

Solubilisation du fer par deux souches bactériennes en présence de litière de Teck

PAR

Geneviève BOQUEL et Liliane SUAVIN

Laboratoire de Microbiologie des sols — O.R.S.T.O.M. 93140 - Bondy

I. — INTRODUCTION

Les processus de mobilisation du fer jouent un rôle important dans la pédogénèse des sols en régions tropicales.

Diverses études ont mis en évidence l'influence de la couverture végétale sur la solubilisation du fer. Cependant, ce sont essentiellement les litières des régions tempérées qui ont été concernées (BETREMIEUX, 1951; BLOOMFIELD, 1953; DELONG et SCHNITZER, 1955; LOSSAINT, 1959; BRUCKERT et JACQUIN, 1966; MUIR *et al.*, 1964; ELLIS, 1971).

Par contre, le rôle des litières des régions tropicales a été très peu abordé (BLOOMFIELD, 1953-1954). Sont-elles susceptibles d'induire une évolution des sols différente de la pédogénèse ferrallitique qui laisse en place les sesquioxides ? Les marques d'une évolution de type podzolique, sont, en effet, mentionnées dans les horizons supérieurs de certaines terres rouges tropicales (AUBERT, 1941).

La biodégradation de la matière organique rend le milieu plus réducteur et plus acide, donc plus favorable à la dissolution du fer qui passe de l'état ferrique à l'état ferreux relativement soluble ; réduit, il peut aussi, avec les composés organiques apparus au cours de la décomposition, former des complexes qui rendent possible sa migration dans des milieux où il précipiterait sous forme cationique.

Les activités microbiennes apparaissent donc intimement liées à la solubilisation du fer et les problèmes relatifs à ce sujet ont attiré l'attention depuis longtemps (STARKEY et HALVORSON, 1927; ALLISON et SCARSETH, 1942). Des souches aptes à solubiliser le fer sont mentionnées par divers auteurs :

Reçu le 20 août 1973.

22 OCT. 1974

O. R. S. T. O. M. EXI

Collection de Référence

n° 7066 Microbiol.

Bacillus polymyxa (ROBERTS, 1947), *Bacillus circulans* (BROMFIELD, 1954) et des bactéries produisant de l'acide 2-cétogluconique (DUFF *et al.*, 1963). Enfin, plus récemment, on retient les recherches concernant la réduction du fer dans les sols de rizières (TAKAI et KAMURA, 1966) et dans les sols à gley (DARAGAN, 1967 ; OTTOW, 1969-1971) et également les travaux sur l'altération biologique des minéraux contenant du fer (ARISTOVSKAYA *et al.*, 1969 ; ARRIETA et GREZ, 1971).

On étudie ici, la solubilisation du fer à partir de l'oxyde ferrique et du sulfure en présence d'extrait de litière de Teck par 2 souches bactériennes.

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Microorganismes.

Les souches utilisées ont été isolées à partir de sols du Sénégal et sont dénommées B. 10 et B. 11. Ce sont des bacilles du genre *Bacillus*, voisins de *B. megaterium* et *B. circulans*.

2. Matériel végétal.

La litière étudiée est composée exclusivement de feuilles de Teck (*Tectona grandis*), Verbénacée, récoltée en Décembre 1968, en Casamance (Sénégal). Elle est employée sous forme d'extrait aqueux à 10 % préparé selon une technique déjà décrite (BOQUEL *et al.*, 1970).

3. Technique d'étude.

La méthode consiste à doser, par colorimétrie à l' $\alpha\alpha'$ -dipyridyl, le fer solubilisé en fin d'incubation dans des milieux de culture ensemencés et non ensemencés (ces derniers servant de témoins et correspondant à la solubilisation physico-chimique ou non microbienne) et à comparer les taux de fer solubilisé.

