

CICLO DO
NITROGÊNIO

E

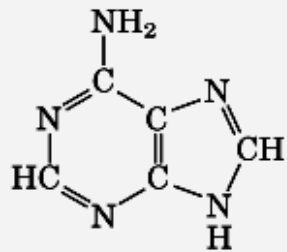
FIXAÇÃO BIOLÓGICA

□ N₂ atmosférico (80%) – pouco reativo

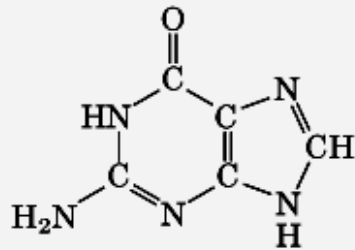
❖ Lavoisier – Nitrogênio = Azoto (gás sem vida)

□ 4º elemento mais abundante dos organismos vivos

Fazem parte de diferentes moléculas

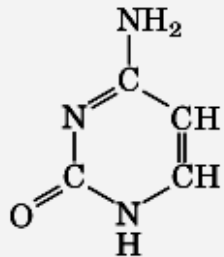


Adenine

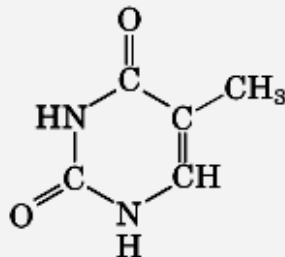


Guanine

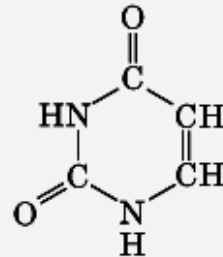
Purines



Cytosine



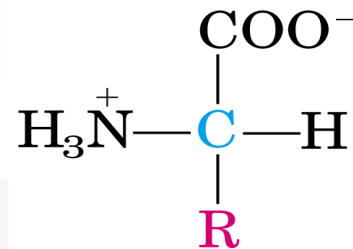
Thymine
(DNA)



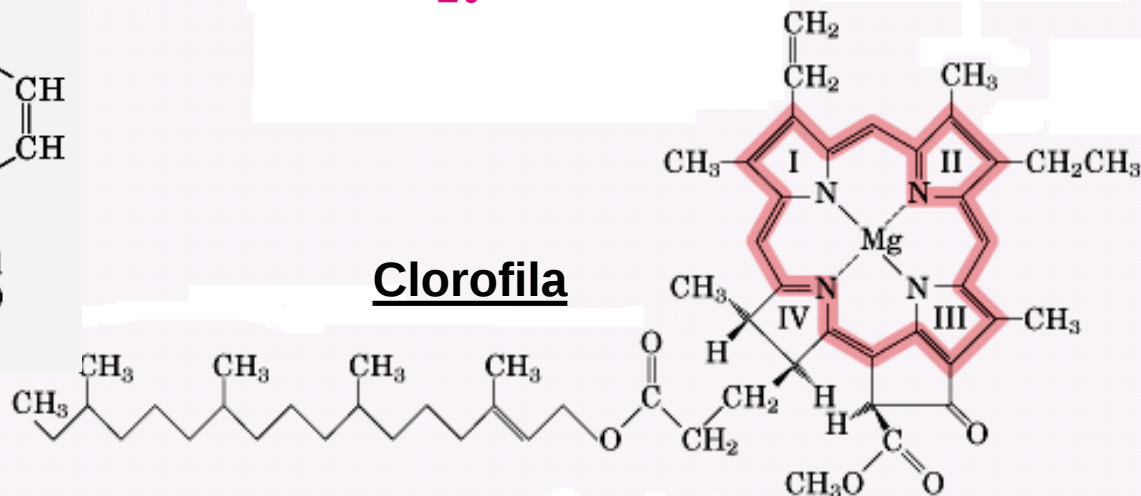
Uracil
(RNA)

Pyrimidines

Aminoácidos e proteínas



Clorofila



Ácidos nucleicos – DNA/RNA

Deficiência causa o aparecimento de folhas amareladas, desenvolvimento deficiente das plantas e baixa produtividade.



Maioria dos seres vivos é incapaz de utilizar o N_2 atmosférico

Animais – dieta - Transformações químicas sintetizam produtos necessários

Vegetais – retiram do solo e alguns da atmosfera (via microrganismos)

Caro e necessita de reciclagem

Como o N atmosférico entre no ciclo biológico?

Como os organismos vivos conseguem obter N?

Como ocorre a reciclagem do N biológico?

Ciclo do nitrogênio

Como ocorre as transformações do N_2 na natureza?

➤ Reações Químicas – Relâmpagos – processos naturais

8% N fixado do solo

Vapor d'água e $O_2 \rightarrow$ Hidroxilas ($OH^\cdot$), H^+ e $O^\cdot$ livres



Atacam N_2

Ácido nítrico (HNO_3)
precipita com a chuva

➤ Reações Químicas – processos industriais

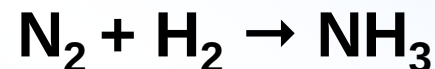
Indústrias de produtos nitrogenados – 80×10^6 ton/ano de fertilizantes nitrogenados

(Brasil - consumo 2012, 29 milhões de ton)



Processo Haber-Bosch

Elevada temperatura e pressão (200°C e 200atm)



- Alto consumo de energia
- Fonte H é o gás natural (CH_4)
- Perdas intensas
- Poluição

➤ Reciclagem de produtos nitrogenados – processos biológicos

✓ decomposição de matéria orgânica (microrganismos decompositores)



✓ excreção de produtos nitrogenados (uréia, ácido úrico e amônia)

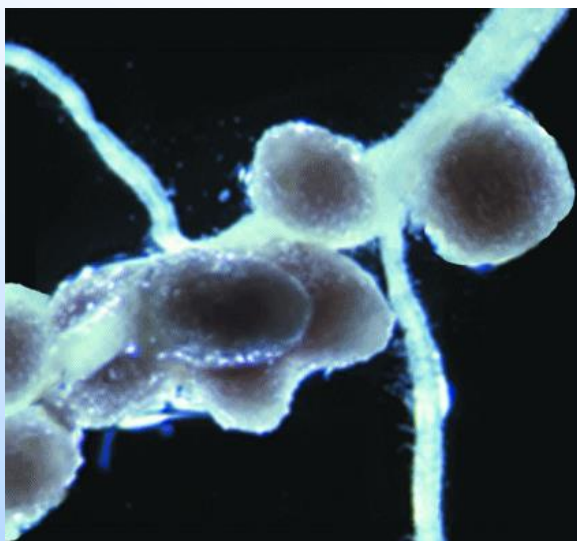


➤ Fixação biológica

90% do N fixado

Procariotos

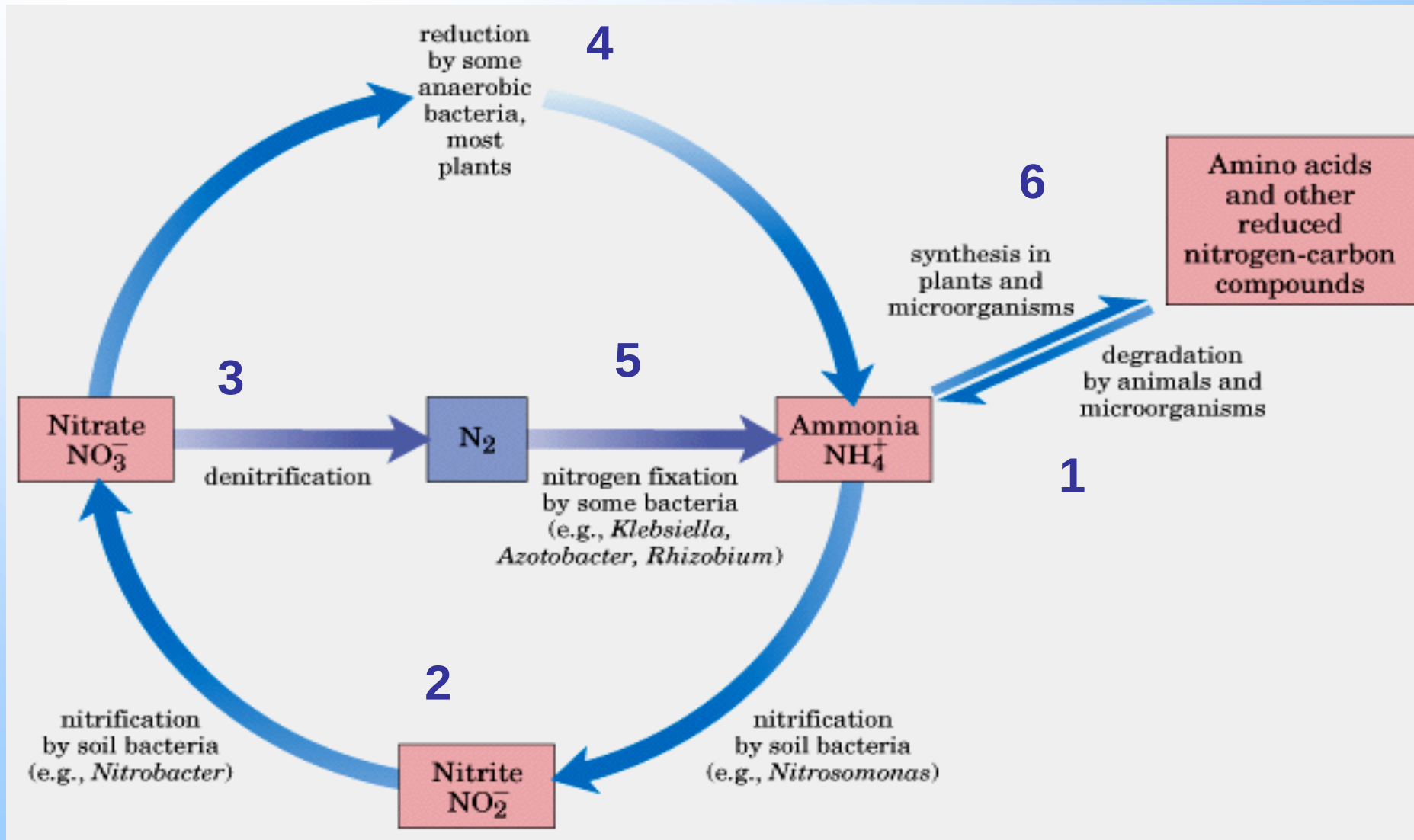
Assimilação $N_2 \rightarrow NH_4^+$



Ⓢ Realizada por microrganismos livres ou independentes, que vivem no solo ou na água

