i>	<i>piger</i>	<i>catecholicum</i>	<i>oleovorans</i>
<i>cuneatus</i>	<i>profundus</i>	<i>cetonicum</i>	<i>phenolicum</i>
<i>desulfuricans</i>	<i>salexigens</i>	<i>indolicum</i>	<i>vacuolatum</i>
<i>fructosivorans</i>	<i>senezii</i>		
<i>furfuralis</i>	<i>simplex</i>	<i>Desulfococcus</i>	
<i>gabonensis</i>	<i>sulfodismutans</i>	<i>biacutus</i>	<i>multivorans</i>
<i>giganteus</i>	<i>termitidis</i>	<i>Desulfoarculus</i>	
<i>gigas</i>	<i>vietnamensis</i>	<i>baarsii</i>	
<i>halophilus</i>	<i>vulgaris</i>		
	<i>zosteriae</i>	<i>Desulfobacca</i>	
<i>Desulfobotulus</i>		<i>acetoxidans</i>	
<i>sapovorans</i>		<i>Desulfocapsa</i>	
<i>Desulfotomaculum</i>		<i>rhabdoformis</i>	<i>sulfoexigens</i>
<i>aeronauticum</i>	<i>nigrificans</i>	<i>Desulfotomaculum</i>	
<i>antarticum</i>	<i>orientis</i>	<i>acetoxidans</i>	<i>thermoacetoxidans</i>
<i>australicum</i>	<i>putei</i>	<i>geothermicum</i>	<i>thermobenzoicum</i>
<i>guttoideum</i>	<i>ruminis</i>	<i>kuznetsovii</i>	<i>thermosapovorans</i>
<i>luciae</i>		<i>sapomandens</i>	
<i>Desulfomicrobium</i>		<i>Desulfonema</i>	
<i>apsheronum</i>	<i>escambium</i>	<i>limicola</i>	<i>magnum</i>
<i>baculatum</i>	<i>norvegicum</i>	<i>Desulfosarcina</i>	
<i>Desulfomonile</i>		<i>variabilis</i>	
<i>tiedjei</i>		<i>Desulfobacula</i>	
<i>Desulfohalobium</i>		<i>toluolica</i>	
<i>retbaense</i>		<i>Desulfacinum</i>	
<i>Desulfobulbus</i>		<i>infernum</i>	
<i>Elongatus</i>	<i>marinus</i>	<i>Desulforhabdus</i>	
<i>propionicus</i>		<i>amnigenus</i>	
<i>Desulfofustis</i>		<i>Desulfocella</i>	
<i>glycolicus</i>		<i>halophila</i>	
<i>Desulfonatronovibrio</i>		<i>Desulforhopalus</i>	Archaea
<i>hydrogenovorans</i>		<i>vacuolatus</i>	
<i>Thermodesulfobacterium</i>		<i>Desulfocapsa</i>	Archaeoglobus
<i>commune</i>	<i>mobile</i>	<i>thiozymogenes</i>	<i>fulgidus</i>
<i>Thermodesulfovibrio</i>		<i>Thermodesulforhabdus</i>	<i>lithotrophicus</i>
<i>yellowstonii</i>		<i>norvegicus</i>	<i>profundus</i>
<i>Desulfosporosinus</i>	<i>orientis</i>		

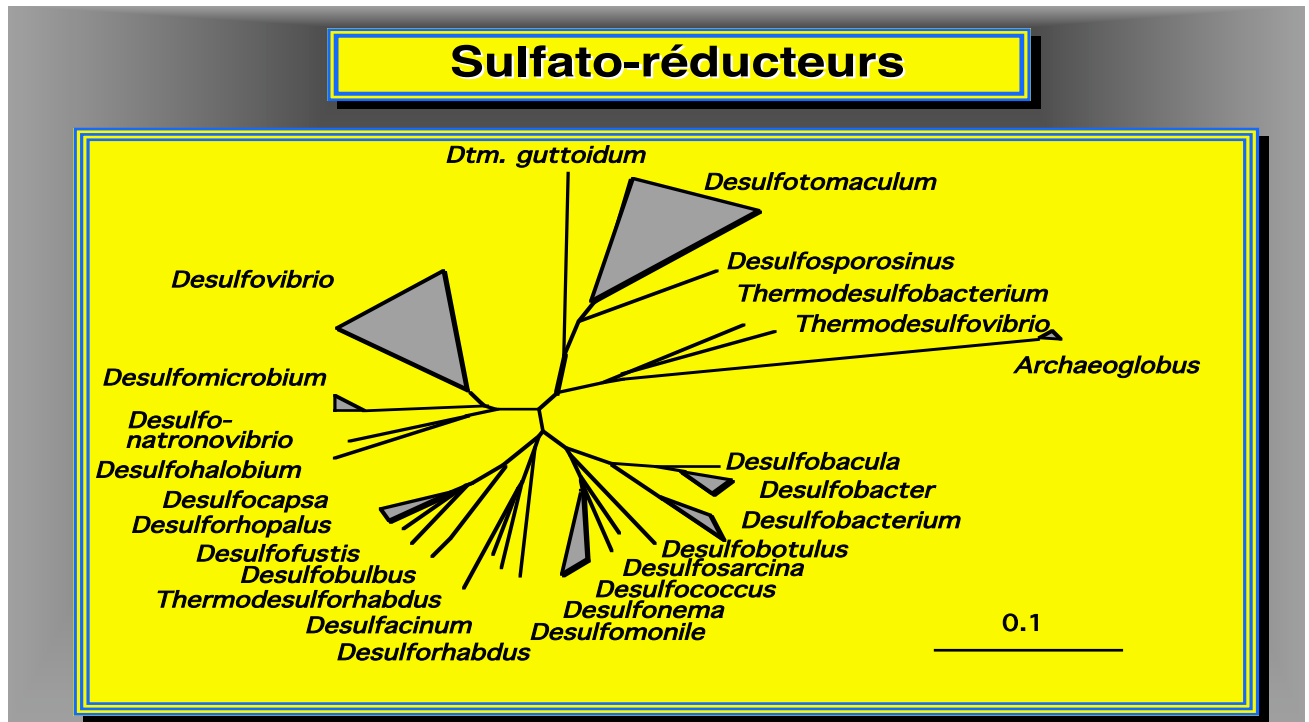


Fig. 3. Répartition phylogénétique des bactéries sulfato-réductrices

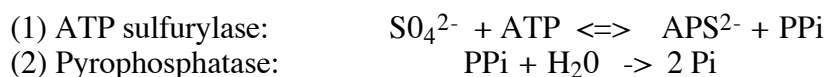
Ces bactéries ont longtemps été considérées comme des compétitrices des bactéries méthanogènes, en étant l'une des causes de l'inhibition de la méthanogénèse en présence de sulfate. En effet, cette inhibition peut être levée par l'addition d' H_2 ou d'acétate dans le milieu, ce qui suggère que ces deux substrats peuvent être compétitivement utilisés par les deux populations bactériennes. Cependant l'importance trophique et l'activité métabolique des bactéries sulfato-réductrices (BSR) dans les environnements en l'absence de sulfate, reste à établir. Il semble exister une relation mutuelle avec les méthanogènes dans le cadre du transfert interspèce d'hydrogène; ces dernières, en éliminant l'hydrogène produit par les BSR, remplacent le sulfate comme accepteur d'électrons et rendent la réaction thermodynamiquement possible. Mais seul un nombre restreint d'espèces de BSR est capable de réaliser ce transfert; elles appartiennent toutes au genre *Desulfovibrio*, avec une exception pour le genre *Desulfohalobium*.

6.1.2. Mécanismes enzymatiques de la réduction dissimilatrice de SO_4^{2-}

La sulfato-réduction est un processus complexe qui fait intervenir plusieurs étapes.

6.1.2.1. Activation du sulfate par l'ATP

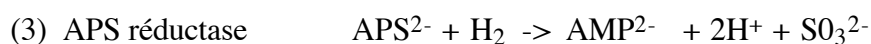
Cette première étape implique deux enzymes différentes:



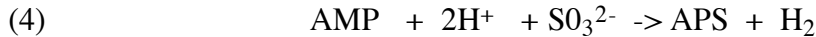
La réduction du sulfate dépend donc de l'action de la pyrophosphatase qui permet la formation d'APS dans la réaction 1.

6.1.2.2. Réduction de l'APS

La réduction de l'APS en SO_3^{2-} est ensuite réalisée par l'APS-réductase, l'hydrogène étant utilisé comme donateur d'électron:



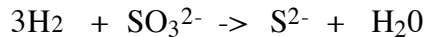
Comme le potentiel du couple redox APS/SO₃²⁻, AMP est de -0,06 V, l'APS réductase peut également fonctionner *in vitro* en formant de l'APS à partir de sulfite et d'AMP, en présence d'un accepteur d'électrons de potentiel plus électropositif (par exemple le ferricyanure ou l'oxygène);



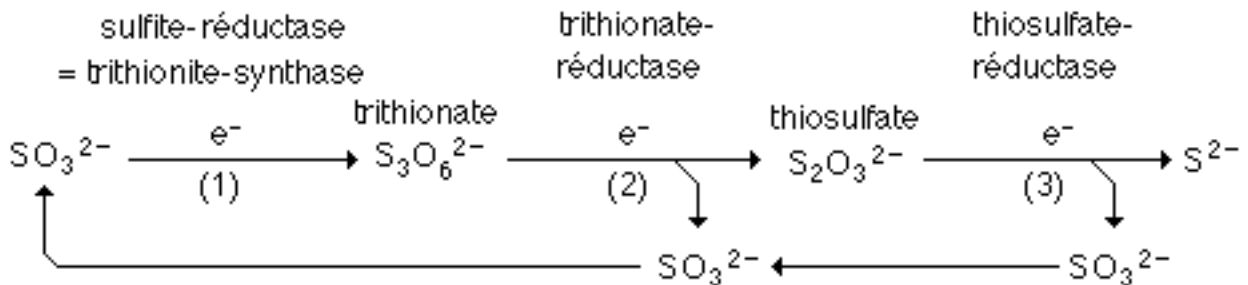
c'est le rôle physiologique de l'APS réductase dans les bactéries sulfo-oxydantes que nous étudierons plus loin (voir § 7).

