

# CICLO DO NITROGÊNIO

E

# FIXAÇÃO BIOLÓGICA



**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

Para o N ser usado ele precisa ser transformado em elementos assimiláveis pelos vegetais ou moléculas orgânicas que podem ser recicladas pelos vegetais

**Como o N atmosférico entra no ciclo biológico?**

## ➤ Reações Químicas – Relâmpagos – processos naturais

### 8% N fixado do solo

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



↓  
Atacam  $N_2$

↓  
Ácido nítrico ( $HNO_3$ )  
precipita com a chuva

## ➤ Reações Químicas – processos industriais

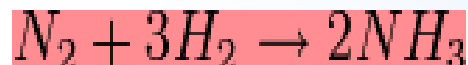
Indústrias de produtos nitrogenados –  $80 \times 10^6$  ton/ano  
de fertilizantes nitrogenados

(Brasil - consumo 2012, 29 milhões de ton)



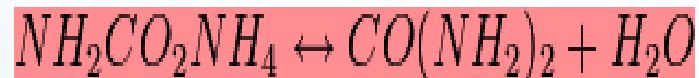
### Processo Haber-Bosch (Amônia)

Elevada temperatura e pressão



### Processo de Bosch-Meiser (Ureia)

(formação carbamato e desidratação)

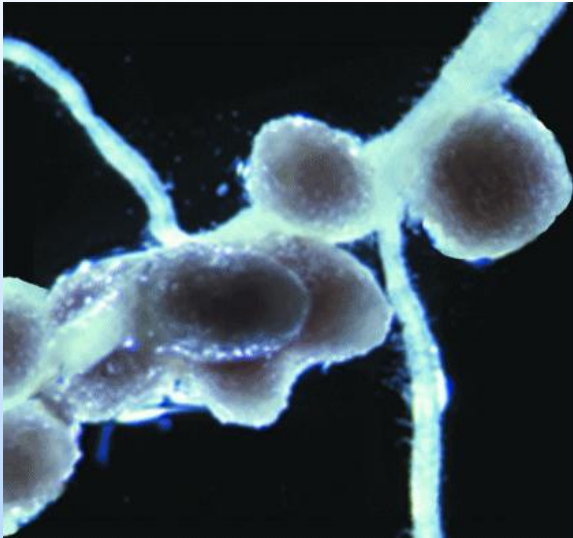


- Alto consumo de energia
- Fonte H é o gás natural ( $CH_4$ )
- Perdas intensas
- Poluição

## ➤ Processos Biológicos - Fixação biológica

**90% do N fixado**

**Assimilação  $N_2 \rightarrow NH_4^+$**



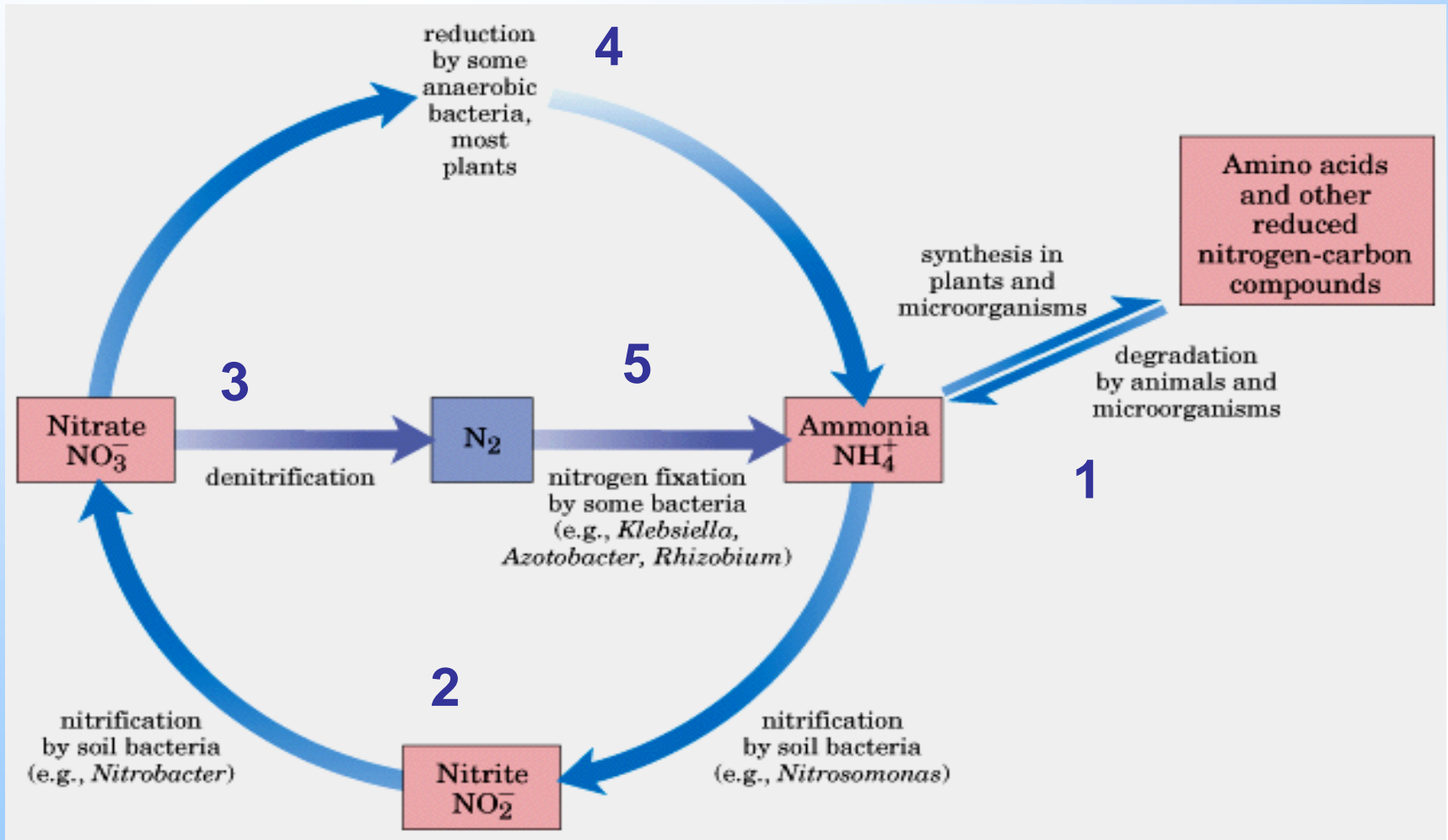
**@ Realizada por microrganismos livres ou independentes, que vivem no solo ou na água**

