

Uloga bakterija u biominerizaciji

Vlah, Tamara

Undergraduate thesis / Završni rad

2009

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/um:nbn:hr:217:561212>

Rights / Prava: [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATI KI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

STUDIJSKI PROGRAM: Znanosti o okolišu (Environmental sciences)

Seminarski rad:

ULOGA BAKTERIJA U BIOMINERALIZACIJI

(Biologically induced mineralization by bacteria)

MENTOR: dr.sc. Nenad Tomaši , doc

STUDENTICA: Tamara Vlah

Zagreb, 2009.

SADRŽAJ:

1. UVOD.....	2
2. BIOLOŠKI INDUCIRANA MINERALIZACIJA NA ORGANSKOJ PODLOZI.....	4
2.1. Svojstva površine bakterija.....	4
3. PROCESI MINERALIZACIJE ŽELJEZA I MANGANA.....	8
3.1. Oksidacija željeza i mangana.....	9
3.2. Redukcija željeza i mangana.....	13
3.3. Biološki inducirana mineralizacija magnetita.....	15
3.4. Disolucija magnetita.....	16
3.5. Redukcija sulfata.....	17
3.6. Oksidacija minerala sulfida.....	19
4. BIOLOŠKI INDUCIRANA MINERALIZACIJA UNUTAR STANICE.....	20
5. ZNAČAJE BILOŠKI INDUCIRANE MINERALIZACIJE.....	22
6. ZAKLJUČAK.....	24
7. SAŽETAK.....	25
8. SUMMARY.....	25
9. LITERATURA.....	26

1.UVOD

Bakterije su mali, prokariotski mikrorganizmi koje nalazimo svugdje, u vodnim staništima, terestri kim staništima iznad i ispod površine zemlje. Prokarioti zahva aju 2 domene (nadkraljevstva) u hijerarhiji biološke taksonomije, a to su Bacteria i Archeae. Pokazuju izvanredan diverzitet, kako geneti ki tako i metaboli ki, ak i u istim mikrookolišima, te se smatra da su imale veliku ulogu u akumulaciji minerala u Zemljinoj kori. Prokariotska sinteza minerala može se grupirati u 2 standardna modela: 1) biološki inducirana mineralizacija (biologically induced mineralization-BIM) i 2) biološki kontrolirana mineralizacija (biologically controlled mineralization-BCM). U ovom poglavlju orijentirani smo na biološki induciranu mineralizaciju (BIM).

Minerali formirani biološki induciranim procesom mineralizacije tvore jezgru i rastu izvan stanice kao rezultat metaboli ke aktivnosti organizma i kasnijih kemijskih reakcija koje uklju uju produkte metabolizma. U mnogim slu ajevima, organizmi lu e više od jednog metaboli kog produkta koji reagiraju s ionima i elementima u okolišu, a to rezultira kasnijim lu enjem i odlaganjem mineralnih estica. Upravo zbog toga BIM je nemamjerna i nekontrolirana posljedica mineralne aktivnosti. Minerali koji se formiraju esto kristaliziraju lošim kristalinitetom, op enito široke distribucije, ali nedostaje specifi na kristalna morfologija. Uz to, nedostatak kontrole formiranja minerala esto rezultira lošom mineralnom obilježijima i ili inkluzijom ne isto a u mineral. BIM je ekvivalent za anorgansku mineralizaciju u istim uvjetima okoliša, i minerali zbog toga esto imaju kristalokemijska obilježja koja se generalno nemogu razlikovati od minerala koji su dobiveni anorganskim, kemijskim reakcijama. U pojedinim slu ajevima metaboli ki produkti difundiraju iz minerala i formiraju otopine. Me utim, stani na stijenka i egzopolimeri koje lu e bakterije, uklju uju i sluz i zaštitne kapsule, igraju važnu ulogu u apsorpciji iona, jezgri minerala i rastu minerala (Beveridge 1989; Konhauser 1998; Banfield i Zhang 2001; Bäuerlin 2003).

BIM je posebno zna ajan za bakterije koje žive u anaerobnim uvjetima uklju uju i i duboko morska staništa, ili u oksi no-anoksi nim slojevima. Uzrok preživljavanja bakterija u anaerobnim uvjetima je u tome što koriste sulfide za proces disanja i ili razli ite metale kao što

su željezo (terminalni akceptor elektrona u transportu elektrona). Metaboli ki produkti tih reakcija (redukcija iona metala i sulfida) su reaktivni i sudjeluju u kasnijim procesima formiranja minerala.

U BIM-u minerali se naj eš e lu e na ili izme u organskog matriksa ili vezikula unutar stanice, dopuštaju i organizmu da zadrži odre eni stupanj kontrole nad stavaranjem jergara, rastom minerala i na inom slaganja kristala, te veli ini, habitusu i intracelularnoj lokaciji minerala (Bazylinski i Frankel, 2000a,b). Kristice minerala nastale biološki kontroliranim mineralizacijom (BCM), strukturno su dobro organizirane, sa malom distribucijom i habitusom. Zbok tih obilježlja, smatralo se da su BCM procesi pod kontrolom metabolizma gena. Zbog intra-vezikularnih uvjeta koji su pod kontrolom samog organizma, mineralna formacija nije toliko osjetljiva na vanjske utjecaje kao BIM. Kasnije e se govoriti o biološki kontroliranoj mineralizaciji (BCM) od strane bakterija (Bazylinski i Frankel, 2003.)

2. BIOLOŠKI INDUCIRANA MINERALIZACIJA NA ORGANSOJ PODLOZI

Zbog odnosa velike površine i volumena bakterija, površina stanica i površine egzopolimera može biti vrlo važna u BIM procesima. Negativni naboј, ve inom, na površini stanice i egzopolimera, mogu rezultirati vezanjem kationa nespecifi nim elektrostatskim interakcijama, efektivno pridonose i lokalnoj supersaturaciji. Vezanje tako er pridonosi stabilizaciji pvršine nascentnih mineralnih estica, smanjuju i slobodnu energetsku barijeru za kriti ne kristalno-jezgrene formacije. Stopa mineralizacije amorfnih i kristalnih tvari je u mnogo emu brža nego anorganska mineralizacija (bez površinskog vezanja i nukleacije). U neki slu ajevima kao rezultat tih procesa javlja se mineralni sloj koji prekriva stanicu.

Razlikovana su dva površinska BIM procesa: aktivni i pasivni. Pasivna mineralizacija se odnosi na nespecifi no povezivanje kationa i ja anje aniona iz otopine što rezultira površinskom nukleacijom i rastom minerala. Aktivna se mineralizacija pojavljuje pod direktnim utjecajem redoks reakcija površinskih vezanih iona metala, ili formiranjem kationa i aniona od produkata metaboli ke aktivnosti koji formiraju minerale na površini bakterije.

2.1. Svojstva površine bakterija

Prokarioti imaju razli ite tipove stani ne stjenke i njihov kemijski sastav odre uje naboje iona na površini organizma. U domeni Bacteria postoje 2 generalna tipa stani ne stjenke: gram-pozitivne i gram-negativne. Razlika se utvr uje standardnim postupkom pomo u svijetlosnog mikroskopa. Gram-pozitivna stani na stjenka odvojena je od citoplazme dvoslojem lipid/protein koji nazivamo stani na membrana ili plazma, a gra ena ve inom od peptidoglikana (murein) bogatim karboksilnim grupama koje su uzrok negativnog naboja stani ne stjenke. Peptidoglikan formira 12-25 nm tanak sloj koji povezuje slojeve ponavljaju ih jedinica dva še erna derivata, N-acetiloglukosamska i N-acetilmuraminska kiselina, i malu grupu aminokiselina. Pepridoglikan daje stani noj stijenci avsto u i naboј, všeslojnost je uglavnom odgovorna za

mineralizaciju. U peptidoglikan se mogu vezati kiseline, te nastali polimeri sadrže fosforne grupe koje kasnije pridonose stvaranjem negativnog naboja stani ne stjenke.