6.1.2.3. Réduction du sulfite en sulfure

Si la réduction dissimilatrice était identique à la réduction assimilatrice (§ 3)



on devrait toujours trouver un rapport de 3 entre l'hydrogène oxydé et le sulfite réduit. En fait il n'en est rien, ce rapport varie au cours des étapes de la purification enzymatique. On se trouve en fait en présence d'un processus complexe comportant plusieurs étapes. La réduction dissimilatrice du sulfite en sulfure se fait suivant la chaîne de réactions suivante:



Il faut donc 3 protéines différentes pour parvenir à l'hydrogène sulfuré:

- une sulfite réductase (ou trithionate synthase)
- une trithionate réductase
- une thiosulfate réductase

La respiration du sulfate nécessite donc un minimum de 6 protéines, alors que chez les eucaryotes, par exemple, la respiration de l'oxygène se fait à l'aide d'une seule, la cytochrome oxydase. L'explication de cette complexité se trouve dans le système énergétique particulier à ces microorganismes: l'activation du sulfate en APS consommant un ATP, ils ne peuvent se développer sur le lactate (qui ne fournit qu'un seul ATP lors de son oxydation) qu'à la condition que de l'ATP soit aussi formé au cours du transfert des électrons par la chaîne respiratoire. Or seule l'étape de réduction du trithionate en thiosulfate est susceptible de fournir un saut énergétique suffisant pour former de l'ATP.

6.2. Réduction dissimilatrice du soufre élémentaire (sulfo-réduction)

Un nouveau genre bactérien, *Desulfuromonas*, capable de respirer le soufre élémentaire a été isolé à partir d'échantillons de boues riches en sulfures. Ces bactéries en forme de petit bâtonnet à flagelle latéral sont capables d'utiliser l'acétate comme seule source de carbone et d'énergie, les électrons étant transférés au soufre élémentaire avec formation de sulfure:



Cette respiration d'un nouveau genre confirme l'hypothèse de VAN NIEL (1932) qui postulait l'équivalence de H₂O et H₂S en tant que donateurs d'électrons dans la photoassimilation du CO₂ par les algues et les bactéries vertes du soufre (voir § 7). Cette équivalence entre l'eau et le sulfure, l'oxygène et le soufre s'applique également aux systèmes transporteurs d'électrons générateurs d'énergie: respiration aérobie de l'oxygène produisant de l'eau, respiration anaérobie du soufre produisant du sulfure (Fig. 4).

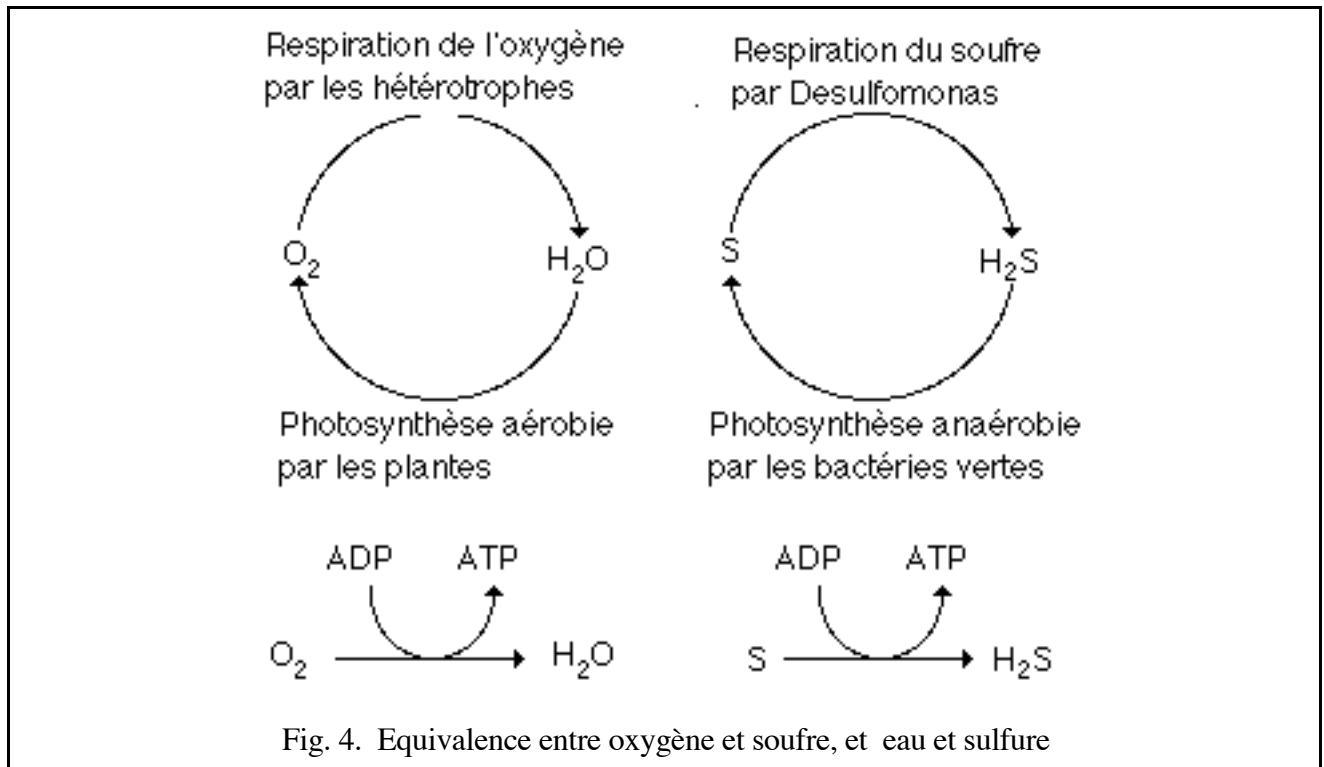


Tableau 2. Bactéries sulforéductrices

Sulforéducteurs obligatoires

Eubactéries

*Desulfuromonas (acetoxidans, acetexigens)**Desulfurella**Desulfurococcus (mobilis, mucosus)*

Archaeobactéries

*Pyrodictium**Thermoproteus (tenax, neutrophilus)**Acidianus***Sulforéducteurs facultatifs***Desulfovibrio* sp.*Wolinella**Pseudomonas* (1 sp.)*Alteromonas* (1 sp.)*Beggiatoa**Thermosipho* (Eubactérie hyper-halophile)*Thermotoga* (Eubactérie hyper-thermophile)*Oscillatoria* (Cyanobactérie)*Chromatiaceae* (à l'obscurité, métabolisme de maintenance)*Chlorobiaceae**Thermodiscus**Thermofilum**Pyrodictium**Campylobacter**Vibrio succinogenes*

