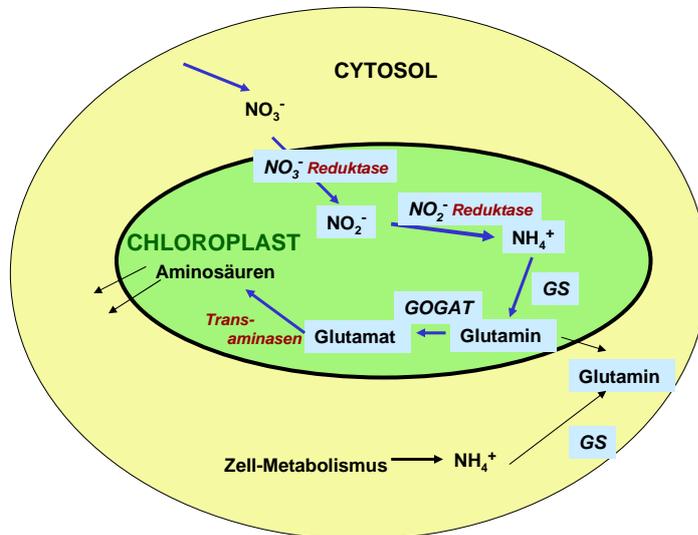
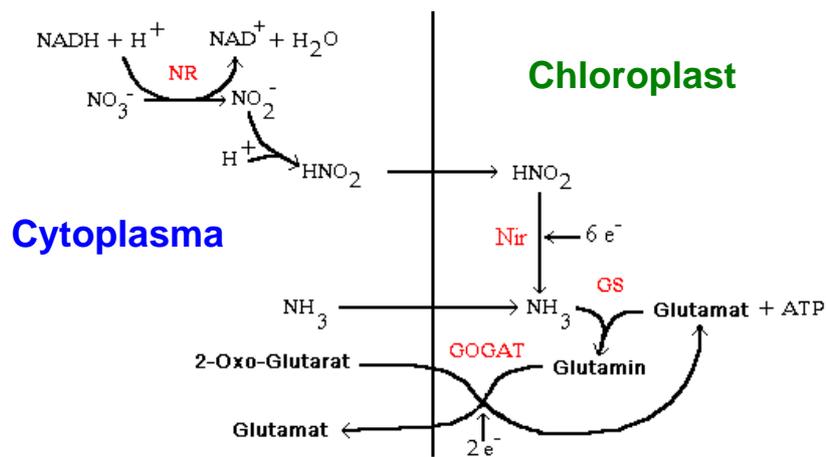


**NO₃⁻ u. NH₄⁺ Assimilation
Das GOGAT System**



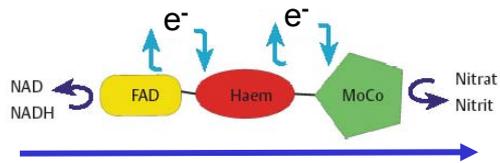
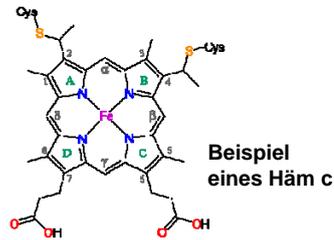
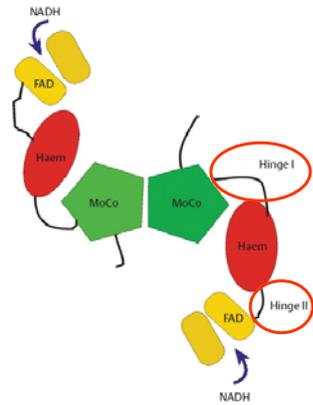
- NO₃⁻ : Nitrat-Verwertung in der Pflanze
- GOGAT = Glutamin – Oxoglutarat - AminoTransferase

**NO₃⁻ u. NH₄⁺ Assimilation
Das GS-GOGAT System**



- **GS-GOGAT** = GlutaminSynthase - Glutamin - Oxoglutarat - AminoTransferase
- **Nir** = Nitritreduktase
- Wie ist die Nitrat-Reduktase (**NR**) aufgebaut ?

