

## Fijación de N<sub>2</sub>

**Fijación de nitrógeno:** utilización del nitrógeno gaseoso (N<sub>2</sub>) como fuente de N celular

Es un proceso exclusivo de algunos procariotas

Ventaja ecológica muy significativa

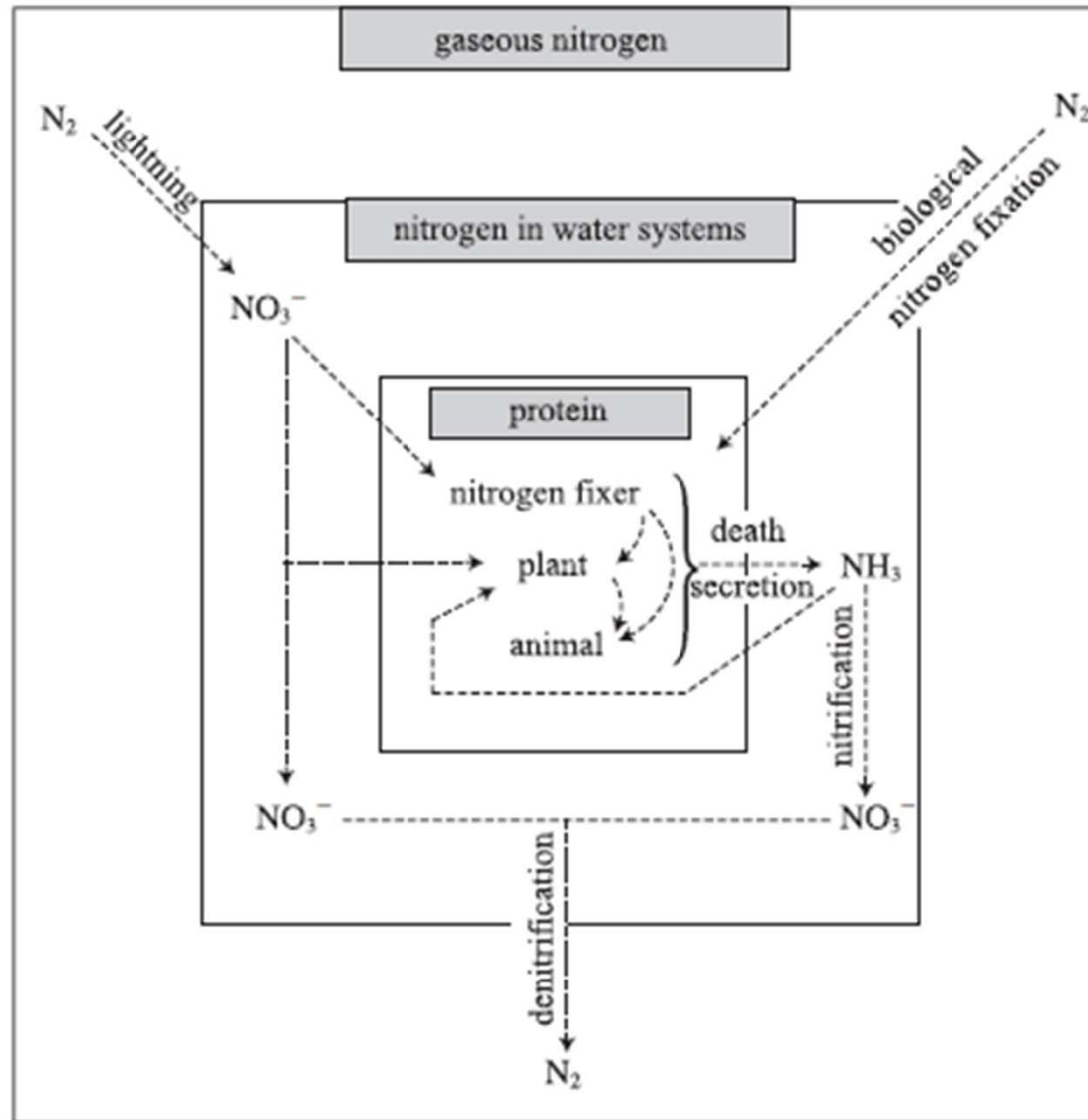
Fijación biológica de N<sub>2</sub>

1.3 x 10<sup>14</sup> g/año

Fijación industrial y natural de N<sub>2</sub>

5 x 10<sup>13</sup> g/año

# Ciclo del Nitrógeno



## Microorganismos fijadores de N<sub>2</sub>

Fijación simbiótica de N<sub>2</sub> es muy importante para la agricultura

| Aerobios de vida libre  |   |  |
|---|---|--|
| <b>Quimio-organismos</b>  | <b>Fototrofos</b>   | <b>Quimio-litotrofos</b>   |
| Dominio <i>Bacteria</i> :<br><i>Azotobacter</i> spp.<br><i>Azomonas</i><br><i>Klebsiella</i> <sup>f</sup><br><i>Beijerinckia</i><br><i>Bacillus polymyxa</i><br><i>Mycobacterium flavum</i><br><i>Azospirillum lipoferum</i><br><i>Citrobacter freundii</i><br><i>Acetobacter diazotrophicus</i><br><i>Methylomonas</i><br><i>Methylococcus</i> | Cianobacterias (la mayoría, pero no todas)  | <i>Alcaligenes</i><br><i>Thiobacillus</i> (algunas especies)<br><i>Streptomyces thermoautotrophicus</i>  |