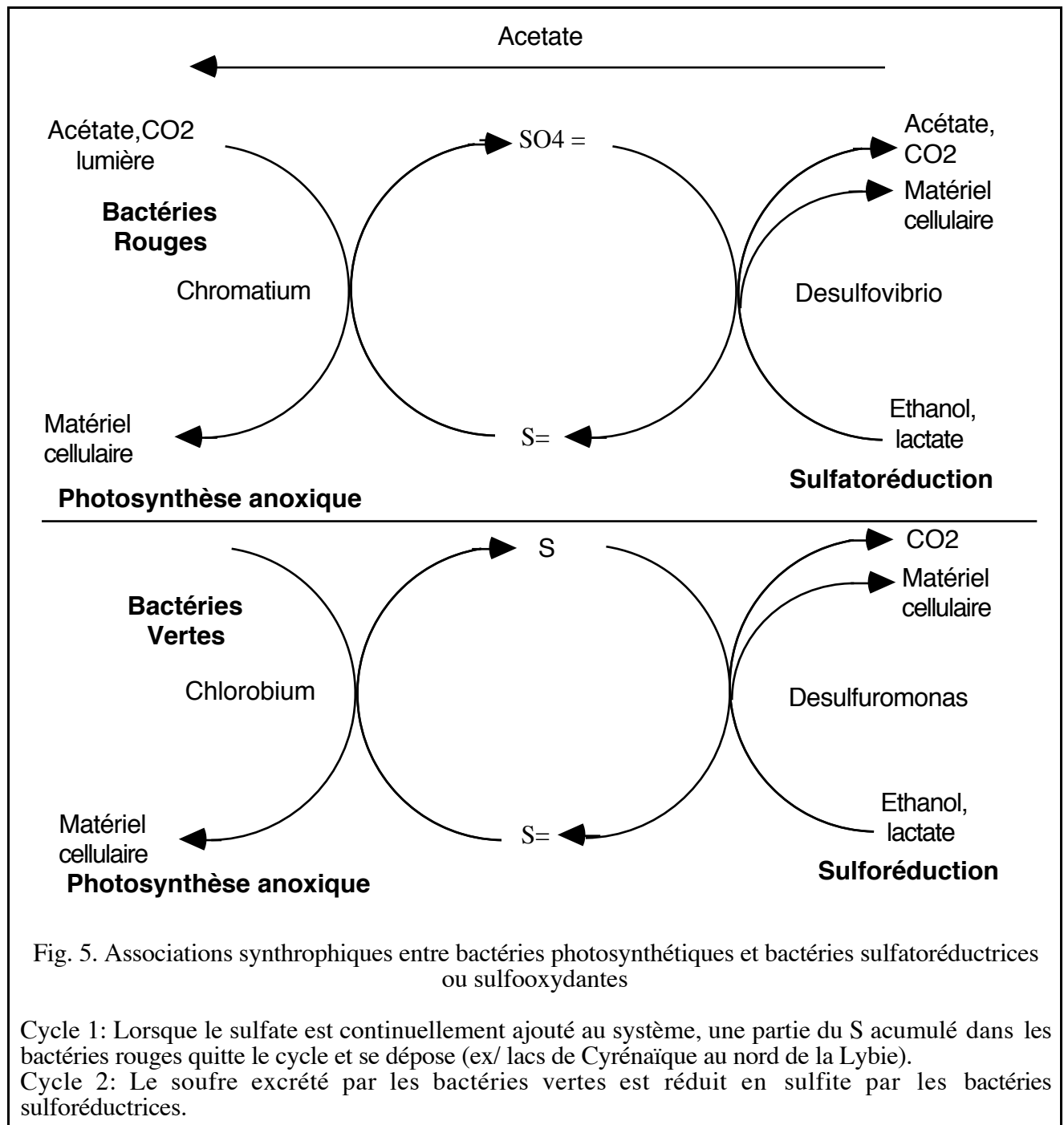


Fig. 5. Associations syntrophiques entre bactéries photosynthétiques et bactéries sulfatoréductrices ou sulfoxydantes

Cycle 1: Lorsque le sulfate est continuellement ajouté au système, une partie du S accumulé dans les bactéries rouges quitte le cycle et se dépose (ex/ lacs de Cyrénaïque au nord de la Lybie).

Cycle 2: Le soufre excrété par les bactéries vertes est réduit en sulfite par les bactéries sulforéductrices.

Dans le grand cycle de la matière de la biosphère aérobie, la respiration utilisant l'oxygène est associée à la formation d'oxygène par la photosynthèse utilisant l'énergie solaire; de la même façon dans le petit cycle de la matière intervenant dans les niches écologiques anaérobies exposées à la lumière, la respiration du soufre élémentaire est associée à sa formation par la photosynthèse des bactéries vertes sulfureuses (**Fig. 5**).

Suivant l'hypothèse de PECK (1967), ce cycle anaérobie associant les bactéries sulfo- et sulfato-réductrices et les bactéries photosynthétiques du soufre dans de véritables syntrophies, est l'image des formes primitives de la respiration et de la photosynthèse qui existait sous l'atmosphère primitive réductrice, avant l'émergence de la photodissociation de l'eau qui entraîna l'augmentation de la concentration de l'oxygène atmosphérique.

La datation des dépôts de soufre par le rapport des isotopes S_{32}/S_{34} (l'enrichissement en S_{34} , dû à l'activité microbienne, est proportionnel à l'âge du dépôt) indique que le processus de sulfato-réduction est vieux de plus de 3,5 milliards d'années, ce qui est très proche de l'apparition des premiers êtres vivants et en tout cas bien antérieur à l'apparition de l'oxygène dans l'atmosphère (qui date de 2 milliards d'années).

La comparaison de la séquence des acides aminés dans certains pigments bactériens (cytochromes, ferredoxines) permet en fait, de supposer que les bactéries vertes sulfureuses sont encore plus anciennes que les bactéries sulfatoréductrices.

De nombreux autres genres de bactéries sulforéductrices ont été découverts et plus particulièrement dans des milieux extrêmes thermophiles; ils appartiennent pour la plupart au domaine des *Archaea* (**Tableau 2**). De nombreuses espèces du genre *Desulfovibrio* sont également capables de réduire le soufre élémentaire.

6.3. Réduction dissimilatrice du thiosulfate (thiosulfato-réduction) par les procaryotes non sulfato-réducteurs

Le thiosulfate $S_2O_3^{2-}$ peut être produit spontanément par l'oxydation chimique des sulfures dans de nombreux environnements. On peut donc le trouver dans les écosystèmes anaérobies en présence de concentrations variées en oxygène, et plus particulièrement en conditions micro-aérophiles. Il n'est donc pas étonnant d'isoler des procaryotes spécialisés dans la réduction de ce composé oxygéné du soufre. La réduction du thiosulfate serait importante dans le cycle géochimique du soufre, dans les environnements anaérobies chauds tels que les sources chaudes volcaniques faiblement acides ou neutres, et pourrait être également impliquée dans l'activation de la biocorrosion en milieu pétrolier. Les premières études portant sur les thiosulfato-réducteurs thermophiles ont révélés les propriétés métaboliques suivantes en présence de thiosulfate: oxydation de H_2 , des peptides, acides aminés et hydrates de carbone et production de L-alanine lors de la fermentation du glucose.

L'étude de l'oxydation de H_2 en présence de thiosulfate dans le genre *Thermoanaerobacter* a permis d'identifier deux groupes bactériens: un 1^{er} groupe qui oxyde activement H_2 en présence d'extrait de levure (ex.: les trois sous-espèces de *Thermoanaerobacter Brockii* (*brockii*, *finnii*, et *lactiethylicus*)) et un 2^e groupe qui oxyde faiblement H_2 en présence d'extrait de levure et de glucose (ex.: *T. ethanolicus* et *T. Thermohydrosulfuricus*). Ces bactéries, en utilisant le thiosulfate pour oxyder H_2 , facilitent la minéralisation de la matière organique dans les biotopes. D'autre part, les espèces du genre *Thermoanaerobacter* utilisent une plus grande gamme de peptides et d'acides aminés en présence de thiosulfate ou en association avec des méthanogènes hydrogénotrophes (transfert inter-espèce d'hydrogène).

L'étude de l'oxydation des hydrates de carbone en présence de thiosulfate dans le genre *Thermoanaerobacter* a révélé que *Thermoanaerobacter Brockii* subsp. *finnii* produit lactate, acétate, H_2 et CO_2 par fermentation du glucose ou du xylose, l'éthanol étant le métabolite majeur. En présence de thiosulfate, l'oxydation du glucose et du xylose est modifiée: l'acétate devient le principal métabolite. Cette déviation de métabolisme accroît fortement le rendement et la croissance cellulaire de la bactérie.

La production de L-alanine lors de la fermentation du glucose par les *Thermotogales* thiosulfato-réductrices permet de diviser cet ordre en deux groupes distincts: les thermophiles du group I (*Fervidobacterium islandicum*, *Thermosiphon africanus*, *Thermotoga elfii* et *T. hypogea*) qui produisent plus de 0.2 mol de L-alanine par mol de glucose consommé et les hyperthermophiles du groupe II (*Thermotoga neapolitana* et *T. maritima*) qui produisent moins de 0.2 mol de L-alanine par mol de glucose consommé. Dans le groupe I, la concentration en L-alanine décroît fortement tandis que la concentration en acétate s'accroît en présence de thiosulfate, tandis que dans le groupe II, il n'y a pas de changement significatif de production de L-alanine et d'acétate en présence de thiosulfate, indiquant ainsi une possible implication de la phosphorylation oxydative dans le métabolisme du glucose. Des études de phylogénie et de physiologie ont démontré que deux microorganismes des branches les plus basses de l'arbre phylogénétique étaient étroitement reliés: *Thermotoga maritima*, du domaine des *Bacteria* et *Pyrococcus furiosus*, du domaine des *Archaea*. Ces deux procaryotes produisent de la L-alanine lors du métabolisme des sucres; cette production pourrait être considérée comme un métabolisme ancestral développé par les premiers organismes vivants. Hypothèse: les *Thermotogales* thiosulfato-réductrices seraient issues de membres du domaine des *Archaea* à une

période d'évolution où le thiosulfate, produit chimiquement à partir du sulfure, était abondant, consécutivement à l'apparition de l'oxygène dans l'atmosphère.

La diversité des procaryotes thiosulfato- non sulfato-réducteurs est reportée dans le **tableau 3**. D'autres procaryotes anaérobies thiosulfato-réducteurs non sulfato-réducteurs ont été récemment isolés d'habitats variés tels que les sols de rizière, les digesteurs, les sources thermales et les puits de pétrole. Leur diversité apparaît maintenant plus largement répandue qu'on ne le pensait. La répartition phylogénétique des procaryotes thermophiles thiosulfato-réductrices est reportée **figures 6 et 7**.

Tableau 3. Diversité des thiosulfato- non sulfato-réducteurs

Domaine <i>Bacteria</i>	Domaine <i>Archaea</i>
Fam. Thermoanaerobiaceae	Règne Crenarchaeota
<i>Thermoanaerobacter</i>	Ordre Igneococcales
<i>Thermoanaerobacterium</i>	Fam. Pyrodictiaceae
Fam. Thermotogataceae	<i>Pyrodictium</i>
<i>Thermotoga</i>	<i>Pyrolobus</i>
<i>Fervidobacterium</i>	Fam. Desulfurococcaceae
<i>Thermosipho</i>	<i>Stetteria</i>
<i>Petrotoga</i>	Ordre Thermoproteales
Fam. Thermodesulfo- bacteriaceae	Fam. Thermoproteaceae
<i>Coprothermobacter</i>	<i>Thermoproteus</i>
	<i>Pyrobaculum</i>
Mésophiles	Règne Euryarchaeota
<i>Dethiosulfovibrio</i>	<i>Ferroglobus</i>
<i>Fusibacter</i>	<i>Archaeoglobus</i>
<i>Spirochaeta</i>	
<i>Haloanaerobium</i>	
<i>Orenia</i>	
<i>Clostridium</i>	

Dans les environnements pétroliers, le thiosulfate peut résulter de l'oxydation de l' H_2S souvent présent dans ces écosystèmes, par suite d'entrée accidentelle d'oxygène lors d'opérations d'extraction du pétrole. Plusieurs souches de bactéries anaérobies non sulfato-réductrices, mais thiosulfato-réductrices ont été isolées: *Dethiosulfovibrio peptidovorans*, bactérie mésophile isolée d'une eau de gisement pétrolier, présente une activité corrosive égale, voire plus importante que celle reportée pour les bactéries sulfato-réductrices dans des expériences similaires.