Ⓢ Por microrganismos que fazem associação simbiótica com as raízes de plantas leguminosa (produtoras de grãos)

Existem 6 processos importantes de transformação e reciclagem de Nitrogênio



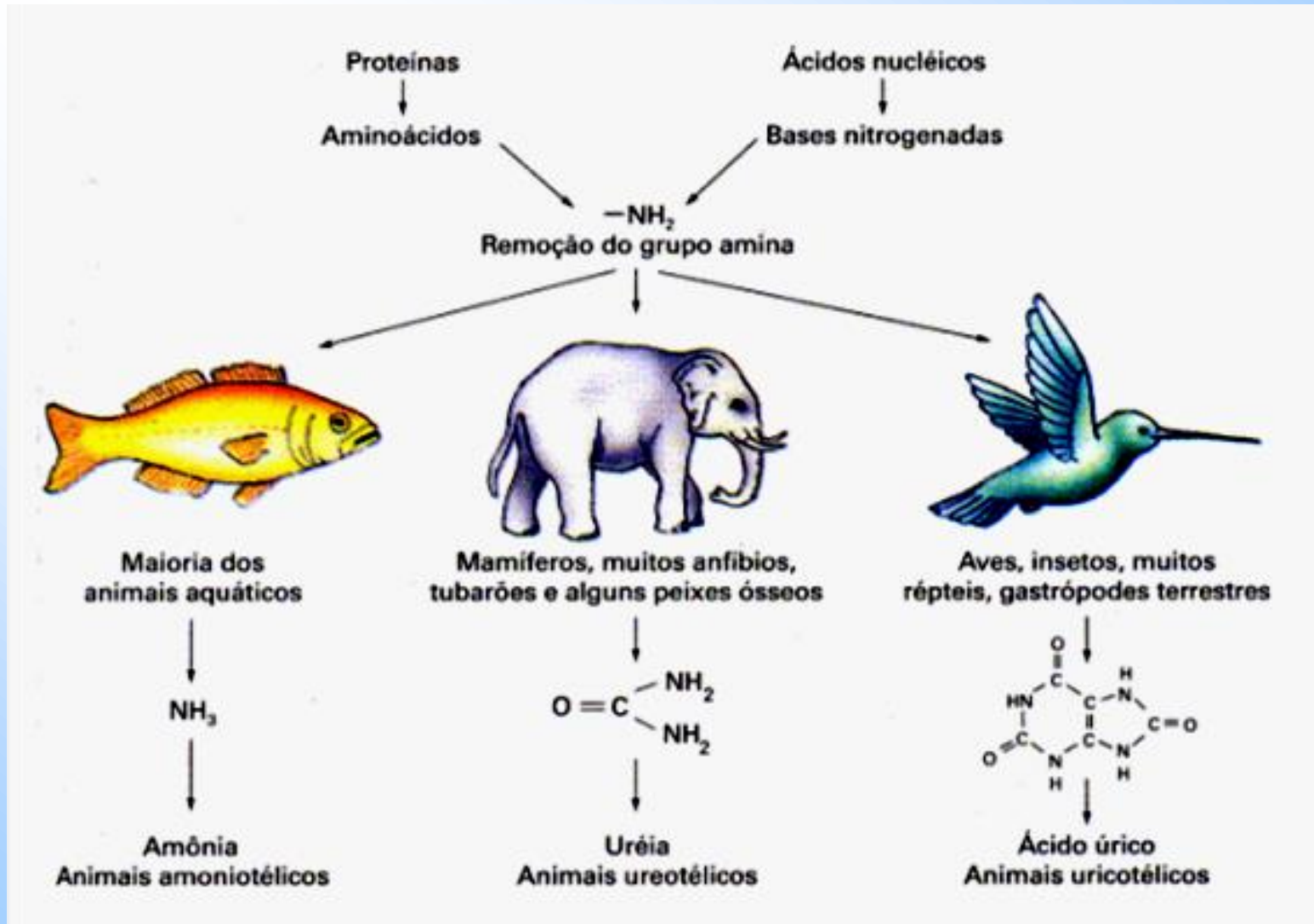
1 - Decomposição e excreção

Ação de bactérias e fungos na decomposição da matéria orgânica do ambiente (animais ou vegetais mortos)

Liberação de amônio – Amonificação

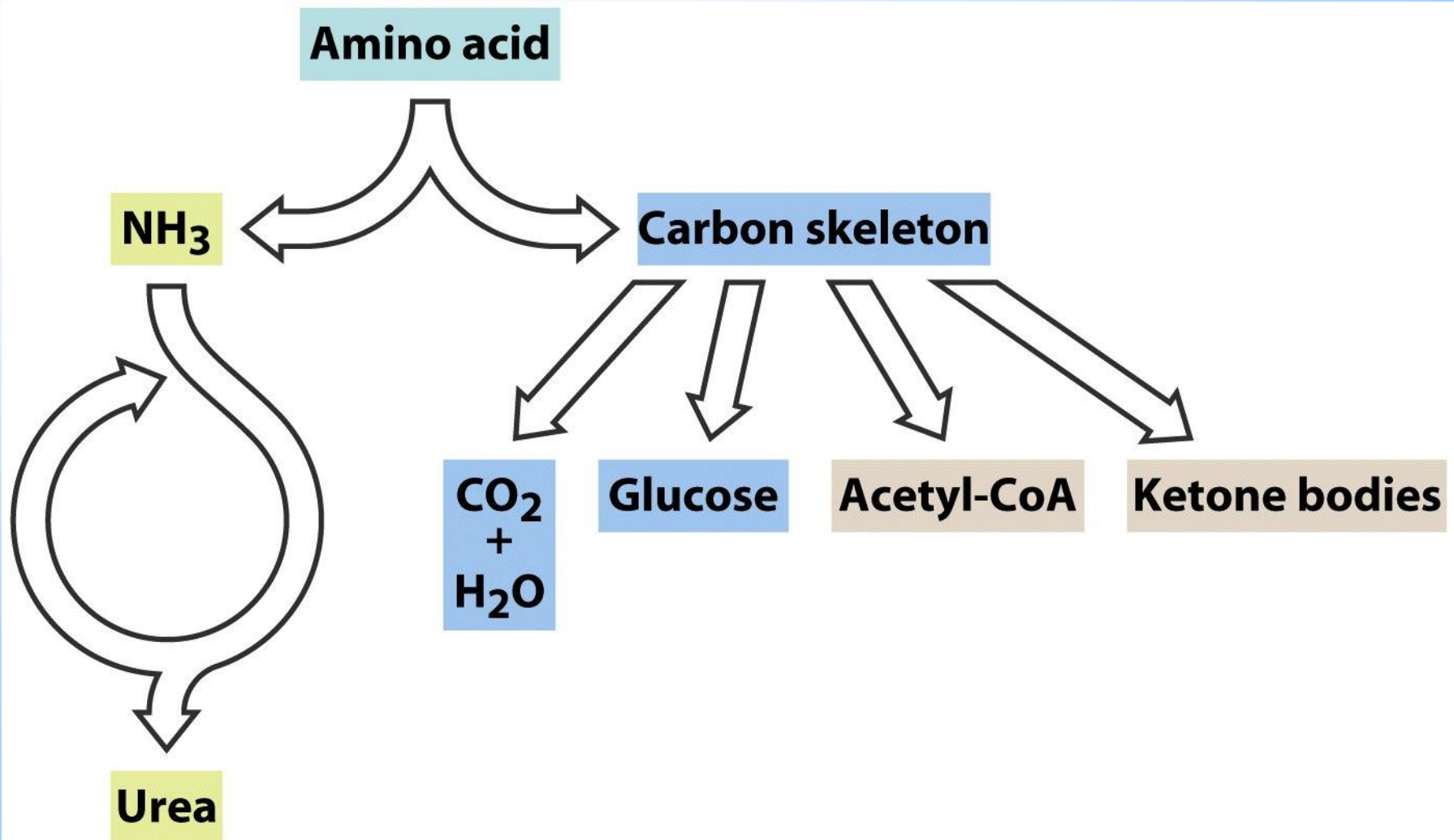


- A maioria dos animais terrestres eliminam o excesso de N ingerido na dieta através de reações bioquímicas diferentes