Gram-negativna stani na stjenka strukturno je kompleksnije gra e i od gram-pozitivne se razlikuje po tanjem sloju peptidoglikana (3nm), i ne sadrži sekundarne polimere (Beveridge 1981). Nalazi se izme u dvosloja lipid/protein, vanjske i plazmatske membrane, u prostoru izme u stani ne stjenke koju nazivamo periplazma. Za razliku od plazmatske membrane, vanjska membrana sastavljena od fosfolipida i njezin vanjski sloj sadrži lipopolisaharide (LPS) koji su jako nabijeni anionima. LPS se sastoji od *O*-polisa-harida, jezgre polisaharida i lipida A. Lipid A obično ni lanac se može proširiti do 40 nm od jezgre polisaharida koja je vezana za lipid A. Lipid A sadrži nekoliko hidrofobnih lanaca masnih kiselina koji u vrš uju LPS u dvosloj vanjske membrane. Jezgreni oligosaharid i gornje regije lipida A bogati su fosfatnim grupama koje imaju afinitet za Mg^{2+} i Ca^{2+} kationima (Frankel i Bazylinski, 2003). Jezgra ima nekoliko keto-deoksioktanskih ostataka koji osiguravaju slobodne karboksilne grupe, dok mnogo *O*-bo nih lanaca tako er sadrže ostatke bogate kaboksilnim grupama (Ferris i Beveridge 1986a). Polisaharid je uglavnom prisutan u unutarnjem dijelu vanjske membrane. Kod gram-negativnih stanica, LSP je glavni faktor u krisalizaciji minerala, zbog visoke koncentracije fosfatnih i karboksilnih grupa.

Membrane Archaea tako er pokazuju gram-pozitivne i gram-negativne karakteristike bojenja. Ali ipak, stani ne stjenke Archaeae znatno se razlikuju po kemijskom sastavu od stani nih stjenka Bacteria i me usobno (König 1988). Neke gram-pozitivne Archaeae imaju stani ne stjenke sastavljene od slojeva peptidoglikana-poput polimera, koji se sastoji od N-acetiltalosaminuronike kiseline i N-acetylglukosamina, kojeg nazivamo pseudomurein, koji prekriva plazmatsku membranu. Drugima nedostaje pseudomurein i stani na stjenka se sastoji od polisaharida, glikoproteina ili proteina. Neke gram-negativne Archaeae nemaju stani nu stjenku, ali zadržale su stani nu membranu. Zbog toga su elektrokemijski naboji prisutni na površini Archaeae.

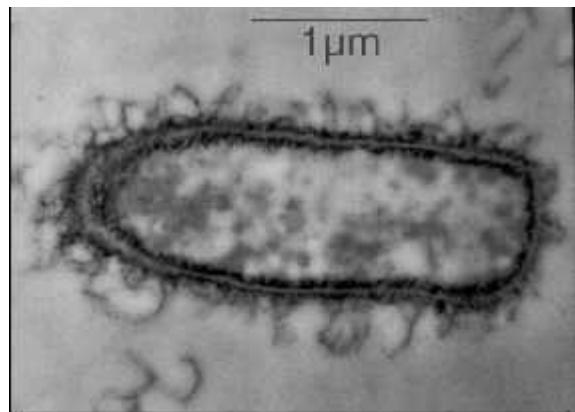
Drugi slojevi koji se nalaze na vanjskom djelu stani ne membrane mogu biti uklju eni u stvaranje jezgara mineralizacije, uklju uju i S slojeve, kapsule, sluz. U Archaeae su esti S slojevi, parakristalne strukture površine stanice koje se sastoje od proteina ili glikoproteina. S slojevi postavljeni su kao vanjski slojevi stanice i nalaze se u izravnom kontaktu s okolišem. S slojevi su zapravo kiseline i posjeduju mrežu negativnog naboja koja pokazuje afinitet prema

kationima metala. Kapsule su gусте, високо хидратизирани структуре састављене од полисахарида или протеина који су хемијски везани за површину станице. Могу бити разлике у дебљине и могу се растегнути $1\mu\text{m}$ од станице. Капсуле су богате карбоксиленим групама и могу садржавати већи број фосфатних група, те time дају структури негативан набој. Zbog јаке хидратације капсулe које prekrivaju površinu stаницe može doći do intenzivne reakcije između u kapsume i kationa metala. Sojevi služi, slabije pakirana verzija kapsule, хемијским саставом као што су капсулe, али nisu vezani za stanicu. Плаштеви су тврди прозирни цилиндри којима је сврха заштита бактерија, коју производи неколико врста прокариота (нпр. *Leptothrix*). У бактерија, плаштеви су врсти homo- и heteropolimeri угљукогидрата или угљикогидрата и протеина. Од неких врста, плашт има велику улогу у стварању жељзара оксидираних минералних естера и биоминерализацији, зато што некад садржи протеине који оксидирају метале, као нпр. оксидација мangan (L. *discophora*). У Archaeae, плаштеви се сastoјe od протеина и слични су станици појединачно.

Minerali који nastaju BIM pasivnim površinsko-intermedijarnim procesima mineralizacije, укључују Fe, Mn и друге оксиде метала, нпр. hematit ($\text{-Fe}_2\text{O}_3$), и goetit (-FeOOH); sulfate metalna, karbonate, fosfate, fosforit; Fe и Fe-Al silikate; и sulfide metalna. Mineralne tvorevine првотно нeutraliziraju хемијски реактивна места на станице, те се nastavlja стварање жељзара и накупljanje иона метала (Southam, 2000). Mineralizacija je најактивnija na mjestima иницијалне нуклеације на ванjskom dijelu stанице. Kompletна mineralizacija površine stанице može se dogoditiako до производње прозирних минерала који већином и обликом одговарају величини и облику станице (слика1). Занимљиво је да мртве станице могу формирати минерале на истим местима, и једна студија показала је да у живе станице врсте *Bacillus subtilis* већу манжу иона метала него мртве. У овом inducirani protoni membrane покрећу redukciju sposobnosti vezanja metalna na staničnu стјенку, највероватније kompeticijom protona i иона metalna za mesta na staničnu стјенku која су набијena anionima.

Postoji mnogo primjera u kojima je BIM rezultat aktivne mineralizacije reaktivnih нus- продуката. Neke цијанобактерије талоže разlike минерале као rezultat кориштења бикарбоната из отопине и отпуštanja хидроксиленih aniona. То узрокује повећање pH stанице. У неким врстама (нпр. *Synechococcus* spp.), S слој је место стварања жељзара гипса ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) код слабог svjetla. Ipak, код процеса fotosinteze, повећање pH у S слоју узрокује талоženje kalcita (CaCO_3) (Schultz-Lam 1992, Fortin и Beveridge 2000). Цијанобактерије такође могу потакнути талоženje željeznih и мanganovih oksida tako да повећају pH и koncentraciju кисвика помоћу fotosinteze (Frankel и

Bazylinski, 2003). Formiranje željeznih sulfida pomoću sulfat-reducirajućih bakterija, takođe je izvrstan primjer aktivne mineralizacije iz sulfida.



Slika 1. Fosil bakterije iz sulfat-reducirajućeg medija. Stanica je propala, ali je ostao sačuvan oblik stanice (preuzeto od W. Stanley i G. Southam, 2000).

3. PROCES MINERALIZACIJE ŽELJEZA I MANGANA

Biogeni minerali željeza i mangana esti su produkti BIM procesa zbog relativno visokih koncentracija tih elemenata u Zemljinoj kori (na 4. i 12. mjestu po zastupljenosti) (Tablica 1). Magnetit i maghemit, posebno su značajni u geologiji zbog povećanja magnetizma sedimenta. Zbog togaemo naglasiti važnost biološki inducirane mineralizacije minerala željeza, posebno magnetita. U ovom poglavljiju govoritemo o metabolizmima koji uzrokuju taloženje i dissoluciju minerala željeza, uključujući i oksidaciju i redukciju metala, redukciju sulfata i oksidaciju sulfida metala.

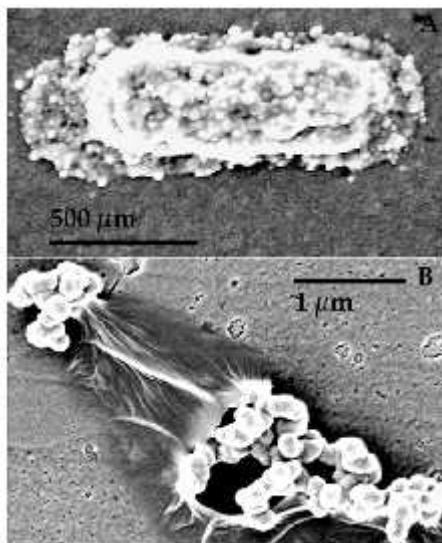
Tablica 1. Neki biološki inducirani minerali mangana i željeza (preuzeto iz Lowenstam i Weiner, 1989.)