Fermentaires thermophiles

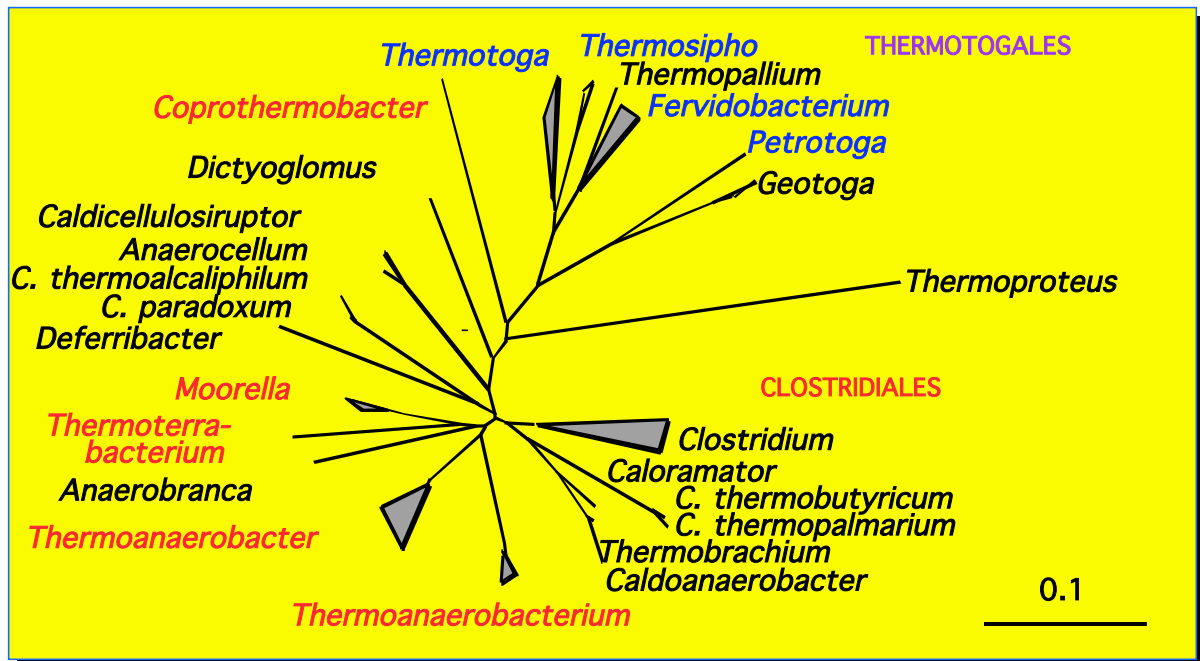


Fig. 6. Répartition phylogénétique des bactéries thermophiles thiosulfato-réductrices

Ces bactéries thermophiles thiosulfato-réductrices possèdent de nombreux enzymes thermostables qui peuvent avoir une application industrielle. Et il est maintenant possible d'obtenir des quantités importantes de biomasse de thiosulfato-réducteurs par simple addition de thiosulfate dans le milieu de culture. Il serait également intéressant de développer des sondes spécifiques pour détecter ces microorganismes dans des environnements variés et démontrer ainsi leur implication dans la dégradation anaérobie de la matière organique.

Archaea thermophiles anaérobies

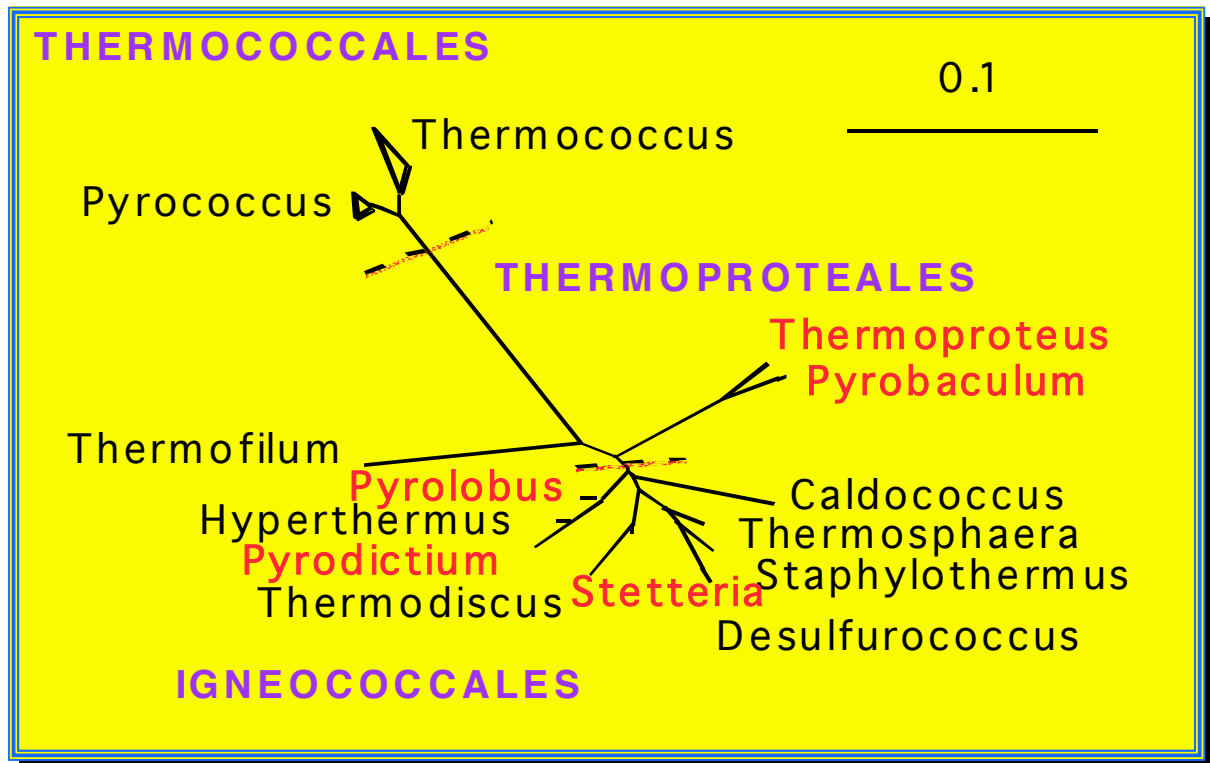


Fig. 7. Répartition phylogénétique des *Archaea* thiosulfato-réductrices

7. Oxydation des composés inorganiques du soufre: sulfo-oxydation

La plus grande partie du soufre produit dans la biosphère est rapidement oxydée en sulfate, mais une certaine quantité peut également être bloquée sous forme de sulfures insolubles ou de soufre élémentaire pendant de longues périodes. Le soufre élémentaire se forme soit par oxydation chimique spontanée de H_2S à l'air, soit par oxydation microbienne. L'oxydation microbienne est principalement due, dans les biotopes banaux pauvres en soufre, à l'action contingente de la microflore hétérotrophe. On sait en effet, que de nombreuses bactéries peuvent oxyder les composés inorganiques du soufre sans en tirer de l'énergie, cette oxydation contingente correspondant probablement à un processus de détoxication. Les processus métaboliques mis en jeu demeurent inconnus, de même que l'importance quantitative du phénomène dans les sols.

Par contre, dans les biotopes riches en soufre, l'oxydation des composés du soufre est principalement due à une microflore spécialisée, les bactéries sulfo-oxydantes, dont on distingue 2 grands groupes tous deux généralement autotrophes (c'est-à-dire utilisant le CO_2 comme source de carbone):

- les bactéries chimiotrophes incolores, aérobies strictes ou dénitrifiantes facultatives. Elles utilisent le transfert des électrons depuis les composés sulfurés jusqu'à l'oxygène (ou le nitrate pour les espèces dénitrifiantes) comme source d'énergie;
- les bactéries photosynthétiques rouges ou vertes, utilisant la lumière pour oxyder les composés du soufre uniquement en anaérobiose.

Les **tableaux 4** et **5** décrivent les genres appartenant à ces deux groupes de bactéries sulfooxydantes.

7.1. Oxydation par les bactéries chimiotrophes incolores

7.1.1. Thiobactéries

A une exception près, les espèces décrites sont chimiotrophes strictes, c'est-à-dire qu'elles ne peuvent tirer leur énergie que de l'oxydation des formes minérales du soufre. La plupart sont également autotrophes strictes, mais certaines espèces peuvent utiliser des composés organiques comme source de carbone (mais pas d'énergie).