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

**Ocorre gasto de ATP**

# Na natureza existem 5 processos importantes de transformação e reciclagem de Nitrogênio

## Ciclo do nitrogênio





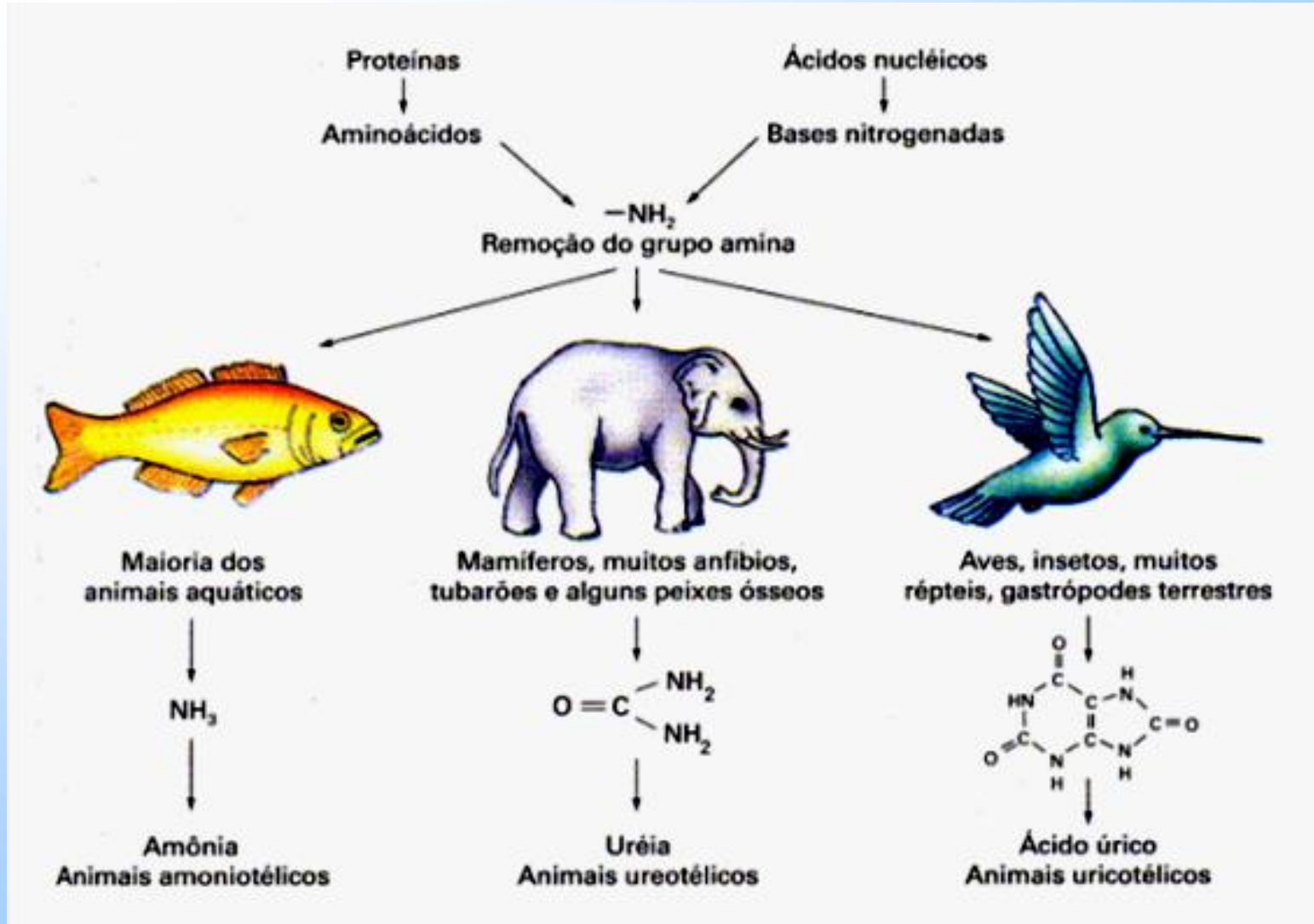
# 1 - Decomposição e excreção

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

Liberação de amônio – Amonificação

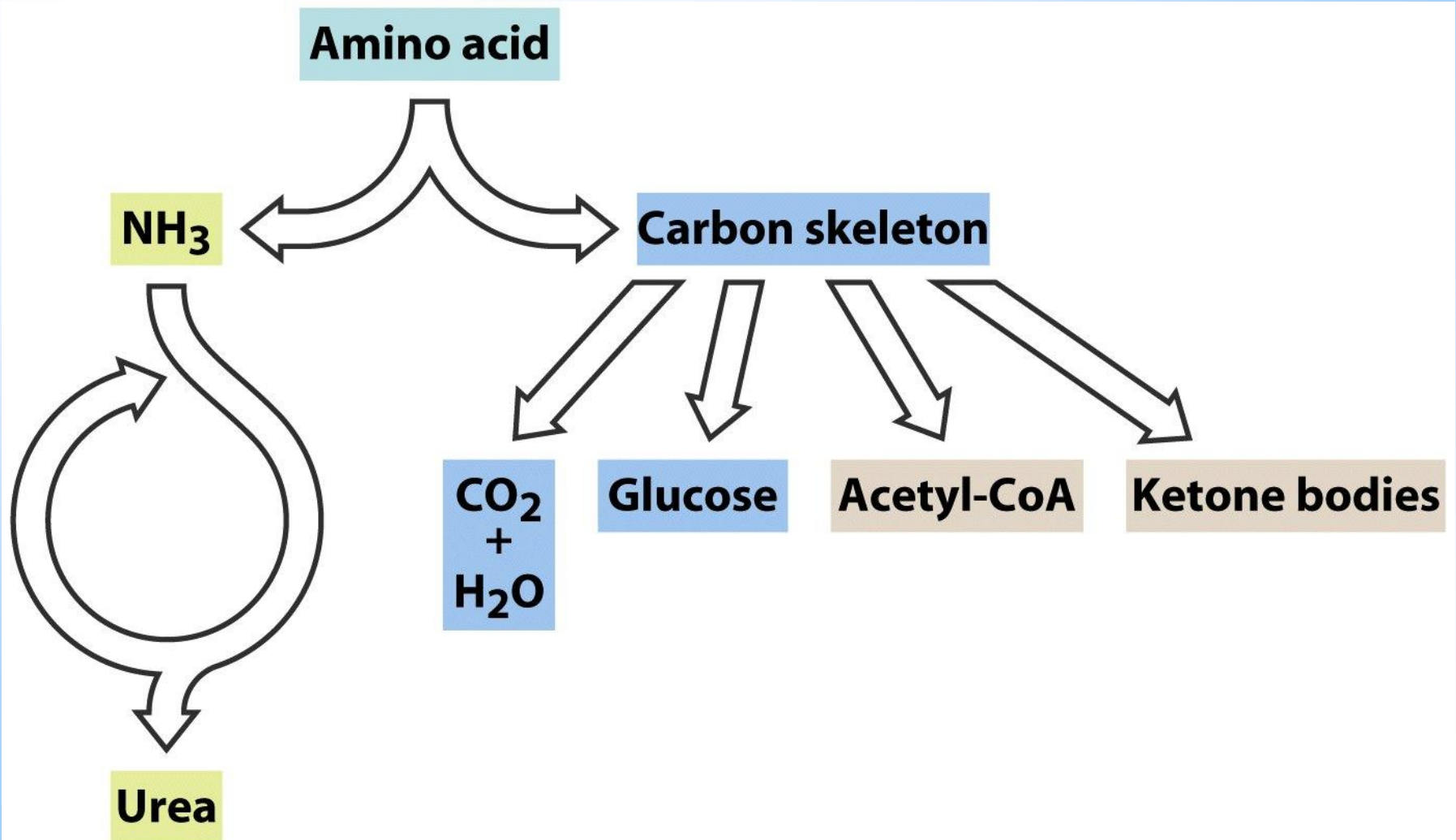


- A maioria dos animais terrestres eliminam o excesso de N ingerido na dieta através de reações bioquímicas diferentes



## Ciclo da uréia

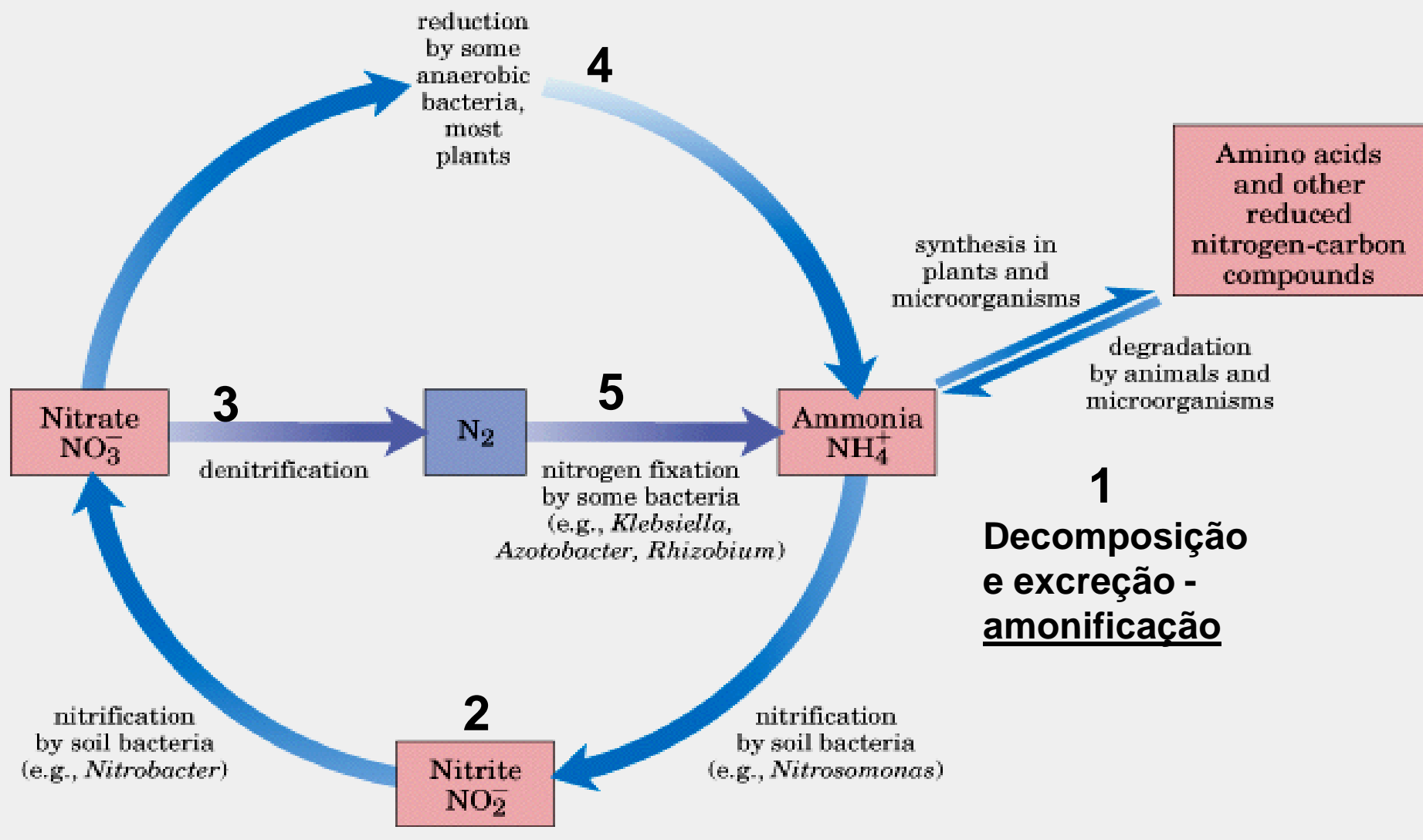
Essa é uma das formas mais importantes de reciclagem do nitrogênio