NO₃⁻ : Die NitratReduktase

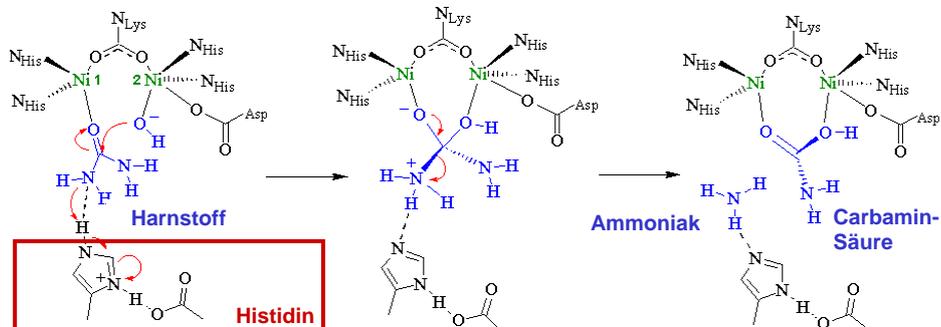


- **Dimeres Enzym:**
- 3 verschiedene funktionelle Domänen:
 - FAD = Flavinadenindinukleotid
 - Haem = Hämdomäne vom Cytochrom- b557-Typ,
 - MoCo = Molybdän Cofaktor.
 - Hinge I und II: flexible Brückenregionen (Scharniere) zwischen Domänen.

Harnstoff-Assimilation: Urease in Bakterien und Pflanzen

- NEU: Ni findet sich in Pflanzen bisher nur in einem einzigen Enzym (Sirko und Brodzik, 2000):

- NC(=O)N Der Abbau von Harnstoff erfolgt mittels **Histidin** über das **Nickel**-haltige Enzym **Urease**: $\rightarrow \text{NH}_3 + \text{Carbamin-Säure}$



- **Carbamin-Säure** wiederum zersetzt sich spontan zu NH₃ und CO₂:
 - $\text{H}_2\text{N-CO-NH}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{NH}_3 + \text{CO}_2$

N Fixierung

■ N₂ Fixierung

- 85% biologisch: Davon 60% terrestrisch und 40% marin



- Organismen: Nur Prokaryonten
 - Frei-lebend (viele Bakterien)
 - Symbiotisch z.B.:
 - *Rhizobien* in Leguminosen
 - *Frankia* in Bäumen



Energetik des N Fixierungsprozesses:

- Haber-Bosch-Verfahren 100-200 atm, 400-500°C
8.000 kcal kg⁻¹ N
- Nitrogenase 4.000 kcal kg⁻¹ N

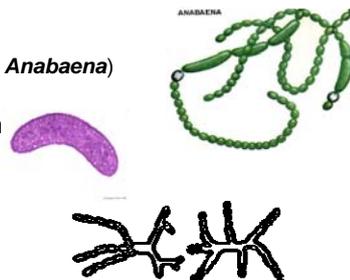
N₂ Fixierer

■ Symbiotische N₂ Fixierer:

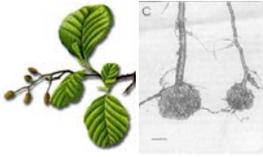
- Normale Assoziation zw. Verschiedenen Bakt.-Species und Leguminosen
- Symbiose → Knöllchenbildung
- Bakterien: *Rhizobien*, *Bradyrhizobien*, *Azorhizobium*

■ Frei-lebende N₂ Fixierer:

- 1. Bakterien und andere Prokaryoten in Böden, Sedimenten
- 2. Einige Species aerob (*Azotobacter* und *Beijerinckia*) aber meist mit geringen O₂ Konzentrationen (*Clostridium* und *Klebsiella*)
- 3. Cyanobakterien
 - (=Blualgen, z.B. *Nostoc* und *Anabaena*)
- 4. Photosynthetische Bakterien
 - (Z.B. *Rhodospirillum*)
- 5. Filamentöse Actinomyceten
 - = Mycel-bildende Bakterien