Le métabolisme du soufre par les thiobacilles a fait l'objet de très nombreuses études mais n'est pas clairement élucidé. La chimie du soufre est en effet complexe, et de nombreux composés intermédiaires peuvent réagir chimiquement entre eux. Par exemple, l'oxydation du thiosulfate peut s'accompagner de la formation de soufre élémentaire dans le milieu, mais le soufre élémentaire n'est pas obligatoirement un intermédiaire physiologique normal dans cette oxydation. Il n'est d'ailleurs jamais accumulé à l'intérieur des cellules, contrairement aux bactéries filamenteuses du soufre (voir plus loin § 7.1.2.).

Le schéma du métabolisme du soufre par les thiobacilles, proposé par SIEGEL (1975), est présenté à la **Fig. 8**. Dans ce schéma RSH représente un thiol lié à une particule qui peut être remplacé *in vitro* par le glutathion ($C_{10}H_{16}N_3O_6SH$). Le bilan de l'oxydation du sulfure ou du soufre s'établit ainsi :



et



On voit donc que l'oxydation des composés du soufre s'accompagne d'une forte production d'ions H^+ , donc d'une acidification du milieu dont les conséquences peuvent être importantes dans le biotope (voir § 8).

Le pH optimum de croissance varie suivant les souches aérobies de pH 6,8 à pH 5, mais certaines espèces (*Acidithiobacillus thiooxidans*) peuvent encore se développer à un pH très acide (environ une solution normale d'acide sulfurique, soit pH 0,85). L'oxydation anaérobie par l'espèce dénitrifiante facultative *Thiobacillus denitrificans* ne s'accompagne pas de cette baisse de pH, les OH^- produits par la réduction du NO_3^{2-} en N_2 compensant l'acidification due à la sulfo-oxydation.

7.1.2. Oxydation par les bactéries filamenteuses

Ce sont des bactéries aérobies strictes que l'on trouve dans les cours d'eau, lacs ou eaux marines proches d'une source continue de sulfure (soit d'origine géologique, soit d'origine biologique). Elles forment alors un revêtement caractéristique sur les surfaces immergées. Les filaments contiennent des réserves de soufre sous forme de granules de soufre élémentaire; ces granules disparaissent si les cellules sont maintenues dans un milieu dépourvu de sulfure. Ces bactéries ont été étudiées en détail par WINOGRADSKY, et ont conduit cet auteur à énoncer le concept de chimiotrophie, c'est-à-dire la possibilité pour certains organismes d'utiliser l'oxydation de composés minéraux comme source d'énergie. Nos connaissances n'ont pratiquement pas progressé depuis. Il semble que H_2S soit le seul composé soufré utilisable; comme il est autooxydable en présence d'air qui est également nécessaire à la bactérie, il est très difficile de reproduire *in vitro* un milieu de culture convenable. Les études ont donc surtout porté sur l'écologie des genres *Sulfolobus*, *Thiothrix* et *Beggiatoa*, seuls genres ayant été obtenus en culture pure jusqu'à présent.

Tableau 4. BACTERIES SULFO-OXYDANTES NON COLOREES

- Genre *Thiobacillus* : la plupart des espèces peuvent croître en autotrophie; beaucoup sont organotrophes et quelques unes respirent NO_3^- ou NO_2^- (*T. denitrificans*).
 - Genre *Acidithiobacillus* : *A. ferrooxidans* utilise les ions ferreux et les formes réduites du soufre comme source d'énergie tandis que *A. thiooxidans* n'utilise que les formes réduites du soufre.
 - Genre *Halothiobacillus* : halophiles qui tirent leur énergie des formes réduites du soufre (ex.: *H. neapolitanus*).
 - Genre *Thermithiobacillus* : modérés thermophiles qui tirent leur énergie des formes réduites du soufre (ex.: *H. tepidarius*).
 - Genre *Sulfolobus* : archaea cocciforme croissant à bas pH (2,0) et haute température (60°C) aux dépens du soufre élémentaire aussi bien que de divers composés organiques; oxyde également les ions Fe^{++} .
 - Genre *Thiomicrospira* : spirilles mobiles par un flagelle polaire, montrant une physiologie semblable à celle des Thiobacilles. Une espèce dénitrifiante.
 - Genre *Beggiatoa* : longs filaments mobiles par glissement.
- 7 autres genres sont oxydants du sulfure obligatoires, ce qui rend l'utilisation de milieu solide impossible en raison de l'auto-oxydabilité de H_2S . Elles existent uniquement par leur reconnaissance morphologique .
- Genre *Achromatium* : cellules sphériques ovoïdes ou cylindriques de grande taille, présentant de grosses inclusions de CaCO_3 mélangées à des globules de soufre plus petits.
 - Genre *Macromonas* : identiques aux précédentes, mais ciliées.
 - Genre *Thiobacterium* : bâtonnet non mobile avec inclusions de soufre formant des masses gélatineuses.
 - Genre *Thiospira* : spirille avec inclusions de soufre et touffe de cils polaires.
 - Genre *Thiovulum* : grosse cellule ovoïde avec inclusions de soufre et flagelles péritriches parfois.

7.2. Oxydation par les bactéries photosynthétiques

Ces organismes possèdent un ensemble de caractères ne leur permettant de se multiplier que dans des biotopes bien définis, qui doivent être aquatiques, anaérobies, riches en H_2S et éclairés. Malgré leur confluence écologique, les bactéries rouges et vertes sont en fait très différentes.

Les bactéries rouges (Chromatiaceae) sont mobiles et de morphologie variée. A la lumière, elles oxydent plusieurs composés minéraux réduits (H_2S , mais aussi S^0 , S_2O_3) en anaérobiose mais elles peuvent également se développer hétérotrophiquement à l'obscurité sans composés soufrés, les composés carbonés étant alors utilisés comme source d'énergie. La croissance à la lumière est autotrophe, le CO_2 étant assimilé suivant le cycle de Calvin comme pour la plupart des procaryotes et les eucaryotes. Les systèmes photosynthétiques (contenant des bactériochlorophylles) sont situés dans des membranes intracytoplasmiques de formes très diverses pour chaque espèce et l'oxydation de H_2S

aboutit à l'accumulation de soufre élémentaire à l'intérieur de la cellule. Le soufre élémentaire ainsi accumulé peut être utilisé par les bactéries rouges si le milieu extérieur s'appauvrit en soufre.

Les bactéries vertes (Chlorobiaceae) sont immobiles, de morphologie homogène. Elles sont incapables de se développer à l'obscurité sans composés minéraux oxydables et sont autotrophes strictes, le CO_2 étant assimilé suivant une voie métabolique différente du cycle de Calvin. Les pigments photosynthétiques sont disposés au contact de la paroi extérieure, l'oxydation du sulfure aboutissant à la formation de granules de soufre élémentaire à l'extérieur de la cellule. Le soufre ainsi excrété n'est plus utilisable par les bactéries vertes. Elles possèdent des vacuoles de gaz qui permettent aux cellules de flotter entre deux eaux ou en surface.

Dans certaines conditions, les bactéries rouges ou vertes peuvent se développer massivement, colorant les eaux en rouge ou vert (avec dans ce dernier cas une opalescence due au soufre élémentaire excrété par les bactéries vertes). L'optimum de concentration en sulfure est différent pour les deux groupes qui préfèrent des eaux à pH neutre. Le maximum d'absorption de la lumière par les pigments photosynthétiques est également différent, ce qui explique les associations en strates horizontales que l'on observe parfois dans des eaux calmes. Ce pic maximum est situé à 670 nm (rouge visible) pour les algues vertes, vers 730 nm (rouge sombre pour les bactéries vertes sulfureuses) et vers 880 nm (infra rouge) pour les bactéries rouges sulfureuses (**fig. 9**).

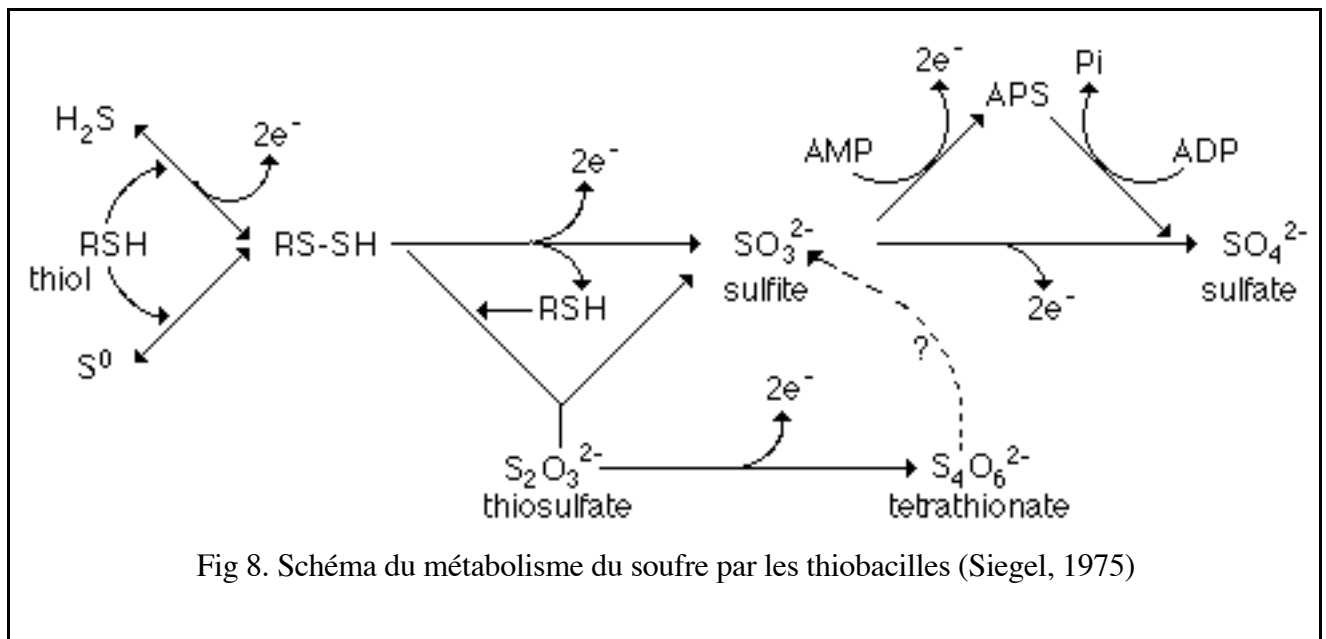


Tableau 5. BACTERIES SULFO-OXYDANTES COLOREES

1 - Bactéries vertes (famille Chlorobiacées)