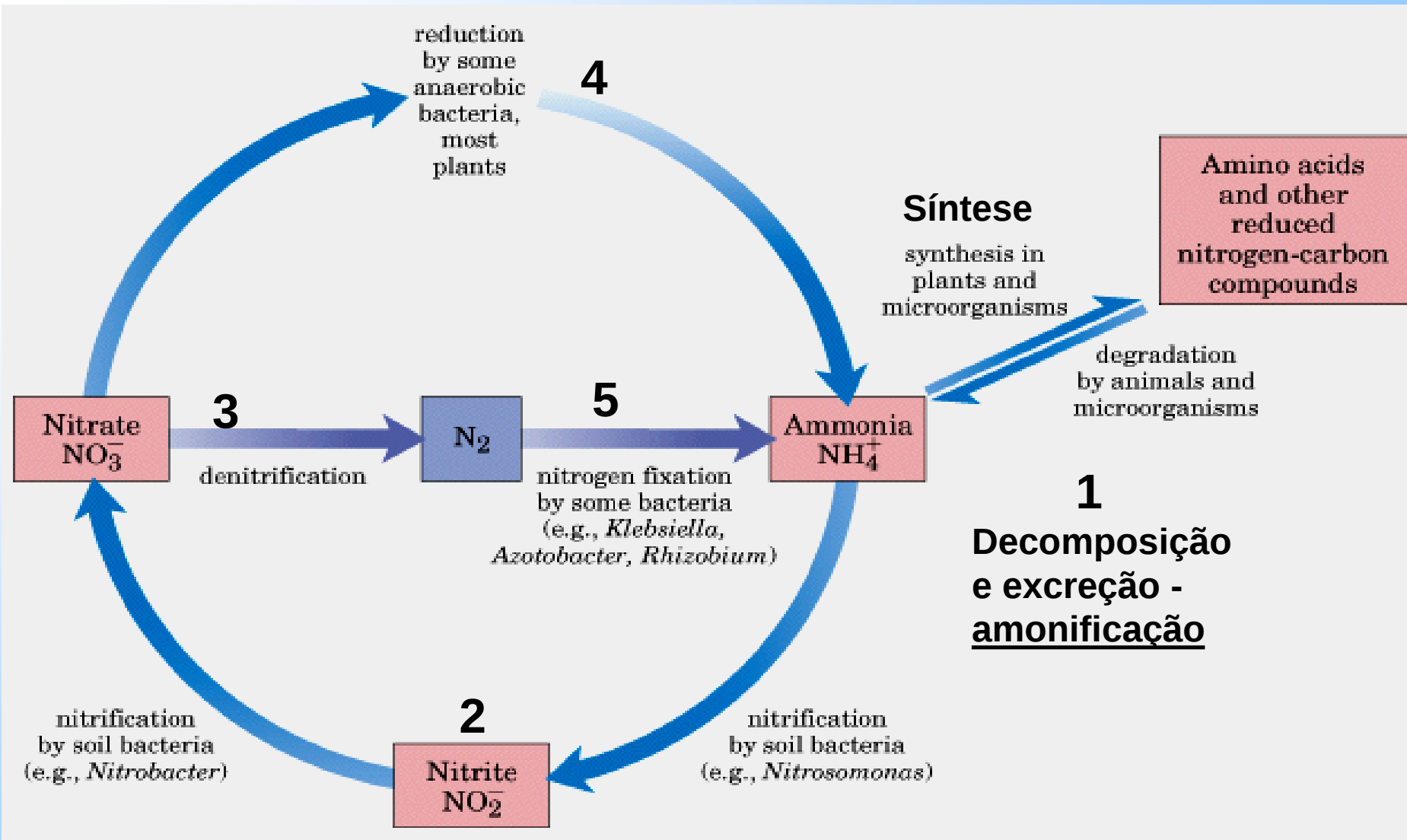
Ciclo da uréia

Essa é uma das formas mais importantes de reciclagem do nitrogênio



- A ureia liberada na natureza pode ser convertida em amônia voltando ao ciclo biogeoquímico do nitrogênio através da ação dos microrganismos decompositores

- A amônia pode ser utilizada diretamente pelos vegetais e microrganismos ou convertida a nitrato por microrganismos (principal via de obtenção de N pelos organismos produtores primários)



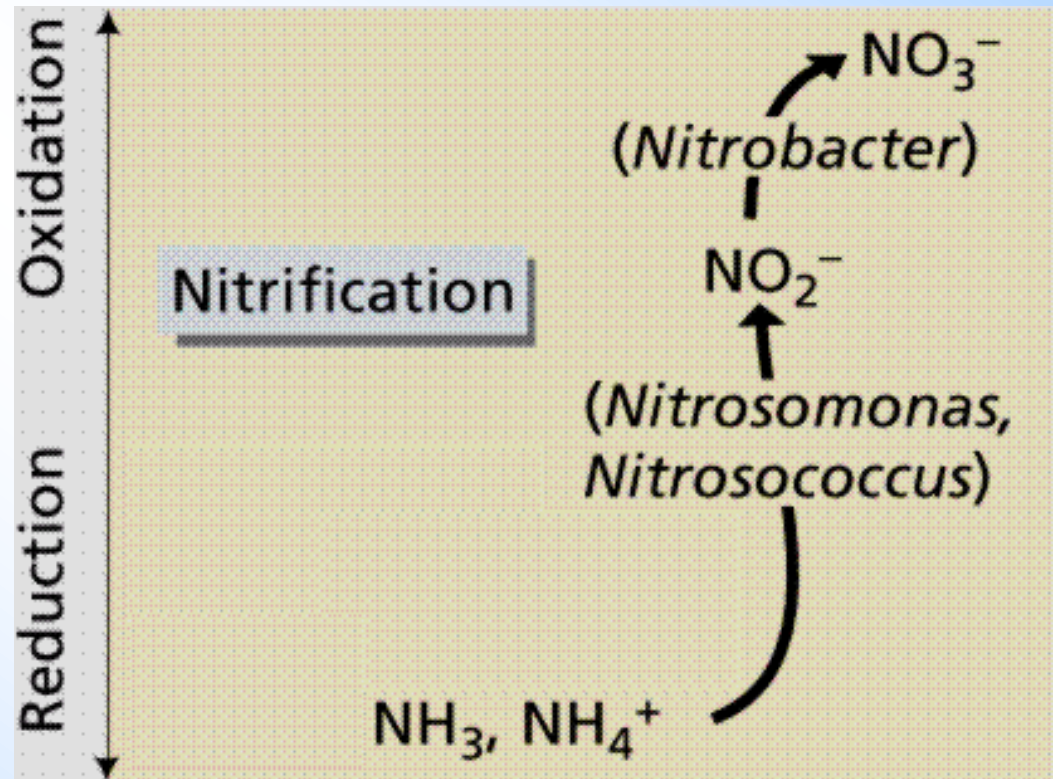
Como a amônia é transformada em nitrato?

2 - Oxidação bacteriana da amônia - Nitrificação

- A amônia apesar de poder ser empregada na síntese de produtos nitrogenados por todos os organismos vivos , no solo ela é quase que totalmente transformada em nitrato por oxidação.

- A transformação da amônia em nitrato passa por duas fases:
Amonia → Nitrito → Nitrato

- Composto reduzido passa a composto oxidado



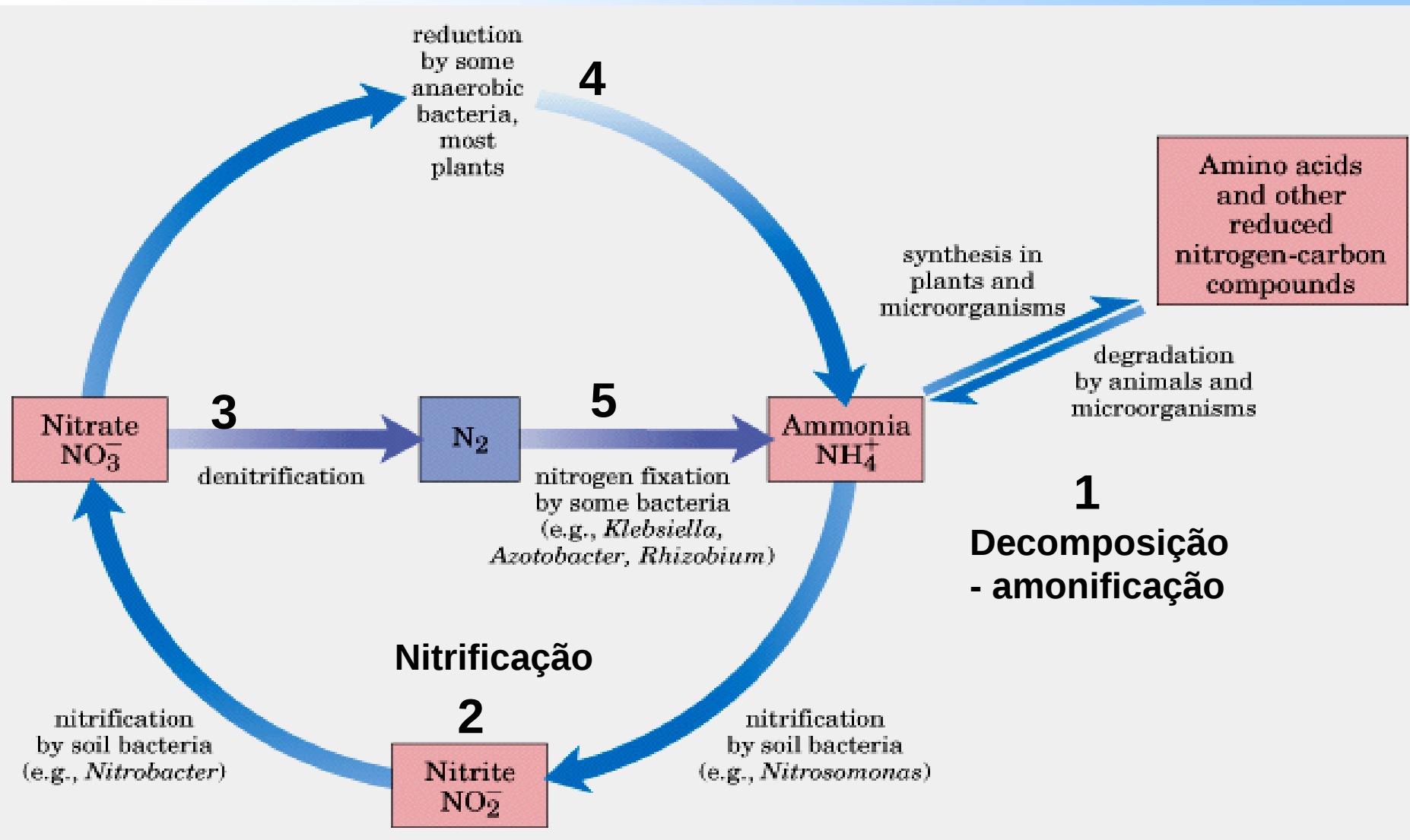
Quais organismos oxidam a amônia?

