

## Action des microorganismes sur l'altération d'une roche basique

R.M. RIBEIRO\*, C. MOUREAUX\*\*, A. MUSSI SANTOS\*

\* Institut de Géosciences, Université Fédérale de Bahia, BRÉSIL

\*\* Services Scientifiques Centraux de l'ORSTOM, Bondy, FRANCE

### RÉSUMÉ

L'étude porte sur un aspect particulier de l'altération d'une roche basique (diabase) : la solubilisation du fer sous l'action de différents Champignons telluriques isolés dans l'Etat de Bahia (Brésil), 15 espèces au total appartenant à 7 genres différents.

Outre les milieux nutritifs comportant du glucose ou du saccharose, on a essayé l'emploi exclusif d'un végétal comme source énergétique servant au développement microbien. On a obtenu une solubilisation microbienne du fer de la roche relativement importante en présence de sucre (dépassant 4 % au 4<sup>e</sup> mois d'incubation), mais très faible en milieu végétal avec même un cas d'insolubilisation microbienne du fer solubilisé sous l'action physico-chimique de la litière.

### RESUMO

O estudo refere-se a um aspecto particular da alteração de uma rocha máfica visando a solubilização do ferro sob a ação de diferentes fungos isolados da área de Maragogipe-Bahia-Brasil. Foram escolhidos quinze espécies pertencendo aos generos : Aspergillus, Penicillium, Fomes, Phoma, Phialophora, Paecilomyces, Nigrospora.

Usou-se meios nutritivos contendo glicose ou sacarose ou um vegetal (Xanthosoma sagittaeifoliae) como fonte energetica servindo ao desenvolvimento microbiano.

A solubilização microbiana foi acelerada principalmente pelo *Aspergillus niger* através de seus produtos metabólicos ácidos, sendo muito mais fraca em meio vegetal do que em meio com açúcar, onde ela ultrapassou a 4 % de ferro da rocha no 4<sup>e</sup> mês.

### SUMMARY

This study concerns the solubilization of the iron from a diabasic rock by 15 fungi belonging to 7 genera (*Aspergillus*...) chosen out of a collection of 300 isolated from soils of the Bahia State, Brazil.

The microbiological solubilization is conspicuous in the case of *Aspergillus niger* growing in a nutritive medium with glucose or saccharose ; it amounts to about 4 % of the iron of the rock. The assay with the vegetal *Xanthosoma sagittaeifoliae* as a sole energetic source for the fungal growth shows whether a weak solubilization or even a precipitation of the iron solubilized by the physico-chemical action of the litter.

### INTRODUCTION

La microbiologie des sols, longtemps attachée au rôle de la microflore dans les transformations des matières organiques, se tourne vers un domaine

offrant de nouvelles perspectives, celui de l'altération des minéraux et des roches.

Divers aspects sont concernés, comme la pédogenèse, la fertilité des sols, les cycles biogéochimiques et même l'épuisement par voie microbiologique de gisements de faible teneur.

Les microorganismes exercent leur action agressive soit directement par voie enzymatique, soit indirectement par les produits de leur métabolisme comme les acides organiques (citrique, oxalique, etc.) dont beaucoup sont susceptibles de former des complexes organo-métalliques solubles avec les cations libérés.

Les transformations minérales liées aux oxydations ou aux réductions microbiennes jouent aussi un rôle important dans la mise en place des gisements minéraux (oxydation du fer, réduction des sulfates et précipitation des sulfures de métaux lourds, etc.).

L'objectif de ce travail est d'étudier l'altération d'une roche basique (diabase) sous l'action de quelques souches fongiques.

On s'est limité, dans une première phase, à la solubilisation du fer, élément important en pédogenèse, ses migrations dans les profils constituant un critère de classification des sols.

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les microorganismes utilisés ont été choisis parmi 300 Champignons isolés au cours d'un travail antérieur (RIBIERO *et al.*, 1972), exécuté dans la région du Maragogipe, dans la partie occidentale du Reconcavo de l'Etat de Bahia ; les expériences ont porté sur la solubilisation du fer de la roche sous l'action des 15 souches suivantes :

*Aspergillus niger*, *Penicillium javanicum*, *Aspergillus versicolor*, *A. sydowii*, *A. flavipes*, *A. niveus*, *Fomes reniosus*, *Phoma herbarum*, *Phialophora melinii*, *Paecilomyces varioti*, *Nigrospora sphaerica*, *Penicillium chrysogenum*, *P. variable*, *P. velutinum*, *P. funiculosum*.