Si X représente la teneur en fer du milieu ensemencé, exprimée en 10^{-6} dans le milieu de culture, et T celle du milieu témoin, il y a solubilisation microbienne quand $X > T$ et inversement insolubilisation microbienne quand $T > X$.

La valeur de la solubilisation microbienne ($X - T$) est affectée du signe +, alors que celle de l'insolubilisation microbienne ($T - X$) est affectée du signe -.

Le milieu de culture est celui de ROBERTS (1947), modifié.

A un milieu de base BM, on ajoute la source carbonée et la source de fer.

Milieu de base BM :

Phosphate disodique, 12 H ₂ O	1,51 g
Phosphate monopotassique	1,34 g
Sulfate d'ammonium	1,00 g
Sulfate de magnésium, 7 H ₂ O	0,20 g
Chlorure de calcium, H ₂ O	0,05 g
Extrait de levure Difco	0,20 g
Solution d'oligoéléments (BARKWORTH et BATESON, 1965)	0,20 ml
Eau distillée	1 000 ml

pH 6,47

Source carbonée : extrait aqueux de litière de Teck (20 %), seul ou en présence de glucose (10 %).

Source de fer : oxyde ferrique (0.5 %) ou sulfure de fer (4 %).

La solubilisation du fer a été étudiée dans les 3 conditions de culture suivantes :

- a) Milieu BM avec extrait de litière en présence d'oxyde ferrique.
- b) Milieu BM avec extrait de litière en présence de sulfure de fer.
- c) Milieu BM avec extrait de litière et glucose en présence d'oxyde ferrique.

Les différents milieux de culture sont stérilisés sans l'extrait de litière qui est ajouté ultérieurement de façon aseptique, après stérilisation sur Millipore.

L'expérimentation a lieu dans les erlenmeyers de 100 ml contenant 50 ml de milieu de culture.

L'ensemencement est effectué avec les 2 souches B.10 et B.11 : 1 ml d'inoculum d'un milieu de culture où le test à l' $\alpha\alpha'$ -dipyridyl est positif depuis 1 ou 2 jours.

Les fioles sont incubées à 28° pendant 12, 24 et 36 jours.

En fin d'incubation, les différents milieux sont centrifugés. Dans le liquide surnageant, on mesure le pH et on dose le fer solubilisé sur une partie aliquote après minéralisation.

III. — RÉSULTATS

La solubilisation du fer (microbienne et non microbienne) évolue différemment selon les milieux et en fonction du temps. Les résultats sont consignés dans les tableaux I, II, III et la figure 1.

1. Condition (a) : Milieu avec extrait de litière et oxyde ferrique.

Dans les milieux ensemencés où le pH s'est légèrement élevé en présence des 2 souches, la solubilisation du fer, maximale le 12^e jour, diminue ensuite jusqu'au 36^e jour (Fig. 1 a). La solubilisation non microbienne, par contre, accuse au 24^e jour une valeur supérieure à celle des milieux ensemencés. La solubilisation microbienne, maximale le 12^e jour ($11,9 \times 10^{-6}$ pour la souche B. 10 et $15,4 \times 10^{-6}$ pour la B. 11) diminue ensuite pour faire place à une insolubilisation microbienne qui atteint des valeurs voisines de -10×10^{-6} le 24^e jour et de -2×10^{-6} le 36^e jour pour les 2 souches.

2. Condition (b) : Milieu avec extrait de litière et sulfure de fer.

Dans les milieux ensemencés où le pH s'est élevé d'environ une demi-unité, la souche B. 10 est nettement plus active que la souche B. 11 (Fig. 1 b). On observe ici les mêmes phases que dans la condition (a). La solubilisation non microbienne est importante le 24^e jour, atteignant une valeur de $22,6 \times 10^{-6}$. La solubilisation microbienne est encore maximale le 12^e jour avec des valeurs de $17,4 \times 10^{-6}$ (B. 10) et de $4,9 \times 10^{-6}$ (B. 11). L'insolubilisation microbienne est également maximale le 24^e jour : $-7,3 \times 10^{-6}$ (B. 10) et $-17,7 \times 10^{-6}$ (B. 11) ; elle s'annule pratiquement le 36^e jour pour les 2 souches.