- Os microrganismos que transformam a amônia em nitrato podem viver no solo ou água e participam de apenas uma das fase de oxidação

Gênero	Conversão química	Habitat
<i>Nitrosomonas</i>	amônia→nitrito	Solo , água doce e marinha
<i>Nitrospira</i>	amônia→nitrito	Solo
<i>Nitrosococcus</i>	amônia→nitrito	Solo , água doce e marinha
<i>Nitrosolobus</i>	amônia→nitrito	Solo
<i>Nitrobacter</i>	nitrito→nitrato	Solo , água doce e marinha
<i>Nitrospina</i>	nitrito→nitrato	Água marinha
<i>Nitrococcus</i>	nitrito→nitrato	Água marinha

- Após a oxidação da amônia a nitrato os vegetais e alguns microrganismos incorporam tal composto e o utilizam para a síntese de moléculas nitrogenadas
- O nitrato formado nos processos de nitrificação podem ter dois destinos – absorção pelos vegetais ou voltar para a atmosfera como N_2 (desnitrificação)





•Dois caminhos pode seguir o nitrato formado durante a nitrificação

Perdas de N do ciclo

3 - Desnitrificação

$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2\text{O}$ (óxido nítrico) $\rightarrow \text{N}_2$ (atmosfera)

Processo importante na respiração **anaeróbia** de algumas bactérias.

Essas bactérias usam o NO_3^- como o doador de e^- liberando N_2 na atmosfera

Esse processo gera um potencial de próton transmembrana que é utilizado na síntese de ATP.

- Nesse processo ocorre perda de N para a atmosfera, mas ele é importante para a manutenção do balanço entre N biológico e N do ar.

- **Exemplos ou situações importantes da aplicação desses processos**

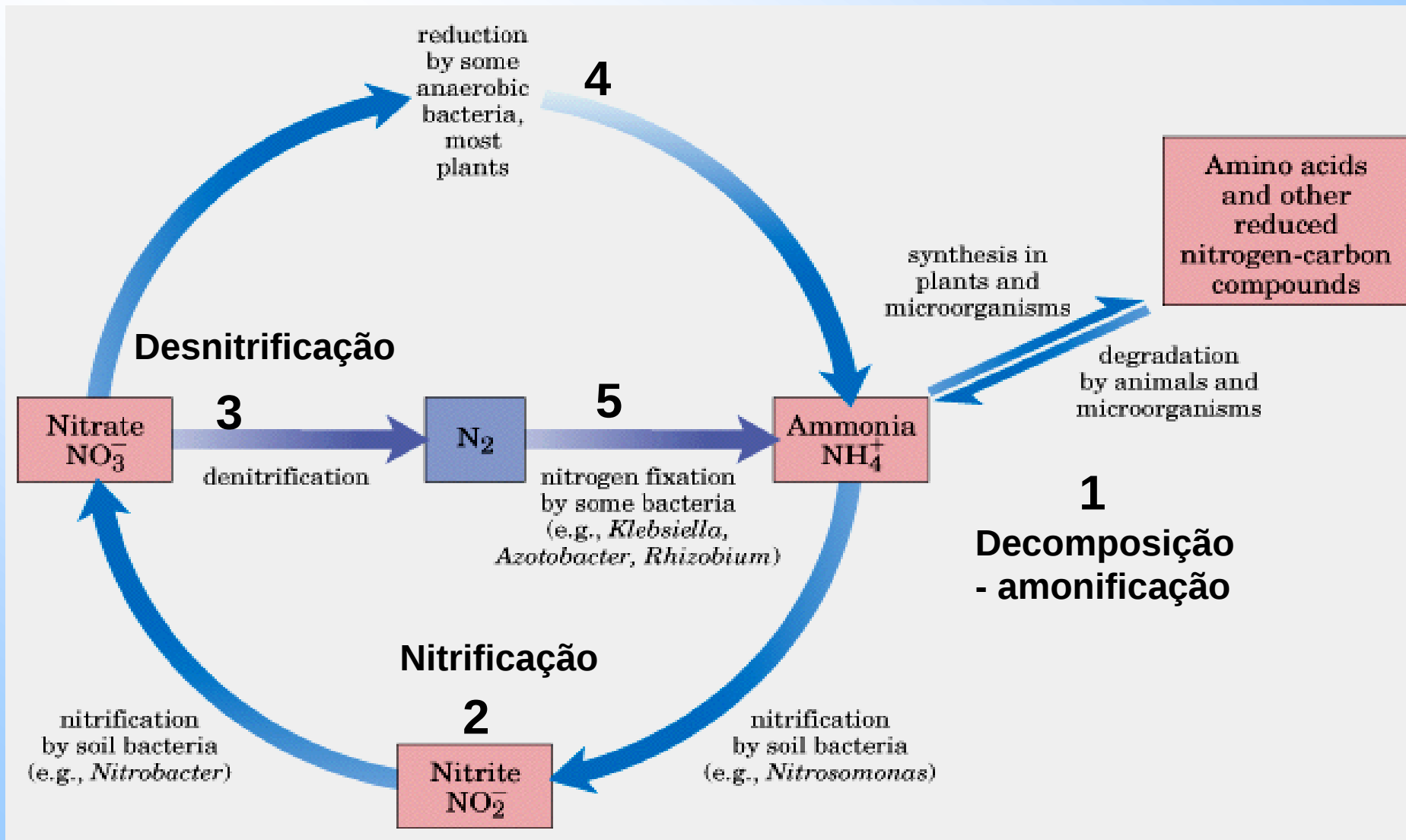
O Tratamento Biológico de lixo urbano é composto por duas etapas principais: processo de nitrificação/desnitrificação

O Tanque de Arejamento Prolongado (Tanque de Nitrificação) destina-se essencialmente a transformar a matéria orgânica degradada em amônio e nitrato.

No Tanque de Desnitrificação é realizada, como o nome indica, a desnitrificação, de modo a remover o azoto até níveis exigidos por lei com liberação de N_2 .



O nitrato é a principal forma de assimilação de N pelos vegetais.

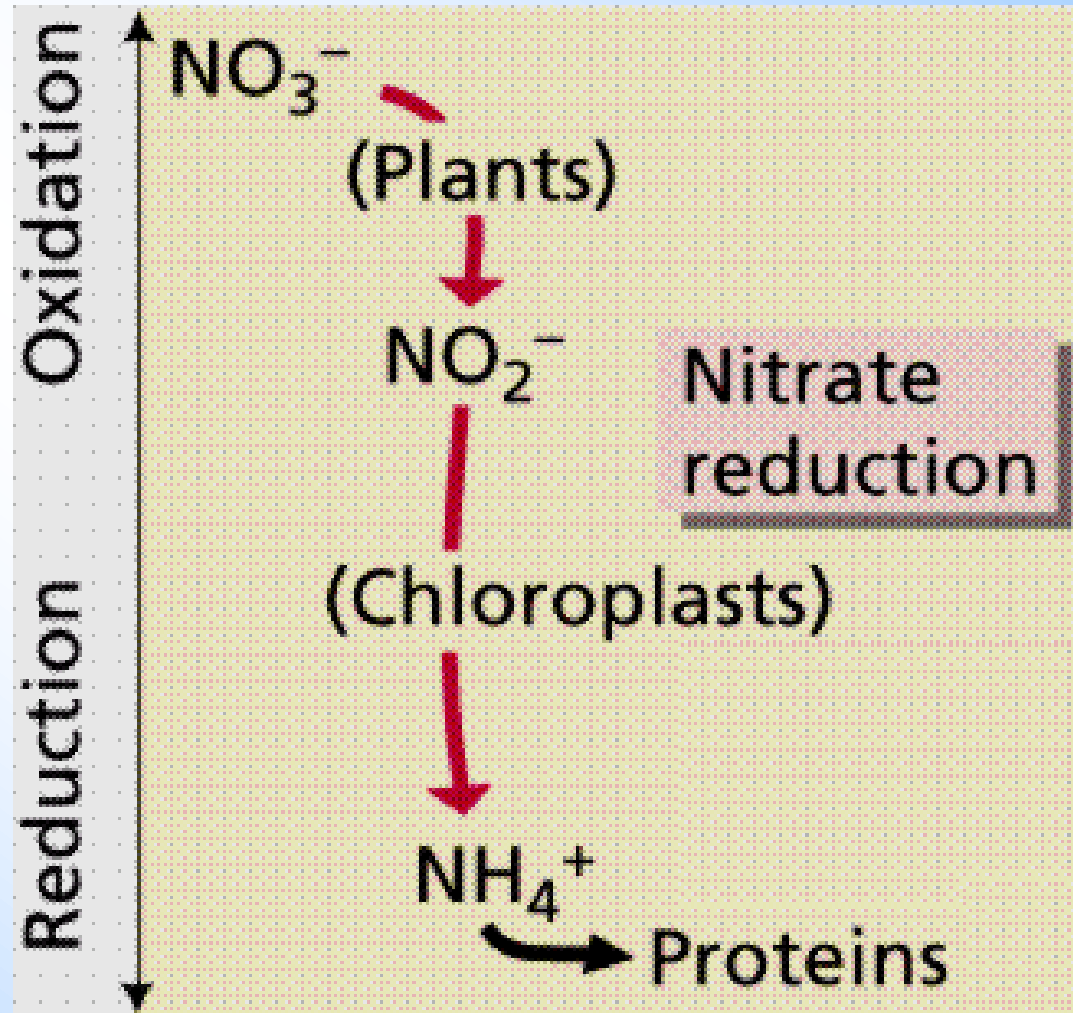


4 – Redução - Absorção e assimilação de nitrato pelos vegetais e microrganismos

- ❖ O nitrato obtido é reduzido a amônia e utilizado para a síntese de aminoácidos e outros compostos nitrogenados