Raten der Biologischen N₂ Fixierung

	N ₂ fixiert kg ha ⁻¹ Jahr ⁻¹ Organismus oder System	
<ul style="list-style-type: none"> ■ Actinorhiza Pflanzen Symbiosen mit <i>Frankia</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Alnus</i> ▪ <i>Hippophaë</i> ▪ <i>Ceanothus</i> ▪ <i>Coriaria</i> ▪ <i>Casuarina</i> 	<p><u>40-300</u></p> <p>1-150</p> <p>1-50</p> <p>50-150</p> <p>50</p>	
<ul style="list-style-type: none"> ■ Leguminosen (Symbiosen mit Rhizobien) <ul style="list-style-type: none"> ▪ Körner-Leguminosen (<i>Glycine, Vigna, Phaseolus</i>) ▪ Weide-Leguminosen (<i>Trifolium, Medicago, Lupinus</i>) 	<p><u>50-100</u></p> <p><u>100-600</u></p>	
<ul style="list-style-type: none"> ■ Cyanobakterielle Assoziationen <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Gunnera</i> ▪ <i>Azolla</i> 	<p>10-20</p> <p><u>300</u></p>	
<ul style="list-style-type: none"> ■ Gras-Bakterien assoziative Symbiosen <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Azospirillum</i> 	<p>5-25</p>	
<ul style="list-style-type: none"> ■ Frei-lebende Mikroorganismen <ul style="list-style-type: none"> ▪ Cyanobakterien ▪ <i>Azotobacter</i> ▪ <i>Clostridium pasteurianum</i> 	<p>25</p> <p>0,3</p> <p>0,1-0,5</p>	

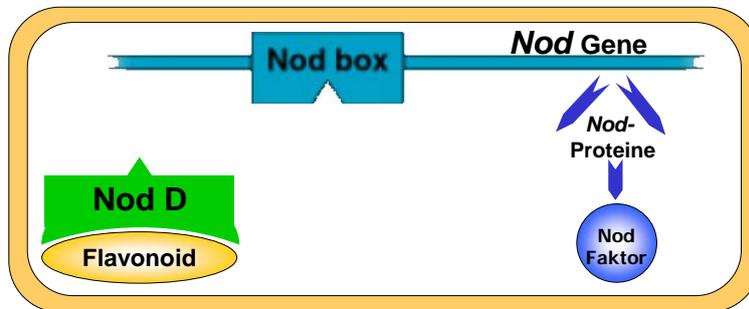
Einige N-fixierende Organismen

Frei-lebende				Symbiontische	
Aerobe		Anaerobe		Leguminosen	Nicht-
Heterotrophe	Phototrophe	Heterotrophe	Phototrophe	Pflanzen	Leguminosen
<i>Azotobacter spp.</i>	Verschiedene	<i>Clostridium spp</i>	<i>Chromatium</i>	Bohne, Erbse	<i>Alnus, Myrica</i>
<i>Klebsiella</i>	Cyano- bakterien	<i>Desulfovibrio</i>	<i>Chloribium</i>	Klee, Linse	<i>Ceanthus</i>
<i>Beijerinckia</i>		<i>Disulfoto- maculum</i>	<i>Rhodospirillum</i>	Sojabohne, etc	<i>Comptorinia</i>
<i>Bacillus polymyxa</i>			<i>Rhodopseudo- monas</i>	In Assoziierung mit Bakterium	<i>Casurina</i> in Assoziierung
<i>Mycobacterium flavum</i>			<i>Rhodo- microbium</i>	der Gattung	mit Actinomyceten
<i>Azospirillum lipoferum</i>			<i>Rhodobacter</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	des Genus
<i>Citrobacter freundii</i>			<i>Heliobacterium</i>		<i>Frankia (=Bact.)</i>
Einige					
Methylotrophe					

Tabelle in 'Microbiology and Chemistry for Environmental Scientists and Engineers' von J.N. Lester et al.

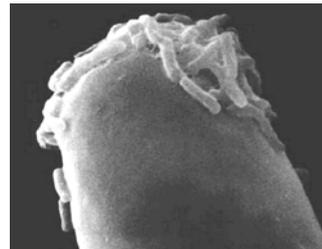
Aktivierung der Knöllchenbildung

Rhizobien erkennen Flavonoidsignale, welche die Pflanze aussendet und antworten:



Arbeitsteilung zwischen Wirt und Bacteroiden

Rhizobien auf Wurzel, Foto: Frank Dazzo



Pflanze:

- Knöllchenentwicklung:
 - Aktivierung von Pflanzengen: **Noduline**
 - Synthese von
 - Leghämoglobinen (→ sorgt für sauerstoffarme Räume)
 - Enzymen zur Assimilation von fixiertem N