TABLEAU I

Valeur des pH dans les milieux de culture non ensemencés (Témoïn)
et ensemencés (B. 10 et B. 11)

Durée d'incubation	Souches	Conditions de culture		
		(a)	(b)	(c)
24 jours	Témoïn.....	6,5	6,5	6,0
	B. 10.....	6,8	6,9	4,7
	B. 11.....	6,8	6,9	4,7
36 jours	Témoïn.....	6,6	6,3	6,6
	B. 10.....	6,7	6,9	5,1
	B. 11.....	6,8	7,0	4,7

TABLEAU II

Solubilisation du fer exprimée en 10^{-6} Fe dans les milieux de culture non ensemencés
(Témoïn) et ensemencés (B. 10 et B. 11)

Durée d'incubation	Souches	Conditions de culture		
		(a)	(b)	(c)
12 jours	Témoïn.....	3,7	2,6	2,3
	B. 10.....	15,6	20,0	29,2
	B. 11.....	19,1	7,5	23,2
24 jours	Témoïn.....	15,0	22,6	1,6
	B. 10.....	4,7	15,3	12,5
	B. 11.....	5,6	4,9	15,3
36 jours	Témoïn.....	3,5	2,3	1,0
	B. 10.....	2,0	2,7	3,2
	B. 11.....	1,5	1,5	5,1

3. Condition (c) : Milieu avec extrait de litière, glucose et oxyde ferrique.

En présence de glucose, dans les milieux ensemencés, le pH est descendu au-dessous de 5 et la solubilisation du fer, maximale le 12^e jour, est supérieure à celle observée dans les milieux précédents avec litière seule, la souche B. 10 étant la plus active (Fig. 1 c). Puis, jusqu'au 36^e jour, la quantité de fer solubilisé baisse régulièrement.