➤ Nitrato e amônio são objeto de intensa competição entre microrganismos do solo e plantas

➤ Plantas desenvolveram um mecanismo especial para capturar esses elementos rapidamente do solo e estocá-lo.



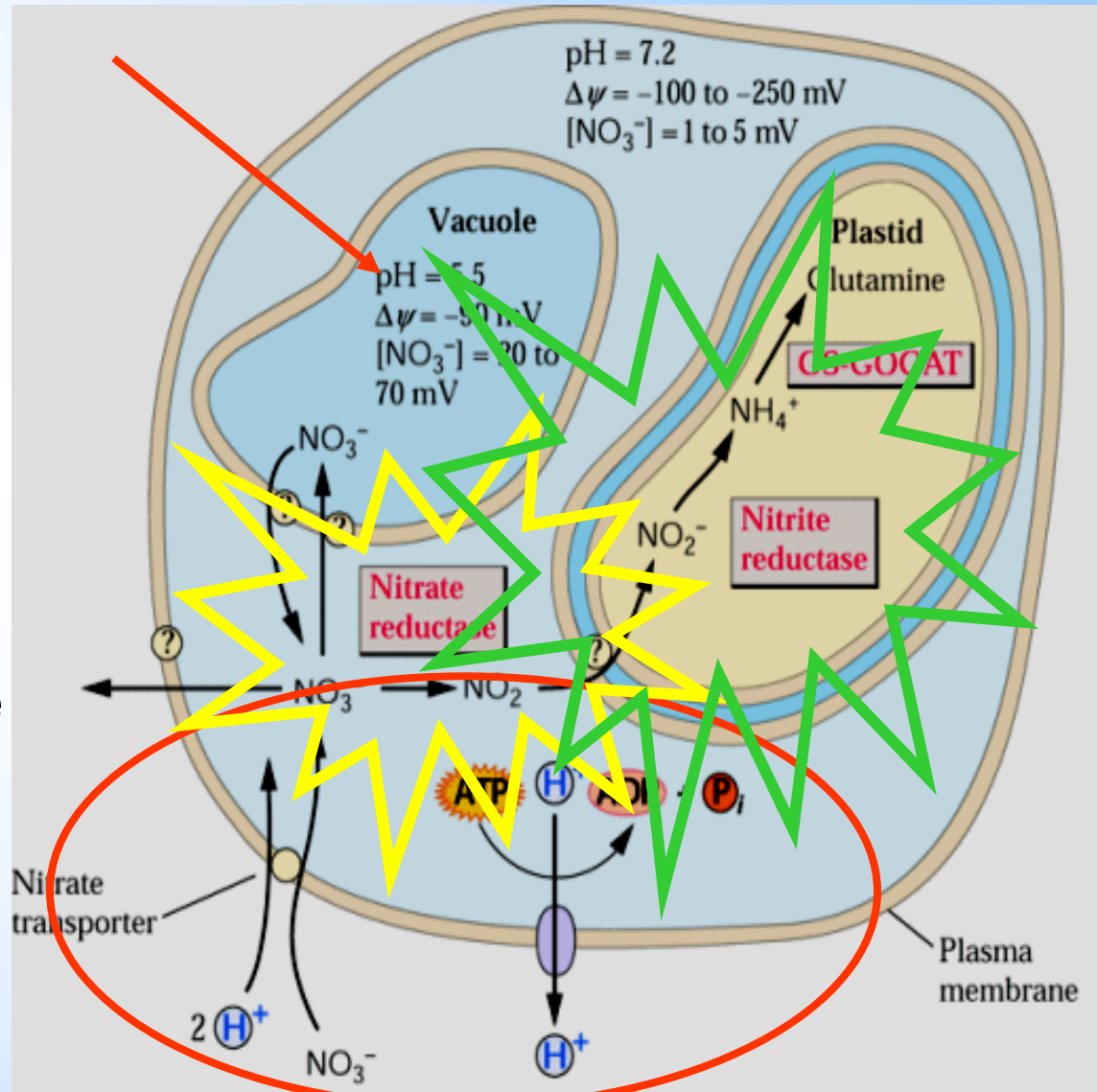
Entrada gasta energia -
manutenção do potencial
eletroquímico

Nitrato pode ser
armazenado em vacúolos

Isso aumenta a
capacidade de absorção
dele pela planta

Transformado em nitrito
pela enzima nitrato redutase

Nitrito é altamente reativo
e deve ser rapidamente
retirado do citoplasma

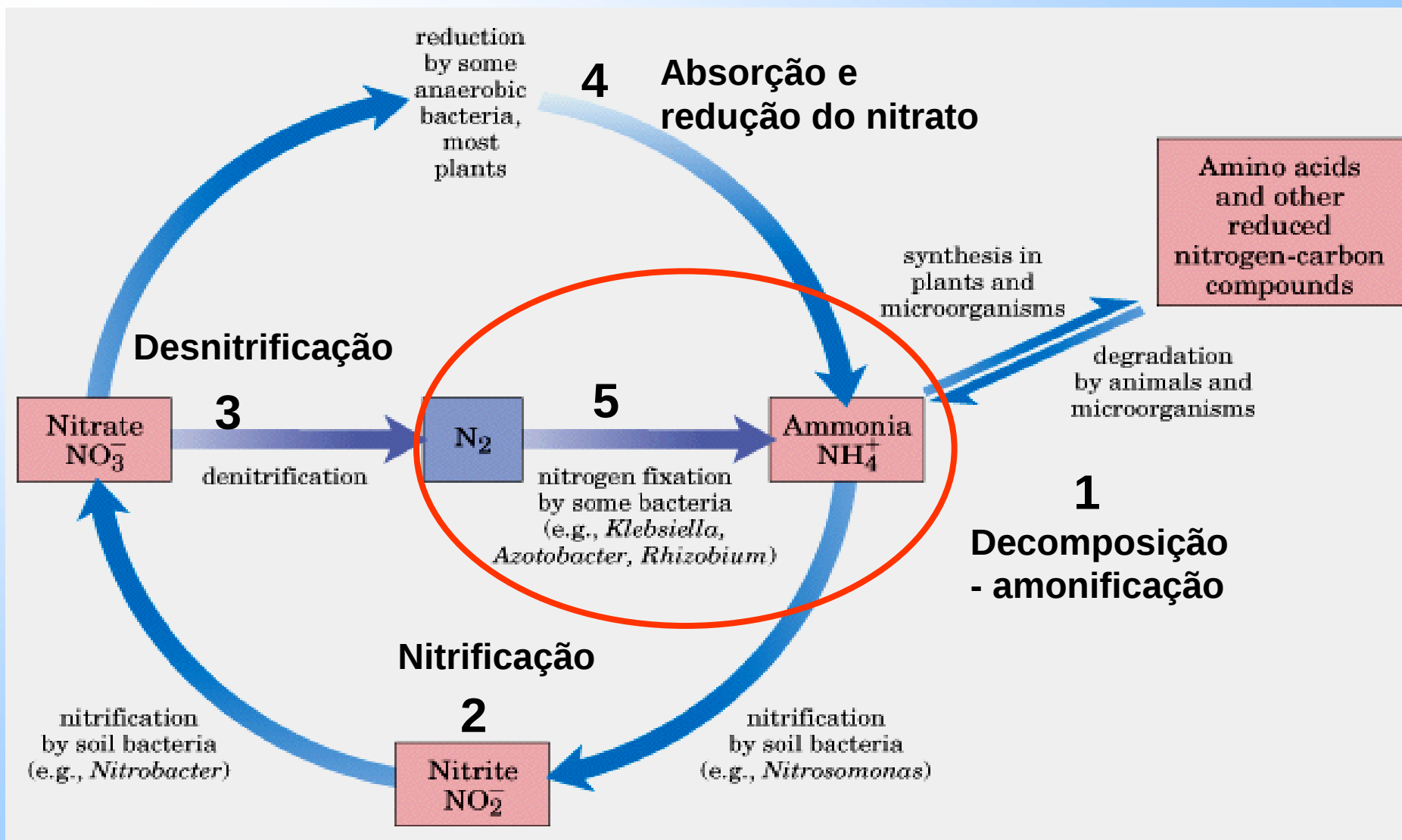


Entra nos plastídeos e é transformado em amônio pela nitrito redutase

✗ Nitrato pode ser acumulado em grandes concentrações nos vegetais sem causar grandes problemas, mas se um animal ingerir plantas com altos níveis de nitrato pode sofrer uma intoxicação – combinação com a hemoglobina impedindo-a de se ligar ao oxigênio.