<i>Kekijkska formula</i>	<i>Ime minerala</i>
Fe(OH) ₃ (approx.)	Željezov okssihidroksid
2Fe(OH) ₃ ·Fe(OH) ₂ (approx.)	Zelena hrana
-FeO(OH)	Goetit
-FEO(OH)	Lepidokrocite
5Fe ₂ O ₃ ·9H ₂ O	Željezov hidrit
Fe ₃ O ₄	Magnetit
-Fe ₂ O ₃	Maghemit
FeCO ₃	Siderit
FePO ₄ ·nH ₂ O	Željezov hidrofosfat
Fe ₃ (PO ₄) ₂ ·2H ₂ O	Vivianit
FeS Cubic FeS	(Sphalerit-tip)
FeS	Mackinavit (tetragonski FeS)
Fe ₃ S ₄	Greigit
Fe _{1-x} S	Pirotit
FeS ₂	Pirite
KFe ₃ (SO ₄) ₂ (OH) ₆	Jarosit
Fe ₈ O ₈ SO ₄ (OH) ₆	Schwertmanit
FeSO ₄ ·7H ₂ O	Melanterit
MnCO ₃	Rodokrozit
Mn ₄ O ₇ ·H ₂ O	Todorokit
Na ₄ Mn ₁₄ O ₂₇ ·9H ₂ O	Birnesit

3.1. Oksidacija željeza i mangana

Fe i Mn oksidiraju se bakterije odgovorne za taloženje oksida oba metala pri kiselim i neutralnim pH uvjetima. Željezov(III)oksid i manganov(IV)oksid topivi su pri niskom pH, a

aktivna mineralizacija je potpomognuta organizmima kao što su bakterije *Acidithiobacillus ferrooxidans* (prije *Thiobacillus ferrooxidans*) ili *Leptospirillum* spp., koje oksidiraju dvovalentno željezo (Fe(II)) i vrlo su važne za taloženje oksihidroksida željeza (Fortin i Beveridge, 2000; Southam 2000). Acidofili su poznatiji po disoluciji i biolu enju minerala, posebno minerala sulfida kao što je pirit, i esto su povezani sa stvaranjem jezgara i odlaganjem sekundarnih minerala, željezovih oksihidroksida, tijekom oksidacije dvovalentnog željeza (slika 2). Treba uzeti u obzir da svi oksidi dvovalentnog željeza imaju potencijal nastati BIM procesima. Acidofili koji oksidiraju dvovalentno željezo su različiti i uključuju: termotolerantne gram-pozitivne vrste kao što su *Sulfobacillus* spp., *Acidimicrobium ferrooxidans* i *Ferromicrobium acidophilus* (Blake i Johanson 2000); mezofilne vrste Archeae kojima nedostaje stani na stjenka, kao što je *Ferroplasma* spp. (Edwards 2000, 2001; Golyshina 2000), termofilne vrste Archeae kao što su *Sulfolobus* spp., *Acidianus brierleyi*, *Metallosphaera* spp., i *Sulfurococcus yellowstonensis* (Blake i Johanson 2000).



Slika 2. A) prikaz jako mineraliziranih stanica vrste *Acidithiobacillus ferrooxidans* na površini pirita. B) slika visoke rezolucije koja prikazuje odlaganje željeznih oksihidroksida na stani nom egzopolimeru (preuzeto od K.J.Edwards, 2000).

Pri neutralnom pH, bakterije su vrlo važne u pasivnom formiranju Fe(III) i Mn(IV) oksida, iako se može pojaviti i aktivna mineralizacija. Postoji nekoliko različitih fizioloških grupa bakterija koje su poznate da oksidiraju dvovalentno željezo pri neutralnom pH, uključujući aerobe i anaerobe.

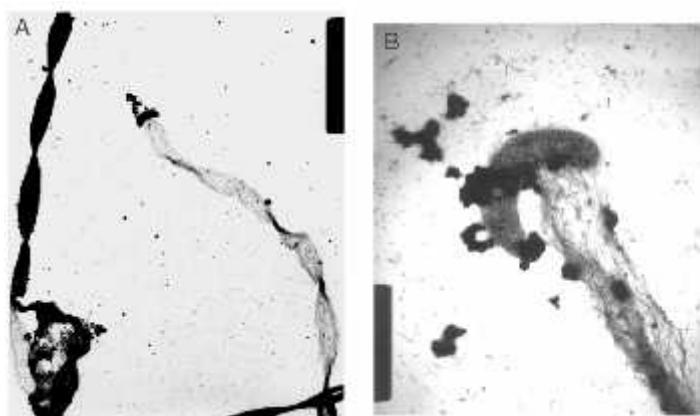
Da bi aerobni organizmi, koji oksidiraju dvovalentno željezo, preživjeli u neutralnom mediju, morali su riješiti nekoliko problema (Emerson 2000). Prvo se morao riješiti problem anorganske oksidacije dvovalentnog željeza pomo u kisika. U aerobnim uvjetima, kemijska oksidacija Fe(II) je relativno brza. Acidofilne baterije, koje oksidiraju Fe(II), nemaju taj problem zbog toga što je Fe(II) vrlo stabilno pri niskom pH. Drugi problem se javlja zbog netopivih produkata oksidacije Fe(II), a to su Fe(III)oksihidroksidi. Stanica zbog toga mora oksidirati Fe(II) na vanjskoj površini, da bi se sprijeila hidroliza i taloženje oksihidroksida unutar stanice. Da bi riješila taj problem stanica, mora biti sposobna vršiti transport elektrona putem periplazme do stani ne membrane gdje se uspostavlja poluosmotski potencijal. Riješenje prvog problema: Fe(II) oksidi rastu u mikroaerobnim uvjetima gdje je niska koncentracija kisika (npr. oksi no-anoksi ni medij), reduciraju i anorgansku oksidaciju željeza. Da bi se riješio drugi problem, Fe(II) oksidi, kao i topive komponente transporta elektrona, nalaze se s vanjske strane stani ne membrane kao što je slučaj u vrste *Acidithobacillus ferrooxidans* (Frankel i Bazyilinski 2000.)

Gallionella, prvi puta opisana 1800-tih, vjerovatno je prvi organizam za koji se mislilo da je kemolitoautotrof koji vrši oksidaciju dvovalentnog željeza. Kada raste na dvovalentnom željezu, svaka stanica luči stapku u obliku dvostrukog heliksa koji se uglavnom sastoji od željeznih oksihidroksida (slika 3). Organski matriks vidljiv je između stupaca (Hanert 2000a). Jednom kad je formirana, stupke po injekciji stvarati jezgra daljnje mineralizacije i nadalje nakupljaju minerale željeza. Stupke su sastavljene od pojedinih filamenta; različite vrste sintetiziraju različite filamente. Ovo je zanimljiv primjer biološki inducirane mineralizacije, da se inačice stanica imaju djelomičnu kontrolu nad oblikom produkta mineralizacije polimera, da je taj produkt izbačen sa specifičnog mesta na stanici. Ali ipak ne vidi se neki značajni utjecaj na strukturu. To nije najvažnije za rast, ali Hallbeck i Peterson smatraju da stupka predstavlja strategiju preživljavanja. *Gallionella* je mesofilički kemolitoautotrof (može rasti i kao mikrotrof), i filogenetski je povezan sa -podjedinicom proteobakterija u domeni Bacteria (Hallbeck, 1993).

Druge grupe Fe(II) oksidiraju bakterije tako da su mikroaerofili i rastu u oksigennim uvjetima u poluvrstim kulturama s gradijentom O₂ (Emerson i Moyer 1997). Ovi mezofilni organizmi mogu koristiti Fe(II) željezo u željeznim sulfidima ili željezne karbonate kao donore elektrona i stvaraju Fe(III) okside koji su usko povezani sa stanicama s stjenkom bakterija. Iako stanice inkrustiraju metalne okside, okružene su matriksom gde se pojavljuje taloženje. Smatralo se da matriks može spriječiti da stanica bude potpuno zahvaćena mineralom.

Filogenetski, neke od ovih organizama formiraju nove rodove unutar grupe *Xanthomonas*, u podjedinici proteobakterija. Filotipovi ovih organizama identificirani su iz Loihi Seamount-a blizu Hawaii oto ja gdje postoje niskotemperaturni, hidrotermalni odušci i velika koli ina Fe(III)oksida. Na tom mjestu uo ena je velika koli ina tih organizama i kultura srodnih organizama (Emerson i Moyer 2002). Organizmi su tako er povezani i izolirani s rizosfernim i Fe(III)hidroksidnim plakom na korjenju biljaka koje obitavaju na vlažnim tlima.

Organizmi koji anaerobno oksidiraju Fe(II) rastu na ili u okolini neutralnog medija, uklju uju i nekoliko vrsta fototrofnih bakterija i neke nitratne bakterije. Nekoliko slatkovodnih vrsta fototrofnih bakterija poznato je po vezabju Fe(II) u željezne sulfide , ili u mješavinu željeznih karbonata i željeznih fosfata, ili pak u netopive Fe(III)oksihidrokside iji precizan sastav nije odre en. Te vrste pripadaju - i -proteobakterijama. Dvije fototrofne morske vrste *Rhodovulum*-a (-podgrupa proteobakterija) koje rastu na istim staništima stvaraju željezne okside željezovog hidroksida (98%) i magnetit (u tragovima) (Straub, 1999). Obje vrste, i slatkovodne i morske, su fotoautotrofi i fotoheterotrofi. Otkri e ovih vrsta dalo je objašnjenje za formiranje masivnog vezanog željeza koje se formira u nedostatku slobodnog kisika.