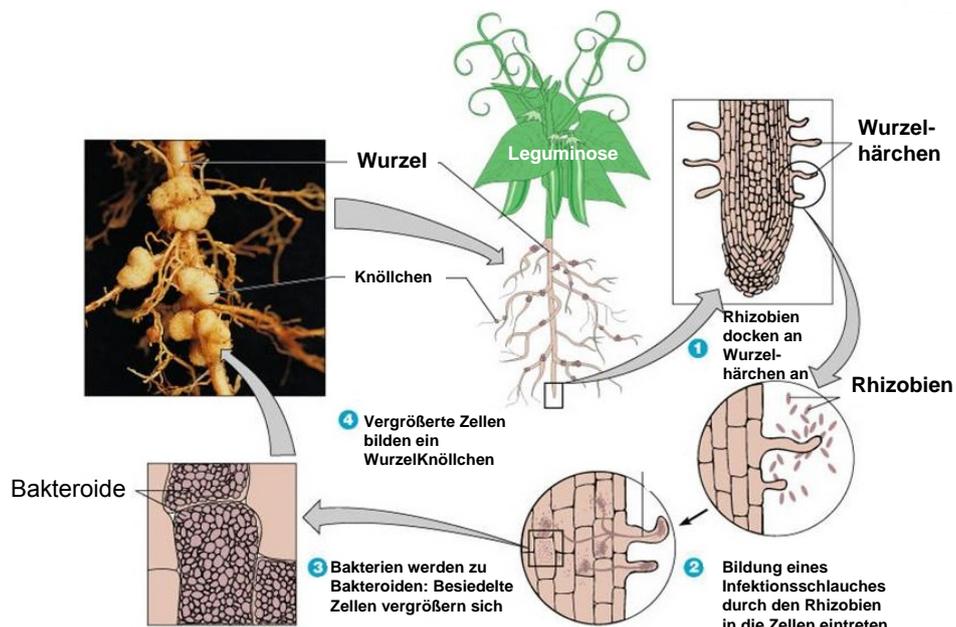


Leghämoglobin, Foto: David Webb

Im Bacteroid:

- Geringe $[O_2]$ Konzentration:
 - Induktion d. Expression von
 - "fix" Genen, und
 - *nifA* (=Transkriptionsfaktor für die Nitrogenase-Gene)

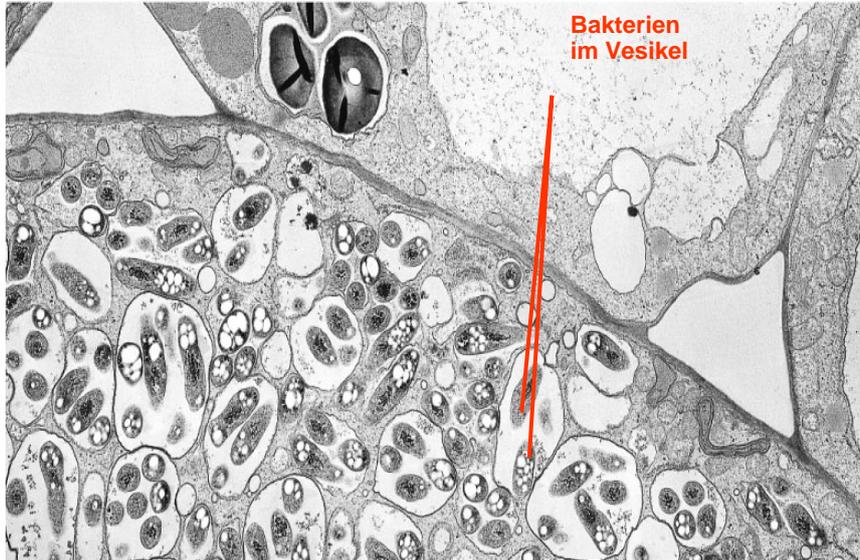
Leguminosen: Wurzelknöllchen-Bildung



Symbiotische N_2 -Fixierung in Leguminosen

- Infektion und Knöllchen-Entwicklung
- Vermehrung der Rhizobien, Kolonisierung der Rhizosphäre
- Anbindung an Wurzelhaarzellen
- charakteristisches Kringlein der Wurzelhaare und Invasion der Bakterien
 - → Infektionsschlauch
- Knöllchenbildung im Cortex
 - Bakterien verlassen Infektionsschlauch
 - → Entwicklung spezialisierter N_2 -fixierender Zellen

Rhizobien

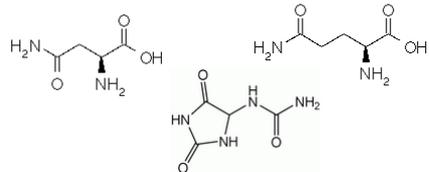


- Mikroskop. Aufnahme: Pearson Inc.

