**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DO PARÁ
CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA**

**MARIA JANES DE OLIVEIRA SANTOS
PAULA DE CASSIA REIS OLIVEIRA**

NITROGÊNIO E SUAS PRINCIPAIS APLICAÇÕES.

**BELÉM
2007**

**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DO PARÁ
CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA**

**MARIA JANES DE OLIVEIRA SANTOS
PAULA DE CASSIA REIS OLIVEIRA**

NITROGÊNIO E SUAS PRINCIPAIS APLICAÇÕES.

Trabalho Acadêmico de Conclusão
apresentado ao Colegiado do Curso de
Química do Centro Federal de Educação
Tecnológica do Pará – CEFET-PA, como
requisito para a obtenção do Grau de
Licenciatura Plena em Química. Sob a
orientação do Prof. Evandro Ribeiro.

**BELÉM/PA
OUTUBRO/2007**

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DO PARÁ
LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA

MARIA JANES DE OLIVEIRA SANTOS
PAULA DE CASSIA REIS OLIVEIRA

NITROGÊNIO E SUAS PRINCIPAIS APLICAÇÕES.

Data de Defesa: ____/____/____.

Banca Examinadora:

Profº. Célio Hitoshi Wataya (CEFET-PA)

Profº. Evandro Ribeiro (CEFET-PA)

Profº. Milton Nazareno (CEFET-PA)

AGRADECIMENTOS

Não teme nem desanima quem se convence que é mantido pelo poder divino podendo ter a certeza que Deus o auxiliará em todas as suas necessidades. Pois quem ama Deus nada lhe falta.

È com a força dessa frase que dedico esse trabalho a Deus,Criador de tudo e de todos,aos meus familiares e a inesquecível turma de Licenciatura Plena em Química 2004.

Maria Janes de Oliveira Santos

Agradeço a Deus por tudo.

Paula de Cássia Reis Oliveira.

RESUMO

O trabalho analisa as várias aplicabilidades do elemento nitrogênio, visa analisar os benefícios e os malefícios que este pode acarretar, sabemos que 78% de nossa atmosfera é composto de nitrogênio, este é o elemento mais abundante no ar atmosférico, há uma troca contínua entre atmosfera, o solo, o oceano e os organismos vivos, cuja quantidade é estimada em 10^8 a 10^9 toneladas por ano. As plantas absorvem o nitrogênio combinado e utiliza-o para formar o protoplasma para crescer, as plantas podem servir de alimentos para outros animais e estes podem servir de alimentos para outros animais, a morte e a decomposição fazem com que eventualmente todo o nitrogênio retorne ao solo. O nitrogênio é também utilizado na medicina na criocirurgia, que é uma técnica onde pode-se curar até o câncer de pele, e é muito usado na dermatologia e na conservação de tecidos. Assim como apresenta seu lado bom o nitrogênio também pode trazer grandes danos a humanidade, já que forma vários compostos e sendo um dos principais agentes do aquecimento global, essa combinação que colabora para a formação da camada de gases ocasionando o efeito estufa e afeta brutalmente a vida terrestre, esses gases são liberados em larga escala por usinas termoelétricas, dentre outras. Combinações de nitrogênio também podem contaminar lençóis freáticos, a água tem um nível mínimo de percentagem aceitável de nitrogênio, se esse nível estiver acima do esperado essas combinações são agentes cancerígenos, ocasionando principalmente câncer de estômago. O elemento nitrogênio é vida e morte, logo é fundamental mantê-lo na medida certa.

PALAVRAS-CHAVE: Nitrogênio; gases; Plantas; Solo; Atmosfera.

ABSTRACT

The work analyzes several applications of the element nitrogen, it seeks to analyze the benefits and the harms that this can carry, we know that 78% of our atmosphere are composed of nitrogen, this is the most abundant element in the air atmosphere, it has a change it continues among atmosphere, the soil, the ocean and the alive organisms, whose amount is esteemed in 108 to 109 tons a year. The plants absorb the combined nitrogen and it uses him/it to form the plasma to grow, the plants can serve as victuals for others you encourage and the animals can serve as victuals for others you encourage, the death and the decomposition do with that eventually all the nitrogen comes back to the soil. The nitrogen is also used in the medicine in the cryosurgery, that is a technique where until it can cure the skin cancer, she is a lot of used in the dermatology and in the conservation of fabrics. As well as he/she has your good side the nitrogen he/she can also come to bring great damages the humanity, since one of your combinations is one of the principal agents of the global heating, that combination that collaborates for the formation of the layer of gases causing the effect it stews and it affects the terrestrial life brutally, those gases are liberated in wide scale by thermoelectrical plants. Combinations of nitrogen can also contaminate underground sheets, the water has a minimum level of acceptable percentage of nitrogen, if that level is a top of the expected those combinations they are cancerous agents, causing mainly stomach cancer. The element nitrogen is life and death, soon it is foundation maintain-lo in the right measure.

WORD-KEY: Nitrogen; gases; Plants; Soil; Atmospher.

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

ILUSTRAÇÃO 1 – CICLO DO NITROGÊNIO.....	17
ILUSTRAÇÃO 2 – ABSORÇÃO DO NITROGÊNIO.....	22
ILUSTRAÇÃO 3 – ISOENZIMAS DA GS e GOGAT	23
ILUSTRAÇÃO 4 – FORMAÇÃO DE NÓDULOS	28
ILUSTRAÇÃO 5 – ASSIMILAÇÃO DO NITROGÊNIO.....	29

LISTAS DE TABELAS:

TABELA 1 – ABUNDÂNCIA DOS ELEMENTOS	14
TABELA 2 – EXEMPLOS DE ORGANISMOS DE VIDA LIVRE	27
TABELA 3 – EXEMPLOS DE ORGANISMOS FIXADORES	28

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	11
2-NITROGÊNIO	12
2.1-OCORRÊNCIA	12
2.2-OBTENÇÃO	12
2.3-APLICAÇÕES	13
2.4- REATIVIDADE	14
2.5 -PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS	15
3- CICLO DO NITROGÊNIO	16
3.1- AMÔNIA	17
3.2- AMONIFICAÇÃO	19
3.3- NITRIFICAÇÃO	20
3.4- ASSIMILAÇÃO DO NITROGÊNIO	20
3.5- FORMAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS	21
3.6- OUTROS COMPOSTOS NITROGENADOS	22
3.7- PERDA DE NITROGÊNIO NO SOLO	23
3.8- FIXAÇÃO DO NITROGÊNIO NO SOLO	24
3.9- MICROORGANISMOS FIXADORES DE NITROGÊNIO	26
4- APLICAÇÃO DO NITROGENIO NA AGRICULTURA	30
4.1- A DINÂMICA DO NITROGÊNIO NO SISTEMA AGRÍCOLA	31
4.2- A SIMBIOSE COM AS GRAMÍNEAS	32
4.3- FIXAÇÃO SIMBIÓTICAS DE NITROGÊNIO EM LEGUMINOSAS	33
4.4- DINÂMICA DO NITROGÊNIO NO ECOSSISTEMA NATURAL	34
4.5- FERTILIZANTES	35
4.6- REAÇÃO DA SOLUÇÃO DO SOLO	36
4.7- UMIDADE DO SOLO	37
5- NITROGENIO E O MEIO AMBIENTE	41
5.1- SUBSTÂNCIAS QUE AFETA O AQUECIMENTO GLOBAL	41
5.2- ÓXIDO NITROSO	41

6- NITROGÊNIO EM ÁGUAS	44
6.1- ÁGUAS NATURAIS	44
6.2- NITRATOS E NITRITOS EM ALIMENTOS	44
6.3- NITROSAMINAS NOS ALIMENTOS E NA ÁGUA.	46
6.4-CONTAMINAÇÃO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS	46
7- FIXAÇÃO BIOLÓGICA E ASSIMILAÇÃO DE NITROGÊNIO	50
7.1- <i>FRANKIA</i> E AS PLANTAS <i>ACTINORRIZAS</i>	51
7.2- CIANOBACTERIAS E SUAS ASSOCIAÇÕES	52
7.3- A NITROGENASE E A REAÇÃO DE FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO	54
7.4.1-Organismos Fixadores de Vida Livre	55
7.4.2- organismos fixadores que Formam Associações	55
7.5- ASSIMILAÇÃO DO NITROGÊNIO	56
7.5.1- Assimilação de NH_4^+ Produzindo Nódulos	56
7.5.2- Assimilação do NH_4^+ Absorvido do solo	57
7.5.3- Assimilação de NO_3^- Absorvido do solo Pelas Raízes	57
8- APLICAÇÃO DO NITROGÊNIO NA MEDICINA	58
8.1- CONCLUSÃO	63
9- CONCLUSÃO	67
10- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

1. INTRODUÇÃO

O elemento nitrogênio que pertence ao grupo 15 da tabela periódica, é um ametal pouco reativo que forma um gás inerte, porém em combinação com ele mesmo, em combinação com outros elementos ele pode ser tanto necessário como perigoso.

Lavoisier , químico francês, considerado o criador da Química Moderna, foi o primeiro a reconhecer que se tratava de um elemento químico independente e a indentifica-lo em certos compostos minerais, deu-lhe o nome de azoto(do grego a “sem” , e zoe, “vida”) em razão de sua incapacidade para manter e alimentar a combustão.O nome nitrogênio foi criado em 1790, por Jean-Antoine Chaptal, após a descoberta de sua relação com o ácido nítrico.

A forma natural de mantê-lo é através do seu ciclo onde o Nitrogênio circula no ar é absorvido pelas plantas e vai para o solo, os processos são: nitrificação, amonificação e assimilação. Ele volta para a atmosfera e fecha o seu ciclo natural.

O nitrogênio é essencial para a vida da humanidade. Ele tem várias aplicabilidades, as principais são: Agricultura (crescimento das plantas e fertilizantes e manutenção do seu ciclo natural), medicina (criocirurgia), meio ambiente (aquecimento global- efeito estufa), água (contaminação da água), esses serão os temas abordados de forma clara ao longo desse trabalho.

2. O NITROGÊNIO

O nitrogênio é um ametal do grupo 15 ou família VA da tabela periódica, de símbolo químico **N**. Apresenta dois isótopos estáveis e forma o gás nitrogênio (N_2), insípito, inodoro e incolor. Por sua alta energia de ligação, o nitrogênio molecular não reage facilmente com outras substâncias e, sob condições normais, é relativamente inerte á maioria dos reagentes. O nitrogênio difere dos demais elemento do grupo pelo fato de formar ligações múltiplas forte. Por causa disso, ele forma diversos compostos que não possuem análogos no caso dos demais elementos.