- A ureia liberada na natureza pode ser convertida em amônia 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?**



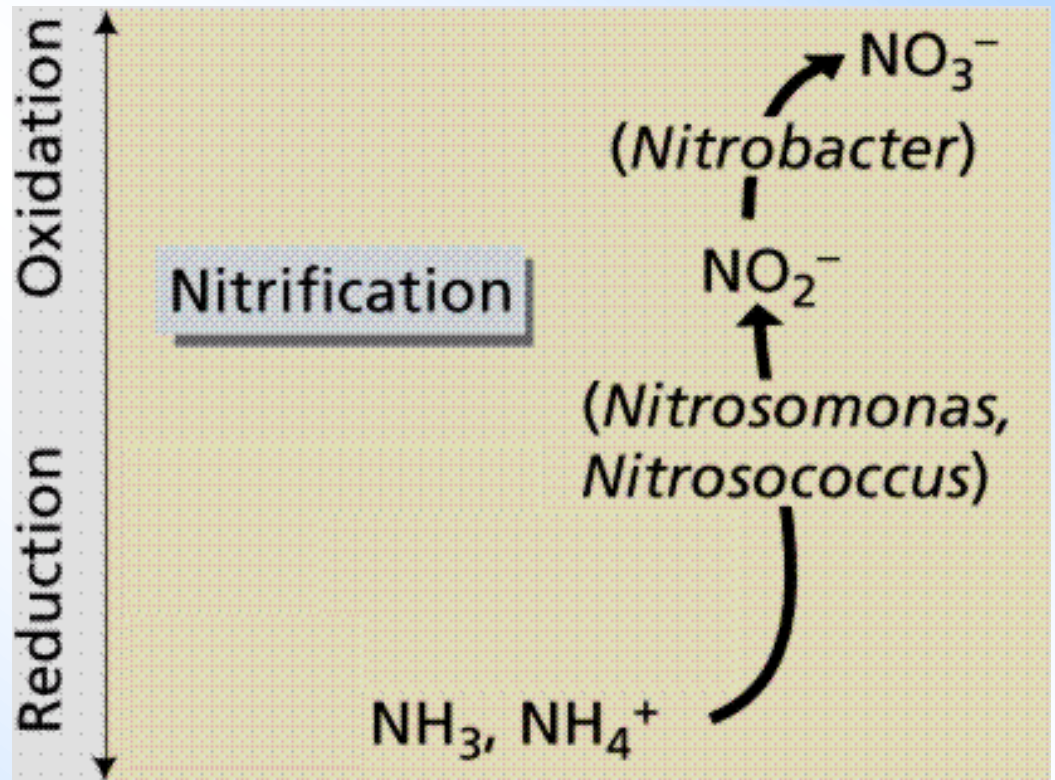


**2 - Oxidação bacteriana da amônia - Nitrificação**

- 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

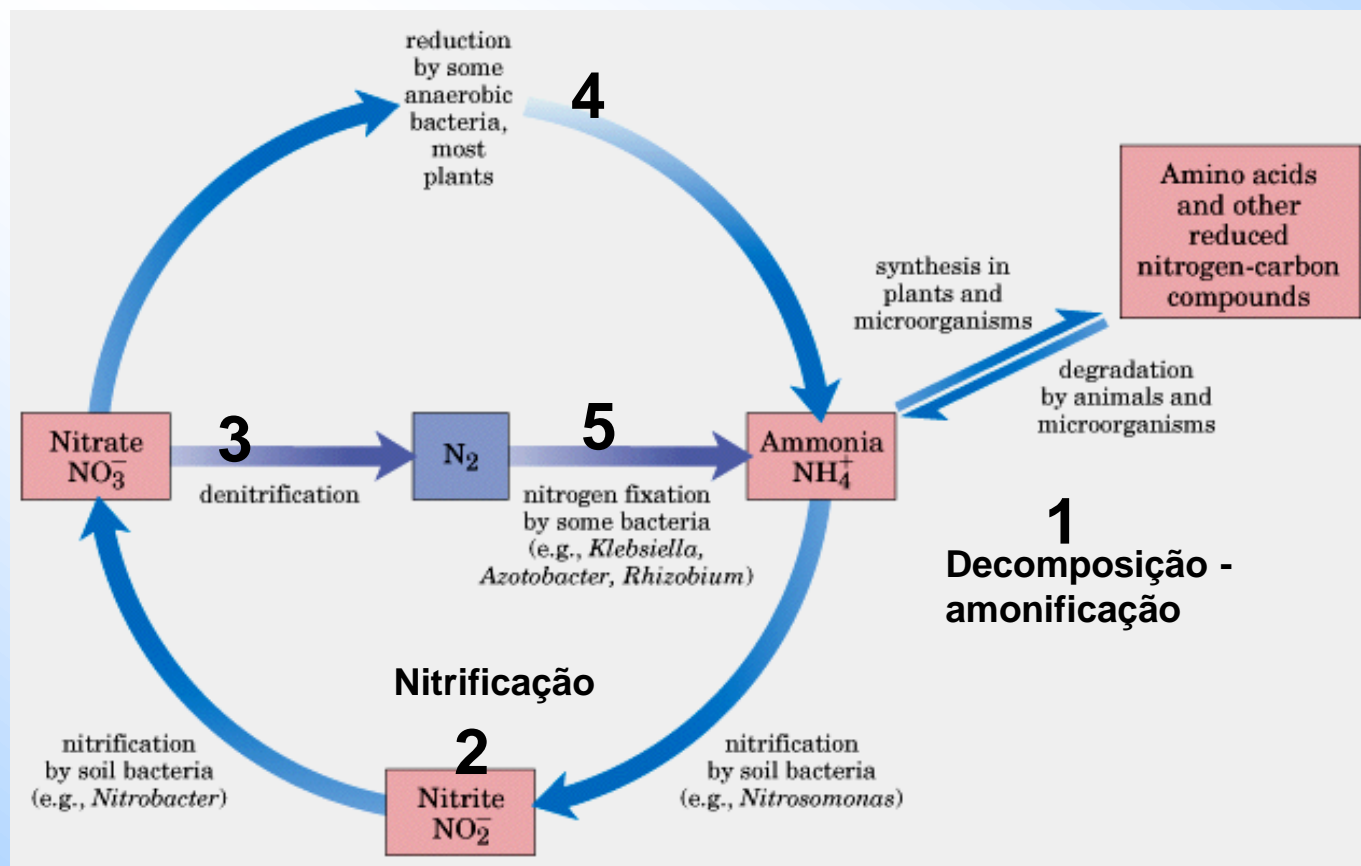


Quais organismos oxidam a amônia?