- Genre *Chlorobium*
- Genre *Chlorochromatium*
- Genre *Chloroherpeton*
- Genre *Pelodictyon*
- Genre *Pelochromatium*
- Genre *Prosthecochloris*

2 - Bactéries pourpres (famille Chromatiacées)

- Genre *Amoebobacter*
- Genre *Chromatium*
- Genre *Allochromatium*
- Genre *Isochromatium*
- Genre *Halochromatium*
- Genre *Marichromatium*
- Genre *Rhabdochromatium*
- Genre *Ectothiorhodospira*
- Genre *Lamprobacter*
- Genre *Lamprocystis*
- Genre *Rhodovibrio*
- Genre *Rhodovulum*
- Genre *Rhodopseudomonas*
- Genre *Rhodothalassium*
- Genre *Halorhodospira*
- Genre *Roseospira*
- Genre *Thiococcus*
- Genre *Thiocapsa*
- Genre *Thiocystis*
- Genre *Thiohalocapsa*
- Genre *Thiorhodococcus*
- Genre *Thiorhodovibrio*
- Genre *Thiospirillum*
- Genre *Thiodycton*
- Genre *Thiopedia*

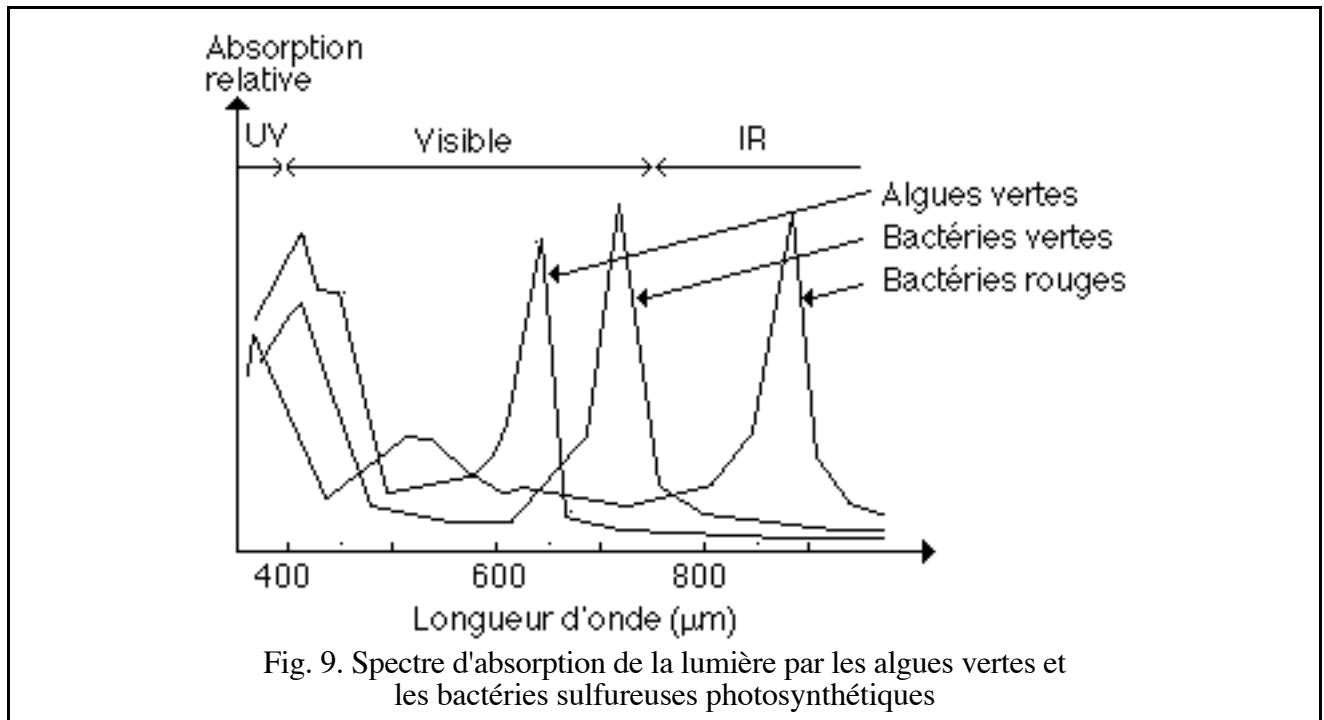
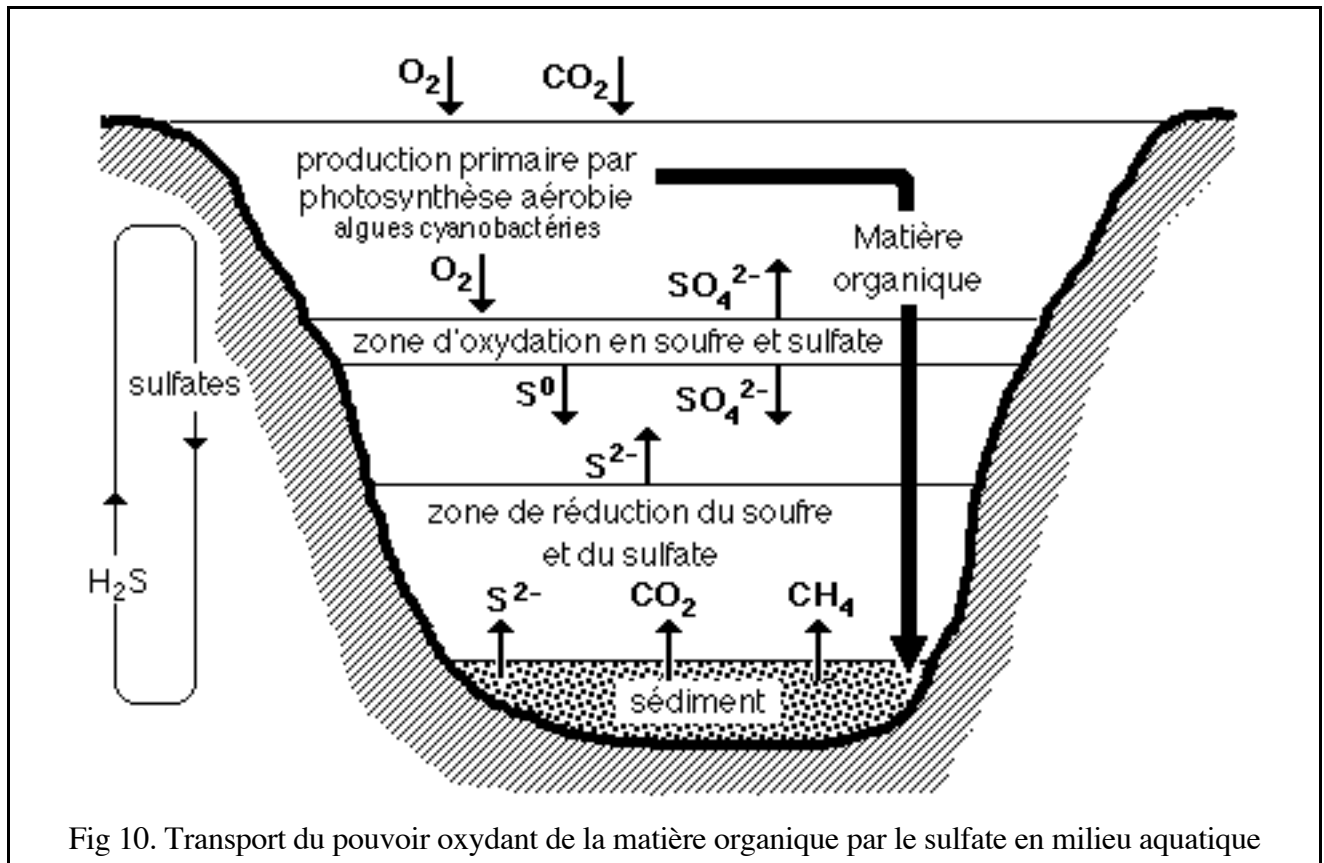


Fig. 9. Spectre d'absorption de la lumière par les algues vertes et les bactéries sulfureuses photosynthétiques

A la surface d'un sol de rizière enrichi en sulfate, les bactéries rouges sulfureuses apparaissent après le développement des bactéries sulfatoréductrices, qui succèdent elles-mêmes aux algues vertes. Cette succession dans le temps correspond également aux observations *in situ* dans les eaux lagunaires. Les " crises dystrophiques " des étangs du Languedoc sont la conséquence du développement successif de ces différentes populations microbiennes.

7.3. Oxydation chimique

Suivant les caractéristiques physicochimiques du biotope, l'oxydation chimique du sulfure ou du soufre élémentaire peut y être rapide ou lente. Aux pH acides par exemple, les ions de métaux lourds catalysent ces oxydations. Etant donné le nombre des études sur la physiologie des thiobacilles et l'intérêt provoqué par la morphologie particulière des bactéries rouges ou vertes, il est possible que la contribution réelle des microorganismes dans l'oxydation des composés du soufre soit en fait surestimée dans de nombreuses études écologiques. Il est en effet très difficile d'évaluer *in situ* la part relative des deux processus. Nous verrons au paragraphe suivant que l'oxydation biologique est cependant très active dans certains biotopes.