Les genres *Aspergillus* et *Penicillium* ont été spécialement sélectionnés, compte tenu non seulement de leur abondance dans les sols du Maragogipe, mais aussi de leur très large répartition en d'autres régions, comme cela a été montré dans le travail déjà cité.

On a exercé les actions microbiennes sur des échantillons d'une roche basique provenant du km

10,5 de la route BR 324 Salvador-Feira de Santana (Bahia) ; les analyses indiquent qu'il s'agit d'une diabase :

Composition chimique :

Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	13,80 %
CaO	6,02 %
K <sub>2</sub> O	1,22 %
MgO	0,23 %
MnO	0,15 %
Si	> 1 000 · 10 <sup>-6</sup>
Ti	> 1 000 · 10 <sup>-6</sup>
Cr	> 1 000 · 10 <sup>-6</sup>
Cu	100 · 10 <sup>-6</sup>
V	10 · 10 <sup>-6</sup>

(présents : Co, Ni, Be)

Composition minéralogique :

Plagioclases	41,8 %
Augite	25,7 %
Magnétite	9,7 %
Quartz	9,2 %
Chlorite	8,5 %
Biotite	4,1 %
Hornblende	0,9 %
Apatite	0,1 %

Les microorganismes ont été inoculés en deux types de milieu nutritif.

### 1.1. Milieu sucré

(a) *Milieu organique de Sabouraud* (glucose 2 %, peptone 1 %)

pH : 5,6. Stérilisation par autoclave.

(b) *Milieu minéral + saccharose* (3 %) selon Czapeck-Dox-Thom-Raper

pH : 7,3. Stérilisation par autoclave.

1.2. *Milieu végétal à base de litière* de *Xanthosoma sagittaeifoliae*, plante de la famille des *Araceae* à larges feuilles de goût âcre, riches en acides organiques. On a utilisé selon les expériences :

(a) *un extrait aqueux* (BECK *et al.*, 1969) obtenu par agitation d'un mélange litière/eau distillée froide = 1/10 ; cet extrait (présentant un résidu sec de 1,9 g/100 ml) a été ensuite dilué par addition de 20 ou 60 % d'eau distillée et rendu stérile par passage sur filtre Millipore de 0,45 μ ; le pH y est de 5,7.

(b) la litière elle-même (10 g) dans 150 ml d'eau distillée, la stérilité étant maintenue alors dans les témoins par addition d'un antiseptique (azide à 0,75 ‰).

Les inoculations ont été faites en erlenmeyers de 300 ml avec 150 ml de milieu nutritif et 10 g de roche en fragments de 2 à 4 mm. Les incubations ont été poursuivies 5 mois en étuve à 25°, avec des analyses mensuelles par absorption atomique du fer solubilisé sur des répétitions des traitements.

L'action microbienne (C) sur la solubilisation du fer de la roche a été obtenue par comparaison avec les traitements stériles ; elle résulte de la différence : (B) - (A)

(B) fer solubilisé dans les traitements inoculés,

(A) fer solubilisé dans les traitements stériles.

Dans le cas où cette différence est négative, on parle d'insolubilisation microbienne (BERTHELIN, 1971).

## 2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Des solubilisations notables du fer sont obtenues à partir de la roche dans le cas des milieux de Sabouraud et Czapeck-Dox assez riches en sucre servant de source d'énergie aux souches fongiques. En présence de l'extrait végétal, plus pauvre en substances hydrocarbonées utilisables, les résultats sont faibles, mais cependant intéressants, parce que reflétant mieux les conditions écologiques du sol. Enfin, en certains cas, une insolubilisation microbienne se manifeste, explicable par la biodégradation de substances organiques actives vis-à-vis de la solubilisation du fer.

### 2.1. Milieu sucré

(a) En milieu organique (glucose-peptone), une action agressive importante est exercée par *Aspergillus niger*.

La solubilisation du fer augmente jusqu'au 4<sup>e</sup> mois où elle atteint une valeur proche de 3 ‰ du fer total de la roche (fig. 1 et tableau analytique).