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

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

- Após a oxidação da amônia a nitrato os vegetais e alguns microrganismos incorporam tal composto e o utilizam, após redução, para a síntese de moléculas nitrogenadas
- O nitrato formado nos processos de nitrificação podem voltar para a atmosfera como  $N_2$  (desnitrificação)





## Perdas de N do ciclo

### 3 - Desnitrificação

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

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

Essas bactérias usam o  $\text{NO}_3^-$  como o doador de  $e^-$  liberando  $\text{N}_2$  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**

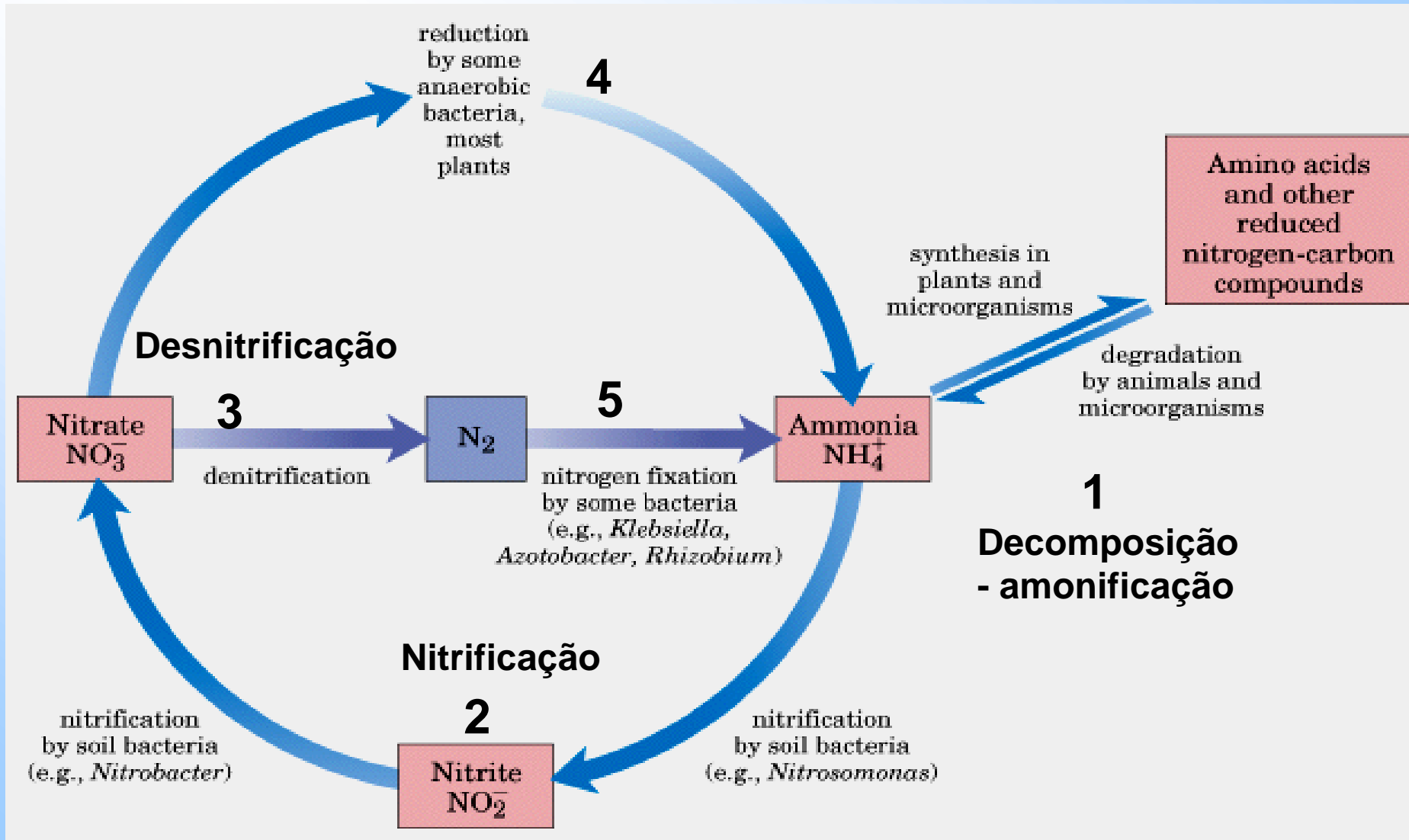
**O Tratamento Biológico de lixo urbano é composto por duas etapas principais: processo de nitrificação/desnitrificação**

**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.

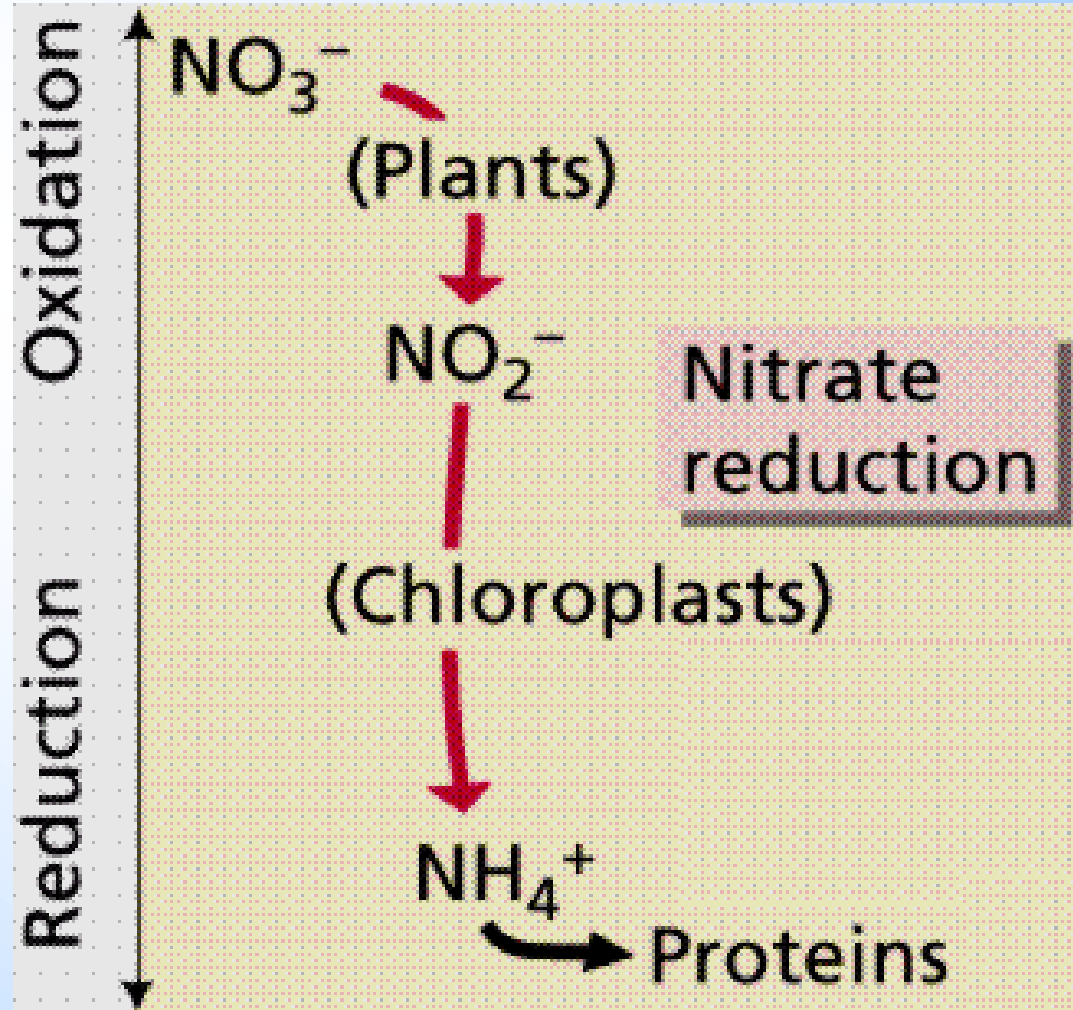


## 4 – Redução - Absorção e assimilação de nitrato pelos vegetais e microrganismos

- ❖ 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.