Slika 3. A) slika cijelih stanica vrste *Gallionella ferruginea*. Kontrast se vidi uslijed gusto e elektrona zbog velike lu enja minerala željeznog oksihidroksida. B) ve e pove aje staice obojane amonijevim molibdatom pokazuju nanovo sintetiziranu stapku (preuzeto od W. Ghiorse)

Anaerobna skupina organizama odgovorna za oksidaciju dvovalentog željeza, pri emu koriste nitrate kao terminalne akceptore elektrona, uklju uju veliki broj mezofilnih vrsta koje

pripadaju - i - podgrupama proteobakterija. Sve iz željeznih oksihidroksida iz dvovalentnog željeza koje vjerojatno sadrži karbonate. Studija u kojoj su korištene sonde 16S rRNA, namjenjene isklju ivo odre enim vrstama, pokazala je da su organizmi široko rasprostranjeni u razli itim europskim sedimentima. Time zaklju ujemo da i druge nitrat-reduciraju e bakterije, uklju uju i i *Thiobacillus denitrificanus* i *Pseudomonas stutzeri*, imaju sposobnost oksidacije dvovalentnog željeza u anaerobnim uvjetima, a koriste nitrate kao terminalene akceptore elektrona. Nakon stvaranja Fe(II), Fe(III), neizreagiranFe(II) i karbonati, na eni su u mediju gdje stvaraju zelenu koru koja se nakon toga transformira u magnetit.

Od hipertermofilnih Archeae, *Ferroglobus placidus*, izoliran iz plitkih podmorskih hidroermalnih oduška u Italiji, poznat je da raste litorofno sa Fe(II) kao željeznim karbonatom. Optimalna temperatura za rast organizma je 85°C. Ovaj organizam tako er može reducirati tiosulfate korištenjem vodika kao elektrodonora, i u prisutnosti Fe(II), stvara minerale željezne sulfida.

Neke kemoheterotrofne bakterije tako er oksidiraju dvovalentn željezo. Dvije, možda i nabolje opisane vrste su *Sphaerotilus* i *Leptothrix*. Proteini u njihovom plaštu kataliziraju oksidaciju Fe(II) i Mn(II) i stvaraju jerzge za lu enje Fe i Mn oksida, kojima su esti oklopljeni. U porodici Siderocapseceae, koja sadrži rodove *Siderocapsa*, *Naumannella*, *Siderococcus* i *Ochrobium*, oksidiraju Fe(II) ali dokazi su nepouzdani u ve ini slu ajeva i preuzete su iz studija o okolišu i mješanih kutura, a nisu izolirani i uzgojeni iz istih kultura (Harnert 2000b). Zapravo je upitno da li zaista postoje prave vrste ovih robova (Emerson 2000). Ali ipak nalazimo ih u vodenim okolišima, te ih se povezuje sa Fe (III) i Mn(IV) oksidima. Mnoge stvaraju kapsule koje mogu biti povezane sa mineralizacijom (Harnet 2000b).

Neke bakterije oksidiraju Mn(II) iako rastu litotrofno (Emerson, 2000). Mezofil *Leptothrix discophora*, oksidira Mn(II) pomo u proteina koji je prisutan u njezinom plaštu. Stanica lu i protein te on postaje dio plašta. Plašt apsorbira ione metala, te može do i do Mn oksida. Vrste koje nemaju plaš tako er mogu lu iti proteine, zbog nedostatka plašta, amorfni Mn(IV) oksidi stvaraju nepovezane estice. Postoji i nekoliko teorija o moguoj funkciji oksidne kore na *Leptothrix-u*, zaštita od prtozoa, zaštita od bakeriofagaili UV-zra enja, detoksifikacija O₂ radikalima (Emerson 2000). Protein u vrste *Leptothrix*, koji oksidira Mn, MofA, opisan je kao muti-copper oksid.

Dvije vrste slatkovonih gram-negativnih, -proteobakterija, *Pseudomonas putida*, poznate su po aktivnoj mineralizaciji Mn oksida iz Mn(II). Stanica odlaže Mn okside na druge membrane i mlti-cooper enzim, CumA posreduje u oksidaciji.

Neaktivne spore nekih podvrsta *Bacillus-a* oksidiraju Mn(II) i postaje inkrustiran amorfnim Mn oksidima. Taj proces je takođe enzimatski: oksidacija Mn(II) je potaknuta drugim multi-cooper enzimom MnxG.

3.2. Redukcija mangana i željeza

Metal-reducirajuće bakterije prepoznatljive su po sposobnosti da koriste veliki broj različitih oksida, iona metala kao terminalne akceptore elektrona (Lovley, 2000). Posebno u slučaju željeza i mangana, to rezultira otapanjem oksida minerala i bilo kojih metala koji nastaju u enjem u anaerobnim uvjetima. Organizmi koji reduciraju željezo, dišu pomoćno u oksidiranog željeza, Fe(III), obično u obliku amorfog Fe(III)oksihidroksida (Lovley 1990, 1991) ili u obliku kristalnog oksida željeza kao što je goetit, hematit, i otpuštaju reducirano željezo, Fe(II) u okoliš. Fe(II) može naknadno sudjelovati u sporednim interakcijama s anionima rezultirajući stvaranjem različitih minerala željeza. Željezo-reducirajuće bakterije poznate su da induciraju lučenje magnetita (Fe_3O_4), siderita ($FeCO_3$) i vivianita ($Fe_3(PO_4)_2 \cdot 8H_2O$), ovisno o uvjetima izvan stanice (Bazylinski i Frankel 2000a,b). Na primjer siderit je dobiven u kulturi *Geobacter metallireducens* zajedno s magnetitom, gdje stanice rastu u bikarbonatnim sustavima (Lovley i Phillips 1988; Lovley 1990). Stanice metanogene vrste *Magnetospirillum magnetotacticum*, stvaraju značajne kolonije ekstracelularnog vivianita (slika 4), prilikom aktivne redukcije Fe(III) u Fe(II) oksihidrokside (Blakemore i Blakemore 1990).

Reakcije biominerizacije, opisane u prijašnjem paragrafu odvijaju se pri neutralnom pH. Postoji veliki broj poznatih kemolitoautotrofnih i kemoheterotrofnih, acidofilnih Fe(III)-reducirajuće bakterije, ali se o njihovim mineralnim oblicima koji nastaju pri niskom pH malo pisalo. Zanimljivo je to da za te organizme ne moraju biti striktno anaerobni uvjeti da bi rasli u prisutnosti Fe(II) iako je redukcija Fe(III) najbrža u mikroaerobnim uvjetima. Vrsta Archeae *Sulfolobus adidocaldarius*, reducira Fe(III) kada raste kao heterotrof na organskoj podlozi. *Acidithiobacillus ferrooxidans* i *A. Thiooxidans* oksidiraju reducirane sumporne komponente, spajajući tu reakciju s redukcijom Fe(III). Stanice -proteobakterija *Acidimicrobium acidopilum*,

reducira Fe(III) pomo u organskog donora elektrona u mikroaerobnim uvjtimi. Gram-pozitivne, umjereno termofilne vrste *Sulfolobus* i *Acidimicrobium* tako er reduciraju Fe(III), i neke su poznate da mogu reducirati otopinu Fe(III).



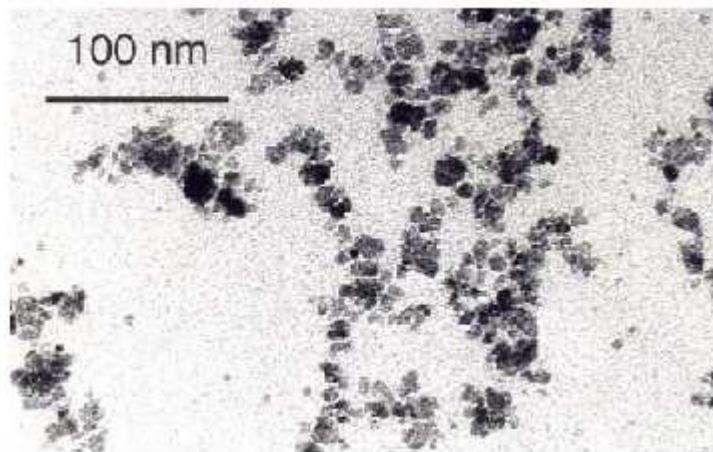
Slika 4. Ekstracelularni kristali vivianita koje stvaraju stanice *Magnetospirillum magnetotacticum-a* u kulturama koje sadrže visoke koncentracije Fe(III) i fosfata. U ovim uvjetima stanice reduciraju Fe(III) u Fe(II). (Preuzeto od Frankel i Bazylinski 2003)

Mnoge Fe(III) reduciraju e bakterije kao što su *Shewanella* i *Geobacter* tako er reduciraju Mn(IV) u Mn(II). U ovom slu aju organizmi su poznati po otapnju netopivog MnO₂; reduciraju Mn (IV) iz MnO₂ u topivi Mn(II). Neke vrste *Thermoanaerobacter-a* stvaraju rondokrozit (MnCO₃) tijekom redukcije Mn(IV), uraninit (UO₂) tokom redukcije topivog urana i zlato tokom redukcije Au(III) .