2.1: OCORRÊNCIA

Embora o nitrogênio constitua 78% da atmosfera terrestre, ele não é um elemento abundante na crosta terrestre, (é o 33° em ordem de abundância relativa). Todos os nitratos são muito solúveis em água, de modo que não são comuns na crosta terrestre, embora sejam encontrados depósitos em algumas regiões desérticas. O maior deles é um cinturão de cerca de 720 km de extensão ao longo do litoral norte do Chile, onde $NaNO_3$ (salitre do Chile) é encontrado combinado com pequenas quantidades de KNO_3 , $CaSO_4$ e $NaIO_3$, debaixo de uma fina camada de areia ou solo. Tratava-se de maior fonte de nitratos até a I Guerra Mundial, quando foram desenvolvidos processos sintéticos para a produção de nitratos a partir do nitrogênio da atmosfera. Um grande depósito de salitre KNO_3 ocorre na Índia.

2.2: OBTENÇÃO

O nitrogênio é um constituinte essencial de proteínas e aminoácidos (a composição média de uma proteína é C=50%, O= 25%, N=17%, H=7%, S=0,5%, P=0,5% em peso). Nitratos e outros compostos de nitrogênio são muito utilizados como fertilizantes e em explosivos. No início deste século, o $NaNO_3$ foi muito importante como fertilizante. Guano de morcegos também foi muito importante, trata-se de excremento de morcegos encontrados em grandes quantidades nas cavernas em

rochas de calcária, existentes em Kentucky, (Tennessee e Carlsbad/New México, EUA). Nos últimos 50 anos essas fontes naturais foram substituídas pelo NH_3 e NH_4NO_3 , obtidos pelas gigantescas indústria da amônia e nitratos sintéticos.(LEE 1999).

2.3: APLICAÇÕES

O gás nitrogênio é usado em grandes quantidades como atmosfera inerte. Isso ocorre principalmente na indústria do ferro e do aço e outras indústrias metalúrgicas, e nas refinarias de petróleo, na limpeza das tubulações e dos reatores de craqueamento catalítico e reforma. O nitrogênio líquido é usado como agente refrigerante. Grandes quantidades de N_2 são consumidas na fabricação da amônia e da cianamida do cálcio. O N_2 é obtido em escala mundial, liquefazendo-se o ar e então realizando a destilação fracionada do mesmo. O N_2 tem ponto de ebulição menor que o O_2 , saindo antes que o O_2 da coluna de destilação. Seis gases industriais são obtidos dessa maneira: N_2 , O_2 , Ne, Ar, Kr e Xe. Uma análise típica do ar é mostrada na Tab.1.

A produção mundial de N_2 está crescendo rapidamente e ultrapassa 60 milhões de toneladas/ano (isso se deve principalmente ao fato do O_2 líquido ser essencial nos modernos processos de obtenção do aço, mas o N_2 é produzido simultaneamente. Cerca de dois terços do N_2 é vendido na forma de gás. Este pode ser comprimido em cilindros de aço, ou conduzido através de gasodutos ao local de consumo. O nitrogênio obtido dessa maneira sempre contém pequenas quantidades de oxigênio e dos gases nobres como impurezas. Geralmente, o N_2 comercial contém até 20 ppm de O_2 . O nitrogênio "isento de oxigênio" contém até 2 ppm de O_2 e o nitrogênio ultrapuro é isento de oxigênio, mas pode conter até 10 ppm de argônio.

Tab.1 – Abundância dos elementos na crosta terrestre, em peso.

Elemento	ppm	abundância relativa
N	19	33°
P	1.120	11°
As	1,8	52°
Sb	0,2	64°
Bi	0,008	71°

FONTE: LEE pág.237

Um cilindro de N₂ é uma fonte usual de nitrogênio nos laboratórios, mas amostras de gás podem ser obtidas a partir do aquecimento do nitrito de amônio. O N₂ também é obtido na oxidação da amônia, por exemplo um hipoclorito de cálcio, água de bromo ou CuO. Pequenas quantidades de N₂ muito puro podem ser obtidas aquecendo-se cuidadosamente o azoeto de sódio, NaN₃, a cerca de 300°C. A decomposição de ar empregados como dispositivos de segurança em veículos(Air-bags).(LEE 1999).

2.4: REATIVIDADE

O nitrogênio é bastante inerte e por isso acumulou-se em tão grandes quantidades na atmosfera.Boa parte do nitrogênio reativo produzido pelo homem vem da produção de nitrogênio para uso em fertilizantes sintéticos e indústria.

Nitrogênio reativo também é gerado como subproduto da combustão de combustíveis fósseis e por algumas lavouras e árvores (que fixam nitrogênio) em agroecossistemas. A variação da taxa natural de fixação de nitrogênio por bactéria nos

ecossistemas naturais terrestres (excluindo fixação em agroecossistemas) é mostrada para fins de comparação. A atividade humana produz hoje quase o mesmo volume de nitrogênio reativo que os processos naturais nos continentes.(LEE 1999).

2.5. PROPRIEDADES FISICAS E QUIMICAS

Numero atômico: 7

Peso atômico: 14,0067

Ponto de fusão: -210°C

Ponto de ebulição: -195,8°C

Densidade(20°): 1,250 g/l

Estados de oxidações: -3 ,+3 ,+5.

Configuração eletrônica: $1s^2 2s^2 2p^3$.

3. CICLO DO NITROGÊNIO

As plantas requerem certo número de elementos além do que obtém diretamente da atmosfera (carbono e oxigênio sob a forma de dióxido de carbono) e da água do solo

(hidrogênio e oxigênio). Todos estes elementos, com exceção de um, provêm da desintegração das rochas e são captados pelas plantas a partir do solo. A exceção é o nitrogênio, que representa 78% da atmosfera terrestre. Embora as rochas das superfícies terrestres constituam também a fonte primária de nitrogênio, este penetra no solo, indiretamente por meio da atmosfera e através do solo, penetra nas plantas que crescem sobre ele.

Entretanto a maioria dos seres vivos é capaz de utilizar o nitrogênio atmosférico para sintetizar proteínas e outras substâncias orgânicas (ao contrário do carbono e do oxigênio, o nitrogênio é muito pouco reativo do ponto de vista químico, e apenas certas bactérias e algas azuis possuem a capacidade altamente especializada de assimilar o nitrogênio da amostra e converte-lo numa forma que pode ser usada pelas células. A deficiência de nitrogênio utilizável constitui muitas vezes, o principal fator limitante do crescimento vegetal.

O processo pelo qual o nitrogênio circula através das plantas e do solo pela ação de organismos vivos é conhecido como *ciclo do nitrogênio*

Fig. 1. Ciclo do Nitrogênio

FONTE: www.ufpa.br/ccen/quimica/laboratorio

3.1: A AMÔNIA:

O átomo central é o N, possui cinco elétrons na camada de valência, três desses elétrons estão sendo utilizados para formar ligações com três átomos de H e dois elétrons não participantes da ligação, formando um par isolado. Logo, a camada de Valência tem oito elétrons, ou seja, três pares ligantes e um par isolado. Quatro pares eletrônicos dão origem a uma estrutura tetraédrica. Mas nesse caso três posições são ocupadas por átomos de H e a quarta posição é ocupada pelo par isolado. A forma da molécula de NH_3 pode ser descrita como tetraédrica, com um dos vértices ocupados por um par isolado, ou com um dos piramidal. A presença do par isolado, provoca uma distorção do ângulo de $109^\circ 28'$ para $107^\circ 48'$. O NH_3 é um gás incolor de odor pungente. O gás é bastante tóxico e se dissolve facilmente em água liberando calor (Reação exotérmica). A 20°C e uma atmosfera de pressão, 53,1 g de NH_3 se dissolvem em 100 g de água. Isso ocorre a 702 volumes de NH_3 dissolvendo-se em 1 volume de água. Em solução, a amônia forma hidróxido de amônio, NH_4OH , comportando-se como uma base fraca. (LEE 1999).

Tanto o NH_3 como o NH_4OH reagem com ácidos, formando sais de amônio. Esses sais se assemelham aos sais de potássio no que se refere à solubilidade e à estrutura cristalina. Como os sais dos elementos do Grupo 1, os sais de amônio são tipicamente incolores. Há algumas diferenças entre eles. Os sais de amônio geralmente são fracamente ácidos se tiverem sido formados a partir de ácidos fortes, como HNO_3 , HCl e H_2SO_4 , dado que o NH_4OH é uma base fraca. Os sais de amônio se decompõem facilmente quando aquecidos. Se o ânion não for particularmente oxidante (por exemplo, Cl^- , CO_3^{2-} , ou SO_4^{2-}), há liberação de amônia:

Se o ânion for mais oxidante (por exemplo, NO_3^- , NO_2^- , ClO_4^- , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), então o NH_4^+ é oxidado a N_2 ou N_2O .

O amônia queima em oxigênio com uma chama amarela pálida

A mesma reação ocorre no ar, mas o calor da reação é insuficiente para manter a combustão, a não ser que haja fornecimento de calor, por exemplo proveniente de uma chama de gás de cozinha. O amônia é preparado no laboratório aquecendo-se um sal de amônio com NaOH . Esse é o teste padrão para se detectar compostos de NH_4^+ no laboratório.

O NH_3 liberado pode ser detectado por:

- 1) seu odor característico.
- 2) tornar azul o papel de tornassol umedecido.
- 3) formar nuvens brancas e densas de NH_4Cl quando um frasco de HCl é aproximado.
- 4) formar um precipitado amarelo-alaranjado com o reagente de nessler.

Cerca de 75% da amônia são empregadas como fertilizantes(30% por aplicação) direta do gás NH_3 ou de NH_4OH do solo, 20% como $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ e 15% como uréia, 10% como fosfato de amônio e 3% com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Também é utilizado na:

- Fabricação de HNO_3 , o qual pode ser usado na preparação de NH_4NO_3 (fertilizantes) ou explosivos como a nitroglicerina, a nitrocelulose e o TNT. O HNO_3 tem ainda muitas aplicações, como:

- 1) Obtenção de caprolactana, que pode ser polimerizado formando o náilon-6.
- 2) Preparação de hexametilenodiamina, empregada na fabricação do náilon-66 de poliretana e de poliamidas.
- 3) Fabricação de hidrazina e hidroxilamina.

A amônia líquida é muitas vezes usada como um meio alternativo conveniente e econômico de transportar " H_2 ", e, vez de transportá-lo em cilindros de aço com gás H_2 comprimido. O H_2 é obtido a partir do NH_3 aquecendo-se na presença de um catalisador de Ni ou Ferro.

A amônia tem sido empregada como líquido refrigerante. O líquido tem um odor de vaporização muito elevado e pontos de ebulição e de pressão adequados. Devido aos riscos ao meio ambiente causados pelo uso dos freons em refrigerantes, o uso alternativo da NH_3 pode aumentar.

A produção mundial de NH_3 foi de 100 milhões de toneladas em 1992. A maior parte foi sintetizada a partir de H_2 e N_2 , pelo processo Haber-Bosch, mas uma parte foi obtida a partir da purificação do gás de carvão e durante a produção de coque a partir do carvão. A amônia também pode ser obtida pela hidrólise da cianamida de cálcio, CaNCN . A cianamida de cálcio é usualmente empregada como fertilizante, sendo que a reação de hidrólise ocorre lentamente no solo.