Ablauf der N Assimilation

- Pflanzen-Knöllchen synthetisieren org. Säuren → → Bacteroide
- Bacteroide geben NH_4 ab → → Knöllchen
- Knöllchen assimilieren NH_4 via GS-GOGAT
- Export von N-reichen Amiden und Ureiden ins Xylem

- Amide, z.B. Asparagin u. Glutamin

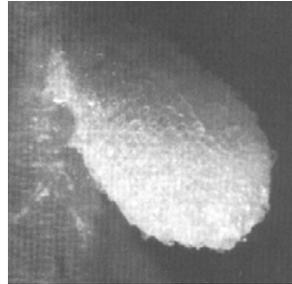


- Ureide, z.B. Allantoin:

- ..warten,
 - falls jemand die Moleküle abzeichnen möchte

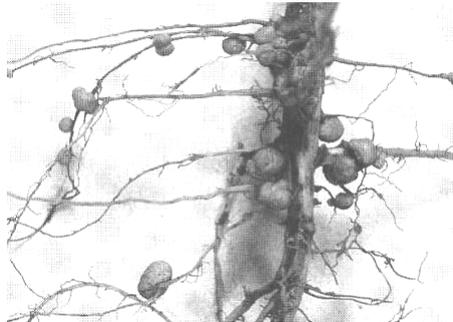
Knöllchen und Nodulation

- Undifferenzierte Knöllchen –
elongiert und meristematisch
(Erbse + Klee)

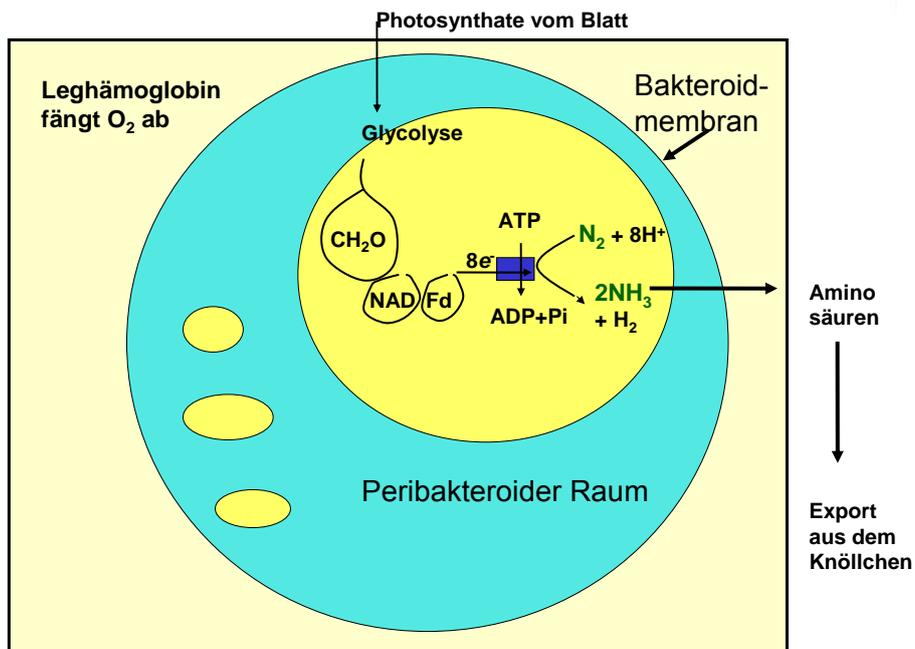


vs.:

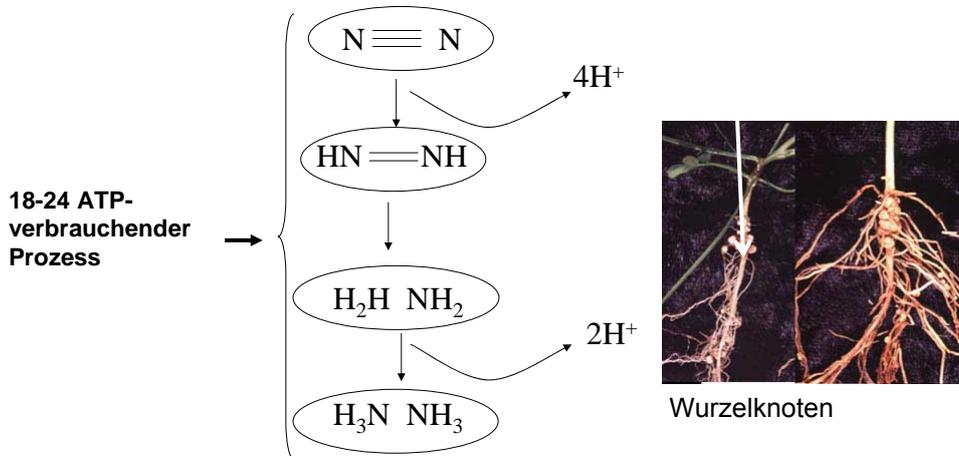
- Differenzierte Knöllchen-
sphärisch (z.B Soja)