3.3. Biološki inducirana mineralizacija magnetita

Fe(II) može reagirati sa viškom netopivih Fe(III) oksihidroksida formiraju i zelenu koru (pomješani Fe(II) i Fe(III) oksihidroksidi) koji stvaraju magnetit. estice magnetita, koje su formirane ekstracelularno redukcijom željeza, su nepravilne i loše kristalizirane (slika 5). Osim toga imaju relativno široke, kristale u superparamagneti koj veli ini (<35nm) za magnetit. Te kristalne karakteristike tipi ne su za mineralne estice koje nastaju BIM-om ili anorganskim procesom (Eberl, 1998).

Dok mnoge vrste i fiziološki tipovi bakterija reduciraju Fe(III), sve ne rastu i ne dobivaju energiju od redukcije ovog proton akceptora koji se nalazi slobodan u okolišu



Slika 5. Kristali magnetita nastali redukcijom željezo-reduciraju ih bakterija, *Geobacter metallireducens*, željezovog oksihidroksida

i stvaraju magnetit. *Geobacter metallireducens* i *Shewanella putreaciens* najviše u prou avane vrste i filogenetski su povezane sa -i -proteobakterijama. Ove vrste su este u vodenim i sedimentnim okolišima i nove vrste bivaju izolirae (Caccavo 1994; Rossello-Mora 1994), upu uju i na to da lanovi ovih rodova imaju najve e zna enje za okoliš, uklju uju i i redukciju Fe(III) i ekstracelularno lu enje magnetita. BIM lu enje magnetita, demonstrirano je na kulturama *Shewanella*, *Geobacter*, *Geothrix fermentas*, nekoliko termofilnih vrsta, uklju uju i i Fe(III)-reduciraju e bakterije vrsta TOR-39 (danasa poznata kao podvrsta gram-pozitivne barije *Thermoanaerobacter ethanolicus*), kao i druge vrste istog roda, *Pyrobaculum islandicum* i *Thermotoga maritima*. Magnetit se formira u mješanim kulturama ili u konzorciju koja sadrži Fe(III) reducente. Poznato je da se magnetit formira u istoj kulturi bilo kojih Fe(III)-reduciraju ih bakterija. Crni, neidentificirani precipitati esto su uo eni u oboga enim kulturama ili istim kulturama Fe(III)-reduciraju ih bakterija koje sadrže netopljive, amorfne, Fe(III) oksihidrokside kao izvor Fe(III) vjerovatno se sastoji primarno od magnetita. Halofilne fakultativno anaerobne bakterije koje reduciraju željezo opisao je Rossello-Mora (1994) kao one koje najvjerojatnije stvaraju nestehiometrijske estice magnetita s intermedijskim sastavom izme u magnetita i maghemita (-Fe₂O₃) (Hanzlik 1996).

estice magnetita koje nastaju BIM-om javljaju se kod vrste *Thermoanaerobacter ethanolicus* (TOR-39). Zanimljivo je to da estice koje su proizvedene BCM-om (Bazylnski i

Frankel 2000a,b), i estice koje proizvede *T. ethanolicus* jako raširene. estice formiraju tetraedar sa prosje nom veli inom 56.2 ± 24.8 nm. *T. ethanolicus* je mezotermofil i pokusi za rast i biominerizaciju ra eni su pri temperaturi od 65°C , te se postavlja pitanje kakvu ulogu ima temperatura u distribuciji tih kristala. Roh (2001) je kasnije iskoistio te organizme da proizvede metalnu zamjenu kristala magnetita. Kobalt, krom i nikal zamjenjeni su BIM kristale magnetita bez promjene morfologije. Ugradnja ovih metala u magnetit s inverznom strukturuom zbog jedinstvenih, magnetskih, elektri nih osobina takvih kristala.

Stanice magnetoaktivnih vrsta *Magnetospirillum magnetotacticum*, u kulturama reduciraju Fe(III) i postoje dokazi da bi redukcija željeza mogla biti povezana sa uvanjem energije i rastom (Guerin i Balkmore 1992). Ekstraceluarni magnetit, nastao BIM-om nikad nije promatran u kulturama ovih organizama, stanice *M. magnetotacticum* sintetizira intracelularne resice magnetita (Frankel 1979) putem BCM-a (Bazylinski i Frankel 2003).

3.4. otapanje magnetita

Pored mineralizacije magnetita, postoje neke metal-reduciraju e bakterije koje su u stanju reducirati, odnosno stvoriti metale redukcijom iz magnetita- $2 \text{ Fe(III)} + 1 \text{ Fe(II)}$ po jedinici formule- s ispuštanjem jednog Fe(II). Za *S. putrefaciens* se smatra da ima sposobnost reduciranja i razvijanja Fe(III) iz magnetita (Kostka and Nelson 1995.), dok se za *G. metallireducens* smatra da ipak nema tu sposobnost (Lovley and Phillips 1988.). Dong (2000.) je provodio redukcijske eksperimente u kojima su kulture *S. putrefaciensa* CN32 i MR-1 me udjelovale bilo s biogenim bilo s anorganskim magnetitom kao s primateljem elektrona i s laktatom kao donatorom elektrona. Kao medij zaštite, služi bikarbonat (HCO_3^-). Vivianit ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$) se kondenzira kao medij zajedno s dovoljnom koli inom fosfata. Biogeokemijska zna ajnost ovog rezultata je u tome da bi neke metal-reduciraju e bakterije mogle i dalje iskorištavati magnetit kao dnonatora elektrona ak i nakon što je prvobitno dobivanje željeza kao npr. željeznog oksihidroksida, do kraja završeno. Prema tome ini se da neke metal-reduciraju e bakterije mogu imati i sposobnost mineralizacije i sposobnost rastapanja magnetita u razli itim Eh i pH uvjetima. Dong (2000) je zabilježio da je magnetit termodinami ki stabilan pri vrijednosti pH od 5-6.5, ali nestabilan pri svakoj pH vrijednosti ve oj od 6.5. Me utim, ta tvorba minerala koja ispušta Fe(II) iz otopine

teži k tome da pove a pH vrijednost preko krajnje vrijednosti do koje se redukcija magnetita smatrala povoljnom. Prema tome, BIM može služiti i za pomicanje termodinamičke ravnoteže u određenim situacijama.