3.2: AMONIFICAÇÃO

Grande parte do nitrogênio encontrado no solo provém de materiais orgânicos mortos, nos quais existe sob forma de compostos orgânicos complexos, tais como proteínas, aminoácidos, ácidos nucléicos e nucleótides. Entretanto, estes compostos em substâncias mais simples por organismos que vivem nos solos. As bactérias saprófitas e várias espécies de fungos são os principais responsáveis pela

decomposição de materiais orgânicos mortos. Estes microorganismos utilizam as proteínas e os aminoácidos como fonte para suas próprias proteínas e liberam o excesso de nitrogênio sob a forma de amônio (NH_4^+). Este processo é denominado *amonificação*. O nitrogênio pode ser fornecido sob a forma de gás amoníaco (NH_3), mas este processo ocorre geralmente apenas durante a decomposição de grandes quantidades de materiais ricos em nitrogênio, como numa grande porção de adubo ou fertilizante. Em geral, a amônia produzida por amofinação é dissolvida na água do solo, onde se combina a prótons para formar o íon amônio.

3.3: NITRIFICAÇÃO

Várias espécies de bactérias comumente encontradas nos solos são capazes de oxidar a amônia ou amônio. A oxidação do amoníaco, conhecida como *nitrificação*, é um processo que produz energia e a energia liberada é utilizada por estas bactérias para produzir o dióxido de carbono, da mesma forma que as plantas autotróficas utilizam a energia luminosa para a redução do dióxido de carbono. Tais organismos são conhecidos como *autotrófos quimiossintéticos* (diferentes dos autotrófos fotossintéticos, como as plantas e as algas). As bactérias nitrificantes quimiossintéticas *Nitrosomonas* e *Nitrosococcus* oxidam o amoníaco dando nitrito (NO_2^-):

O nitrito é tóxico para as plantas superiores, mas raramente se acumula no solo. Nitrobacter, outro gênero de bactéria, oxida o nitrito, formando nitrato (NO_3^-), novamente com liberação de energia:

O nitrato é a forma sob a qual quase todo o nitrogênio se move do solo para o interior das raízes.

Poucas espécies vegetais são capazes de utilizar proteínas animais como fonte de nitrogênio. Estas espécies, que compreendem as plantas carnívoras, possuem adaptações especiais utilizadas para atrair e capturar pequenos animais. Digerem-se, absorvendo os compostos nitrogenados e outros compostos orgânicos e minerais, tais como potássio e fosfato. As plantas carnívoras em sua maioria são encontradas em

pântanos, que são em geral fortemente ácidos e, portanto, desfavoráveis ao crescimento de bactérias nitrificantes.

3.4: ASSIMILAÇÃO DO NITROGÊNIO

Uma vez que o nitrato se encontra no interior da célula, é novamente reduzido a amônia. Este processo de redução requer energia, em contraste com o processo de nitrificação, que envolve oxidação (do NH_4^+) e liberação de energia. Os íons amônio formados pelo processo de redução são transferidos a compostos carbonatos para produzir aminoácidos e outros compostos orgânicos nitrogenados. Este processo é conhecido como aminação. A incorporação do nitrogênio em compostos orgânicos ocorre, em grande parte, nas células jovens e em crescimento das raízes. As etapas iniciais do metabolismo do nitrogênio parecem ocorrer diretamente nas raízes, quase todo o nitrogênio que ascende no xilema do caule já se encontra sob a forma de moléculas orgânicas, principalmente aminoácidos.

3.5:FORMAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS:

Os aminoácidos formam-se a partir de íons, amônio e cetoácidos. Os cetoácidos são geralmente produtos da fragmentação dos açúcares. A figura abaixo mostra a reação global pela qual um cetoácido se combina ao amônio para formar um aminoácido. O principal aminoácido formado desta maneira é o ácido glutâmico (figura 2). O ácido glutâmico é o principal transportador de nitrogênio na planta.

Figura 2. Absorção do Nitrogênio por plantas noduladas e não noduladas.

FONTE:(BUCHMAM 2000)

Além dos aminoácidos produzidos pela aminação de um cetoácido, outros são formados por transaminação. A transaminação é a transferência do grupamento amino ($-\text{NH}_2$) de um aminoácido para um cetoácido, formando outro aminoácido. A figura abaixo mostra a formação da alanina pela transferência do grupamento amino do ácido glutâmico para o ácido pirúvico.

A planta, por aminação é a transaminação (figura 3) é capaz de sintetizar todos os aminoácidos necessários a partir do nitrogênio inorgânico. Os animais são capazes de sintetizar apenas cerca de 8 dos 20 aminoácidos necessários, devendo adquirir os outros por meio da alimentação. Por conseguinte, o mundo animal depende totalmente do reino vegetal para suas proteínas, bem como para seus carboidratos.

Figura. 3: Isoenzimas da GS e Gogat.

FONTE:(BUCHMAM 2000)

3.6: OUTROS COMPOSTOS NITROGENADOS:

Outros importantes compostos orgânicos nitrogenados incluem as nucleótides, tais como ATP, ADP, NAD e NADP: a clorofila e outras moléculas orgânicas semelhantes com anéis de porfirina: e os ácidos nucléicos ADN e ARN. Muitas das vitaminas, com o grupo das vitaminas B, contém nitrogênio. Estas substâncias, como os aminoácidos, podem ser sintetizadas pelas plantas a partir do nitrogênio inorgânico, mas devem ser obtidas das plantas pelos animais.

Outra grande diferença entre plantas e animais na manipulação do nitrogênio consiste na capacidade das plantas de reciclar o amoníaco ou o amônio. Os animais são incapazes de reciclar estes produtos de degradação do metabolismo do nitrogênio e, em consequência, os compostos nitrogenados são constantemente excretados na urina, fezes, suor e mesmo lágrimas. Embora ocorra alguma perda de nitrogênio nas folhas que caem das plantas, apenas pequenas quantidades dele são excretadas pelo corpo da planta. De fato, a excreção de grandes quantidades de materiais de degradação de qualquer espécie é apenas típica dos animais.

3.7: PERDA DE NITROGÊNIO NO SOLO

Conforme observamos, os compostos nitrogenados das plantas clorofiladas retornam ao solo com a morte das mesmas (ou dos animais que delas se alimentaram), sendo reprocessados pelos organismos e microrganismos do solo, absorvidos pelas raízes sob a forma de nitrato dissolvido na água do solo e reconvertidos em compostos orgânicos. Durante o decorrer deste ciclo verifica-se sempre uma “perda” de certa quantidade de nitrogênio, no sentido de se tornar inutilizável para a planta.

Uma das principais causas desta perda de nitrogênio é a remoção de plantas do solo. Os solos cultivados exibem freqüentemente um declínio constante no conteúdo de nitrogênio. O nitrogênio pode ser também perdido quando a parte superficial do solo é decapitada pela erosão ou quando sua superfície é destruída pelo fogo. O nitrogênio é também removido pela lixiviação; os nitratos e nitritos, que são ânions, mostram-se particularmente suscetíveis à lixiviação pela água que se infiltra através do solo. Em alguns solos, bactérias desnitrificantes decompõem os nitratos e liberam nitrogênio para o ar. Este processo que fornece à bactéria o oxigênio necessário para a respiração é dispendioso em termos de necessidades energéticas (isto é, o O_2 pode ser reduzido mais rapidamente que o NO_3^-) e ocorre extensamente apenas nos solos com deficiência de oxigênio, isto é, nos solos que são mal drenados e, portanto, pobremente arejados.

Algumas vezes, uma alta proporção do nitrogênio presente no solo não é disponível para as plantas. Esta imobilização ocorre quando existe excesso de carbono. Quando substâncias orgânicas ricas em carbono, mas pobres em nitrogênio,

a palha é um bom exemplo, se encontram em abundância no solo, os microrganismos que atacam estas substâncias precisarão de mais nitrogênio do que contêm a fim de utilizar totalmente o carbono presente. Em consequência, não utilizarão apenas o nitrogênio presente na palha ou material semelhante, mas também todos os sais de nitrogênio disponíveis no solo. Conseqüentemente, este desequilíbrio tende a normalizar-se à medida que o carbono é fornecido sob a forma de dióxido de carbono pela respiração microbiana, e à medida que aumenta a proporção entre nitrogênio e carbono no solo.

3.8:FIXAÇÃO DO NITROGÊNIO NO SOLO

Conforme podemos ver, se todo o nitrogênio que é removido do solo não fosse constantemente reposto, praticamente toda a vida neste planeta desapareceria finalmente. O nitrogênio é reabastecido no solo pela fixação do nitrogênio (figura4).

A fixação do nitrogênio é o processo pelo qual o nitrogênio gasoso do ar é incorporado em compostos orgânicos nitrogenados e, assim, introduzido no ciclo do nitrogênio. A fixação deste gás, que pode ser efetuada, em graus apreciáveis, por apenas algumas bactérias e algas azuis, é um processo do qual dependem atualmente todos os organismos vivos, da mesma forma que todos eles dependem, em última análise, da fotossíntese para a obtenção de energia.

Uma a duas centenas de milhões de toneladas métricas de nitrogênio são acrescentadas à superfície terrestre a cada ano pelos sistemas biológicos. O homem produz 28 milhões de toneladas métricas, cuja maior parte é utilizada como fertilizantes; no entanto, este processo é efetuado com alto custo energético em termos de combustíveis fósseis. A quantidade total de energia necessária para a produção de fertilizantes de amônio é atualmente estimada como equivalente a 2 milhões de barris de óleo por dia. De fato, calcula-se que os custos da fertilização com nitrogênio estão atingindo o ponto de lucros decrescentes. As culturas tradicionais em áreas tais como a Índia não atingem uma produção significativamente aumentada com a utilização de fertilizantes com nitrogênio, tendo baixas necessidades deste elemento, mas estão sendo atualmente substituídas por “cereais milagrosos” e outras culturas que não

produzem mais com fertilização com nitrogênio - justamente numa época em que tal tratamento está se tornando proibitivamente dispendioso.

Das várias classes de organismos fixadores de nitrogênio, as bactérias simbióticas são, incomparavelmente, as mais importantes em termos de quantidades totais de nitrogênio fixado. A mais comum das bactérias fixadoras de nitrogênio é *Rhizobium*, que é um tipo de bactéria que invade as raízes de leguminosas (angiospermas da família *Fabaceae* ou *Leguminosae*), tais como trevo, ervilha, feijão, ervilhaca e alfafa.