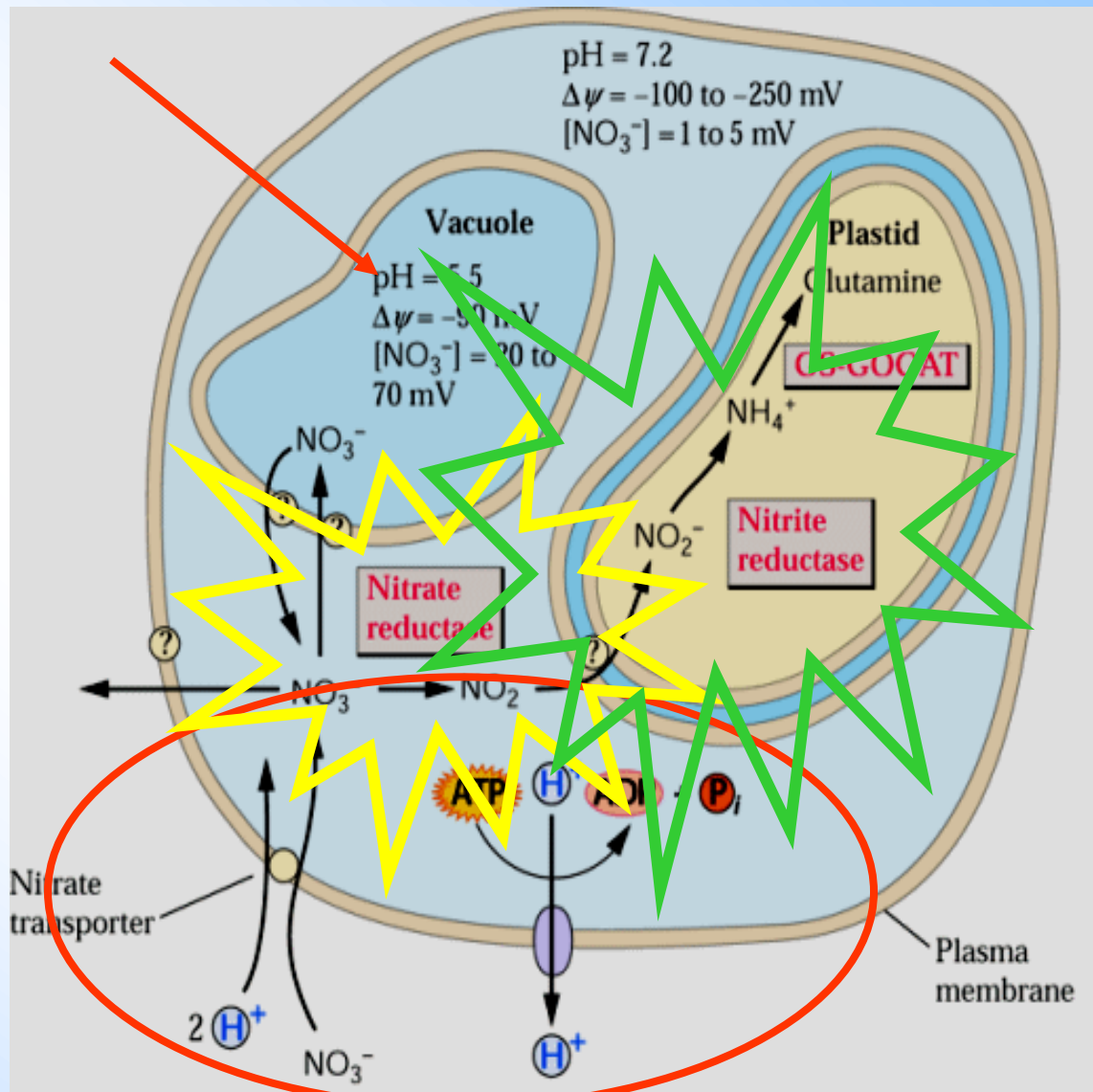
**Entrada gasta energia -  
manutenção do potencial  
eletroquímico**