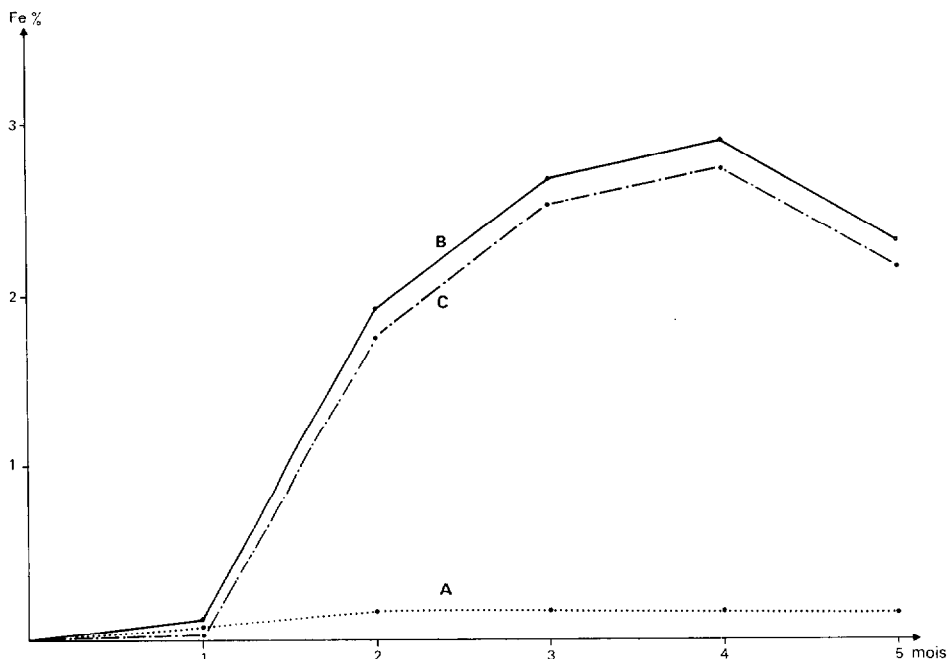


FIG. 1. — Solubilisation du fer d'une diabase par *Aspergillus niger* van Thiegen dans le milieu nutritif de Sabouraud.

En ordonnées : fer solubilisé à partir de la roche exprimé en ‰ du fer total de la roche ; en abscisses : durée d'incubation.

Courbes : A témoin stérile (milieu + roche) -----

B milieu inoculé + roche —————

C Solubilisation microbienne (différence B-A) - - - - -

(b) En milieu minéral sucré (Czapeck-Dox), on a utilisé soit *Aspergillus niger*, soit *Penicillium javanicum* (fig. 2).

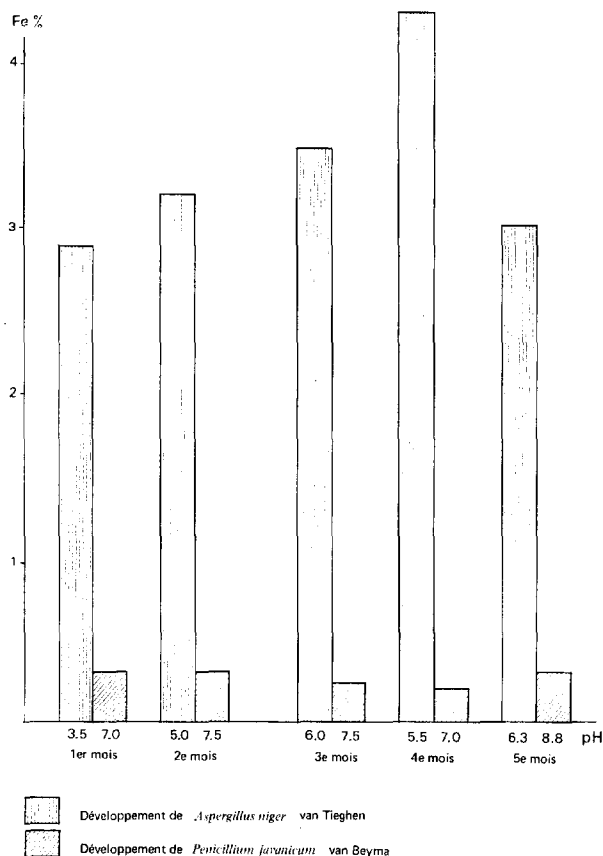


Fig. 2. — Solubilisation microbienne du fer d'une diabase par *A. niger* et *Penicillium javanicum* van Beyma dans le milieu nutritif de Czapeck-Dox. En ordonnées : % du fer total de la roche ; en abscisses : durée d'incubation avec indication du pH correspondant aux traitements inoculés.