✗ Alguns países impõe limites ao teores de nitrato dos vegetais

✗ Tipo de cultivo e ou uso de diferentes formas de adubação nitrogenada influencia no teor de nitrato dos alimentos.



5 - Fixação Biológica do Nitrogênio

- + Processo mais importante de entrada de N no seu ciclo biogeoquímico (90%)**
- + Certas bactérias formam amônio a partir do nitrogênio atmosférico**
- + Bactérias de vida livre ou bactérias simbióticas**
- + Hospedeiro fornece metabólitos para bactéria e esta fornece nitrogênio orgânico para o hospedeiro**
- + Enzimas responsáveis – Complexo Nitrogenase**

Exemplos de organismos que podem realizar a fixação do nitrogênio

Fixação simbiote do nitrogênio

Planta hospedeira

Legumes: leguminosas e *Parasponia*

Actinorrízicas: *Alnus* (árvore), *Ceanothus* (arbusto),
Casuarina (árvore), *Datisca* (arbusto)

Gunnera

Azolla (pteridófita aquática)

Cana-de-açúcar

Fixação simbiote de N

Azorhizobium, *Bradyrhizobium*, *Photorhizobium*,
Rhizobium, *Sinorhizobium*

Frankia

Nostoc

Anabaena

Acetobacter

Nódulos raízes

Apoplasto do caule

Fixadores de nitrogênio de vida livre

Tipo

Cianobactérias (algas azuis-esverdeadas)

Outras bactérias

Aeróbicas

Facultativas

Anaeróbicas

Não-fotossintetizantes

Fotossintetizantes

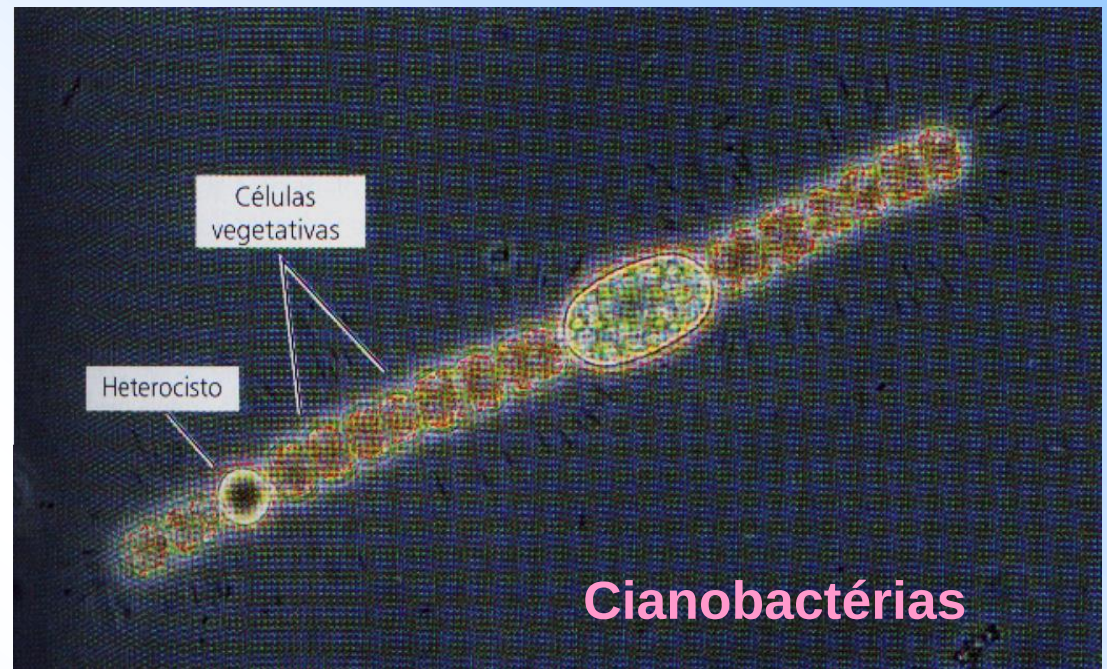
Gêneros fixadores de N

Anabaena, *Calothrix*, *Nostoc*

Azospirillum, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Derxia*
Bacillus *Klebsiella*

Clostridium, *Methanococcus* (Archaeobacteria)
Chromatium, *Rhodospirillum*

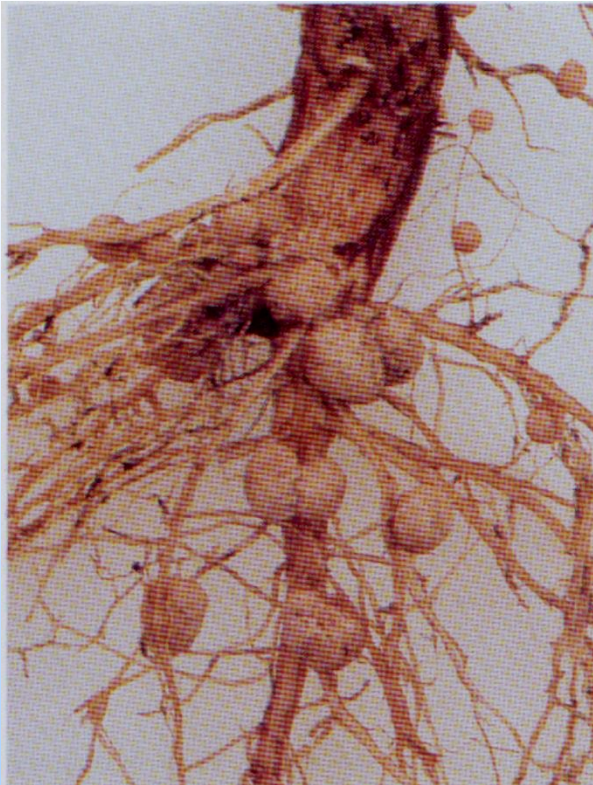
Vida livre



- @ Importante em cultura do arroz e oceanos pois podem fixar o N em condições de anaerobiose
- @ Fixam N em campos alagados e morrem quando eles secam liberando o N fixado
- @ Nitrogenase está localizada dentro de heterocistos e protegida por camadas de glicolipídeos que funcionam como uma barreira à difusão de O_2

Simbiose

Nódulos nas raízes de leguminosas



- ❑ Nódulos - nicho ecológico da simbiose e onde ocorre a FBN
- ❑ Nódulos conectados à planta via tecidos vasculares
- ❑ Leguminosas - importância na produção de alimentos e no equilíbrio do nitrogênio nos ecossistemas naturais. Fornecem 24% do total de proteínas indispensáveis a eles
- ❑ Associação rizóbio/leguminosa - 35 milhões de toneladas de N/ano
- ❑ Especificidade bactéria X hospedeiro

Soja – *Bardyrhizobium japonicum*
e *Bradyrhizobium elkani*



Feijão – *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli*, ou *Rhizobium tropicii*



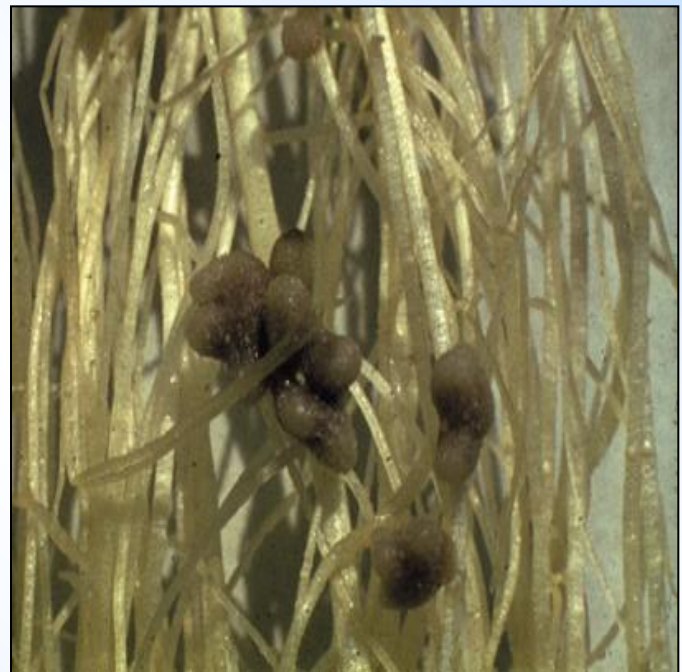
Alfafa – *Sinorhizobium meliloti*



Trevo – *Rhizobium leguminosarum* bv *trifolii*



Ervilha – *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae*



Sesbania - *Azorhizobium caulinodans* (nódulos no caule)