**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**

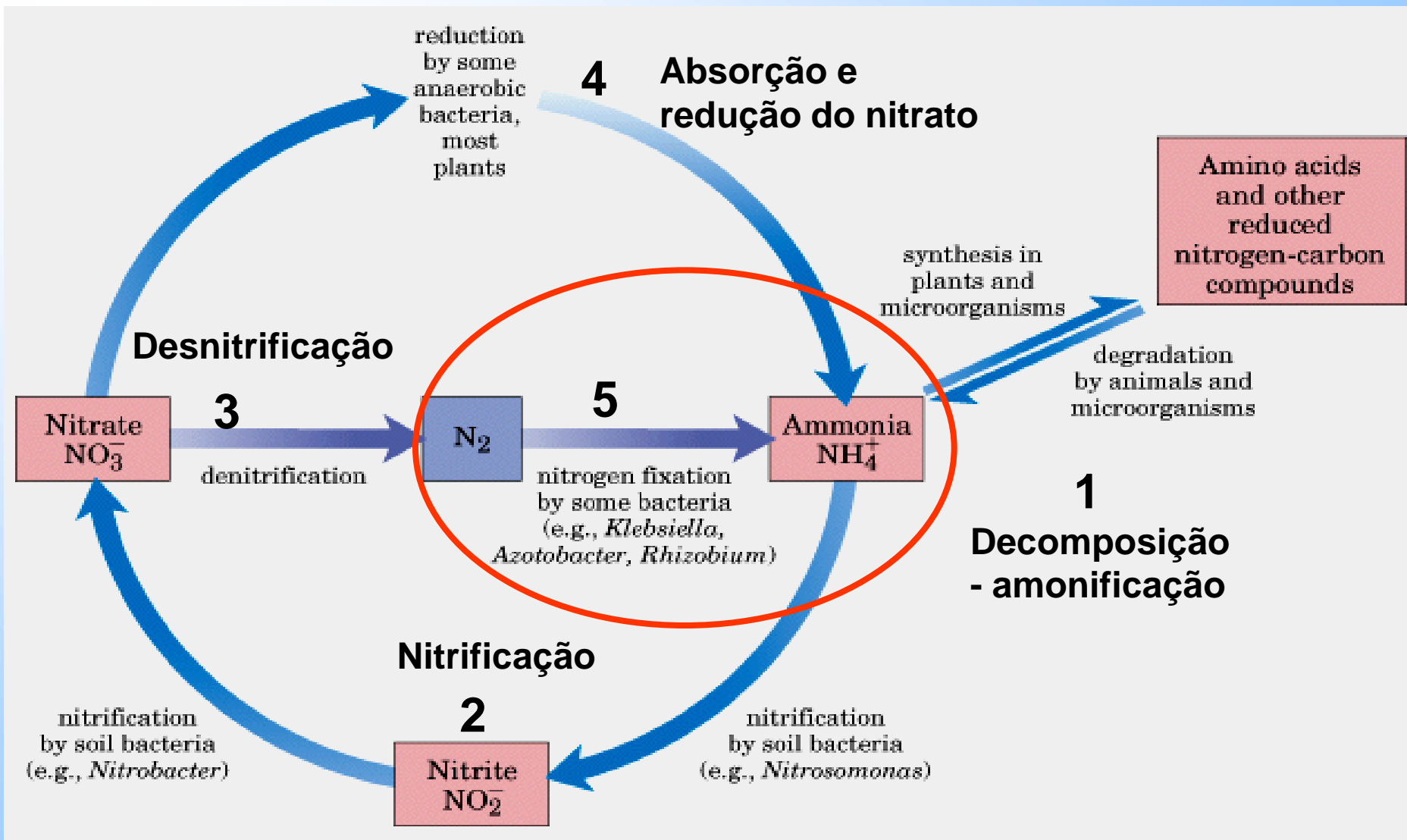


**Entra nos plastídeos e é transformado em amônio pela nitrito redutase**

**✘ 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*

Actinorrizicas: *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

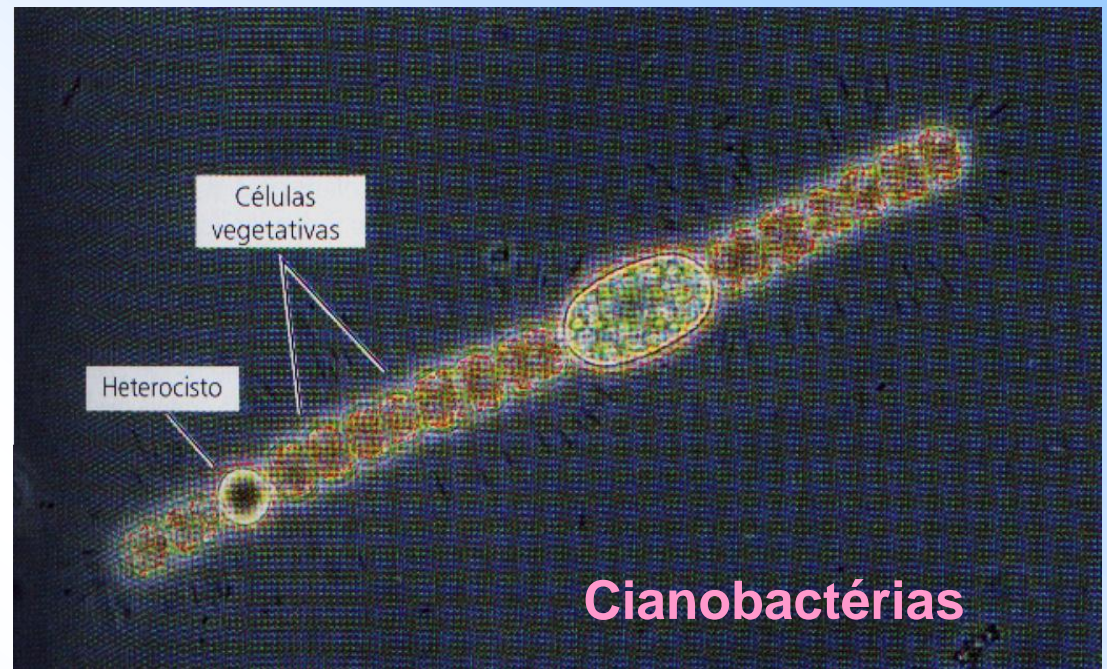
#### Gêneros fixadores de N

*Anabaena*, *Calothrix*, *Nostoc*

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

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

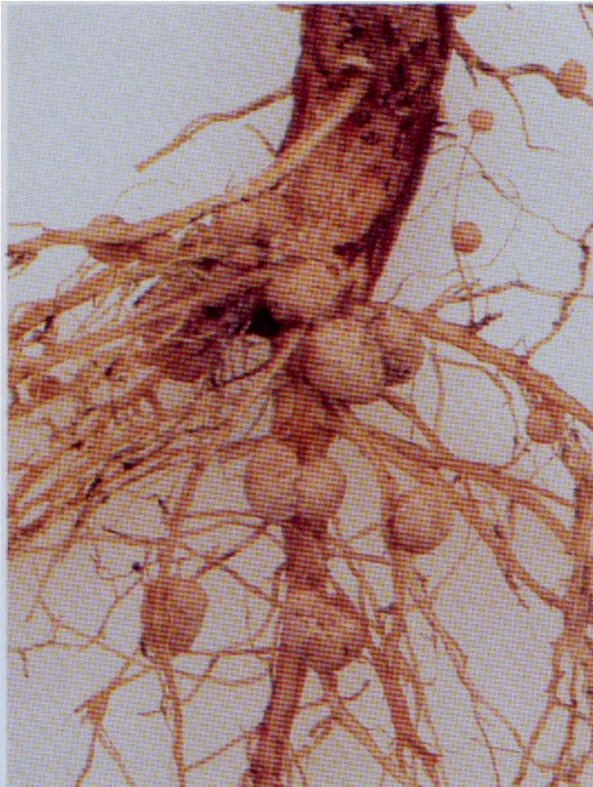
## Vida livre



- @ 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*

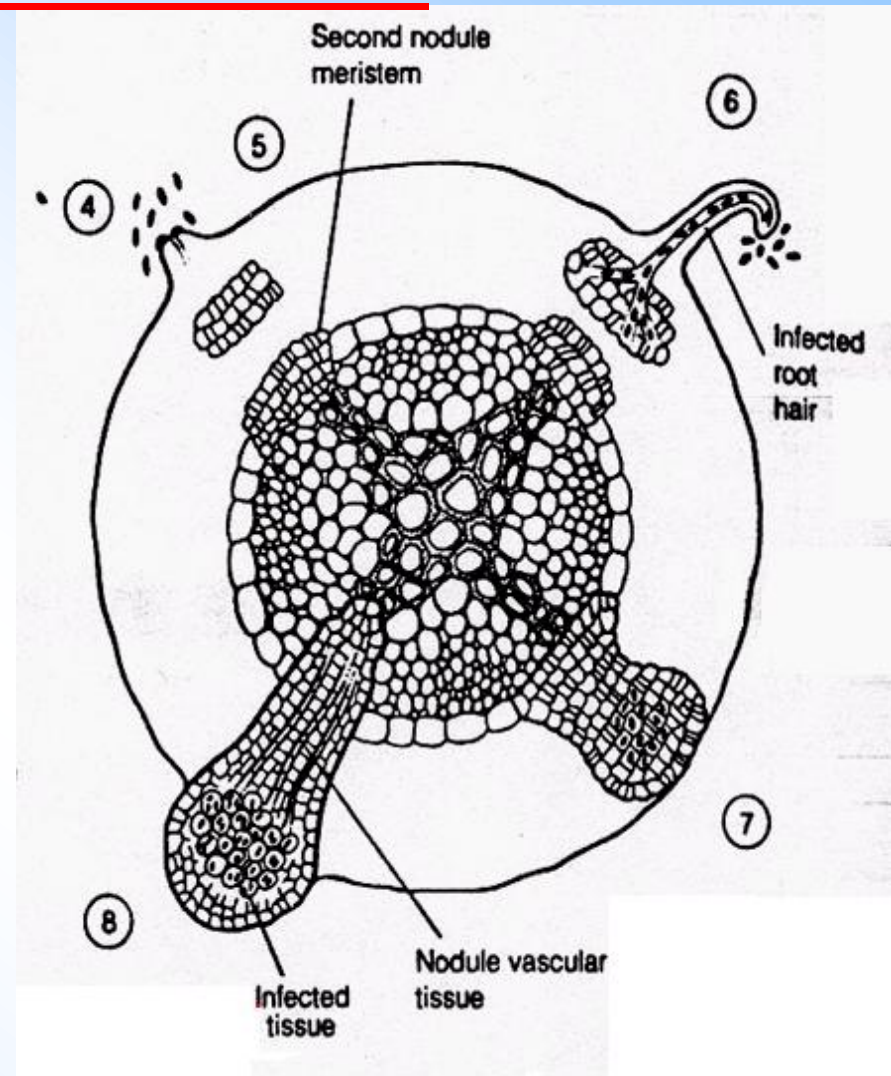
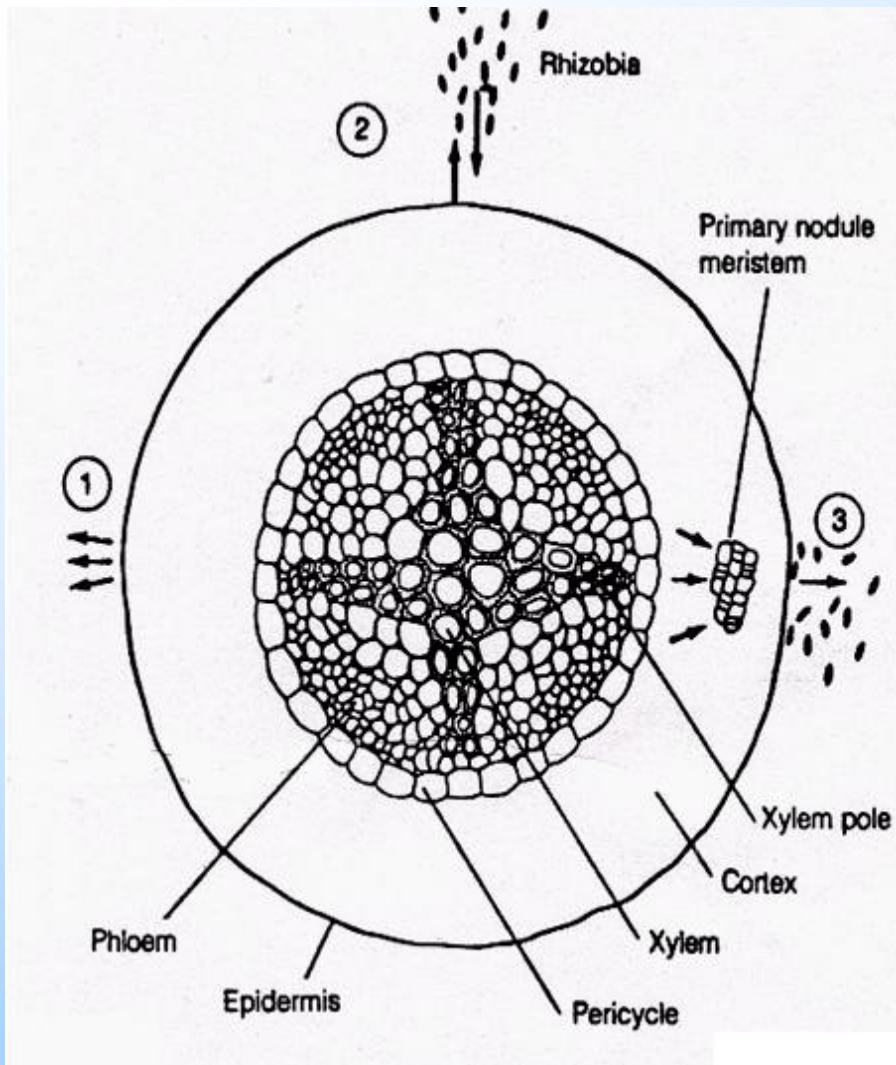
# Como ocorre a fixação simbiótica do Nitrogênio?