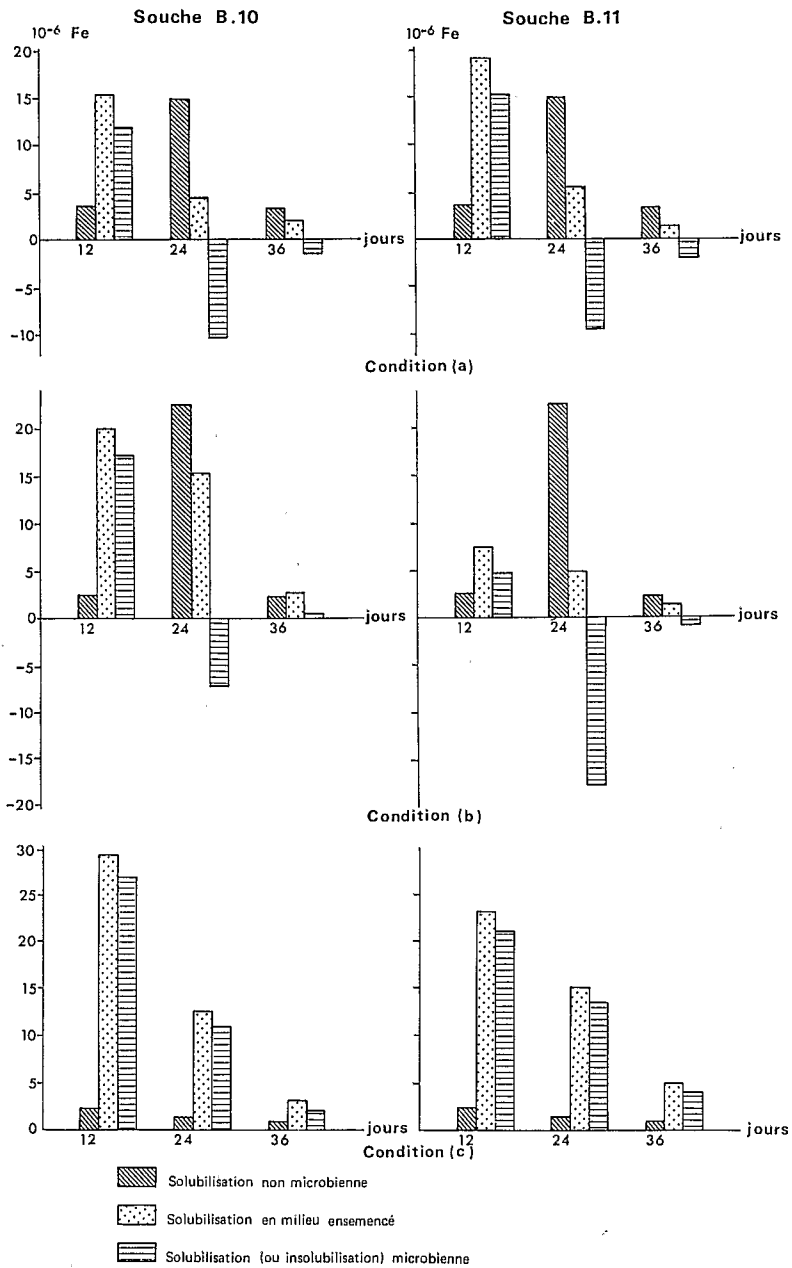


FIG. 1. — Solubilisation du fer par les souches B. 10 et B. 11 dans les trois conditions de culture :
 a, extrait de litière et oxyde ferrique ;
 b, extrait de litière et sulfure de fer ;
 c, extrait de litière, glucose et oxyde ferrique.

Ici, la solubilisation non microbienne est pratiquement négligeable au cours de l'incubation.

La solubilisation microbienne, le 12^e jour, s'élève à $26,9 \times 10^{-6}$ pour la souche B. 10 et $20,9 \times 10^{-6}$ pour la B. 11, pour ensuite descendre progressivement jusqu'aux environs de 3×10^{-6} le 36^e jour.

IV. — DISCUSSION ET CONCLUSION

En présence d'extrait aqueux de litière de Teck comme seule source carbonée une solubilisation microbienne du fer est mise en évidence par les deux souches bactériennes étudiées : elle est maximale après 12 jours d'incubation. Cependant, les substances hydrosolubles de l'extrait constituant une source carbonée limitée, l'addition de glucose permet une meilleure solubilisation microbienne du fer, attribuable à une biosynthèse plus importante d'acides organiques qui ont abaissé le pH au-dessous de 5.

Si l'on exprime la solubilisation microbienne par la proportion *fer solubilisé/fer total* du minéral, l'oxyde apparaît plus efficacement attaqué que le sulfure (Tableau III). Avec l'oxyde ferrique on atteint des valeurs de 4,4 %, voire même 7,7 % en présence de glucose.

TABLEAU III

Pourcentage de fer solubilisé à partir du fer total mis en œuvre

Durée d'incubation	Souches	Conditions de culture		
		(a)	(b)	(c)
12 jours	B. 10.....	3,4	0,7	7,7
	B. 11.....	4,4	0,2	6,0
24 jours	B. 10.....			3,1
	B. 11.....			3,9
36 jours	B. 10.....			0,6
	B. 11.....			1,2

Une solubilisation non microbienne du fer est également observée : elle a lieu dans les milieux stériles sans glucose et peut s'expliquer par la lente complexation physico-chimique du fer avec les acides organiques présents dans la litière de Teck et l'instabilité des complexes formés : l'extrait aqueux, en effet, d'après JUNG (1971) contient des acides organiques (lactique, succinique, malique, citrique) susceptibles de former des complexes organo-métalliques.