Os efeitos benéficos das leguminosas sobre o solo são tão óbvios que foram reconhecidos há centenas de anos. Teofrasto, que viveu no terceiro século a.C. escreveu que os gregos utilizavam culturas de feijão para enriquecer os solos. Nos locais em que as leguminosas crescem, certa quantidade de nitrogênio “extra” pode ser liberada para o solo, onde se torna disponível para outras plantas. Na agricultura moderna constitui prática comum alternar uma cultura não leguminosa, como o milho, com uma leguminosa, como a alfafa. As leguminosas são então colhidas para feno deixando as raízes ricas em nitrogênio, ou ainda melhor, são aradas novamente no campo. Uma boa colheita de alfafa, que é recolocada no solo, pode fornecer 450 quilogramas de nitrogênio por hectare. A aplicação dos elementos vestigiais, cobalto e molibdênio, exigidos pelas bactérias simbióticas, incrementa grandemente a produção de nitrogênio se estes elementos estiverem presentes em quantidades limitantes, como em grande parte da Austrália. Os processos químicos capazes de fixar o nitrogênio atmosférico incluem o processo haber-Bosch(síntese da amônia) e a formação da cianamida de cálcio. Ambos envolvem o uso de elevadas temperaturas e pressões. As bactérias fixam o nitrogênio felizmente á temperaturas e pressão atmosférica, mas o homem necessita de dispendiosas instalações e o emprego de altas temperaturas e pressões para fazer o mesmo.(LEE 1999).

3.9: MICRORGANISMOS FIXADORES DE NITROGÊNIO DE VIDA LIVRE

A distinção entre fixação do nitrogênio por organismos de vida livre e simbióticos pode não ser tão rigorosa como se pensava tradicionalmente. Alguns micróbios

ocorrem regularmente no solo, ao redor das raízes de certas plantas que eliminam carboidratos, consumindo estes compostos e, ao mesmo tempo, fornecendo indiretamente nitrogênio para as plantas. As associações simbióticas entre bactérias normalmente de vida livre, como *Azotobacter*, e as células de plantas superiores em culturas de tecido induziram seu crescimento num meio artificial carente de nitrogênio. (BUCHANAN, GRUÍSSEM 2000).

Tabela2. Exemplos de Organismos de Vida Livre Fixadores de Nitrogênio.

Bactérias Autotróficas	Bactérias Heterotróficas
<i>Thiobacillus ferroxidans</i>	<i>Clostridium pasteurianum</i>
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	<i>Klesbissella pneumoniae</i>
<i>Klesbissella pneumoniae</i>	<i>Azobacter vinelandii</i>

FONTE:ADAPTADO DE SMITH & GALON 1993.

A fixação biológica do nitrogênio é realizada por determinados procariontes denominados organismos fixadores de nitrogênio, que possuem a enzima nitrogenase. Os organismos fixadores podem ser de vida livre (Tabela.2) ou viverem em associações (Tabela.3).

A fixação de nitrogênio efetuada pelos organismos de vida livre está estimada em menos de 5 kg/ha/ano. Nesse grupo encontram-se bactérias autotróficas e heterotróficas, as quais distinguem-se quanto à eficiência do processo de fixação. Destacam-se as cianobactérias ou cianofíceas (*Gloeotheca*, *Oscillatoria*, *Plectonema*, *Anabaena*, *Nostoc*) que realizam a fotossíntese de uma maneira muito semelhante aos vegetais superiores, havendo a liberação de O₂.

As associações entre organismos fixadores e eucariontes serão estudadas a seguir. A relação Rhizobiaceae-leguminosas é a mais conhecida e talvez a mais importante das associações. Ver tabela 3.

Tabela 3: Exemplos de organismos fixadores de nitrogênio que formam associações.

PROCARIOTES FIXADORES	EUCARIONTES ASSOCIADOS
- Rhizobiaceae	- Leguminosas
<i>Azorhizobium</i>	<i>Papilionoideae</i>
<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Caesalpiniodade</i>
<i>Rhizobium</i>	<i>Mimosoideae</i>
- Actinomycetales	- Plantas Actinorsizas
<i>Frankia</i>	<i>Elaeagnus, Myrica</i>
- Cianobactérias	<i>Angiosperma (Gunnera)</i>
<i>Anabaena, Nostoc</i>	
<i>Azospirillum Beijerinckia</i>	

FONTE: ADAPTADO DE GIBSON, 1990 & DE SMITH & GALLON, 1993.

Figura. 4 : Formação do nódulo

FONTE: (BUCHMAM ET AL 2000)

Figura. 5: Assimilação do Nitrogênio por organismo fixador do N_2 .

FONTE: (BUCHMAM ET AL 2000)

4. APLICAÇÃO DO NITROGÊNIO NA AGRICULTURA

As bactérias não simbióticas dos gêneros *Azotobacter* e *Clostridium* são capazes de fixar o nitrogênio. *Azotobacter* é aeróbico, ao passo que *Clostridium* é anaeróbico; ambas são bactérias saprófitas comuns encontradas no solo. Calcula-se que elas fornecem provavelmente cerca de 7 quilogramas de nitrogênio por hectare de solo por ano. Outro grupo importante inclui muitas bactérias fotossintéticas. As algas azuis de vida livre desempenham também um papel importante na fixação do nitrogênio. São cruciais para o cultivo do arroz, que constitui a principal dieta de mais da metade da população mundial. As algas azuis podem desempenhar também um importante papel ecológico na fixação do nitrogênio nos oceanos.

O nitrogênio é um nutriente que apresenta outras peculiaridades que dificultam ainda mais o seu manejo, originadas das múltiplas e complexas reações bioquímicas a sua dinâmica, disponibilidade e eficiência no aproveitamento pelas plantas.

Alguns conceitos fundamentais sobre as transformações no solo e a relação com a matéria orgânica, devem ser conhecidos para o entendimento e a implementação de um manejo adequado em função dos diferentes sistemas de produção agrícola.

As plantas, com exceção das leguminosas e de outras espécies vegetais que fixam o nitrogênio molecular (N_2) em simbiose com microorganismos, absorvem o nitrogênio mineral, principalmente nas formas nítrica (NO_3^-) e amoniacal (NH_4^+), enquanto o solo predominam a forma orgânica ($RCOOH-NH_2$), o que implica necessariamente na ocorrência da seguinte transformação:

4.1. A DINÂMICA DO NITROGÊNIO NO SISTEMA AGRÍCOLA

Nos diferentes sistemas de produção as formas minerais de nitrogênio, nítrica ou amoniacal, são provenientes das ações dos microorganismos do solo, pelos processos de amonificação e nitrificação. A amonificação é um processo inevitável, que ocorre em quaisquer condições ecológicas pois resulta da intervenção de uma grande diversidade de microorganismos, entre os quais destacam-se várias espécies de bactérias, actinomicetos e fungos.

Como o **N** orgânico do solo ocorre em maior proporção como um complexo ligno-proteico, pode representar as transformações do mesmo adotado uma proteína como modelo, a qual é submetida inicialmente a aminação, aminizando ou proteólise, conforme esquematizado:

Na seqüência ocorre a amonificação propriamente dita, corresponde a uma desaminação hidrolítica (MALAVOLTA 1892), ou seja:

Ao término do processo a amônia liberada, poderá ser transformada em amônio (NH_4^+), conforme esquema a seguir:

O amônio formado serve de substrato para um grupo específico de microorganismo, as bactérias nitrificantes que o utilizam para a obtenção de energia metabólica. Esse processo denominado de nitrificação, dá-se em duas etapas : a nitrificação, através da atividade de bactérias do gênero nitrosomas, e a nitrificação desencadeado por bactéria do gênero nitrobacter, cujo substrato é o nitrito (NO_2^-) produzido na etapa anterior, que será finalmente oxidado a nitrato (NO_3^-), descrito na ordem:

A nitrificação é um processo biológico realizado por um grupo específico de microorganismos, as bactérias nitrificantes, com particularidades que a diferem da amonificação , pois, para a sua viabilização em níveis adequados exige condições ambientais bem definidas conforme tratado a seguir.

4.2: A SIMBIOSE COM AS GRAMÍNEAS

Algumas gramíneas de interesse econômico, como milho, arroz e trigo, podem estar associadas com bactérias do gênero *Azospirillum*. Outros exemplos importantes seriam a associação de bactérias do gênero *Beijerinckia* com cana-de-açúcar, *Azobacter paspali* com a gama batatais (*Paspalum notatum*) e determinados cultivares de trigo com espécies do gênero *Bacillus*.

Nessa simbiose não ocorre aparentemente, a invasão dos tecidos vegetais pela bactéria e nem a formação de uma estrutura especializada para fixação do nitrogênio e transferem o NH_4^+ para a planta.

Trabalhos realizados com trigo em associações com *Azospirillum* evidenciaram que as bactérias ligam-se à superfície externa da raiz para colonizar a rizosfera. Além disso, certos estudos realizados com aplicação de $^{15}\text{N}_2$ (nitrogênio atmosférico radioativo) demonstraram que ocorre a passagem de produtos nitrogenados da bactéria para a planta. Esses dados confirmam a existência de uma interação estreita entre planta e bactéria fixadora.

4.3: FIXAÇÃO SIMBIÓTICA DE NITROGÊNIO EM LEGUMINOSAS

Os efeitos benéficos promovidos pelo crescimento de plantas leguminosas no solo têm sido observados por séculos. De fato, em locais nos quais plantas leguminosas crescem, algum nitrogênio extra pode ser liberado no solo, tornando-se disponível para outros vegetais. Na agricultura moderna, é prática comum fazer a rotação de uma planta cultivada não leguminosa, como milho, como uma leguminosa, como a alfafa. Por vezes utiliza-se a rotação milho, soja e então trigo. Quando as leguminosas são colhidas, suas raízes ricas em nitrogênio permanecem no solo, enriquecendo-o.

A mineração do N – Orgânico depende principalmente dos teores relativos de C,N,S e P da matéria orgânica e das atividades microbianas, as quais estão associadas as condições ambientais como: temperatura, umidade, aeração e pH da solução do solo. O processo inverso, no qual o N - mineral, oriundo da decomposição da Matéria Orgânica, é transformado em compostos orgânicos participando da composição de plantas ou microorganismos, após a sua incorporação, é denominado de imobilização. Os dois processos descritos, na realidade ocorrem simultaneamente, podendo ambos serem englobados e apresentados conforme a expressão:

Sendo essa expressão de equilíbrio, conclui-se que as características do meio, assim com alterações dessas características deslocam o equilíbrio para uma das

direções. Ou seja, sempre haverá situações em que a mineração pode ser maior, menor ou igual a imobilização e vice-versa.

4.4.DINÂMICA DO NITROGÊNIO NO ECOSSISTEMA NATURAL

Partindo do pressuposto que o ecossistema natural encontra-se em equilíbrio dinâmico é aceitável admitir-se que a perda de matéria por exemplo de nitrogênio, se ocorrer, é insignificante, senão como poderia ser explicado a sustentabilidade do sistema ao longo dos séculos sem a interferência do homem tempo.