8. Quelques problèmes particuliers liés au cycle du soufre

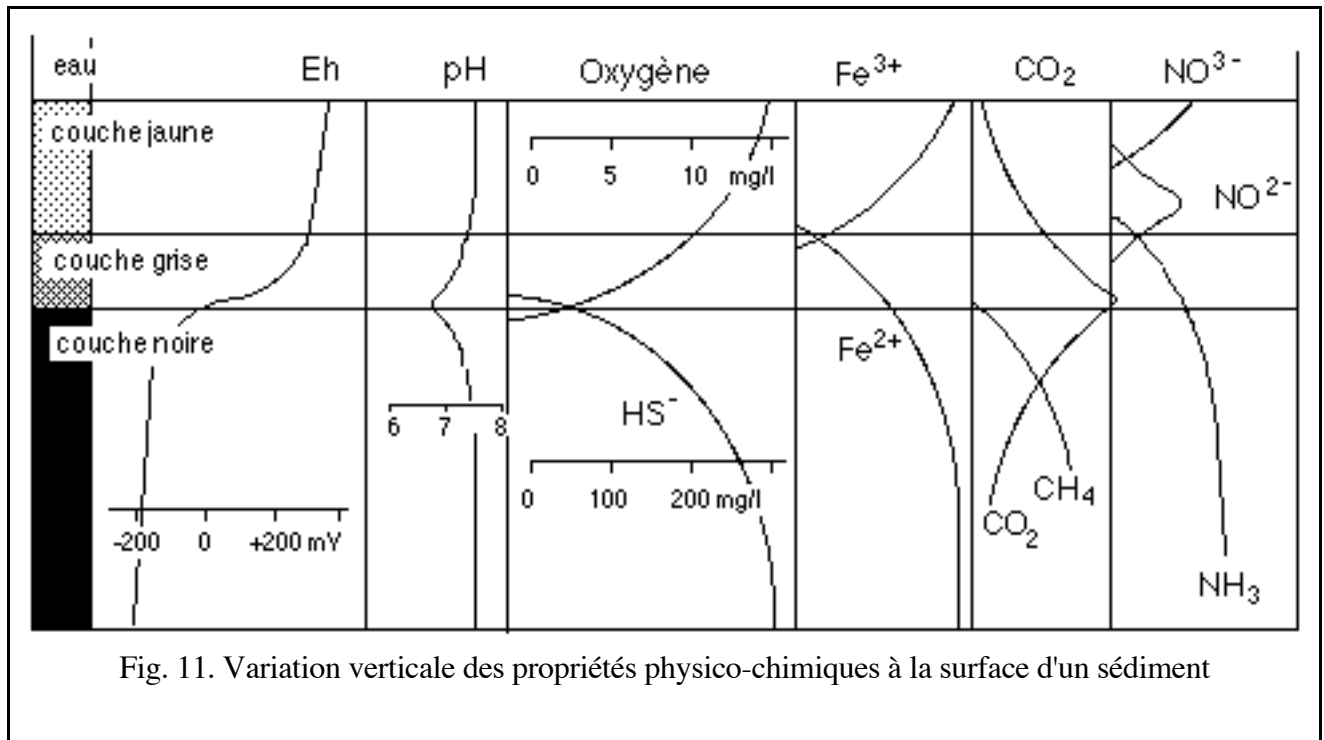
8.1. Le biotope d'estuaire

Cet environnement est particulièrement favorable pour le développement des microorganismes du cycle du soufre, en raison de la disponibilité conjointe de matière organique apportée par les eaux continentales et du sulfate contenu dans l'eau de mer. Le sulfate joue alors un rôle très important dans le transport du pouvoir oxydant vers la profondeur (**Fig. 10**). A raison de 2,7 g par litre en moyenne, ce pouvoir oxydant correspond à environ 200 fois celui de l'oxygène à saturation.

Suivant les conditions de température, de profondeur, etc..., le turn-over du soufre dans le système eau-vase est plus ou moins rapide. Cette notion de turn-over est d'une grande importance, la numération des organismes impliqués et la mesure des concentrations des différents métabolismes ne suffisant pas à apprécier la dynamique du système. En effet, il est possible qu'un métabolite soit consommé aussi vite qu'il est produit: sa concentration dans le milieu est alors voisine de zéro. Cependant le groupe microbien qui utilise ce composé peut être particulièrement abondant et actif. La connaissance des flux de matière, des taux de croissance et de mort des différents composants du système est alors nécessaire pour en comprendre le fonctionnement.

8.2. Les eaux douces sulfureuses

Dans certains biotopes aquatiques riches en soufre d'origine organique fonctionne un écosystème qui met en jeu certaines bactéries du cycle du soufre réparties dans deux zones suivant les conditions du potentiel Redox (**Fig. 10**). Cette stratification peut s'établir par différence de densité entre eaux chaudes et eaux froides. Les différents groupes microbiens (algues vertes, bactéries photosynthétiques sulfureuses) utilisent alors des longueurs d'onde différentes dans le spectre solaire, comme nous l'avons vu plus haut.



8.3. La zone réductrice sous l'interface eau-sédiment

L'existence d'une zone réductrice noire située à quelques millimètres en dessous de l'interface eau-sédiment est très générale: cette couche a été décrite sous toutes les latitudes, elle se forme dans des sédiments de granulométrie variée. Elle se caractérise par une discontinuité du potentiel redox (DPR). L'individualisation, l'épaisseur de la DPR dépendent de l'équilibre entre l'apport d'oxygène et l'apport d'éléments nutritifs. Quand l'oxygène devient limitant, d'autres accepteurs finaux des électrons provenant de l'oxydation de la matière organique sont alors utilisés par différents groupes microbiens au fur et à mesure de l'abaissement du potentiel. La **Figure 11** (d'après FENCHÉL et RIEDL, 1970) indique la succession de ces processus aboutissant en quelques jours à la mise en place de la zone de discontinuité à l'interface eau-sédiment et schématise les variations du Eh, pH et des concentrations d'oxygène, de Fer, CO_2 , NO_3^- , NO_2^- et NH_3 dans la DPR.

8.4. Activité des bactéries du cycle du soufre en rizière

On trouve dans le sol submergé de la rizière un exemple de synergie entre groupes bactériens différents. Dans ce biotope anaérobie sont en effet associées les bactéries cellulolytiques anaérobies, sulfato- et sulfo-réductrices et méthanogènes, dans des échanges de métabolites qui aboutissent à la décomposition de la matière organique végétale en CO_2 et CH_4 . Après quelques jours de submersion, le potentiel " moyen " est assez réducteur (-250 mV) pour que les bactéries sulfato-réductrices, sulfo-réductrices et méthanogènes interviennent dans la minéralisation de la matière organique suivant les concentrations en composés sulfurés (**Fig. 12**). Dans le sol, la densité des différents groupes bactériens impliqués dans le cycle du soufre varie au cours de la saison rizicole.

L'intensité de la sulfato-réduction dépend de la concentration en sulfate et en matière organique dans le sol, des conditions d'oxydo-réduction (granulométrie, d'engorgement), et de l'exsudation racinaire. La sulfato-réduction est plus importante quand l'exsudation est stimulée par la lumière, la coupe des parties aériennes, une attaque parasitaire, la dessiccation, etc.

8.5.2. Sulfato-réduction spermosphérique

La sulfato-réduction spermosphérique est un phénomène identique à celui observé dans la rhizosphère. Elle se manifeste lorsque deux conditions sont réunies: anaérobiose et teneur en sulfates ou soufre élémentaire élevées.

L'anaérobiose se produit quand le sol est engorgé et que la structure étant mauvaise, la densité apparente est élevée. Un seuil critique ($d = 1,5$) a été déterminé pour un sol alluvial salin de Tunisie.

Une teneur en sulfate supérieure à 200 ppm est également nécessaire, le seuil pour le soufre élémentaire n'est pas connu.

Les bactéries sulfato-réductrices peuvent alors se développer en utilisant les composés organiques exsudés par la graine en germination (la sulfato-réduction ne se produit pas dans un sol non planté).

La teneur en sulfures solubles peut atteindre des valeurs élevées (56 ppm en Camargue), toxiques pour la jeune plantule. La toxicité des ions sulfure est directe, ou indirecte par effet de barrière de diffusion pour l'oxygène ou les ions minéraux nécessaires au moment de la germination (**Fig. 13**).

Si l'activité des bactéries sulfato-réductrices est compensée par l'activité des bactéries sulfo-oxydantes, il n'y a pas accumulation de sulfure donc pas de toxicité.