Le développement du premier provoque une solubilisation importante du fer de la roche (plus de 4 % au 4<sup>e</sup> mois) ; on note aussi une forte baisse du pH (3,5) explicable par la production d'acides organiques dont beaucoup sont capables de complexer le fer.

L'action physico-chimique du milieu sur la roche n'a pas été représentée parce qu'extrêmement faible au pH de ce milieu (7,3).

A l'inverse d'*A. niger*, *P. javanicum*, libérant peu d'acides organiques, ne solubilise pas beaucoup de fer.

## 2.2. Milieu végétal

En présence de végétal comme seule source énergétique, on peut noter aussi une mobilisation du fer de la roche, mais beaucoup moins importante qu'en présence de sucre.

### (a) Extrait aqueux de litière

Dans une première expérience (fig. 3), l'extrait végétal de *Xanthosoma sagittaeifoliae* a été dilué avec 20 % d'eau distillée et l'inoculation faite par une association de 5 espèces d'*Aspergillus* (*niger*, *versicolor*, *sydowii*, *flavipes*, *niveus*).

La figure 3 montre, d'une part, que le fer solubilisé dans le milieu microbien reste faible (ne dépassant 0,1 % du fer de la roche qu'après le 4<sup>e</sup> mois) et, d'autre part, que la solubilisation physico-chimique par l'extrait stérile est relativement élevée. Il en résulte que la solubilisation microbienne, ou action propre des germes, est peu marquée, dépassant à peine 0,5 ‰ du fer de la roche au 3<sup>e</sup> mois d'incubation, malgré une acidification sensible en présence du développement d'*Aspergillus*.

Dans une deuxième expérience (fig. 4), l'essai d'une autre association fongique, constituée de *Fomes rariosus*, *Phoma herbarum*, *Phialophora melinii*, *Paecilomyces varioti*, *Nigrospora sphaerica*, toujours dans l'extrait du même végétal, mais plus dilué (60 % H<sub>2</sub>O) n'amène encore qu'une faible solubilisation microbienne du fer. Elle s'élève un peu au 5<sup>e</sup> mois, les germes s'adaptant probablement à l'utilisation d'une source carbonée beaucoup moins favorable que le saccharose ou le glucose.

### (b) Litière

L'inoculation du milieu végétal (litière : 10 g, H<sub>2</sub>O : 150 ml) par les 5 espèces de *Penicillium* : *chrysogenum*, *javanicum*, *variable*, *velutinum*, *funiculosum*, conduit à une solubilisation du fer plus faible que dans les témoins stériles (fig. 5). Ces résultats sont explicables par une biodégradation des substances végétales aptes à solubiliser le fer (acides organiques, oxalique en particulier) plus forte que la biosynthèse de tels éléments. Il est possible également, le carbone utilisable étant peu abondant, que les microorganismes utilisent la partie organique des complexes organo-

métalliques récemment formés en précipitant le fer, d'où le terme parfois utilisé « d'insolubilisation microbienne » ; de tels processus peuvent amener,

dans les profils de sols, le blocage des migrations du fer, soit dans l'horizon supérieur dans les sols non lixiviés, soit dans l'aliot des podzols.