Neste sistema, o nitrogênio contido na forma orgânica ($R - COOHNH_2$) é pelos organismos amonificadores na forma de amônia (NH_3) produzindo concomitantemente uma grande quantidade de ânions orgânicos ($R - COO^-$).

Como a natureza os solos tropicais são naturalmente ácidos, a disponibilidade de umidade, permite a continuidade do ciclo do nitrogênio não ocorrendo acúmulo da forma NH_3 devido a reação com a água. Passando para a forma amoniacal (NH_4^+), liberando no ambiente íons hidroxila (OH^-), conforme esquematizado a seguir:

Nas condições naturais em meios ácidos, predomina a forma e a absorção de nitrogênio amoniacal (NH_4^+) que para a manutenção do equilíbrio de cargas elétricas a planta excreta íons hidrogênio (H^+) pelas raízes.

A ocorrência desse fenômeno induz acreditar que haveria uma intensificação de acidificação da área. Entretanto, tal fato não ocorre devido a presença de grande quantidade de íons ânions orgânicos ($R-COO^-$) bem como pela neutralização proporcionadas pela hidroxila resultante da amonificação e da excreção pelas raízes

originada da absorção de N-NO_2^- . Da reação e os ácidos orgânicos solúveis de baixo peso molecular (pH alcalino).

Devido a existência de espécies de bactéria nitrificantes mesmo em pH ácido, parte do nitrogênio amoniacal (NH_4^+) será transformado para forma nítrica, resultando na liberação de íons H^+ na solução do solo. Nas condições descritas, em meio ácido, o processo de nitrificação é pouco significativo não devendo ocorrer perdas de matéria do sistema, na forma de N-NO_2^- , na maior mobilidade que a forma N-NH_4^+ devido a grande biomassa de raízes para absorvê-lo, bem como pela intensa atividade da massa microbiana incorporando-o novamente na forma orgânica.

A absorção na forma nítrica, pelo motivo apresentado anteriormente levará a excreção pelas plantas de íons bicarbonato (HCO_3^-) e hidroxila (OH^-), os íons H^+ formados durante a nitrificação, e também liberados pela absorção de NH_4^+ , impedindo que haja intensificação de acidificação do sistema.

Da análise da dinâmica do nitrogênio no ecossistema natural pode-se depreender indicações para o manejo eficiente do nutriente nos diferentes sistemas de produção agrícola, merecendo destaque:

- 1º) o predomínio do processo de amonificação em relação à nitrificação,
- 2º) a reação ácida da reação do solo, e,
- 3º) a oferta constante de ânions orgânicos de baixo peso molecular.

4.5. FERTILIZANTES

Os fertilizantes para fins agrícolas contém normalmente três ingredientes principais, um deles é o nitrogênio numa forma combinada (geralmente nitrato de amônio, outros sais de amônio ou nitratos, ou uréia). O nitrogênio é essencial para o crescimento das plantas, principalmente das folhas, já que ele é um constituinte dos aminoácidos e das proteínas, necessárias para a produção de novas células. O uso generalizado de nitratos como fertilizantes provocou um grande aumento nas colheitas. Como são solúveis, as águas que escorrem para os lagos e rios também contém nitratos. Isso causa diversos problemas:

1) Provoca crescimento anormal de algas e outras plantas aquáticas é prejudicial pois provocam uma doença nos bebês denominado metomoglobinemia, que reduz a quantidade de oxigênio no sangue. Em casos extremos isso provoca “Síndrome do sangue azul”. Também há suspeitas de que os nitratos estejam relacionados ao câncer de estômago. Por causa disso, alguns países fixaram o limite de 25 ppm de nitratos na água potável. É possível que a desnitrificação produzindo óxidos de nitrogênio, como o N_2O possa prejudicar até mesmo a camada de ozônio. (LEE 1999).

4.6. REAÇÃO DA SOLUÇÃO DO SOLO

Quando a influência do pH do solo sobre os microorganismos verifica-se que a atividade dos amonificadores é indiferente à reação a solução, entretanto, a atividade dos nitrificadores é extremamente dependente do pH.

A intensidade da nitrificação é maior quando o pH da água é próximo da neutralidade, o que justifica o efeito da calagem sobre o fenômeno (CAMARGO et al., 1968). Embora a nitrificação seja beneficiada por valores de pH próximos da neutralidade, o processo é acidófilo, particularmente na primeira fase da nitrificação. A calagem eleva o pH, que estimula as atividades das bactérias nitrificantes, responsável junto com os fertilizantes nitrogenados pela reacidificação do solo.

Aparentemente há um paradoxo, não estaria o homem, neste aspecto, agindo de maneira contrária a natureza?

A análise do sistema sugere que o processo agrícola seria beneficiado se fosse desenvolvido em solos com pH mais ácidos, não tão próximos da neutralidade. Nestas condições poderia ser utilizado qualquer fonte nitrogenada, com benefício para a matéria orgânica do solo, pois intensificaria a sua mineralização, obtendo maior teor de C- orgânico em equilíbrio, os riscos de contaminação dos recursos hídricos pelo nitrato seriam bem menores, predominando a forma de $N-NH_4^+$. Outra vantagem de um ambiente mais ácido é o aproveitamento dos micronutrientes metálicos existentes no solo ou fornecidos via adubação.

Para a fixação biológica de nitrogênio, a calagem deve ser também realizada com critério, pois a elevação demasiada do pH aumenta consideravelmente a proporção actinomicetos no solo, organismos produtores de antibióticos que podem inibir o estabelecimento do rodízio (FRANCO , DOBEREINER 1988).

4.7.UMIDADE DO SOLO

Entre as condições ambientais abordadas, a umidade do solo influencia grandemente as atividades microbiológicas e consequentemente a dinâmica do nitrogênio.

As plantas de interesse agrícola, na sua maioria, sofrem murchamento quando a tensão da água atinge valor próximo de 15atm, enquanto que, um grande número de microorganismos ainda continuam ativos. Essa atividade é explicável, em parte, pela elevada pressão osmótica de muitas espécies microbianas, e também pela maior absorção de água pela massa protoplasmática, comparativamente às plantas.

Para os actinomicetos e os fungos a tensão de água não é tão crucial pois desenvolvem-se mesmo quando a tensão supera o ponto de murcha permanente, indica que a nitrificação não é comprometida em solos ressecados , podendo ocorrer acúmulo de N-amoniacal. Já as bactérias nitrificantes, são mais exigentes, paralisando suas atividades quando a tensão da água no solo aproxima-se do nível de 15atm (LOURES 1988).

Nas associações leguminosa e rizóbio a deficiência de umidade diminui a infecção dos pêlos absorventes e o crescimento dos nódulos. Outro efeito constatado é a influência na interação planta-rizóbio afetando a transferência de carboidratos para a atividade também o transporte de produtos contendo nitrogênio dos nódulos para a planta.

Considerando as condições ambientais que influenciam as atividades dos microorganismos do solo e o ciclo do nitrogênio, pode-se afirmar que a forma amoniacal (NH_4^+) estará presente , desde que o pH do meio não intensifique a volatilização como amônia ou estimule a sua transformação para a forma crítica.

As indicações da natureza são no sentido de não estimular a nitrificação resultando em vantagens para o sistema de produção agrícola. Para tanto, o uso com critério da calagem, sem elevar excessivamente o pH do solo, é uma alternativa viável, já que os fatores como a aeração e a umidade, que também influenciam a nitrificação, se reduzidas afetariam a nitrificação, se reduzidas afetariam sobremaneira as culturas agrícolas. Esta opção tem sustentação empírica, através das evidências observadas em regiões de Cerrado, que continuam a hipótese, pois a atividade com a saturação por bases variado entre 40 a 50% e o pH H₂O da solução entre 5,0 a 5,5, sugerindo que o assunto merece novas pesquisas, principalmente em solos com predominância de argilas sesquioxídicas de elevado ponto de carga zero (PCZ) e baixa CTC efetiva.

Outra possibilidade para diminuir a nitrificação consiste na utilização de resíduos vegetais com relação C/N maior que 30, pois, nestas condições o processo é reduzido drasticamente devido ao estímulo à imobilização do N-mineral. Esse processo poderá, momentaneamente, implicar em deficiência do elemento para a cultura, conforme estudo desenvolvido sobre a dinâmica de nitrogênio, verificando que a imobilização sob plantio direto pode ser acentuada pela relação C/N (SALET 1994), ou ainda, por altas relações C/S e C/P conforme observado em condições de colheita de "cana crua".

Diferente do que ocorre no ecossistema natural, onde os processos de mineralização e imobilização estão em equilíbrio, no sistema agrícola convencional a mineralização é freqüentemente superior a imobilização, exceto após o preparo do solo, enquanto que sobre o plantio direto, a imobilização poderá ser prolongada em relação ao modelo convencional, devido a persistência do resíduo na superfície com decomposição mais lenta do que quanto incorporado.

A princípio, a imobilização não deve ser motivo de maiores preocupações, pois não há grandes dificuldades para contornar a carência provisória do nutriente, bastando para tanto fornecer nitrogênio em quantidade adequada e suficiente na implantação da cultura, reforçando a tese da necessidade de maior suplementação do elemento no sulco de plantio. Essa conclusão pode ser estendida para o sistema convencional, considerando nesse caso a mineração será amplificada pela incorporação do resíduo no solo, aumentando a superfície de contato entre ambos, bem

como a aeração do ambiente, favorecendo grandemente a atividade microbiana.

Do exposto, quando no sistema for realizado o cultivo de um adubo verde, o mesmo deve ser mantido em superfície e jamais incorporá-lo ao solo. Cabe mencionar aspectos fisiológicos que concorrem para incentivar a utilização de maiores doses de nitrogênio no sulco do plantio. Primeiro, a eficiência na absorção do elemento é superior no estágio inicial das plantas de milho (MEGEL, BARBER 1974), cujo fluxo de nitrogênio através das raízes (unidade de comprimento), nos primeiros 20 dias após emergência foi de $226,9 \text{ mmol.m}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, reduzido sensivelmente para $32,4 \text{ mmol.m}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ aos 30,40,50 e 60 dias, respectivamente. A diminuição da eficiência por unidade de comprimento das raízes em função da idade pode ser compensada pelo maior tamanho das mesmas. No entanto, este fato pode ser comprometido por inúmeros impedimentos de natureza física, química e biológica, comuns nos sistemas agrícolas, impedindo o crescimento radicular na proporção necessária para compensar a diminuição da eficiência. Ressalta-se que a alocação de carboidratos para o crescimento radicular implica na competição entre as partes da planta, em especial da parte aérea, podendo diminuir o saldo de fotossimilados para o desempenho do processo produtivo (FAVARIN, GEOGET 1998).