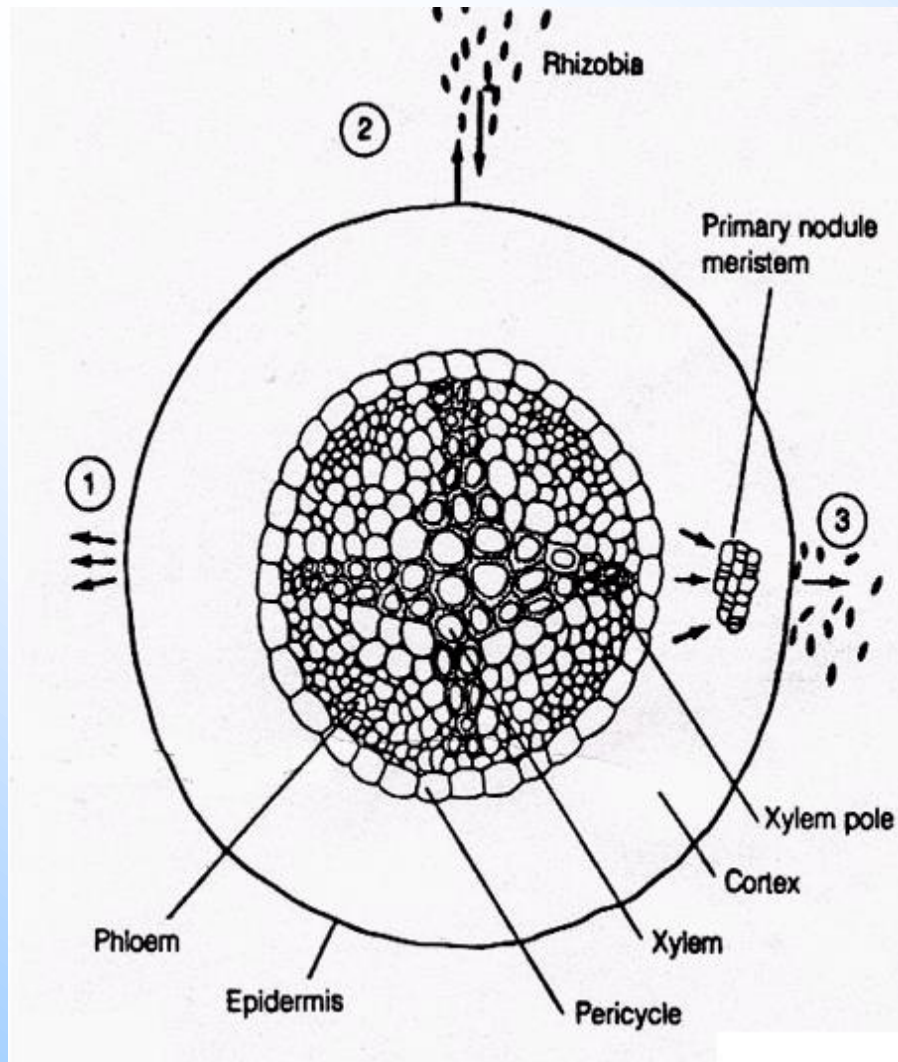
Como ocorre a fixação simbiótica do Nitrogênio?

Plantas e rizóbios vivem normalmente em condições adequadas sem necessidade de simbiose

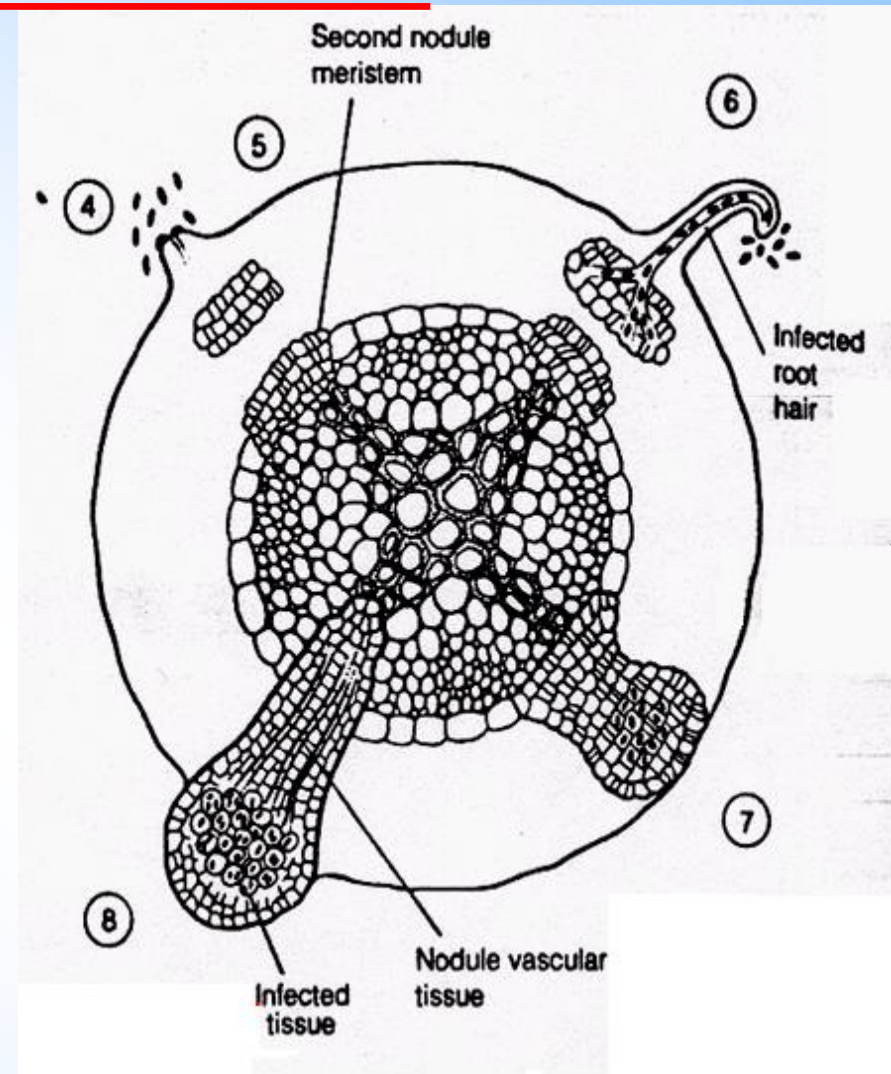
Deficiência de nitrogênio solo – inicia-se processo de simbiose

Simbiose requer troca de sinais entre os simbionte e formação dos nódulos

Formação dos nódulos em raízes



- Quimiotaxia e aderência das bactérias à raiz



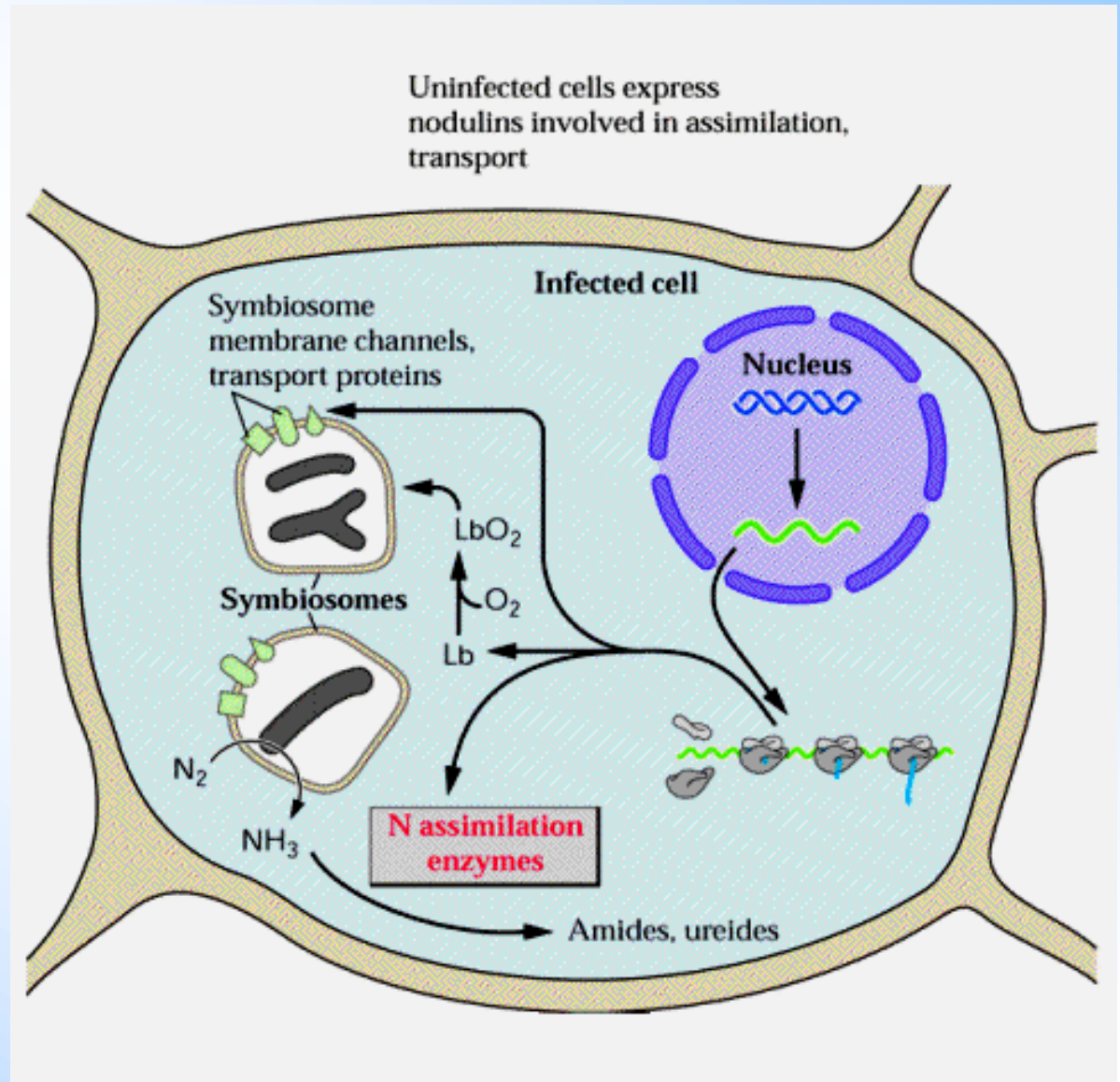
- Multiplicação das células corticais e formação do cordão de infecção

- Liberação das bactérias nas células, multiplicação e diferenciação em bacteroide

Desenvolvimento da nitrogenase, leghemoglobina e enzimas relacionadas, com a fixação do N_2 .