L'insolubilisation microbienne observée le 24^e jour, toujours dans les milieux sans glucose, résulte, d'une part, de l'importance de la complexation physico-chimique du fer dans les milieux stériles et, d'autre part, de la biodégradation des complexes solubilisés dans les milieux ensemencés, alors que la source énergétique est épuisée ; il est, en effet, signalé par BERTHELIN (1971) qu'un apport énergétique, en cours d'insolubilisation microbienne, entraîne immédiatement une nouvelle phase de solubilisation microbienne. MOUREAUX (1972), de même, en présence de litière de Teck, constate des phases d'insolubilisation du fer mobilisé à partir d'un sol ferrallitique.

Il apparaît donc que la litière de Teck, espèce forestière bien représentée en zone tropicale, peut être, au cours de sa biodégradation, à l'origine de certains processus de migration du fer.

RÉSUMÉ

La solubilisation du fer à partir d'un oxyde et d'un sulfure, sous l'action de 2 souches bactériennes du genre *Bacillus* est étudiée dans des milieux de culture contenant de l'extrait aqueux de litière de Teck, additionnés ou non de glucose.

Au cours des incubations, on observe des phases de solubilisation et d'insolubilisation microbiennes, d'une part, et de solubilisation non microbienne d'autre part.

La solubilisation microbienne est trouvée maximale après 12 jours. La plus forte teneur en fer ($26,9 \times 10^{-6}$ Fe dans le milieu) est obtenue à partir de l'oxyde dans le milieu de culture avec extrait de litière et glucose où le pH est descendu au-dessous de 5 : si la solubilisation microbienne est rapportée au fer de l'oxyde, elle s'élève à 7,7 %, alors que dans le milieu sans glucose elle oscille autour de 4 %.

SUMMARY

Iron solubilization by two bacteria in presence of teak litter

The solubilization of iron from ferric oxide and ferrous sulphide in presence of two bacteria belonging to the genus *Bacillus* is studied in media containing water extract of Teak litter, with or without glucose.

During incubation, phases are observed whether of microbial solubilization and insolubilization or of non microbial solubilization.