Outro aspecto fisiológico que merece referência é a importância do hormônio que merece referência é a importância do hormônio citocinina para as divisões celulares e o desenvolvimento do câmbio, biossintetiza nas regiões meristemáticas, nos quais os ápices radiculares são os locais de maior importância para a sua síntese (GARCIA, MARTINEZ 1994). Os hormônios vegetais contêm nitrogênio em sua composição, e a adição de nitrogênio no início do ciclo da cultura, no sulco de plantio ou em coberturas antecipadas, é uma prática recomendada pela capacidade de estimular a produção e a atividade da citocinina, resultando no maior desenvolvimento do sistema radicular (FAHL 1999) e no aproveitamento dos nutrientes (GASS 1971).

Analisando o descrito anteriormente verifica-se que a umidade do solo, temperatura, reação do solo, relações C/N, C/S, C/P, aeração, bem como a presença de outros nutrientes são fatores que interferem na mineralização do nitrogênio do solo (MALAVOLTA, NEPTUNE 1983). Assim, devido a rapidez com que o fenômeno se processa, o NO_3^- não aproveitado pela cultura pode ter os seguintes caminhos:

absorção pelos microorganismos, lavagem ou lixiviação, permanência como NO_3^- , erosão e desnitrificação.

Quanto a desnitrificação a mesma ocorre em condições anaeróbicas, sendo um processo microbiológico realizado por microorganismos como *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Spirillum*, *Thiobacillus*, os quais utilizam substâncias orgânicas como doadoras de elétrons, reduzindo rapidamente o NO_3^- que é convertido em nitrito (NO_2^-) e hiponitrito (HON_2O_2), e depois em N elementar (N_2), óxido nitroso (N_2O) e nítrico (NO) cujo destino é a atmosfera.

Esse processo outrora valorizado somente para solos encharcados e campos de arroz irrigados, é também de suma importância para as áreas de plantio direto com altos teores de matéria orgânica e umidade, quando do uso de adubação nitrogenada.

No processo de mineralização do nitrogênio, é obedecida portando, as seguintes etapas : N- orgânico, N- amídico, N- amoniacal, N- nitrito, N- nitrato, e devido às perdas do nitrogênio na forma de nitrato (NO_3^-), não é desejável que todo N orgânico passe para N amoniacal e para N nítrico, mantendo assim uma reserva de N no solo na forma orgânica.

Do exposto, é relevante para o manejo do N que a velocidade de nitrificação seja menor, com práticas, que levem principalmente à redução da oxidação da Matéria Orgânica do solo ou ainda

mediante o parcelamento da adubação nitrogenada, bem como o emprego de adubos nitrogenados protegidos ("slow release"), como uréia revestida com enxofre.

Em outras palavras, mesmo que a antecipação das adubações nitrogenadas seja uma prática recomendada em certas condições, até que a pesquisa prove o contrário, o parcelamento da adubação nitrogenada é prática fundamental para o melhor aproveitamento do nitrogênio.

5.O NITROGENIO E O MEIO AMBIENTE

5.1.SUBSTÂNCIA QUE AFETA O AQUECIMENTO GLOBAL

5.1.1: Óxido Nitroso

Um outro gás estufa importante é o óxido nitroso, N_2O , “gás hilariante”, que tem como estrutura é NNO , em vez do mais simétrico NON . Sua vibração de deformação angular absorve luz IR em uma banda situada em $8,6\ \mu m$, ou seja, no interior da região da janela, e além disso uma de suas vibrações de estiramento de ligação está centrada em $7,8\ \mu m$, no ombro da janela e no mesmo comprimento de onda que uma das absorções do metano. Por molécula, o N_2O é 206 vezes mais efetivo que o CO_2 em causar um aumento imediato no aquecimento global. Do mesmo modo que o metano, a concentração atmosférica do óxido nitroso foi constante até cerca de 300 anos atrás, a partir de então ela começou a aumentar; apesar de o nível ter aumentado apenas 13% passando de 275 ppb (pré-industrial) para 312 ppb, e a atual taxa de crescimento anual ser de cerca 0,25% - uma taxa que parece bastante pequena, mas que resultarão em um aumento maior no nível de N_2O nos próximos cinquenta anos do que nos três séculos anteriores. Menos de 40% das emissões de óxido nitroso habitualmente têm origens antropogênicas . O aumento nas quantidades de óxido nitroso que tem se acumulado no ar desde o período pré-industrial produziu cerca de um terço da magnitude do aquecimento adicional provocado pelo metano.

Grande parte dos suprimentos naturais de óxido nitroso gasoso é liberada pelos oceanos e a maioria do restante é resultado da contribuição por processos que ocorrem no solo nas regiões tropicais. O gás é um subproduto do processo de desnitrificação biológica em ambientes aeróbios (ricos em oxigênio) e do processo de nitrificação biológica em ambientes anaeróbios (pobres em oxigênio). Na desnitrificação, nitrogênio completamente oxidado, na forma do íon nitrato, é reduzido principalmente para nitrogênio molecular, N_2 .

Na nitrificação, nitrogênio reduzido na forma de amônia ou de íon amônio é oxidado quase completamente para nitrito e íons nitrato. Quimicamente, a existência de subprodutos de óxidos nitroso em ambos processos é simples de ponderar: nitrificação

(oxidação) sob condições abundantes em oxigênio produz pequenas quantidades de N_2O , o qual possui mais oxigênio que a molécula de nitrogênio “pretendida”. Recentemente, foi determinado que a nitrificação é mais importante que a desnitrificação como fonte total de N_2O . Normalmente, cerca de 0,001 mol de óxido nitroso é emitido por mol de nitrogênio oxidado, mas esse valor aumenta substancialmente quando a concentração de amônio é alta relativamente menos oxigênio está presente. Aterros sanitários podem ser uma fonte importante de óxido nitroso devido aos processos de desnitrificação.

Aparentemente, o óxido nitroso liberado pelas novas pastagens é particularmente significativo nos anos que se seguem à queimada de uma floresta. Uma parte dos fertilizantes à base de nitrato e de amônio usados na agricultura, particularmente nas zonas tropicais, é igualmente convertida (um efeito certamente não-desejado) em óxido nitroso e liberado no ar. As florestas tropicais nas áreas úmidas são provavelmente uma enorme fonte de gás natural do gás.

Em 1990, foi descoberto que o procedimento tradicional, usando ácido nítrico, HNO_3 , para sintetizar ácido adípico, uma matéria-prima para preparação de náilon, resultava na formação e liberação de grandes quantidades de óxido nitroso. Desde então, os produtores de náilon instituíram um plano para eliminar gradualmente as emissões de N_2O .

Anteriormente, acreditava-se que a queima de combustíveis fósseis liberasse óxido nitroso como subproduto da combinação química de N_2 e O_2 no ar, porém essa suposição estava baseada em experimentos equivocados. É sabido atualmente que o N_2O é formado apenas quando o próprio combustível contém nitrogênio, como no caso do carvão e da biomassa (mas não da gasolina e do gás natural); aparentemente o N_2 do ar não participa absolutamente deste processo. Entretanto, parte do NO produzido a partir do N_2 atmosférico durante a queima de combustíveis em automóveis é inevitavelmente convertida em N_2O em vez de N_2 , nos conversores catalíticos de três vias atualmente em uso, e é em seguida liberada no ar. Alguns dos novos catalisadores desenvolvidos para o uso em automóveis não apresentam essa deficiência, que é a produção e liberação de óxido nitroso durante seu funcionamento. Em resumo, o

aumento no uso de fertilizantes como propósitos agrícolas provavelmente contribui com a maioria das emissões antropogênicas de óxido nitroso.(BAIRD 2002).

6. NITROGÊNIO EM ÁGUAS

6.1: ÁGUAS NATURAIS

Em algumas águas naturais, o nitrogênio ocorre em formas inorgânicas e orgânicas que são de interesse para a saúde humana. Existem formas importantes de nitrogênio do ponto de vista ambiental que se diferenciam no grau de oxidação do átomo de nitrogênio. As formas mais reduzidas são a amônia NH_3 , e seu ácido conjugado o íon amônio, NH_4^+ . Nos processos de nitrificação catalisados por microorganismos, a amônia e o íon amônio são oxidados para nitrato, enquanto nos processos de desnitrificação correspondentes, nitratos e nitritos são reduzidos para nitrogênio molecular (o óxido nitroso N_2O , é, em ambos os casos, um subproduto minoritário). Os dois processos são importantes em solos e em águas naturais. Em ambientes aeróbicos, como na superfície dos lagos, o nitrogênio existe na forma mais oxidada, o nitrato, ao passo que, em ambientes anaeróbicos, como no fundo dos lagos estratificados, o nitrogênio existe em suas formas completamente reduzidas, amônia e íon amônio. O íon nitrito ocorre em ambientes anaeróbicos, como solos alagados, que não são redutores o suficiente para converter todo o nitrogênio em amônia. A maior parte das plantas pode absorver o nitrogênio unicamente na forma de íon nitrato, de maneira que tanto a amônia como o íon amônio usados como fertilizantes devem ser primeiramente oxidados através de microorganismos para que sejam úteis à vida das plantas. (BAIRD 2002).

6.2: NITRATOS E NITRITOS EM ALIMENTOS E ÁGUA

Recentemente manifestou-se certa de preocupação com o aumento nos níveis do íon nitrato na água potável, especialmente em áreas rurais; a principal deste íon é o escoamento que ocorre de terras agrícolas para rios e riachos. De início, pensou-se que resíduos oxidados de animais (esterco), juntamente com nitrato de amônio não-absorvido e outros fertilizantes nitrogenados, eram os principais culpados. Atualmente acredita-se que o cultivo intensivo da terra, mesmo sem a aplicação de fertilizantes ou

esterco, facilita a oxidação para nitrato do nitrogênio reduzido presente na matéria orgânica decomposta no solo pelo efeito da aeração e da umidade.

Existem ecossistemas inteiros, que abrangem desde florestas a águas litorâneas, que estão hoje completamente dominados pelos compostos de nitrogênio. O excesso de íons nitrato em águas residuais que fluem para o mar tem resultado, por exemplo no Mar Báltico, em uma camada super povoada de algas, que poluem o mar após sua morte. Normalmente, o íon nitrato não causa efeito em corpos de água doce, nos quais usualmente é o fósforo, em vez do nitrogênio, o nutriente limitante; o aumento na concentração de nitrato, sem um aumento nos níveis de fosfato, não leva a um maior crescimento das plantas. Existem, contudo, exemplos que o nitrogênio, em vez do fósforo torna-se, temporariamente, o nutriente limitante, mesmo em água doce.

O excesso de nitrato na água potável constitui um risco para a saúde, visto que pode resultar em metemoglobinemia tanto em bebês recém-nascidos, como em adultos com uma determinada deficiência enzimática. O processo patológico será explicado brevemente, a seguir.