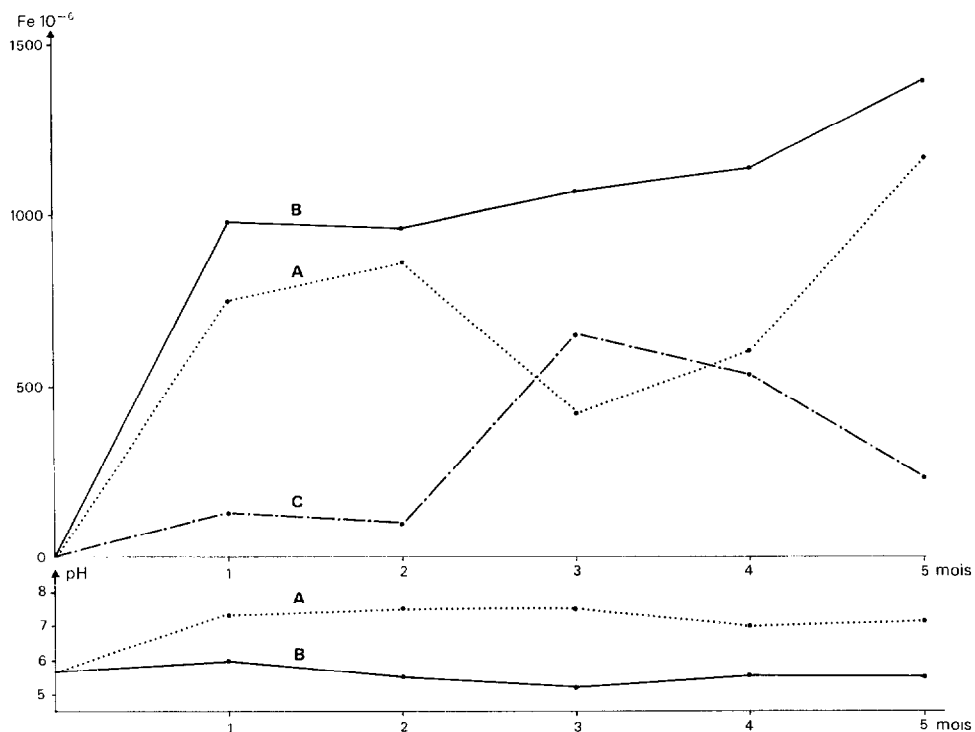


FIG. 3. — Solubilisation du fer d'une diabase (en  $10^{-6}$  du fer total de la roche) par une association de 5 espèces d'*Aspergillus* dans un extrait aqueux de végétal et variations du pH dans le temps. Courbes A, B et C cf. figure 1.

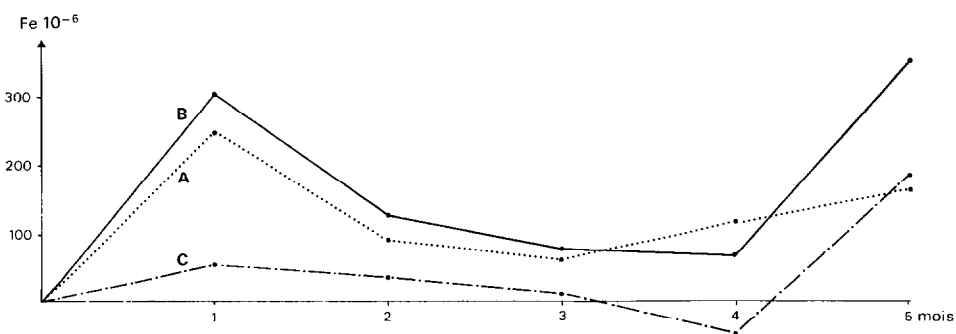


FIG. 4. — Solubilisation du fer d'une diabase (en  $10^{-6}$  du fer de la roche) par une association de 5 Champignons (*Fomes reniosus* Berk, *Phoma herbarum* Westend, *Phialophora melinii* (Nannfeld) Conant, *Paecilomyces varioti* Bainier, *Nigrospora sphaerica* (Saccs Mason) dans un extrait aqueux de végétal. Courbes A, B et C, cf. figure 1.