Infizierte Pflanzenzelle



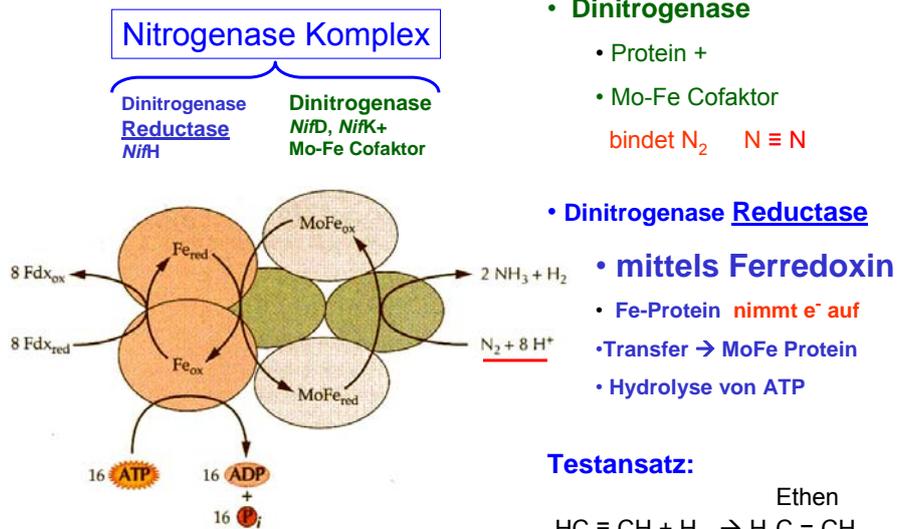
Symbiotische N Fixierung in höheren Pflanzen



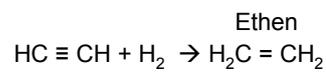
- Gesamt-Reaktion (Reduktion) von N_2 ist exotherm
 - $N_2 + 3H_2 \rightarrow 2NH_3 \quad \Delta H = -33.3 \text{ kJ mol}^{-1}$
 - benötigt aber ATP

www.agric.uwa.edu.au/soils/soilhealth/bacteria/

Der Nitrogenase-Komplex

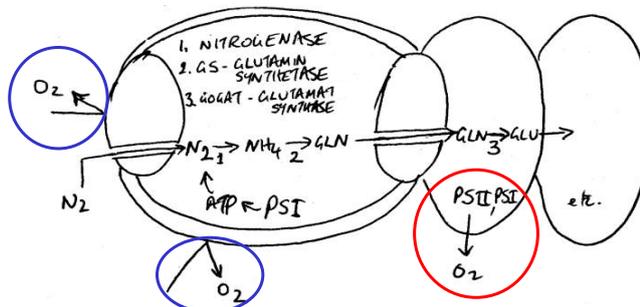


Testansatz:



= Reduktionstest für Nitrogenase

Cyanobakterien und ihre symbiont. Assoziationen



- **Anabaena-Heterocysten:**
- Differenzierte Zellen für die N₂ Fixierung
 - um geringen O₂-Druck zu erhalten:
 - wobei PSI mit **geringster O₂-Entstehung** ATP liefert, und
 - GS - GOGAT von Photosystem getrennt ist,
 - → um den Export zu erhöhen
- Kein Photosystem II: ATP-Bedarf nur durch PSI und **CYCLISCHE** Photophosphorylierung
- Räumliche Trennung des GS- GOGAT Weges:
 - Glutamin-Export → vegetative Zellen **via Mikro-Plasmodesmen**.

Mischkultur als Düngemethode

- Reis-Mischkultur mit Wasserfarn Azolla
 - Azolla lebt in Symbiose mit **Blualgen Anabaena**: kann bis zu 50kg N binden.
 - 2. Vorteil: Dichte Wasserfarndecke verringert Ausgasung von Ammoniak (NH₃).