| Anaerobios de vida libre  |   |  |
| <b>Quimio-organismos</b>  | <b>Fototrofos</b>   | <b>Quimio-litotrofos</b>   |
| Dominio <i>Bacteria</i> :<br><i>Clostridium</i> spp.<br><i>Desulfovibrio</i><br><i>Desulfotomaculum</i>   | Dominio <i>Bacteria</i> :<br><i>Chromatium</i><br><i>Thiocapsa</i><br><i>Chlorobium</i><br><i>Rhodospirillum</i><br><i>Rhodopseudomonas</i><br><i>Rhodomicrobium</i><br><i>Rhodopila</i><br><i>Rhodobacter</i><br><i>Heliobacterium</i><br><i>Heliobacillus</i><br><i>Heliophilum</i> | Dominio <i>Archaea</i> :<br><i>Methanosarcina</i><br><i>Methanococcus</i><br><i>Methanobacterium</i><br><i>Methanospirillum</i><br><i>Methanolobus</i> |
| Simbióticos   |   |  |
| <b>Plantas leguminosas</b><br>Soja, guisante, trébol, etc., en asociación con una bacteria de los géneros <i>Rhizobium</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Sinorhizobium</i> o <i>Azorhizobium</i>   | <b>Plantas no leguminosas</b><br><i>Alnus</i> , <i>Myrica</i> , <i>Ceanothus</i> , <i>Comptonia</i> y <i>Casuarina</i> ; en asociación con actinomicetos del género <i>Frankia</i>  |  |