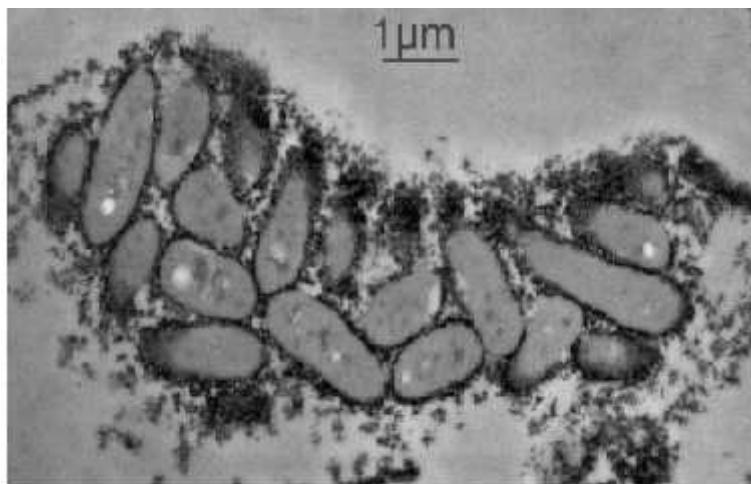
3.5. redukcija sulfata

Među svim sulfidnim mineralima, mineralizacija željeznog sulfida se najčešće pripisuje aktivnosti mikroba (Southam 2000), još to nije aktivnosti sulfat-reducirajućih bakterija. Ti sveprisutni anaerobni prokarioti predstavljaju fiziološku grupu mikroorganizama koji su filogenetski i morfološki vrlo raznovrsni i uključuju vrste iz domene Bacteria (delta-subdivizija protobakterija i Gram-pozitivna grupa) te Archaea. Budući da sve sulfat reducirajuće bakterije među njima sa sulfatom u anaerobnim uvjetima i pri tome ispuštaju visoko reaktivne ione sulfida, vrlo je vjerojatno da sve vrste, bez obzira na filogenetiku i klasifikaciju, proizvode minerale željeznog sulfida kroz BIM u odgovarajućim uvjetima okoline te uz dovoljan pristup željeza. Ako je i sulfat reducirajuće magnetotakti na bakterija, *Desulfovibrio magneticus* kultura RS-1, poznata po tome da proizvodi ekstracelularne dijelove željeznog sulfida kroz BIM dok istovremeno sintetizira intracelularne kristale magnetita kroz BCM (Sakaguchi, 1993.). Ioni sulfida reagiraju sa željezo-formirajućim magnetskim dijelovima greigita (Fe_3S_4) i pirotita ($Fe_{1-x}S_8$) kao i s velikim brojem ostalih nemagnetskih željeznih sulfida uključujući i makinavit (tetragonski FeS), pirit (kubični FeS₂) i markazit (rompski FeS₂). Za mineralne vrste koje formiraju ove bakterijsko-katalizacijske reakcije, ini se da ovise o pH i Eh medija na kojem rastu, o temperaturi inkubacije, o prisutnosti specifičnih oksidirajućih i reducirajućih agensa, te o tipu izvora u mediju na kojem rastu. Kao dodatak, mikroorganizmi jasno modificiraju mnoge od ovih parametara, kao npr. pH i Eh vrijednosti kroz razvoj. Npr., stanice *Desulfovibrio desulfuricans* proizvode greigit kad rastu u blizini železnih soli, ali ne kada je izvor željeza bio goetit, $FeO(OH)$ (Rickard 1969a).

Berner (1962, 1964, 1967, 1969) je izvjestio o kemijskoj sintezi velikog broja minerala željeznog sulfida, uključujući i markazit, makinavit, magnetski, kubični željezni sulfid spinalnog tipa (najvjerojatnije greigit), pirotit, amorfni FeS, pa tako i frambolidni pirit, globularni oblik pirita za koji se nekad smatralo da predstavlja fosilizirane bakterije (Fabricus 1961; Love i Zimmerman 1961). Rickard (1969a,b) je zaključio da se ekstracelularni, biogeni minerali željenog sulfida ne mogu razlikovati od abiogenskih (anorganskih) minerala. Ipak, u mnogim

slu ajevima , minerali željeznog sulfida koji su proizvedeni od strane sulfat reduciraju ih bakterija još nisu bili sistematski ispitani elektronskom mikroskopijom visoke rezolucije. K tome, u mnogim ranijim studijama , uloga stanice u procesu mineralizacije još nije bila istraživana.

Nedavne studije sa sulfat-reduciraju im bakterijama pokazuju da sama mineralizacija na po etku zapo inje immobilizacijom amorfognog FeS na površini stanice (slika 6) kroz ionsku interakciju Fe^{2+} s naponom anionske površine stanice i biogenim H_2S (Fortin 1994). Transformacije minerala uzrokuju proizvodnju ostalih željeznih sulfida, i na kraju, prita (Fortin and Beveridge 2000; Southam 2000.). Unato rezultatima Bernera (1962,1964,1967,1969), bakterijski inducirana transformacija FeS u pirit može biti djelotvornija ako se odvija pod abiogenim uvjetima. (Donald and Southam 1999).



Slika 6. Ultratanki prerez mikrokolonija bakterija koje rastu u prisutnosti Fe(II). Stanice su oklopljene amorfnnim željeznim sulfidima. (W. Stanly i G.Southam)

3.6. Oksidacija minerala sulfida

Pored toga što postoje baktebre koje omogu avaju mineralizaciju željeznog sulfida , postoje i bakterije koje mogu oksidirati sulfide kao pirit (FeS_2) s molekularnim kisikom, s ispuštanjem $\text{Fe}(\text{III})$ i sulfata(SO_4^{2-}) (Nordstrom and Southam 1997). Ovaj proces je odgovoran za drenažu kiselih izvora i takođe se upotrebljava za obogaivanje i ispiranje ruda. Najviše proučavan organizam jest *Acidithiobacillus ferrooxidans*, acidofilna, autotrofna bakterija. Proces oksidacije

ovisi izme u ostalog i o osobinama prita, uklju uju i veli inu zrna, kristalini nost, defekte u strukturi, tragove ne isto e metala. U oksidaciji koja slijedi Fe(III) hidrolizira i prvotno se taloži kao željezni oksihidroksid. Me utim, starenje se može pojaviti kod velikog broja minerala željeza uklju uju i i ferihidrit i goetit, kao i željezni sulfat minerala jarosita ($KFe_3(SO_4)_2(OH)_6$) i schwertmanita ($Fe_8O_8SO_4(OH)_6$). Elementarni sumpor je drugi mogu i produkt reakcije. Drugi disulfidni i monosulfidni minerali mogu tako er oksidirati, ali rezultirati kao specifi ni supstratno-mineralni produkti. Stanice *Acidithiobacillus* odmah se vežu za površinu sulfida minerala što maksimizira efikasnost procesa oksidacije. Op enito, interakcije mikroba i minerala u razli itim uvjetima u okolišu postale su zna ajna tema u biogeokemiji.

4. INTRACELULARNA BIOLOŠKI INDUCIRANA MINERALIZACIJA

Većina primjera BIM-a o kojima se govori u prethodnim odjeljcima uključuju ekstracelularnu depoziciju minerala. Ipak, postoji nekoliko izvještaja o intracelularnoj depoziciji minerala za koju se čini da liniju granice između BIM i BCM čini nejasnom. Npr., mnoge bakterije sadrže željezne zalihe proteina koje su poznate kao bakterioferitins (Chasteen and Harrison 1999). To su intracelularni proteini koji sadržavaju 24 identične podjedinice koje su organizirane u parove koje tako formiraju dodekahederalnu ljusku koja prekriva 9 nm veliku šupljinu. Ta šupljina može nakupiti i do 4000 atoma željeza kao amorfne željezne oksihidroksne fosfate, s varijabilnom P/Fe vrijednosti. Parovi podjedinica sadržavaju centre feroooksidaze koji kataliziraju oksidaciju željeza i nukleaciju minerala u šupljini. Dok organizam pruža organsku vezikulu (proteinsku ljusku) za depoziciju minerala, on ipak navodno ne kontrolira kompoziciju ili kristalnost minerala. S druge strane, manja kristalinična nastanak može omogućiti veći pristup željezu pa ak možda i fosfatu uskladištenom u obliku minerala u šupljini.

Intracelularni dijelovi željeznog sulfida javljaju se između stanica sulfat reducirajućih bakterija, uključujući i *Desulfovibrio* te *Desulfotomaculum* vrste, kada se uzgajaju s relativno visokim koncentracijama željeza (Jones 1976). Ti dijelovi su slavljeno razmješteni u stanicama te ih je teško razlučiti elektronskom difrakcijom. Takođe, nisu odvojivi stupnjevitim centrifugiranjem. Izgleda da nisu esencijalni za stanicu u tome što se stanice mogu uzgajati i s mnogo manje željeza gdje tada neće formirati ovakve strukture.

Neidentificirani, pretpostavlja se magnetski (magnetno osjetljivi), elektronski gusti dijelovi javljaju se u stanicama kod nekoliko ljubimosti fotosintetičkih bakterija, uključujući i *Rhodospseudomonas palustris*, *R. rutilis* (obje alfa- proteobakterije), i *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* (a gama- protobakterija) koje se uzgajaju u mediju koji sadržava relativno visoke koncentracije željeza. Inkluzije su bile sferične dijelovi koji sadržavaju elektronsko transparentnu jezgru okruženu s elektronsko gostiom matricom. Dijelovi se mogu odvojiti od stanica; mikroanaliza reontgeskih zrakama je pokazala da su inkluzije bogate željezom, ali da ne sadržavaju sumpor. Dijelovi su bili raspoređeni lanac kao magnetosomi (Bazylinski 1995) i vjerojatno okruženi membranom strukturom (Vainshtein 1997). Vainshtein (2002) je kasnije pokazao da mnoge druge bakterije, uključujući nefotosintetične, imaju od obje domene prokariota, mogu biti navedene da formiraju slične dijelove. Stanice s tim esticama pokazuju

reagiranje na magnete, ali nisu nužno magnetotakti ne. Autori spekuliraju oko toga da je funkcija estica sli na magenetosomskoj. Ovaj sluaj biomineralizacije predstavlja skoro srednji sluaj između BIM i BCM u tome što se inicijalne stanice kontroliraju neke značajke ovih estica kao npr. njihov raspored u stanici.