The highest microbial solubilization takes place after 12 days. The maximum of iron ($26,9 \times 10^{-6}$ Fe in the medium) is obtained from ferric oxide in a culture medium with litter extract and glucose where pH has dropped below 5,0: if the microbial solubilization is related to the oxide iron, it amounts to 7,7 %, while, in the glucose-free medium, it is only about 4 %.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLISON (L. E.), SCARSETH (G. D.), 1942. — A biological reduction method for removing free iron oxides from soils and colloidal clays. *J. amer. Soc. Agron.*, **34**: 616-623.
- ARISTOVSKAYA (T. V.), DARAGAN (A. Y.), ZYKINA (L. V.), KUTUZOVA (R. S.), 1969. — Microbiological factors in the movement of some mineral elements in the soil. *Soviet Soil Sci.*, **5**: 538-546.
- ARRIETA (L.), GREZ (R.), 1971. — Solubilization of iron-containing minerals by soil microorganisms. *Appl. Microbiol.*, **22**: 487-490.
- AUBERT (G.), 1941. — Les sols de la France d'Outre-Mer. Monographies, Ministère de l'Agriculture, Imp. nationale, Paris, 90 p.
- BARKWORTH (H.), BATESON (M.), 1965. — The population level of presumptive *Nitrosomonas* and *Nitrobacter* in some english soils. *Plant and Soil*, **22**: 220-229.
- BERTHELIN (J.), 1971. — Altération microbienne d'une arène granitique. *Science du Sol*, **1**: 11-29.
- BETREMIEUX (R.), 1951. — Étude expérimentale de l'évolution du fer et du manganèse dans les sols. *Ann. agron.*, **2**: 193-295.
- BLOOMFIELD (C.), 1953. — A study of podzolization. Part. I. The mobilization of iron and aluminium by Scots pine needles. Part. II. The mobilization of iron and aluminium by the leaves and bark of *Agathis australis* (Kauri). *J. Soil Sci.*, **4**: 5-16 et 17-23.
- BLOOMFIELD (C.), 1954. — A study of podzolization. Part. III. The mobilization of iron and aluminium by rimu (*Dacrydium cupressinum*). *J. Soil Sci.*, **5**: 39-45.
- BOQUEL (G.), BRUCKERT (S.), SUAVIN (L.), 1970. — Inhibition de la nitrification par les extraits aqueux de litière de hêtre (*Fagus sylvatica*). *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **7**: 357-366.
- BROMFIELD (S. M.), 1954. — The reduction of iron oxide by bacteria. *J. Soil Sci.*, **5**: 129-139.
- BRUCKERT (S.), JACQUIN (F.), 1966. — Relation entre l'évolution des acides hydrosolubles de deux litières forestières et les processus pédogénétiques. *Bull. ENSAN*, **8**: 95-112.
- DARAGAN (A. Y.), 1967. — Microbiology of the gley process. *Soviet Soil Sci.*, **2**: 228-236.
- DELONG (W. A.), SCHNITZER (M.), 1955. — Investigations on the mobilization and transport of iron in forested soils. I. The capacities of leaf extracts and leachates to react with iron. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **19**: 360-363.
- DUFF (R. B.), WEBLEY (D. M.), SCOTT (R. O.), 1963. — Solubilization of minerals and related materials by 2-ketogluconic acid-producing bacteria. *Soil. Sci.*, **95**: 105-114.
- ELLIS (R. C.), 1971. — The mobilization of iron by extracts of *Eucalyptus* leaf litter. *J. Soil Sci.*, **22**: 8-22.
- JUNG (G.), 1971. — Influence de l'incubation anaérobie et de l'incubation aérobie sur la composition d'extraits hydrosolubles de litières tropicales. *Oecol. Plant.*, **6**: 297-317.
- LOSSAINT (P.), 1959. — Étude expérimentale de la mobilisation du fer des sols sous l'influence des litières forestières. *Ann. agron.*, **10**, 369-414 et 493-542.
- MAIGNIEN (R.), 1958. — Le cuirassement des sols en Guinée. *Mém. Serv. Carte géol. Alsace-Lorraine*, **16**: 239 p.

- MOUREAUX (C.), 1972. — Influence du facteur microbiologique sur la solubilisation d'éléments minéraux à partir d'un sol ferrallitique malgache et à partir de biotite en présence de litières tropicales (Teck et Niaouli). *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **9**: 539-547.
- MUIR (J. W.), LOGAN (J.), BOWN (C. J.), 1964. — The mobilization of iron by aqueous extracts of plants. II. Capacities of the amino-acid and organic-acid fractions of a pine needle extract to maintain iron in solution. *J. Soil Sci.*, **15**: 226-237.
- OTTOW (J. C. G.), 1969. — The distribution and differentiation of iron-reducing bacteria in gley soils. — *Zentbl. Bakt. Abt. II*, **123**: 600-615.
- OTTOW (J. C. G.), GLATHE (H.), 1971. — Isolation and identification of iron-reducing bacteria from gley soils. *Soil Biol. Biochem.*, **2**: 43-55.
- ROBERTS (J. L.), 1947. — Reduction of ferric hydroxide by strains of *Bacillus polymyxa*. *Soil Sci.*, **63**: 135-140.
- STARKEY (R. L.), HALVORSON (H. O.), 1927. — Studies on the transformation of iron in nature. II. Concerning the importance of microorganisms in the solution and precipitation of iron. *Soil Sci.*, **24**: 381-402.
- TAKAI (Y.), KAMURA (T.), 1966. — The mechanism of reduction in waterlogged paddy soil. *Soil Sci. and Plant Nutr.*, **11**: 304-313.