## Bioquímica de la Fijación de N<sub>2</sub>

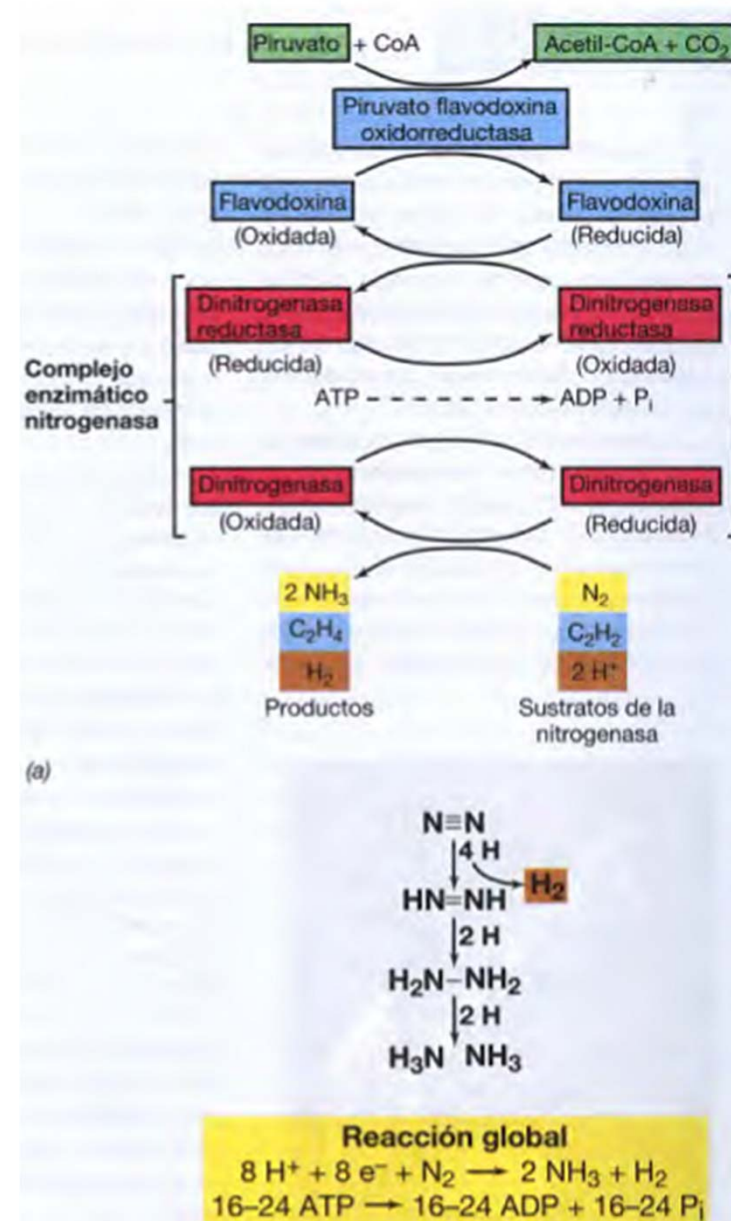
N<sub>2</sub> es muy estable debido a triple enlace N-N, la reacción requiere alta energía de activación.

Reacción catalizada por **nitrogenasa**

Complejo Nitrogenasa



dinitrogenasa reductasa + dinitrogenasa



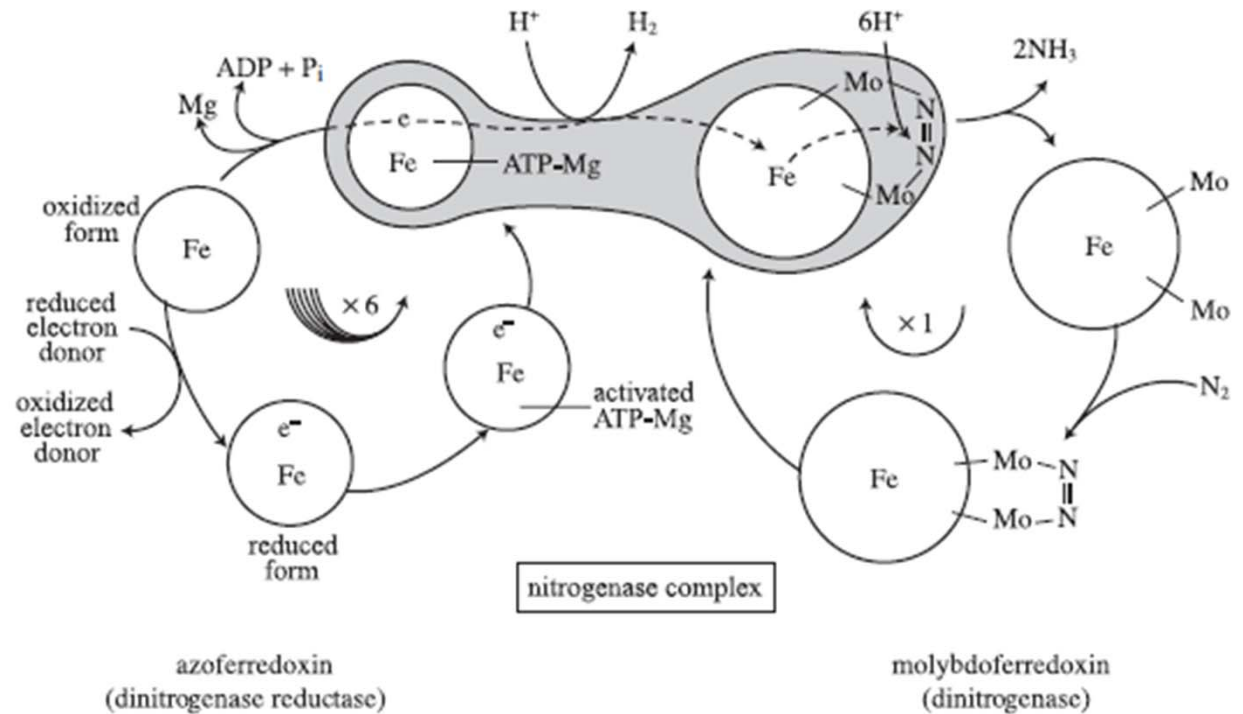
## Reducción de N<sub>2</sub> por el complejo nitrogenasa