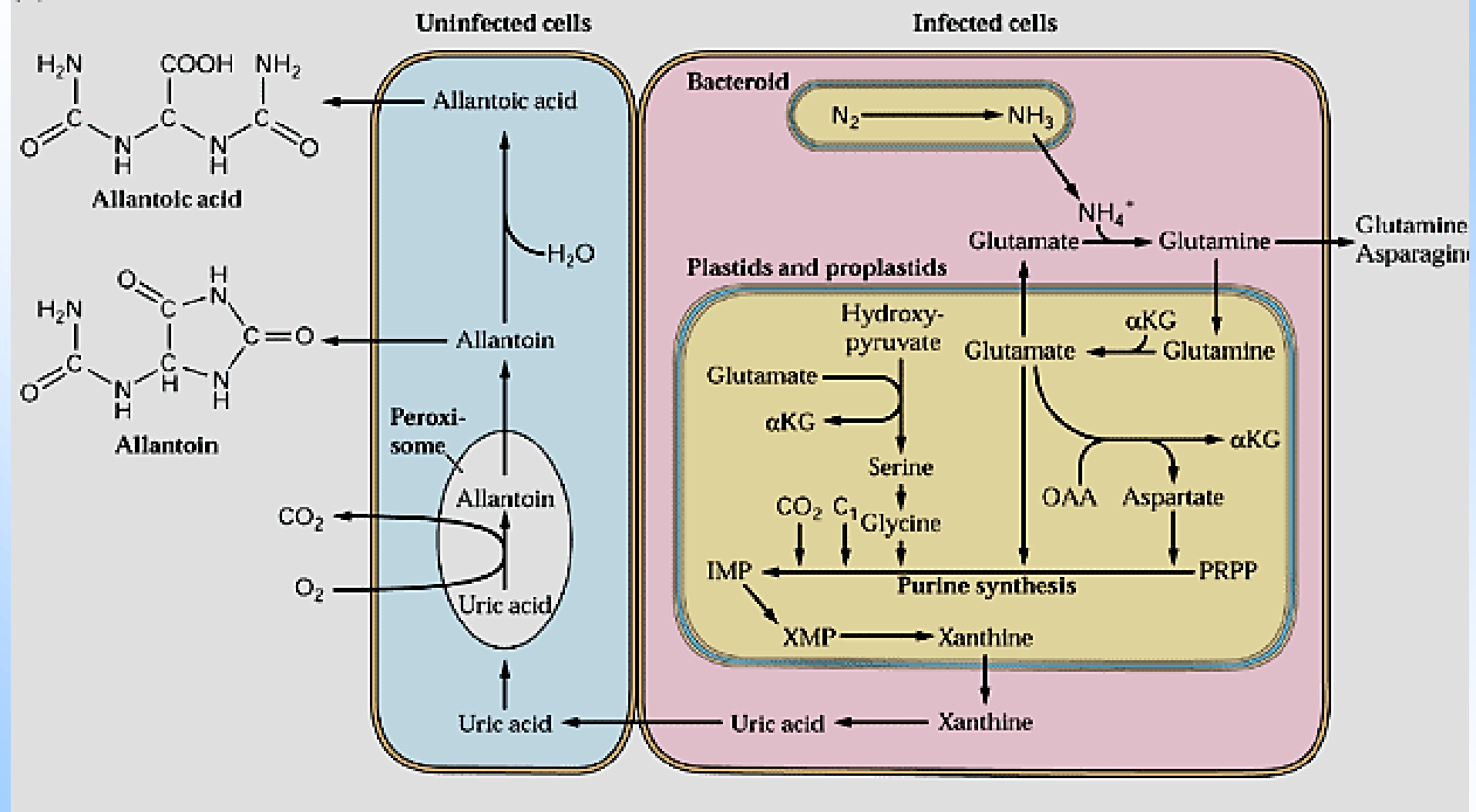
Redução do nitrogênio atmosférico até amônio pela enzima nitrogenase.

Amônia é convertida em aminoácido (glutamina ou asparagina) e ureídeos.



Incorporação pela planta, da amônia produzida pelos bacteróides

Glutamina/Asparagina e ureídeos



Leguminosas tropicais (soja) usam ureídeos como forma de transporte de N

Bioquímica da Fixação Biológica do Nitrogênio



**Duas enzimas são importantes e constituem o
complexo da nitrogenase**

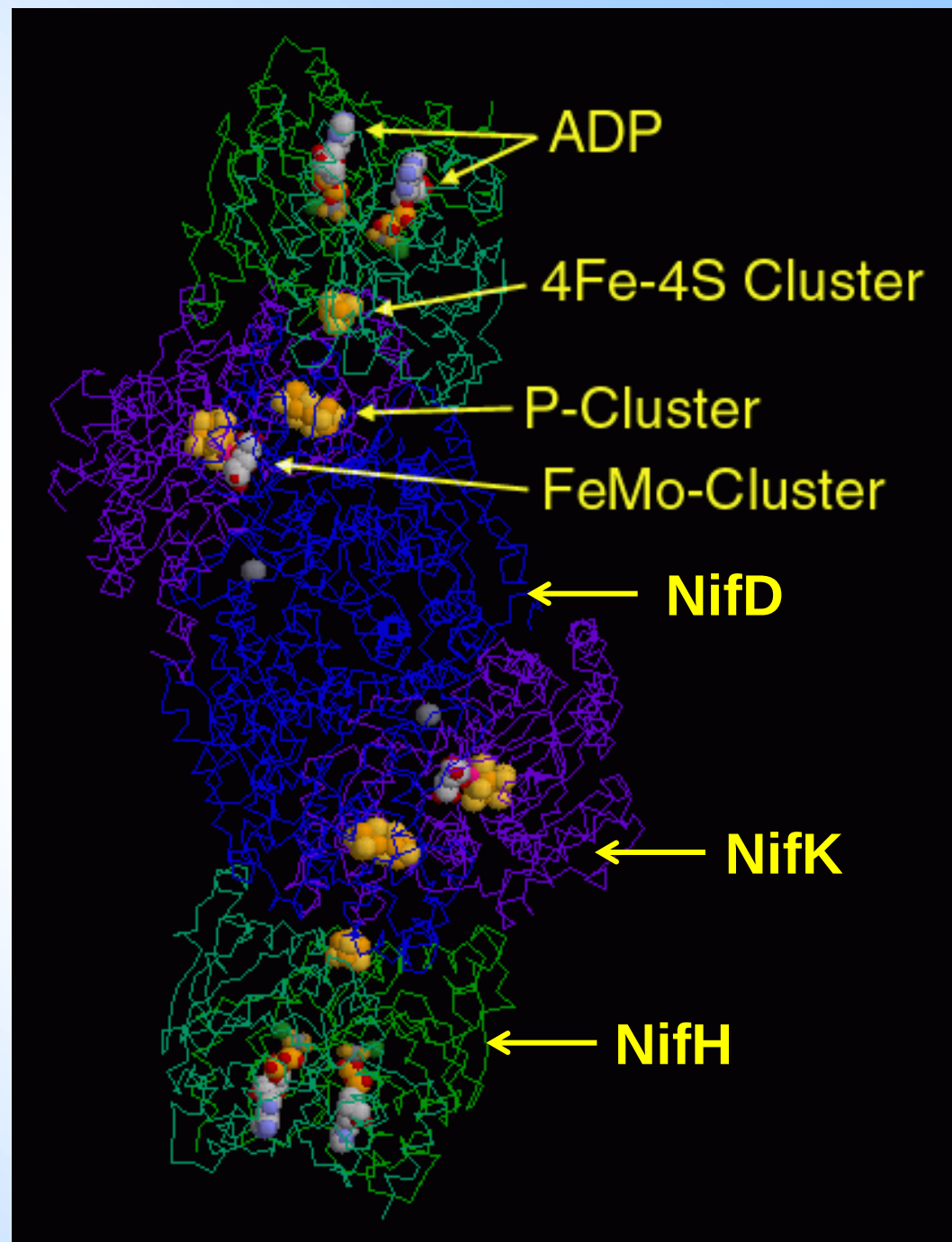
(Dinitrogenase redutase e dinitrogenase)

Dinitrogenase reductase

- Homodímero (2 NifH)
- PM 60.000
- 1 complexo 4Fe4S (Centro redoxi) – transfere 1 e⁻
- 2 Sítio de ligação para ATP

Dinitrogenase

- Heterotetrâmero (2 NifK e 2 NifD)
- PM 240.000
- Grupos prostéticos
 - 2 sítio P (8Fe7S)
 - 2 FeMoCo (1Mo, 7Fe, 9S e homocitrato)



Como ocorre a fixação do nitrogênio pelo Complexo Nitrogenase?

- Doador de elétrons é o piruvato (NADH)
- Passam para a dinitrogenase redutase pela ferredoxina (um elétron de cada vez)
- Chegam à dinitrogenase que deve receber pelo 8 elétrons para reduzir um N_2 a amônio.
- Dois elétrons a mais são usados para reduzir $2H^+$ em H_2 em um processo que acompanha a fixação do Nitrogênio