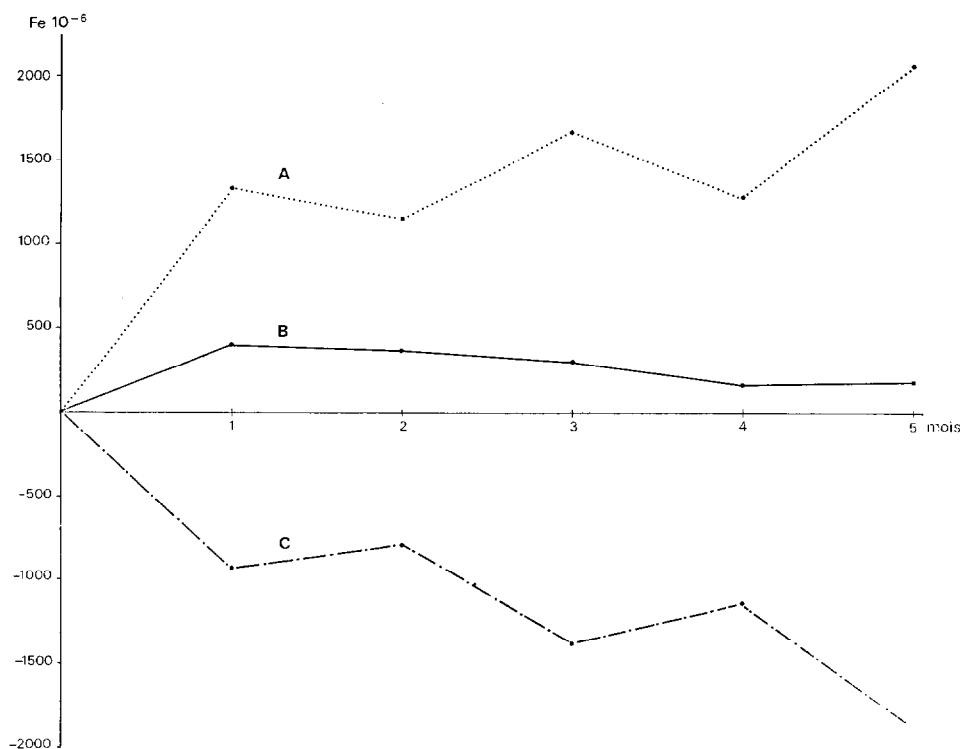


FIG. 5. — Solubilisation du fer d'une diabase (en  $10^{-6}$  du fer de la roche) par l'association de 5 espèces de *Penicillium* en présence de litière végétale. Les courbes A, B et C ont la même signification que dans la figure 1.

## CONCLUSION

Un aspect particulier du rôle des microorganismes a pu être mis en évidence dans l'altération d'une roche basique : la solubilisation du fer.

Cette solubilisation relativement élevée a eu lieu en présence d'une source énergétique carbonée favorable et abondante (glucose, saccharose) ; elle atteint une valeur supérieure à 4 % du fer de la roche en 4 mois sous l'action du développement d'*Aspergillus niger*.

Pour répondre à l'objection qu'un tel milieu sucré ne se trouve pas dans les conditions naturelles du sol, un autre type d'expériences n'a comporté comme source énergétique que le végétal *Xanthosoma sagittae-foliae* de la famille des Araceae, bien représentée en milieu tropical sud-américain ; la solubilisation du fer de la roche a été encore observée dans ces conditions plus proches des conditions naturelles, quoique

à un taux beaucoup plus faible, le développement microbien trouvant un facteur limitant dans le carbone disponible.

Enfin, un autre processus est apparu, celui d'une solubilisation physico-chimique du fer de la roche par le milieu végétal stérile plus forte qu'en présence de certains microorganismes, ce qui montre la diversité des processus naturels possibles.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leur gratitude aux Professeurs A.J. MELFI (Université de Sao Paulo) et S.Q. MATTOSO (Université de Bahia) pour leurs suggestions concernant ce travail exécuté au Laboratoire de Géomicrobiologie de l'Institut de Géosciences de l'Université Fédérale de Bahia et qui a bénéficié d'une aide finan-

cière de divers organismes brésiliens : BNDE, CNPQ, Ministère du Plan.

Les analyses de la roche sont dues pour la composition chimique au Professeur Gianpaolo SIGHINOLFI (absorption atomique) et M. PASSOS de AZEVEDO (spectrographie), M. SILVA VIVEIROS ayant déterminé la composition minéralogique.

Ce travail a été présenté au 26<sup>e</sup> Congrès Brésilien de Géologie à Bélem (Para, Brésil) en novembre 1972 et un résumé en est publié dans « *Sessoes técnicas*, Boletim n° 1, *Sociedade Brasileira de Geologia nucleo Norte*, p. 185-186.

Manuscrit reçu au S.C.D. le 6 juin 1973.