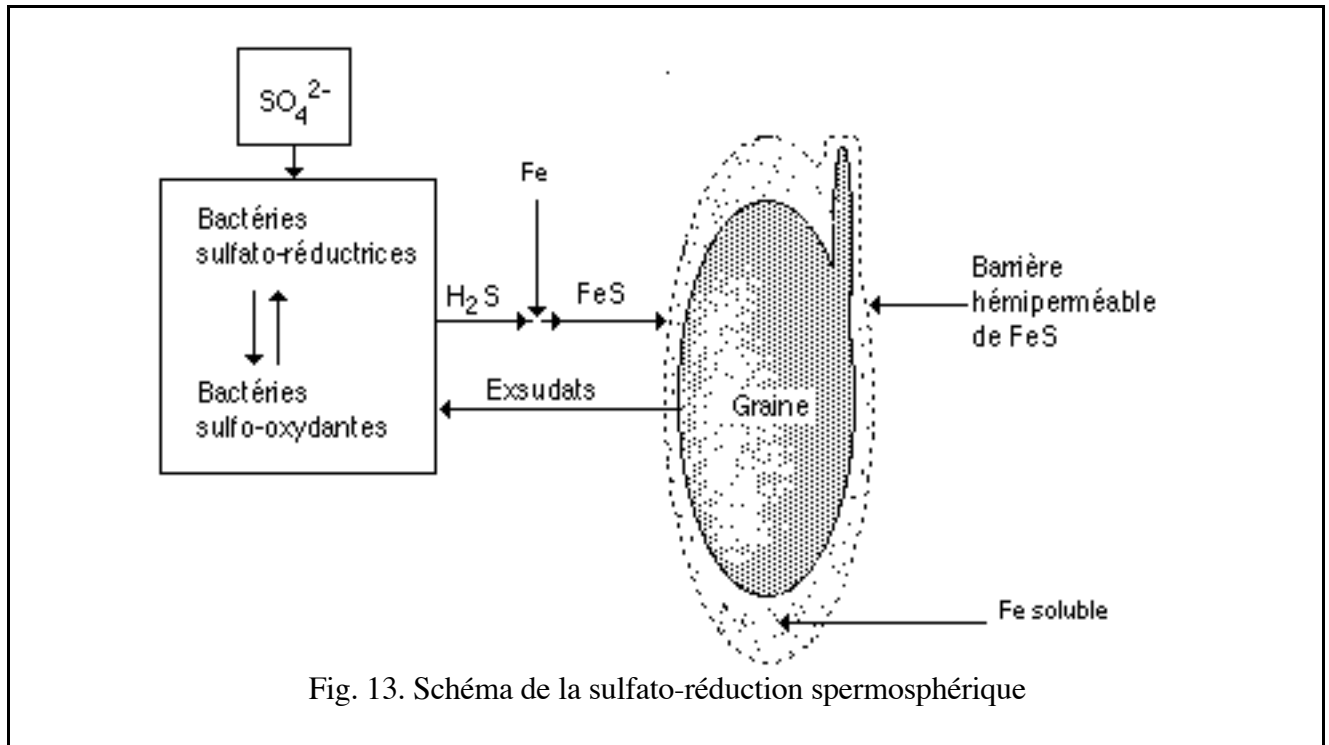


Fig. 13. Schéma de la sulfato-réduction spermosphérique

8.6. Toxicité des sulfures pour les nématodes phytoparasites

Si les sulfures d'origine microbienne sont toxiques pour les plantes, ils le sont aussi pour la faune du sol, et en particulier pour les nématodes phytoparasites des racines. Des observations *in situ* ont montré que les niveaux des populations de certains nématodes étaient fortement diminués par une sulfato-réduction accidentelle ou provoquée. *In vitro*, l'action des sulfures d'origine microbienne a été démontrée.

En rizière, un système de submersion en contresaison, qui provoque une sulfato-réduction dans le sol pourrait être un moyen de lutte efficace contre les nématodes qui réduisent les rendements dans toutes les rizières africaines de près de 30%. Le traitement chimique est en effet, économiquement

impossible (ce traitement s'effectue point par point au pal injecteur). Des expérimentations en parcelle expérimentale ont montré l'intérêt de ce type de lutte biologique.

Dans le cas des bananiers, on a constaté un effet très positif d'une submersion prolongée sur les rendements, qui sont là encore diminués par les nématodes.

8.7. Acidification des sols riches en sulfures par sulfo-oxydation aérobie

L'aménagement de certains sols d'alluvions fluviomarines se heurte parfois à des problèmes ayant pour origine un déséquilibre du cycle du soufre. Situés dans des vallées irrigables, ces sols organiques (en particulier les sols de mangrove) sont potentiellement de bons sols de rizière, mais doivent au préalable être désalés. Les concentrations en sulfures insolubles et en soufre élémentaire y sont importantes (jusqu'à 0,3 % p/p) mais les activités microbiennes faibles et en équilibre. Lors des travaux d'aménagement rizicoles par poldérisation, ces concentrations baissent significativement avec une augmentation très importante de l'activité des différentes bactéries du cycle du soufre. L'effet d'un drainage de la surface est souvent catastrophique, l'oxydation aérobie du sulfure étant alors activée par l'aération. Dans les cas les plus défavorables, on aboutit à une chute de pH très importante (de pH 6,6 à pH 2,3 par exemple) qui rend le sol totalement impropre à toute culture. Cette acidification par sulfo-oxydation peut être atténuée en favorisant l'oxydation anaérobie des sulfures, ce qui est possible en maintenant le sol en percolation sous une couche d'eau douce avec un drainage profond.

8.8. L'alimentation en soufre de la plante

Nous avons vu que la source normale de soufre pour la plante était le sulfate de la solution du sol, l'équilibre entre la minéralisation et l'assimilation microbienne déterminant la concentration du sulfate dans l'eau du sol. Les besoins en soufre d'une culture intensive varient entre 9 et 39 kg ha⁻¹ an⁻¹. Ils sont donc comparables aux besoins en phosphore. Dans les zones industrialisées, ces besoins peuvent être largement couverts par le retour au sol du soufre émis dans les fumées (combustion du pétrole et du charbon), bien que la concentration en SO₂ dans l'air reste faible du fait de sa solubilité. Les apports de soufre dans la pluie varient en effet de 168 kg ha⁻¹ an⁻¹ (à 2 km d'un site industriel) à 42 kg (zone urbaine) et 16 kg (zone rurale non polluée).

Dans des sols pauvres en sulfate, plus de 50 % du soufre nécessaire à la plante est absorbé sous forme de SO₂ par les parties aériennes, certaines plantes (tabac) pouvant se développer uniquement à partir de soufre dans l'atmosphère. L'activité industrielle peut donc profondément modifier la nutrition soufrée des plantes cultivées, les carences en soufre étant de moins en moins observées.

8.9. Corrosion due aux bactéries du cycle du soufre

8.9.1. Rôle des bactéries sulfato-réductrices dans la corrosion du fer

La découverte du rôle des bactéries sulfato-réductrices dans la corrosion du fer et de l'acier est relativement récente, bien que ce phénomène revête une grande importance économique. Cette corrosion présente trois caractères particuliers :

- Elle n'intervient qu'en anaérobiose, mais l'alternance de conditions aérobie et anaérobies accélère le phénomène: des objets métalliques sont attaqués plus rapidement si les conditions d'oxydo-réduction alternent.

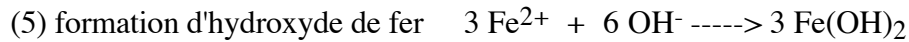
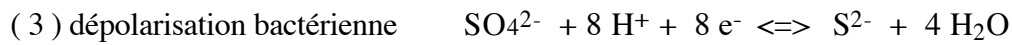
-La corrosion est ponctuelle plutôt que régulière; elle a tendance à provoquer des trous localisés plutôt que de désintégrer l'ensemble de l'objet.

-La fonte laisse un résidu de carbone (graphitisation); l'acier et le fer produisent du sulfure de fer.

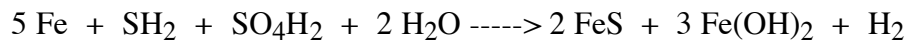
Bien que l'hydrogène sulfuré en solution (acide sulfhydrique) puisse attaquer le fer, l'action corrosive des bactéries sulfato-réductrices est due à la dépolarisation de la pile électrolytique qui se forme entre le fer et l'eau :



Un film protecteur d'hydrogène est donc formé qui stoppe l'attaque électrolytique. En présence de bactéries sulfato-réductrices, une dépolarisation de la cathode est possible, qui permet à la réaction de se poursuivre :



la réaction globale s'écrit donc :



Bien que ce mécanisme soit le principal responsable de la corrosion du fer par les bactéries sulfato-réductrices, d'autres mécanismes peuvent également intervenir comme l'action du sulfure de fer ou du soufre élémentaire natif produit par oxydation chimique du sulfure, dans les conditions alternées d'anaérobiose-aérobiose.

8.10.2. Corrosion aérobie du ciment par les Thiobacilles

Les bactéries sulfo-oxydantes sont responsables de la corrosion aérobie du ciment, qui prend parfois des proportions spectaculaires. Certaines espèces telles que *Acidothiobacillus thiooxidans* ou *Acidothiobacillus concretivorus* peuvent produire des quantités importantes d'acide sulfurique, et restent actives à des pH très bas (correspondant à une solution normale d'acide sulfurique). De telles concentrations en H_2SO_4 peuvent dissoudre le ciment: placés dans une culture pure d'*Acidothiobacillus thiooxidans*, des échantillons de ciment sont totalement solubilisés après 100 jours d'incubation .

Ce phénomène d'attaque du ciment par les bactéries sulfo-oxydantes est particulièrement visible sur les fondations de certains ouvrages (piles des lignes à haute tension, barrages) placés dans des sols soumis à une alternance submersion dessiccation ou au contact d'eaux chargées en soufre. Dans une étude microbiologique des eaux du barrage d'AYAME en Côte d'Ivoire, MOURARET (1971) a mis en évidence le rôle des bactéries du soufre dans la corrosion des parties métalliques (turbines de l'ouvrage et du barrage lui-même). Il est alors pratiquement impossible de prévoir une protection efficace contre la corrosion microbienne.