**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



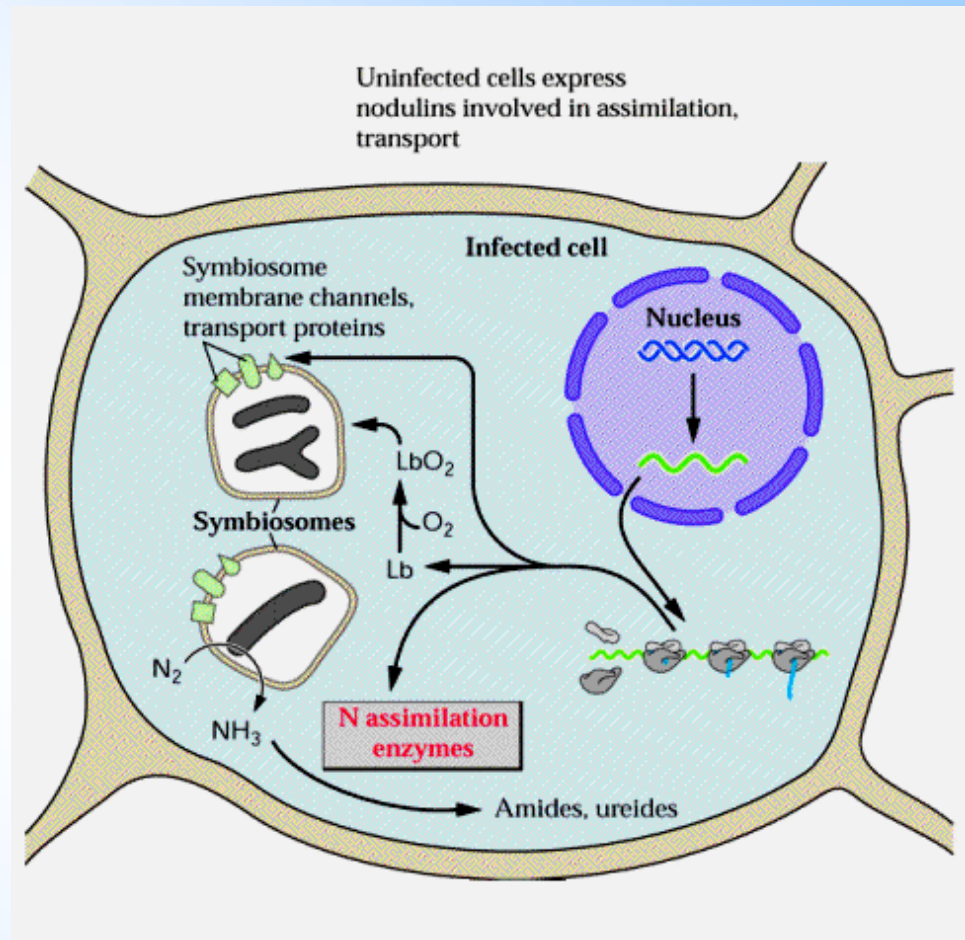
•Quimiotaxia e aderência das bactérias à raiz

•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<sub>2</sub>.**

**Redução do nitrogênio atmosférico até amônio pela enzima nitrogenase.**



**Amônia é convertida em aminoácido (glutamina ou asparagina) e ureídeos que são moléculas que podem ser enviadas a outras células transportando o nitrogênio.**

# Bioquímica da Fixação Biológica do Nitrogênio

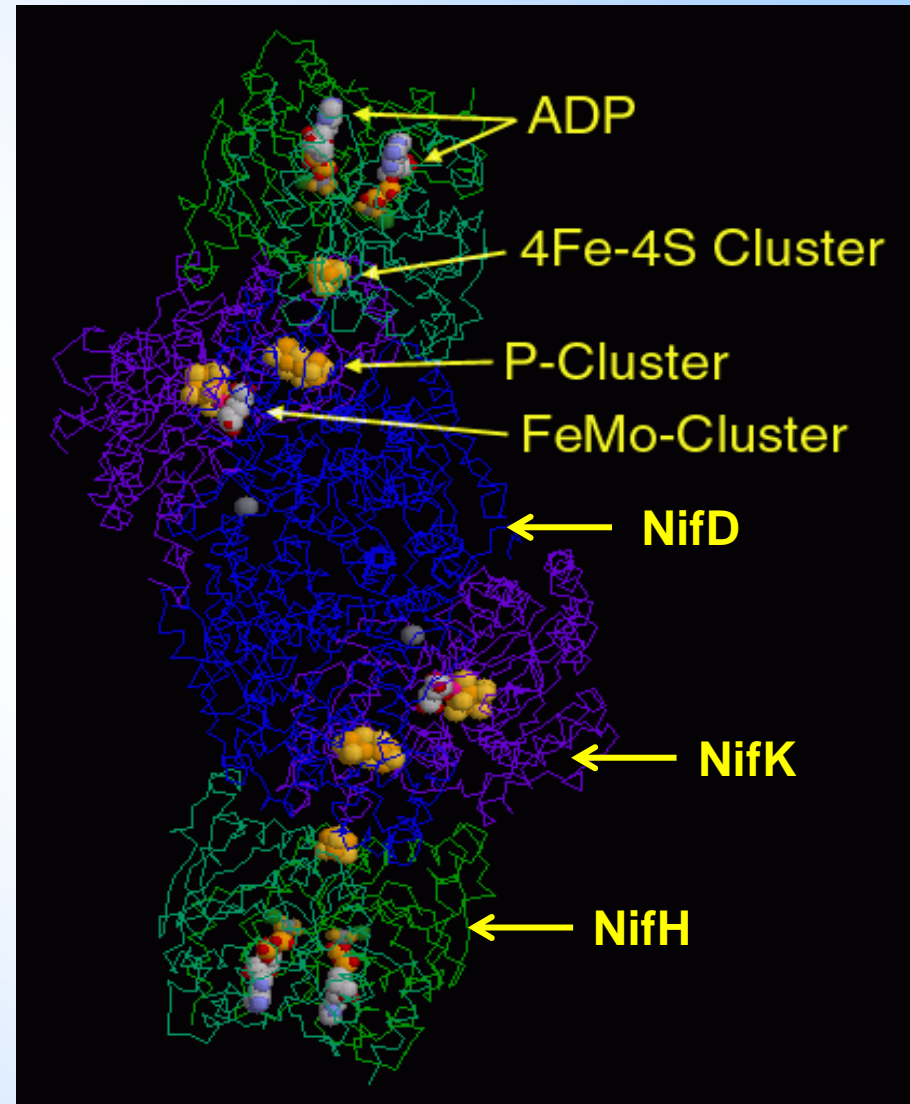
**Duas enzimas são importantes e constituem o complexo da Nitrogenase**