## RÉSULTATS ANALYTIQUES

Fer solubilisé à partir du fer total de la roche exprimé en % et 10<sup>-6</sup>

			1 <sup>er</sup> mois	2 <sup>e</sup> mois	3 <sup>e</sup> mois	4 <sup>e</sup> mois	5 <sup>e</sup> mois	
%	Milieu de Sabouraud ( <i>A. niger</i> )	B**	0,12	1,94	2,69	2,90	2,32	
		A*	0,08	0,17	0,16	0,16	0,15	
		C***	0,04	1,77	2,53	2,74	2,17	
		pH (inoculé)		6,4	6,7	6,6	6,3	6,6
	Milieu de Czapeck-Dox ( <i>A. niger</i> )	B	2,92	3,24	3,52	4,35	3,06	
		A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	
		C	2,91	3,23	3,51	4,34	3,04	
	Milieu de Czapeck-Dox ( <i>P. javanicum</i> )	B	0,31	0,32	0,24	0,21	0,33	
		A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	
C		0,30	0,31	0,23	0,20	0,31		
10 <sup>-6</sup>	Extrait aqueux de végétal (+20 % H <sub>2</sub> O)	B	980	960	1 070	1 130	1 390	
		A	750	860	420	600	1 160	
		C	130	100	650	530	230	
	pH	B	6,0	5,5	5,2	5,5	5,5	
		A	7,3	7,5	7,5	7,0	7,1	
	Extrait aqueux de végétal (+60 % H <sub>2</sub> O)	B	304	129	78	71	355	
		A	249	92	65	120	166	
		C	55	37	13	-49	189	
	pH	B	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	
	Litière végétale	B	404	373	300	166	186	
		A	1 335	1 159	1 677	1 294	2 070	
C		-931	-786	-1 377	-1 128	-1 884		
pH	B	7,5	8,0	8,5	7,8	7,5		

A\* : stérile.

B\*\* : inoculation.

C\*\*\* : différence.

## BIBLIOGRAPHIE

- ARISTOVSKAYA (T.V.), DARAGAN (A.Yu.) *et al.*, 1969. — Microbiological factors in the movement of some mineral elements in the soil. *Soviet Soil Sci.*, n° 5, pp. 538-546.
- ARRIETA (L.), GREZ (R.), 1971. — Solubilization of iron containing minerals by soil microorganisms. *Appl. Microbiol.*, vol. 22, n° 4, pp. 487-490.
- BECK (G.), DOMMARGUES (Y.), VAN DEN DRIESSCHE (R.), 1969. — L'effet litière. II - Etude expérimentale du pouvoir inhibiteur des composés hydrosolubles des feuilles et des litières forestières vis-à-vis de la microflore tellurique. *Oecol. Plant.*, t. IV, pp. 237-266.
- BERTHELIN (J.), 1971. — Altération microbienne d'une arène granitique. *Sci. Sol*, n° 1, pp. 11-29.
- BRUCKERT (S.) *et al.*, 1966. — Relations entre l'évolution des acides hydrosolubles de deux litières forestières et les processus pédogénétiques. *Bull. ENSA Nancy*, t. VII, f. II, pp. 75-112.
- DARAGAN (A.Yu.), 1971. — Decomposition of minerals containing iron by soil microorganisms. *Soviet Soil Sci.*, t. 3, n° 5, pp. 567-572.
- GILMAN (J.C.), 1963. — *Manual de los hongos del suelo*. Comp. Ed. Continental S.A.
- MARTELLI (H.L.), ROSEMBERG (J.A.), 1962. — *Microbiologia Industrial*. Guia de trabalho prático I.
- RAPER (K.G.), 1968. — *Manual of the Aspergilli*, Hafner Publishing Comp., New York and London.
- RAPER (K.G.), 1968. — *Manual of the Penicillia*, Hafner Publishing Comp., New York and London.
- RIBEIRO (R.M.), MARTELLI (H.L.), SANTOS (A.M.), 1972. — Estudo da flora microfungica de uma área mineralizada de cobre (Maragogipe-Bahia). *Revista Microbiol. S. Paulo, Brasil*, vol. 3, n° 3.
- SILVERMAN (P.M.) *et al.*, 1971. — Fungal leaching of titanium from rock *Appl. Microbiol.*, Vol. 22, n° 5, pp. 923-925.