As bactérias, presentes, por exemplo, em mamadeiras que não são esterilizadas ou no estômago do bebê, reduzem parte do nitrato para nitrito:

O nitrito combina-se com a hemoglobina do sangue e promove sua oxidação, impedindo, como consequência, a absorção e o transporte adequados do oxigênio para as células. O bebê torna-se azul e sofre de insuficiência respiratória. (Em quase todos os adultos, a hemoglobina oxidada é facilmente reduzida novamente para sua forma transportadora de oxigênio, e o nitrito é rapidamente oxidado para nitrato; além disso, o nitrato é absorvido principalmente no trato digestivo dos adultos, antes que possa ocorrer a redução para nitrito.) A ocorrência da metemoglobinemia, ou “síndrome do bebê-azul”, é hoje relativamente rara em países industrializados, mas ainda constitui um problema nos países em desenvolvimento.

Recentemente, foi constatado um aumento no risco de aparecimento de linfoma do tipo não-Hodgkin em pessoas que bebem água potável com níveis mais elevados de

nitrato em algumas comunidades de Nebraska (com média estabelecida a longo prazo de 4 ppm de nitrogênio na forma de nitrato).

O excesso de íon nitrato na água potável é também problemático, devido a sua potencial relação com o câncer de estômago. Investigações epidemiológicas recentes, porém, não têm conseguido estabelecer uma relação positiva estatisticamente significativa entre os níveis de nitrato em água potável e a incidência de câncer de estômago. Os investimentos de dinheiro público para reduzir os níveis de nitrato na água potável tem se tornado um tema controvertido.(BATALHA, PARLATORE 1993).

6.3:NITROSAMINAS NOS ALIMENTOS E NA ÁGUA

Alguns cientistas têm advertido que o excesso de íons nitrato na água potável e nos alimentos pode levar a um aumento na incidência de câncer de estômago em seres humanos, dado que parte desses íons é convertida em íon nitrito no estômago. O problema reside no fato de que os nitritos poderiam reagir com aminas para produzir N-nitrosaminas são aminas em que dois grupos orgânicos e uma unidade de $-N=O$ estão ligados ao nitrogênio central:

O composto no qual o R é o grupo metila, CH_3 , é de interesse não apenas no que diz respeito a sua produção no estômago e a sua ocorrência em alimentos e bebidas (por exemplo, em queijos, bacon frito, carne e peixe defumado e/ou curado e cerveja), mas também como poluente ambiental da água potável; ele é chamado N-nitrosodimetilamina ou, de forma abreviada, NDMA.

Esse líquido orgânico é parcialmente solúvel em água (cerca de 4 gramas por litro) e em solventes orgânicos. É um provável carcinógeno humano, e se a extrapolação de estudos sobre animais é considerada um guia confiável, trata-se de um carcinógeno potente. Ele pode transferir um grupo metila para um nitrogênio ou um oxigênio de uma base de DNA, alterando, dessa maneira, o código de instruções para a síntese de proteínas na célula.

No início dos anos 80, constatou-se que a NDMA estava presente na cerveja em níveis de 3.000 ppt. Desde então, as indústrias do segmento tem modificado a secagem do malte, de maneira que os níveis de NDMA em cervejas americanas e canadenses girem em torno de 70 ppt.

Grandes quantidades de nitratos são usadas para “curar” produtos de porco, como bacon e salsicha. Nesses alimentos, uma parte dos íons nitrato é reduzida bioquimicamente para íon nitrito, o que impede o crescimento do organismo responsável pelo botulismo. O íon nitrito propicia a esses alimentos seu sabor e cor característicos, mediante a combinação com hemoproteínas do sangue. As nitrosaminas são produzidas por um excesso de nitrito durante o processo de fritura (por exemplo, de bacon) e no estômago, como já vimos. Os órgãos governamentais têm implementado programas para diminuir os níveis de nitrito residual nas carnes curadas. Alguns fabricantes desses alimentos adicionam à carne vitamina C ou E, com objetivo de bloquear a formação de nitrosaminas. Tomando como base os níveis médios de NDMA em vários alimentos e a ingestão média diária de cada um deles, pode-se concluir que a maioria das pessoas ingere, atualmente, mais NDMA pelo consumo de queijo (o qual é freqüentemente tratado com nitratos) do que de qualquer outra fonte.

Muito embora a produção comercial de NDMA venha sendo gradualmente eliminada, ela pode formar-se como subproduto, devido ao uso de aminas em processos industriais, como a fabricação de pneus de borracha, o curtimento de couro e a produção de pesticidas.

Os níveis de NDMA na água potável obtida de águas subterrâneas são preocupantes em algumas localidades que têm fontes pontuais de origem industrial do composto. Por exemplo, a partir da descoberta de que o suprimento de água de uma cidade tinha sido contaminado por mais de 100 ppt de NDMA procedente de uma fábrica de pneus, a província de Ontário, Canadá, adotou uma diretriz máxima de 9 ppt de NDMA para a água potável, que corresponde a um risco de câncer durante a vida de 1 em 100.000. Em contraste, a diretriz para água nos Estados Unidos tem-se situado em 0,68 ppt, o que corresponde a um risco de câncer de 1 em 1 milhão, bem abaixo do limite de detecção do composto (cerca de 5 ppt).(SOLOMONS 2002).

6.4: CONTAMINAÇÃO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS

O contaminante inorgânico que causa maior preocupação é o íon nitrato, que ocorre tanto nos aquíferos rurais quanto nos suburbanos. Embora a água subterrânea não-contaminada apresente níveis de nitrogênio (como nitrato) geralmente menores de 2 ppm, cerca de 9% dos aquíferos pouco profundos – de onde é extraída freqüentemente água de poço – têm hoje nos Estados Unidos níveis de nitrato que excedem o limite de 10 ppm como nitrogênio. Concentrações além deste limite são muito mais raras (1%) nos suprimentos públicos de água no país, devido, em parte, ao fato de as águas serem extraídas de aquíferos mais profundos, que estão geralmente menos contaminados dada sua profundidade, ou de sua localização estar longe das grandes fontes de contaminação, e também de ser possível ocorrer remediação natural mediante desnitrificação em condições de baixa concentração de oxigênio.

O nitrato em águas subterrâneas é originado de três fontes principais a aplicação de fertilizantes nitrogenados, tanto inorgânicos como proveniente de esterco animal, em terras cultiváveis; deposição atmosférica; e esgoto doméstico depositados em sistemas sépticos. Por exemplo, quase 12 milhões de toneladas. O cultivo do solo resulta também na liberação de nitrogênio. As áreas que têm não apenas um alto aporte de nitrogênio, mas também solos bem drenados e poucas florestas, as quais poderiam interceptar a drenagem dos fertilizantes têm o maior risco de contaminação por nitrato de suas águas subterrâneas. Em áreas urbanas é significativo o uso de fertilizantes de nitrogênio em gramados de campos de golfe.

Na maioria dos casos, as formas originais do nitrogênio tornam-se oxidadas para nitrato no solo, o qual migra, então, para águas subterrâneas nas quais é dissolvido e diluído pela água. Como sua remoção cara, a água contaminada com altos níveis de nitrato não é normalmente usada para consumo humano, ao menos nos serviços públicos de abastecimento.

Em algumas águas residuais, a remoção adicional de compostos nitrogenados – usualmente amônia ou compostos orgânicos nitrogenados – é considerada necessária. A remoção de amônia pode realizar-se elevando o pH cerca de 11 (com cal), o que converte a maioria do íon amônio em sua fórmula molecular, amônia, e, através do

borbulhamento contínuo de ar na água, liberá-la por deslocamento do gás amônia dissolvido. Entretanto, esse processo é relativamente caro, porque precisa de enorme quantidade de energia. O íon amônio também pode ser removido por troca iônica usando determinadas resinas cujos sítios de troca estão inicialmente ocupados por íons sódio ou cálcio.

Alternativamente, tanto o nitrogênio orgânico como a amônia podem ser removidos por meio de bactérias nitrificantes, que oxidam todo o nitrogênio para íon nitrato. (BAIRD 2002).

7.FIXAÇÃO BIOLÓGICA E ASSIMILAÇÃO DE NITROGÊNIO

Como o nitrogênio é o quarto elemento mais abundante nas plantas, sendo superado apenas pelo carbono, oxigênio e pelo hidrogênio, ele é um constituinte essencial de aminoácidos que é uma substância orgânica formada por um grupo orgânico e um grupo amina, sintetizada pelo nosso organismo ou recebida na ingestão de uma dieta alimentar, constitui também proteínas, bases nitrogenadas, ácidos nucleicos, hormônios e clorofila, entre outras diversas moléculas, como podemos perceber esse elemento é realmente essencial a vida das plantas.

A maioria das plantas obtém o nitrogênio do solo sob a forma de íon nitrato (NO_3^-), havendo algumas que o absorvem sob a forma de íon amônio (NH_4^+), o nitrogênio também pode ser um nutriente crítico para as plantas pois o seu suprimento no solo é limitado e ele também é utilizado por microorganismos que habitam esse solo.

Existe nitrogênio também no ar atmosférico, cerca de 78% da constituição gasosa de nossa atmosfera é formada por nitrogênio molecular ou dinitrogênio (N_2), entretanto os organismos eucariontes que são organismos uni ou pluricelulares cuja célula contém um núcleo verdadeiro, são incapazes de absorver o N_2 e convertê-lo de forma assimilável, assim o N_2 tem que se mover pra dentro das plantas através dos estômatos, que são organelas capazes de efetuar trocas gasosas entre a planta e o meio ambiente, saindo logo em seguida sem que possa ter sido utilizado.

Os átomos se encontram-se unidos de uma maneira muito estável na molécula de nitrogênio e por esse motivo para que o N_2 possa ser convertido de uma forma assimilável é necessário o fornecimento de temperatura e pressão muito elevados (fixação industrial) ou a presença de um sistema enzimático apropriado (fixação biológica).

A fixação industrial do N_2 , chamada de processo de Haber-Bosch, utiliza temperaturas em torno de 400-600°C e pressões em torno de 100-200 atm, sendo dispendiosa do ponto de vista energético.

Reação:

A fixação biológica do N₂ ocorre graças a uma enzima denominada nitrogenase, presente apenas em alguns organismos procariontes que são organismos unicelulares que não apresentam seu DNA revestido por uma membrana. Do ponto de vista energético, ela também é dispendiosa para o organismo que a realiza. No entanto, devido a presença de um sistema enzimático, a reação pode ocorrer à temperatura ambiente e pressão atmosférica. (RAVEN, EVERT, EICHHORN, 1996)

Reação:

(onde Pi simboliza o fosfato inorgânico)

7.1: *FRANKIA* E AS PLANTAS *ACTINORRIZAS*

A bactéria filamentosa do gênero *Frankia* associa-se com plantas de 20 gêneros diferentes, pertencentes a 9 famílias. Em consequência disso durante muito tempo acreditou-se que essa bactéria fosse a mais promíscua dentre os organismos fixadores que realizam associações. Essa visão tende a ser modificada, uma vez que estudos filogenéticos recentes têm mostrado a existência de uma grande proximidade entre as 9 famílias em questão.