Glasauer (2001) je izvjestio o neidentificiranim esticama željeznog oksida kod željezo reducirajućih bakterija *Shewanella putrifaciens* koja se uzgaja u H/Ar atmosferi sa slabo kristaliziranim ferihidritom (željeznim oksihidroksidom) kao primateljem elektrona. Postoji dokaz koji dolazi iz izabranog područja difrakcije elektrona (selected area electron diffraction-SEAD) da intracelularne estice željeznog oksida predstavljaju magnetit ili maghmit (gama-FeO). Magnetit se isto formira izvan stanice. Ona-Nguema (2002) je pronašao zelenu hrđu s omjerom Fe (II)/Fe(III) koji je približan 1 kad se *S. putrifaciens* uzgaja u anaerobnim uvjetima u formi kad predstavlja donora elektrona, a kristalizirani lepidokrokit (gama-FeOOH) primatelj elektrona. Zelena se hrđa može eventualno remineralizirati kao crni magnetit ili maghmit kad se klutura koja reagira inkubirala na mediju pri sobnoj temperaturi.

5. ZNAJENJE BIOLOŠKI INDUCIRANE MINERALIZACIJE

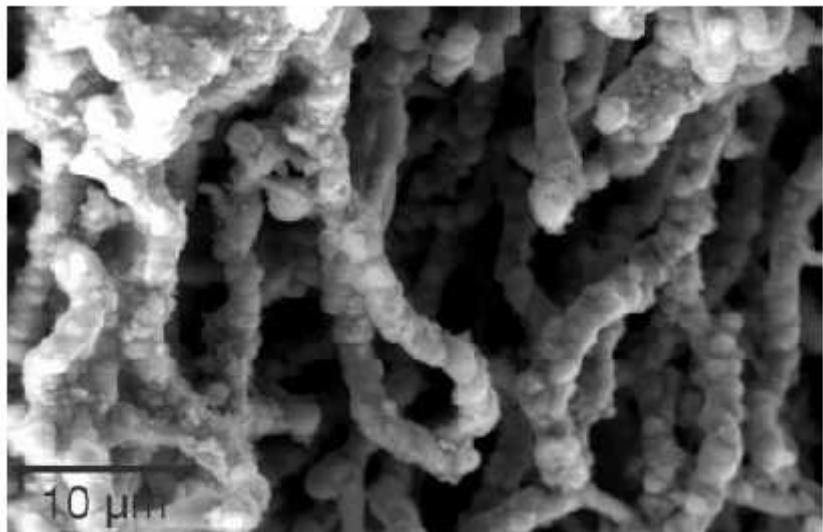
Biomineralizacija prokariotima važan je i značajan proces za znanost ali i u komercijalne svrhe, pa tako ima veliki utjecaj na mikrobiologiju, evoluciju i geologiju. Uz enje i inkrustiranje metala u bakterija važno je za otklanjanje metala i radionuklida tijekom bioprocesa avanja vode zagađene metalima i radio-nuklidima (Lovley, 2000). Rast Fe(II)- i Mn(III)- oksidiraju ih bakterija koje mineralizacijom efikasno odstranjuju Fe i Mn ione iz vode u postrojenjima za pročišćavanje vode u Francuskoj, eliminira problem taloženja minerala u cijevima i obojenja vode (Mouchet 1992). To predstavlja veliki problem kod podzemnih izvora vode.

Konhauser (2000) nagrađuje su bakterije koje oksidiraju željezo odgovorne za stvaranje povezanih prekambrijskih željeznih formacija (BIF) pomoći u BIM-u, oksidacijom otopljenog Fe(II) u praoceanu. Oksidacija Fe(II) u Fe(III) mogla se dogoditi kemolitoautotrofno ili preko fotosinteze gdje je Fe(II) donor elektrona. Na temelju kemijskih analiza BIF-a iz zapadne Australije, zaključilo se da je gusto a bakterijskih stanica manja nego kod onih pronađenih u recentnim okolišima bogatih željezom.

Minerali nastali djelovanjem bakterija, u jednom ili drugom obliku, mogu biti korisni biomarkeri (indikatori prošlog života) kada preostali ostaci stanica ili drugi indikatori tih procesa više nisu evidentni. U mnogim slučajevima promatra se samo mineralna inkrustacija stanice (Southam 2000). Ti biomarkeri ne samo da nam govore o evoluciji bakterija na Zemlji, nego predstavljaju svojevrsne dokaze o životu u prošlosti materijala za koje se smatra da potječe iz svemira (Thomas-Keprta 2000).

Zanimljiva skala i mjerilo BIM-a dobivena je sa olupine Titanica. Kada je Robert Ballard pronašao Titanic 1985, primjetio je da su trupa vise konkrecije u boji hrane. Konkrecije su bile u oblicima sljedećim stalaktitima, te ih je nazvao „rustiklama“. Rustikle mogu biti različitih veličina, od nekoliko centimetara do nekoliko metara, te imaju kompleksnu unutarnju strukturu s kanalima ispunjenim vodom te različitim promjerima, a javljaju se u oblicima različitog reda veličine. Minerali željeza uveliko su zastupljeni u strukturi rustikle, zajedno sa željeznim oksihidroksidima na površini i gojetom u unutrašnjosti. Na tim tvorbama nalazimo preko 20 vrsta bakterija koje uključuju željezo-oksidirajuće bakterije te sulfat-reducirajuće bakterije. To znači da se na tvorbama nalazi veliki broj mikrookoliša, od oksidativnog do anoksidativnog. SEM studije pokazale su jako mineralizirane bakterijske forme, organizirane u lance (slika 7). Promatranjem

tokom godina, zapaženo je da formacije rastu velikom brzinom, preko 1 tone na godinu, po trupu broda, i prema tome se predviđa da olupina nestati u nekoliko godina, a ne stoljeća kako se prije mislilo. Time je pokazana injenica da rad bakterija u geološkom vremenu, može utjecati na velike mineralne transformacije.



Slika 7. SEM slika formacija bakterija prikupljenih sa Titanica. Formacije se sastoje od lanaca mineraliziranih bakterija. (H.Mann)

6. ZAKLJU AK

Bakterije su prokariotski organizmi koje nalazimo u svim staništima na Zemlji. Zbog velikog diverziteta kako geneti kog tako i metaboli kog, imale su veliku ulogu u akumulaciji minerala u Zemljinoj kori. Prokariotska sinteza može se grupirati u dvije grupe: 1) biološki inducirana mineralizacija (BIM), 2) biološki kontrolirana mineralizacija (BCM).

Kada govorimo o BIM-u, minerali su lu eni izme u organskog matriksa i vezikula stanice, ime je stanicom omogu en odre eni stupanj kontrole nad stvaranjem minerala. Kao esti produkti BIM-a javljaju se minerali željeza i mangana, a uzrok tome je velika zastupljenost tih elemenata u Zemljinoj kori. Minerali željeza i mangana mogu nastati metaboli kim procesima koji uzrokuju otapanje minerala željeza, oksidaciju i redukciju sulfida i sulfata metala.

Sve u svemu, biomineralizacija prokariotima važan je i zna ajan proces kako za znanost tako i u komercionalne svrhe.

7. SAŽETAK

Minerali formirani biološki induciranim procesom mineralizacije tvore jezgru i rastu izvan stanice kao rezultat metaboli ke aktivnosti organizma i kasnijih kemijskih reakcija koje uklju uju produkte metabolizma. BIM je posebno zna ajan za bakterije koje žive u anaerobnim uvjetima uklju uju i i dubokomorska staništa, ili u oksi no-anoksi nim slojevima. Uzrok preživljavanja bakterija u anaerobnim uvjetima je u tome što koriste sulfide za proces disanja i/ili razli ite metale kao što su željezo (terminalni akceptor elektrona u transportu elektrona).

Minerali nastali djelovanjem bakterija, u jednom ili drugom obliku, mogu biti korisni biomarkeri (indikatori prošlog života) kada ostali ostaci stanica ili drugi indikatori tih procesa više nisu evidentni.

8. SUMMARY

Minerals that are formed by biologically induced mineralization processes, generally nucleate and grow extracellularly as a result of metabolic activity and chemical reactions involving metabolic byproducts. BIM is especially significant for bacteria in anaerobic habitats including deep subsurface sites, or oxic-anoxic interfaces. This is because under anaerobic conditions many bacteria respire involving sulfate and sulfides of various metals, including iron terminal electron acceptors in electron transport.

Bacterially-formed minerals may be useful as a biomarkers (indicators of past life) when other remains of the cell or indicators of the presence of the cell are no longer evident.