Table 6.3. *The nitrogenase complex of Rhizobium spp.*

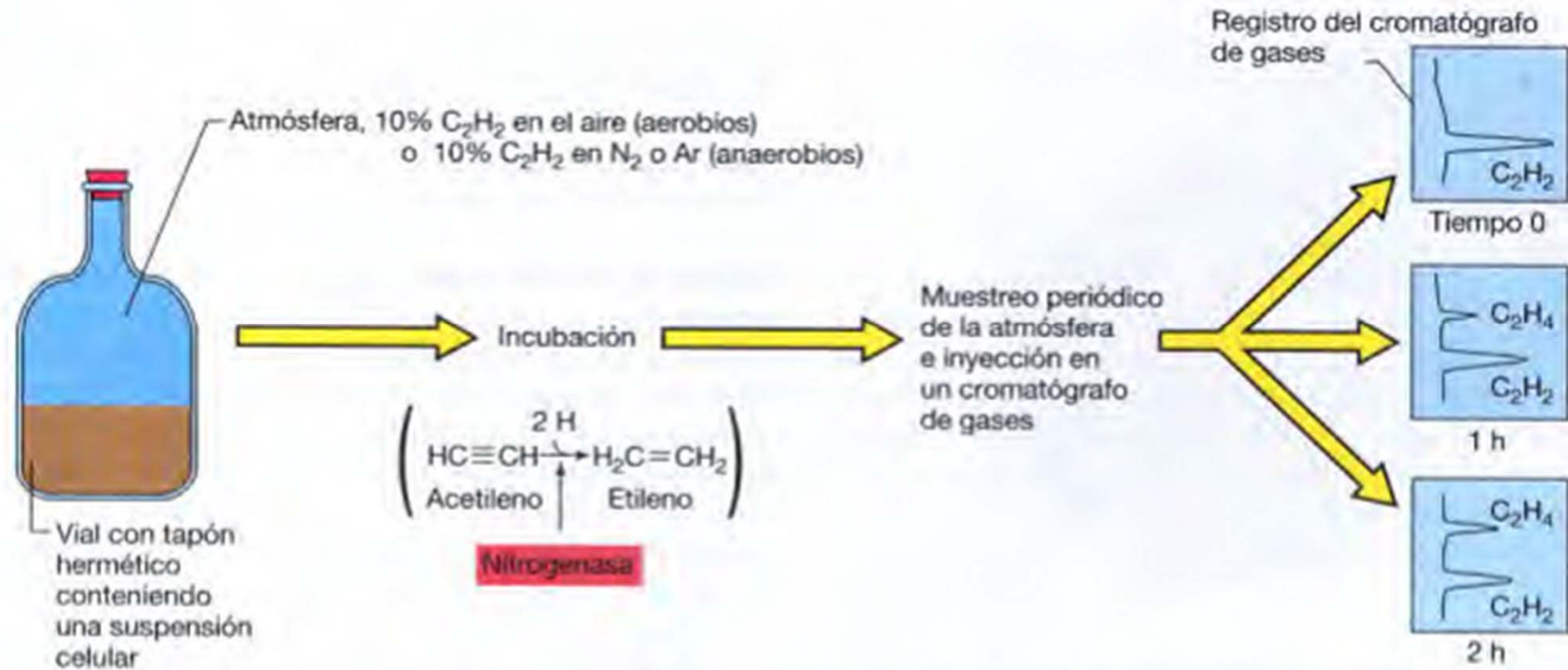
| Characteristics     | Azoferrredoxin<br>(dinitrogenase<br>reductase) | Molybdoferrredoxin<br>(dinitrogenase) |
|---------------------|--|---------------------------------------|
| Molecular weight    | 70 000   | 230 000                               |
| Subunit             | 2  | 4 <sup>a</sup>                        |
| Iron                | 8 <sup>b</sup>                                 | 28                                    |
| Molybdenum          | 0  | 2                                     |
| Acid-labile sulfide | 8  | 28                                    |