## Dinitrogenase redutase

- Homodímero (2 NifH)
- PM 60.000
- 1 complexo 4Fe4S (transferência de  $e^-$ )
- 2 Sítio de ligação para ATP

## Dinitrogenase

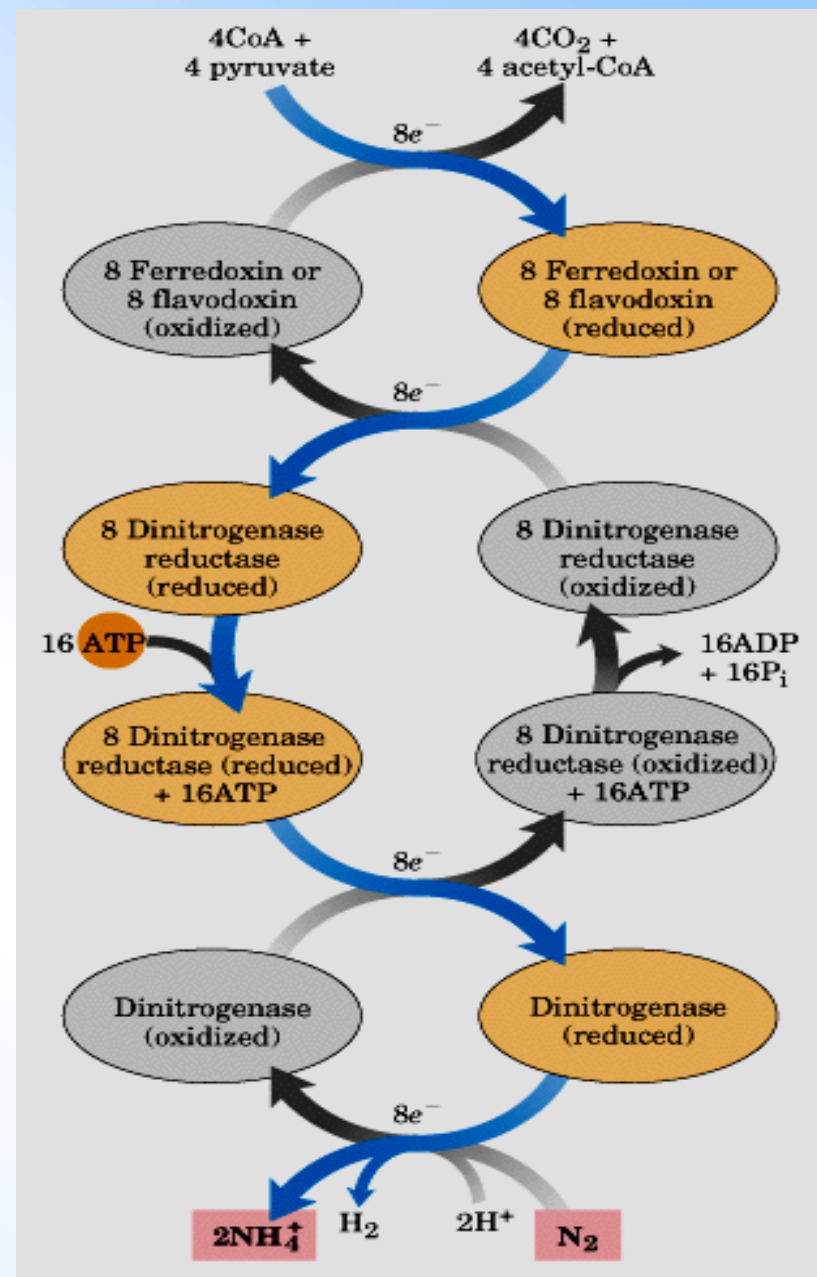
- Heterotetrâmero (2 NifK e 2 NifD)
- PM 240.000
- Grupos prostéticos
  - 2 sítio P (8Fe7S)
  - 2 FeMoCo (1Mo, 7Fe, 9S e homocitrato)





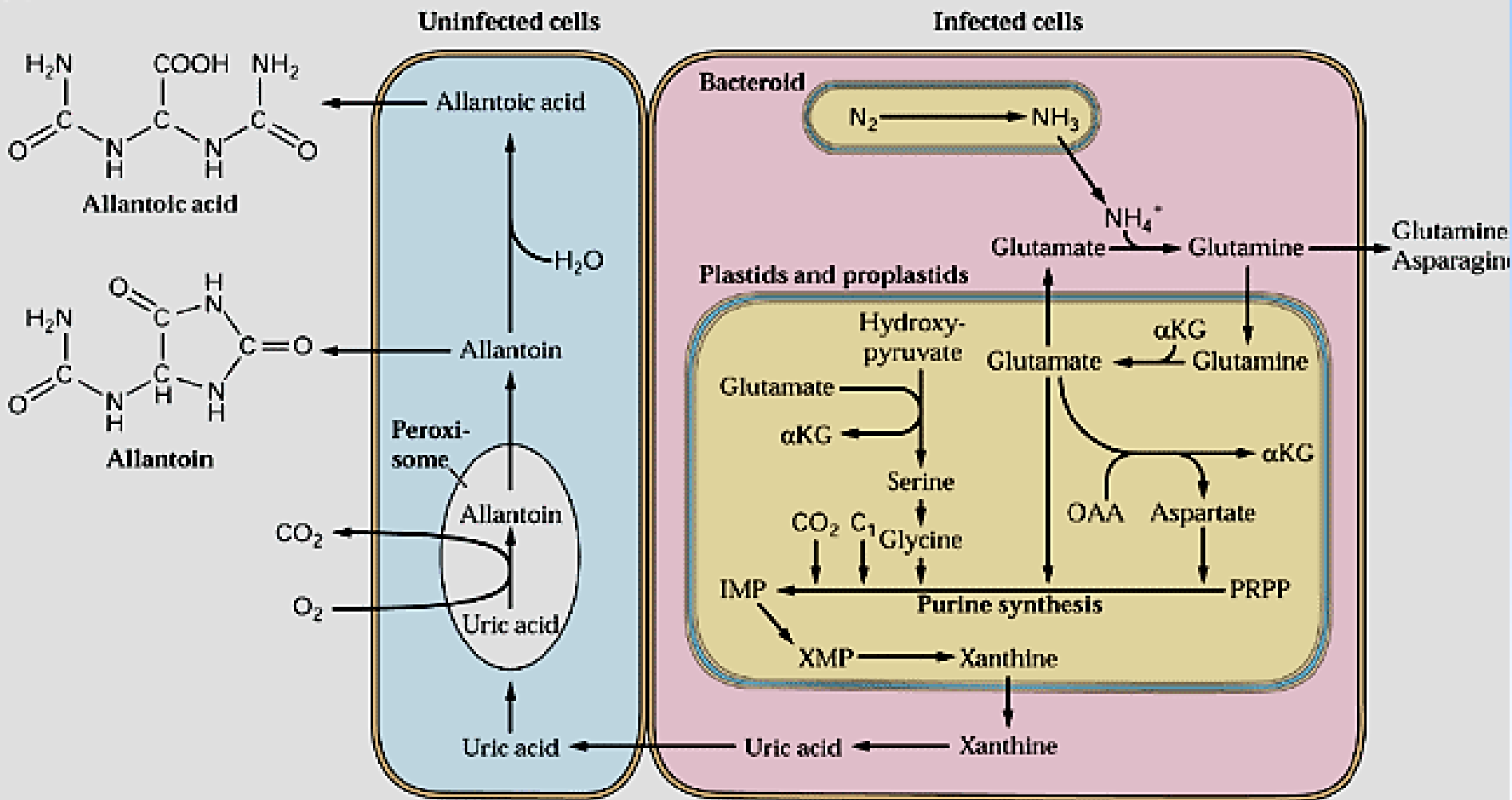
# Como ocorre a fixação do nitrogênio pelo Complexo Nitrogenase?

- Doador de elétrons é o piruvato (NADH)
- Passam para a dinitrogenase redutase pela ferredoxina (dois elétrons de cada vez, um para cada centro)
- 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



# Incorporação pela planta, da amônia produzida pelos bacteróides

## Glutamina/Asparagina e ureídeos



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