9. POPIS LITERATURE:

Bazylinski, A. Dennis; Frankel, B. Richard (2003): Biologically Induced Mineralization by Bacteria
Biomineralization (P.M. Dovel, J.J. De Yoreo, S. Weiner), Reviews in Mineralogy and Geochemistry, Mineral society of America , Vol. 54, str. 95-114

REFERENCE:

- Bazylinski DA, Frankel RB (2000a) Magnetic iron oxide and iron sulfide minerals within organisms. In: Biominerization: From Biology to Biotechnology and Medical Application. Bäuerlein E (ed) Wiley-VCH, Weinheim, Germany, p 25-46
- Bazylinski DA, Frankel RB (2000b) Biologically controlled mineralization of magnetic iron minerals by magnetotactic bacteria. In: Environmental Microbe-Mineral Interactions. Lovley DR (ed) ASM Press, Washington, DC, p 109-144
- Bazylinski DA, Frankel RB (2003) Biologically controlled mineralization in prokaryotes. Rev Mineral Geochem 54:217-247
- Bell PE, Mills AL, Herman JS (1987) Biogeochemical conditions favoring magnetite formation during anaerobic iron reduction. Appl Environ Microbiol 53:2610-2616
- Berner RA (1962) Synthesis and description of tetragonal iron sulfide. Science 137:669
- Berner, RA (1964) Iron sulfides formed from aqueous solution at low temperatures and atmospheric pressure. J Geol 72:293-306
- Berner, RA (1967) Thermodynamic stability of sedimentary iron sulfides. Am J Sci 265:773-785
- Berner RA (1969) The synthesis of frambooidal pyrite. Econ Geol 64:383-393
- Beveridge TJ (1981) Ultrastructure, chemistry, and function of the bacterial cell wall. Int Rev Cytol
- Blakemore RP, Blakemore NA (1990) Magnetotactic magnetogens. In: Iron Biominerals. Frankel RB, Blakemore RP (eds) Plenum Press, New York, p 51-67
- Dong H, Fredrickson JK, Kennedy DW, Zachara JM, Kukkadapu RK, Onsott TC (2000) Mineral transformations associated with the microbial reduction of magnetite. Chem Geol 169:299-318
- Emerson D (2000) Microbial oxidation of Fe(II) and Mn(II) at circumneutral pH. In: Environmental Microbe-Mineral Interactions. Lovley DR (ed) ASM Press, Washington, DC, p 109-144
- Emerson D, Moyer CL (1997) Isolation and characterization of novel iron-oxidizing bacteria that grow at circumneutral pH. Appl Environ Microbiol 63:4784-4792
- Emerson D, Moyer CL (2002) Neutrophilic Fe-oxidizing bacteria are abundant at the Loihi Seamount hydrothermal vents and play a major role in Fe oxide deposition. Appl Environ Microbiol 68:3085-3093
- Ferris FG, Beveridge TJ (1986a) Site specificity of metallic ion binding in *Escherichia coli* K-12 lipopolysaccharide. Can J Microbiol 32:52-55
- Ferris FG, Beveridge TJ (1986b) Physicochemical roles of soluble metal cations in the outer membrane of *Escherichia coli* K-12. Can J Microbiol 32:594-601
- Fortin D, Beveridge TJ (2000) Mechanistic routes to biomimetic surface development. In: Biominerization: From Biology to Biotechnology and Medical Application. Bäuerlein E (ed) Wiley-VCH, Weinheim, Germany, p 7-24

- Fortin D, Ferris FG, Beveridge TJ (1997) Surface-mediated mineral development by bacteria. *Rev Mineral* 35:161-180
- Fortin D, Southam G, Beveridge TJ (1994) An examination of iron sulfide, iron-nickel sulfide and nickel sulfide precipitation by a *Desulfotomaculum* species: and its nickel resistance mechanisms. *FEMS Microbiol Ecol* 14:121-132
- Frankel RB, Blakemore RP, Wolfe RS (1979) Magnetite in freshwater magnetotactic bacteria. *Science* 203:1355-1356
- Glasauer S, Langley S, Beveridge TJ (2001) Intracellular iron minerals in a dissimilatory iron-reducing bacterium. *Science* 295:117-119
- Hallbeck L, Ståhl F, Petersen K (1993) Phylogeny and phenotypic characterization of the stalk-forming iron-oxidizing bacterium *Gallionella ferruginea*. *J Gen Microbiol* 139:1531-1535
- Hanert HH (2000a) The Genus *Gallionella*. In: *The Prokaryotes*. Dworkin M et al.(eds) Springer-Verlag New York, Inc., New York (on the web at <http://www.springer-ny.com/>)
- Hanert HH (2000b) The Genus *Siderocapsa* (and other iron- or manganese-oxidizing Eubacteria). In: *The Prokaryotes*. Dworkin M et al.(eds) Springer-Verlag New York, Inc., New York (on the web at <http://www.springer-ny.com/>)
- Hanzlik MM, Petersen N, Keller R, Schmidbauer E (1996) Electron microscopy and ^{57}Fe Mössbauer spectra of 10 nm particles, intermediate in composition between Fe_3O_4 - Fe_2O_3 , produced by bacteria. *Geophys Res Lett* 23:479-482
- Jones HE, Trudinger PA, Chambers LA, Pyliotis NA (1976) Metal accumulation by bacteria with particular reference to dissimilatory sulphate-reducing bacteria. *Z Allg Mikrobiol* 16:425-435
- König H (1988) Archaeabacterial cell envelopes. *Can J Microbiol* 34:395-406
- Kostka JE, Nealson KH (1995) Dissolution and reduction of magnetite by bacteria. *Environ Sci Technol* 29:2535-2540
- Lovley DR (1990) Magnetite formation during microbial dissimilatory iron reduction. In: *Iron Biominerals*. Frankel RB, Blakemore RP (eds) Plenum Press, New York, p 151-166
- Lovley DR (1991) Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Microbiol Rev* 55:259-287
- Lovley DR (ed) (2000) *Environmental Microbe-Mineral Interactions*. ASM Press, Washington, DC
- Lovley DR, SJ Giovannoni, DC White, JE Champine, EJP Phillips, YA Gorby, S Goodwin (1993) *Geobacter metallireducens* gen. nov. sp. nov., a microorganism capable of coupling the complete oxidation of organic compounds to the reduction of iron and other metals. *Arch Microbiol* 159:336-344
- Ona-Nguema G, Abdelmoula M, Jorand F, Benali O, Gehin A, Block J-C, Genin, J-M R (2002) Microbial reduction of lepidochrocite - FeOOH by *Shewanella putrefaciens*; the formation of green rust. *Hyp Interact* 139/140: 231-237
- Rickard DT (1969a) The microbiological formation of iron sulfides. *Stockholm Contrib Geol* 20:50-66
- Rossello-Mora RA, Caccavo Jr. F, Osterlehner K, Springer N, Spring S, Schüler D, Ludwig W, Amann R, Vannacanneyt M, Schleifer K-H (1994) Isolation and taxonomic characterization of a halotolerant, facultative anaerobic iron-reducing bacterium. *Syst Appl Microbiol* 17:569-573
- Sakaguchi T, Burgess JG, Matsunaga T (1993) Magnetite formation by a sulphate-reducing bacterium. *Nature* 365:47-49
- Schultze-Lam S, Harauz G, Beveridge TJ (1992) Participation of a cyanobacterial S layer in fine-grain mineral formation. *J Bacteriol* 174:7971-7981
- Southam G (2000) Bacterial surface-mediated mineral formation. In: *Environmental Microbe-Mineral Interactions*. Lovley DR (ed) ASM Press, Washington, DC, p 257-276
- Straub KL, Rainey FA, Widdel F (1999) Isolation and characterization of marine phototrophic ferrous ironoxidizingpurple bacteria, *Rhodovulum iodosum* sp. nov. and *Rhodovulum robiginosum* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 49:729-735
- Thomas-Kepra KL, Bazylinski DA, Kirschvink JL, Clemett SJ, McKay DS, Wentworth SJ, Vali H, Gibson Jr. EK, Romanek CS (2000) Elongated prismatic magnetite (Fe_3O_4) crystals in ALH84001 carbonate globules: potential martian magnetofossils. *Geochim Cosmochim Acta* 64:4049-4081
- Vainshtein M, Suzina N, Sorokin V (1997) A new type of magnet-sensitive inclusions in cells of photosynthetic bacteria. *Syst. Appl. Microbiol* 20:182-186
- Vainshtein M, Suzina N, Kudryashova E, Ariskina E (2002) New magnet-sensitive structures in bacterial and archaeal cells. *Biol Cell* 94:29-35