<sup>a</sup>Two subunits each of two peptides with molecular weights of 55 000 and 60 000.

<sup>b</sup>One [4Fe-4S] for each subunit.



## Ensayo para medir actividad nitrogenasa: reducción de acetileno

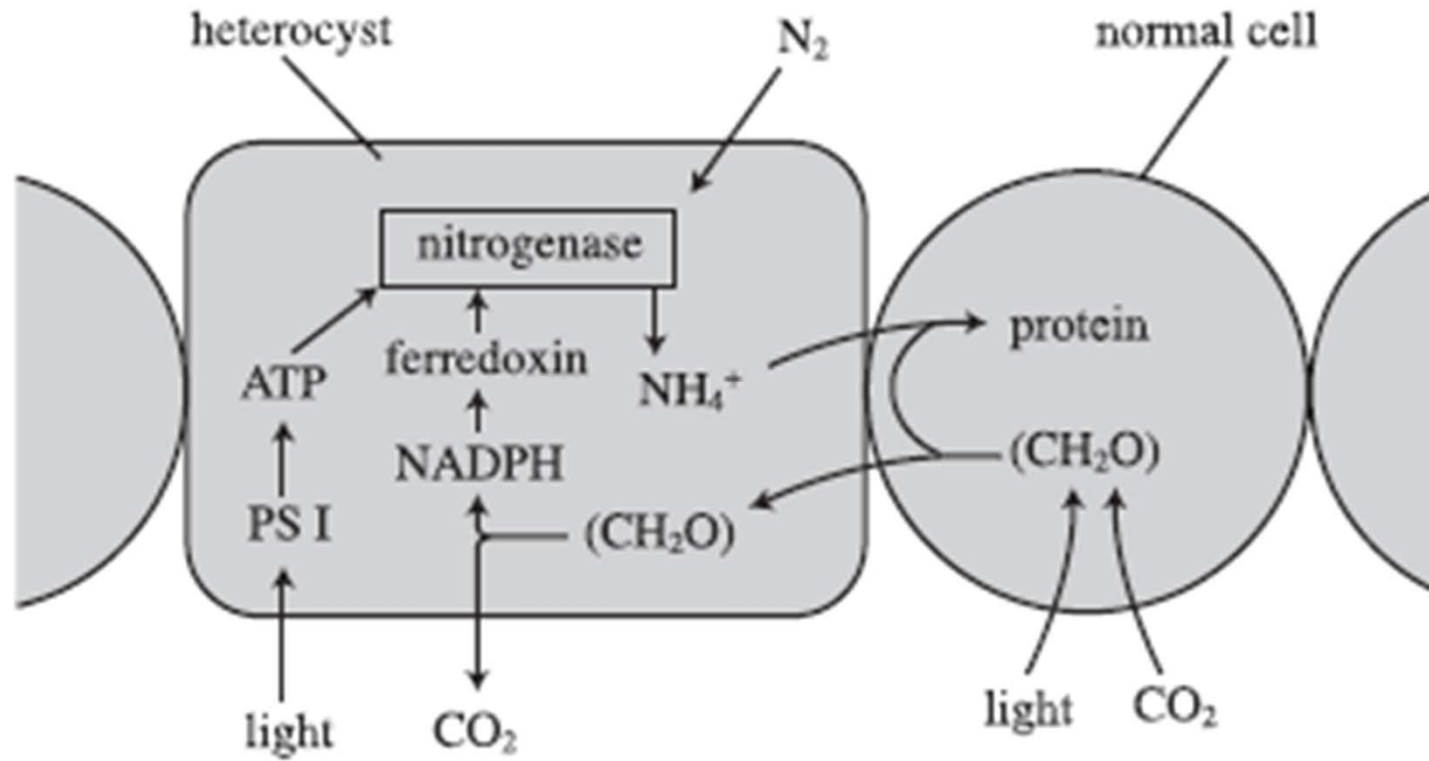


## La nitrogenasa es altamente sensible a la presencia de O<sub>2</sub>

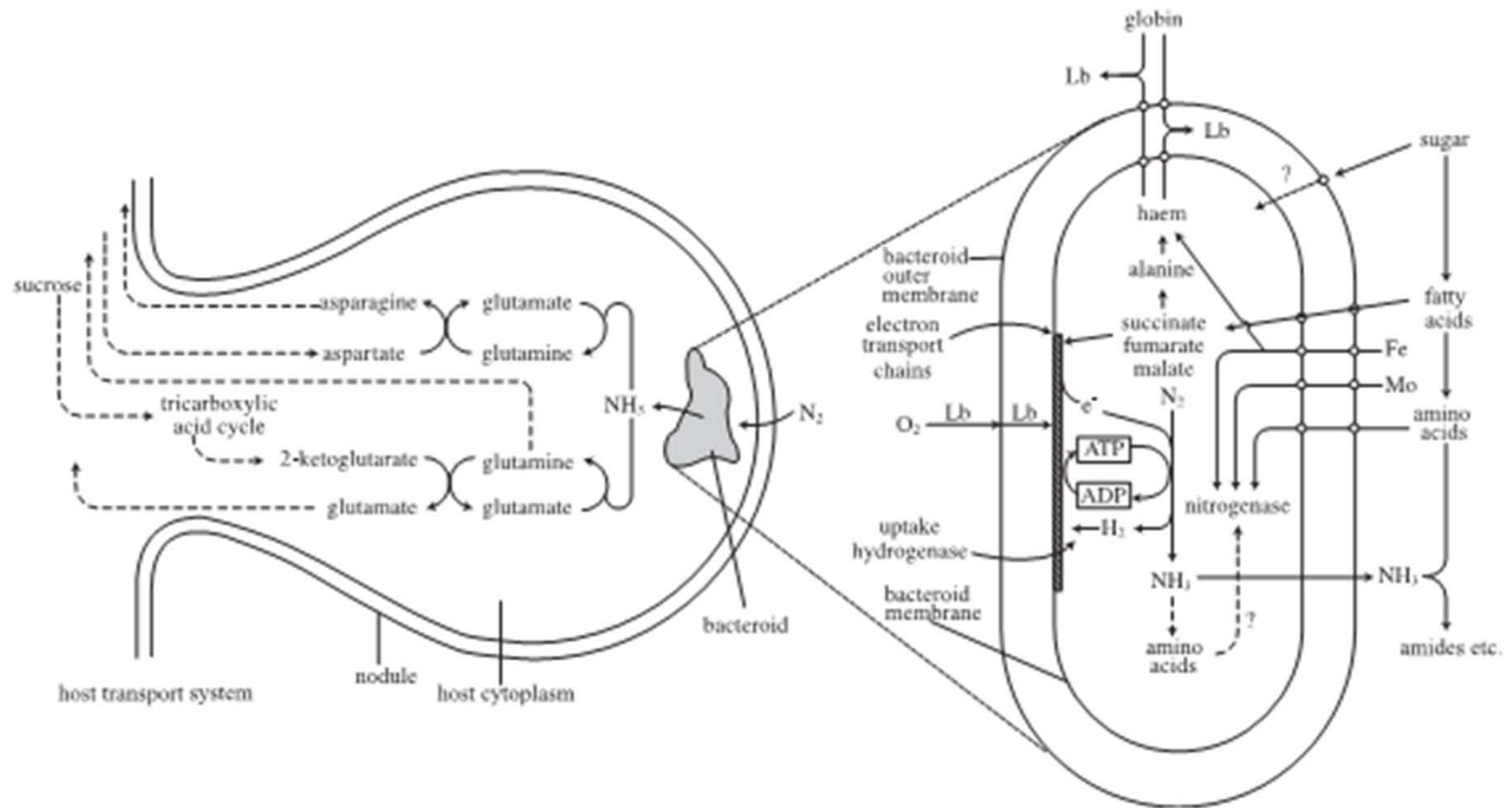
Existen diferentes mecanismos de protección de la nitrogenasa frente al O<sub>2</sub>:

- **Leghemoglobina-O<sub>2</sub>** (simbiosis *Rhizobium*-leguminosa)
- **Heterocistos** (cianobacterias filamentosas). No poseen fotosistema II
- **Oxidasas terminales de alta afinidad por O<sub>2</sub>** (bacterias aerobias, *Azotobacter vinelandii*)
- **Producción de exopolisacáridos** (EPS) para reducir difusión de O<sub>2</sub> al interior de la célula (*Azotobacter vinelandii*)

## Fijación de N<sub>2</sub> en las Cianobacterias







(a)



(b)

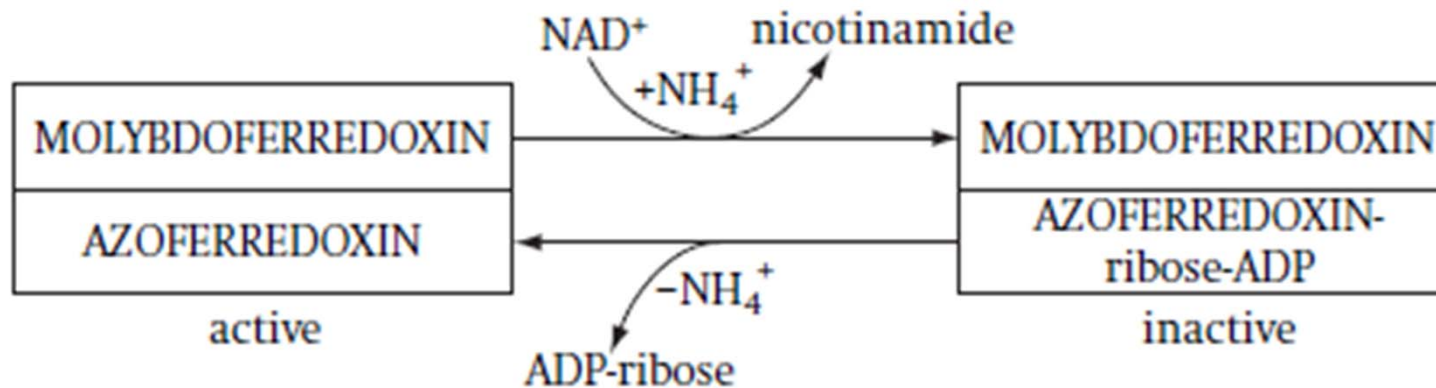
### Fijación simbiótica de $N_2$ en *Rhizobium*-plantas leguminosas.

El  $O_2$  circula asociado a la proteína Leghemoglobina (Lb), de estructura y función similares a la mioglobina en animales

### Producción de EPS en *A. vinelandii*

## Regulación de la fijación de N<sub>2</sub>

Regulación de nitrogenasa a nivel de transcripción y actividad enzimática



Regulación transcripcional compleja. Estudiada en *Klebsiella pneumoniae* (*nif regulon*). Inhibición por NH<sub>4</sub><sup>+</sup>