As plantas hospedeiras são chamadas de actinorrizas e os exemplos mais comuns são as arbóreas, não leguminosas, como pinheiro australiano (*Casuarina*) e membros da família *Rosaceae*.

A bactéria habita o solo, vivendo saprofiticamente enquanto em liberdade. Ao encontrar uma planta hospedeira, ela penetra suas raízes para formar os nódulos, no interior dos quais passará a fixar o nitrogênio atmosférico. Nessa simbiose, as plantas fornecem os produtos da fotossíntese, enquanto as bactérias fornecem o nitrogênio fixado (sob a forma de NH₄).

Os nódulos radiculares são constituídos de hifas vegetativas alongadas e vesículas septadas fixadoras de nitrogênio. As vesículas estão envolvidas por um envelope lipídico que tem a função de proteger contra inibição causada pelo O_2 .(FOSKET, 1994)

7.2:CIANOBACTÉRIAS E SUAS ASSOCIAÇÕES

Embora muitos gêneros de cianobactérias sejam organismos fixadores de vida livre, os gêneros *Anabaena* e *Nostoc* podem ser encontrados em associações com eucariontes pertencentes a diferentes Reinos. Uma união bastante conhecida é a da *Anabaena* com a pteridófita aquática *Azolla*. Na Ásia, o cultivo do arroz costuma ser feito em consórcio com o de *Azolla* para garantir nutrição nitrogenada das plantas.

Tanto as formas de vida livre como as associadas fixam nitrogênio somente quando o ambiente é pobre em nutrientes nitrogenados.

As cianobactérias que formam associação podem invadir os tecidos do hospedeiro eucarionte ou permanecer externamente localizadas.

Para contornar os efeitos inibitórios do excesso de O_2 as cianobactérias adotaram estratégias muito interessantes e eficazes:

- as formas unicelulares realizam uma separação temporal da fotossíntese (fonte de O_2) e da fixação de nitrogênio. Assim, a fotossíntese ocorre durante um período luminoso, acumulando reservas de carbono e, a fixação de nitrogênio ocorre durante o período escuro. Há exceções como observado no gênero *Gloeotheca*, que realiza a fixação de nitrogênio mesmo na presença de luz, juntamente com a fotossíntese. Nesse caso, é necessário o desenvolvimento de pesquisas que possam elucidar quais mecanismos possibilitam a ocorrência simultânea de ambos os processos.
- as formas filamentosas, como *Anabaena* e *Nostoc*, realizam uma separação espacial da fotossíntese e da fixação do nitrogênio. Ao longo do filamento encontram-se células vegetativas normais e células especializadas na fixação de nitrogênio, os heterocistos. As células normais possuem a função de realizar a fotossíntese e suprir as necessidades de energia dos heterocistos. Esses, por sua vez,

fixam o nitrogênio e fornecem os produtos nitrogenados para as demais células do filamento.

As bactérias vivem saprofiticamente no solo quando em liberdade. A presença de uma planta hospedeira é percebida por sinais químicos, principalmente flavonóides liberados pelas raízes. Devido à ação dos flavonóides, as bactérias são atraídas em direção às raízes, por um quimiotactismo positivo e produzem um composto denominado Fator NOD (fator de nodulação). O Fator NOD é responsável, entre outras coisas, pelo reconhecimento entre bactéria e planta hospedeira e pela indução de uma intensa divisão celular no córtex da raiz.

As bactérias colonizam a rizosfera, multiplicando-se ao redor dos tricomas (pêlos) radiculares. Os tricomas enrolam-se, envolvendo grupos de bactérias. Em seguida, as bactérias degradam uma porção da parede celular do tricoma e a plasmalema começa a se invaginar. As bactérias invadem o tricoma, utilizando o canal formado pela invaginação da plasmalema, originando o cordão de infecção. O cordão de infecção cresce em direção às células em divisão na córtex da raiz. No interior do cordão, as bactérias continuam multiplicando.

Para diferenciar as duas fases de vida desses microorganismos, convencionou-se que o nome da bactéria seria usado enquanto ocorressem as transformações bioquímicas que iniciam o processo de fixação de nitrogênio. Portanto, quando os microorganismos passam a fixar nitrogênio são chamados de bacterióides.

Os nódulos radiculares desenvolvidos possuem uma organização própria de tecidos. Eles apresentam meristema responsável pela formação das células da região de invasão, uma região central e conexões vasculares com o xilema do cilindro central da raiz. Envolvendo e delimitando toda essa estrutura está o parênquima do nódulo.

As células das raízes da planta, bem como os próprios bacterióides, precisam de O_2 para a respiração celular. As estratégias desenvolvidas para evitar o excesso de O_2 nos nódulos radiculares, prevenindo contra a conseqüente inibição da nitrogenase, foram duas:

- estratégia anatômica: o parênquima do nódulo funciona como uma barreira de difusão de O_2 . Os espaços intercelulares são pequenos e pouco numerosos,

podendo ser preenchidos com água. Logo a entrada de O_2 no interior do nódulo é muito dificultada.

- estratégia bioquímica: as células vegetais da região central do nódulo produzem a leghemoglobina (hemoglobina das leguminosas). Essa molécula é um carregador de O_2 , que garante que os bacteróides recebam o O_2 necessário para sua respiração, evitando que o gás circule livremente no nódulo. (LEA, LEEGOOD 1993)

7.3: A NITROGENASE E A REAÇÃO DE FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO

A reação de fixação de nitrogênio caracteriza-se pela redução do N_2 a NH_3 . Portanto para que a reação ocorra, é necessário que haja um transporte de elétrons, mediado por moléculas aptas a realizá-lo.

As enzimas nitrogenase são formadas por duas unidades protéicas, a Ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdênio-Ferro (MoFe-proteína), ambas capazes de transportar elétrons. Durante a reação de redução do N_2 , a nitrogenase é auxiliada por uma terceira molécula transportadora de elétrons, a ferridoxina.

O modelo proposto para a evolução da reação pode ser entendido do seguinte modo:

- a ferridoxina, na sua forma reduzida, transfere um elétron para a unidade Fe-proteína da nitrogenase.
- a Fe-proteína, então reduzida, doa o elétron recebido para a MoFe-proteína.
- a MoFe-proteína acumula os elétrons. Após 8 transferências, essa unidade terá acumulado 8 elétrons, e então fará a redução do N_2 a NH_3 .
- para cada elétron transferido da Fe-proteína para a MoFe-proteína são consumidos 2 ATPs. Para reduzir uma molécula de N_2 são necessários 8 elétrons e portanto, 16 ATPs.

Como consequência da reação de fixação, para cada molécula de N_2 fixada é produzida uma molécula de H_2 . A produção de H_2 durante o processo é inevitável e acaba por consumir parte dos elétrons que poderia ser utilizada na fixação de N_2 .

O H_2 , devido a sua natureza gasosa, é perdido para a atmosfera. No entanto, determinados organismos fixadores possuem uma enzima, a hidrogenase, que oxida o H_2 antes que ele seja perdido, formando H_2O e ATP. O ATP gerado pode ser utilizado para a fixação de nitrogênio. Logo, as bactérias portadoras da hidrogenase são menos prejudicadas e, até mesmo, mais eficientes na fixação do nitrogênio porque possuem uma fonte adicional de ATP.(HOPKINS 1995).

7.4:GENES ENVOLVIDOS NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO

7.4.1:Organismos fixadores de vida livre

Os primeiros genes envolvidos na fixação do nitrogênio foram identificados e estudados utilizando-se a bactéria *Klebsiella pneumoniae*.

São conhecidos cerca de 20 genes, denominados genes *nif*. Eles são responsáveis pela produção da nitrogenase e pela produção de moléculas que regulam o processo, como a ferridoxina.

7.4.2:Organismos fixadores que formam associações

Como base para os estudos da genética da fixação de nitrogênio nas associações têm sido utilizadas as bactérias da família Rhizobiaceae, com destaque para o gênero *Rhizobium*.

Sabe-se que as bactérias fixadoras simbiotes possuem dois grupos distintos de genes: *nif* e *fix*. Os genes *nif*, aparentemente estão envolvidos com a síntese da nitrogenase enquanto os *fix* produzem as moléculas que regulam o processo de fixação. Por exemplo sabe-se que o gene *fix X* codifica a ferridoxina nessas bactérias.

No processo da formação de nódulos em plantas leguminosas induzidos por bactérias Rhizobiaceae, mais dois grupos de genes são considerados: *nod* e *NOD*. Os genes *nod* (nodulação) são encontrados na bactéria, sendo responsável pela produção da proteína que recebe o sinal químico da planta hospedeira (os flavonóides) e pela produção das enzimas que sintetizam o fator de nodulação. Os genes *NOD* são

encontrados na planta leguminosa, sendo responsáveis pela síntese de proteínas denominadas nodulinas. As nodulinas desempenham papel importante na formação e manutenção do nódulo radicular. O exemplo mais conhecido de nodulina é a leghemoglobina, produzida pelas células vegetais da região central do nódulo.(SALISBURY, ROSS 1991).

7.5.ASSIMILAÇÃO DO NITROGÊNIO

7.5.1:Assimilação de NH_4^+ produzido nos nódulos

A fixação do nitrogênio atmosférico da origem à amônia (NH_3), que em contato com o substrato aquoso do citoplasma dos bacterióides é convertida, rapidamente, em íon amônio (NH_4^+).

O NH_4^+ inibe a fixação do nitrogênio, não podendo acumular-se no interior dos bacterióides. Assim logo depois de ser formado, ele é retirado dos bacterióides, atingindo o citoplasma da célula vegetal hospedeira, célula da região central do nódulo radicular.

Para as células vegetais, O NH_4^+ também é prejudicial, promovendo a dissociação entre a formação de ATP e o transporte de elétrons na respiração e na fotossíntese. Logo, o NH_4^+ que atinge o citoplasma das células vegetais da região central do nódulo precisa ser assimilado em moléculas que não possuem efeito tóxico.

Duas enzimas, a glutamina sintetase (GS) e a glutamato sintetase (GOGAT), são responsáveis pela conversão do NH_4^+ em aminoácidos. Os aminoácidos gerados pela ação dessas enzimas são glutamina e o glutamato. Sabe-se que leguminosas de origem temperada normalmente sintetizam um terceiro tipo de aminoácido, as asparagina, que será utilizado para a exportação de nitrogênio para o restante da planta (através das conexões vasculares que unem o nódulo ao xilema do cilindro central da raiz). Da mesma forma, as leguminosas de origem tropical frequentemente produzem ureídeos para a exportação do nitrogênio ao longo do organismo vegetal.

7.5.2:Assimilação do NH_4^+ absorvido do solo pelas raízes

As plantas que não encontram-se associadas às bactérias fixadoras de nitrogênio precisam absorvê-lo a partir do solo. Alguns vegetais adquirem o nitrogênio sob a forma de NH_4^+ , assim logo que absorvido pelas raízes, esse íon é assimilado pelas enzimas GS e GOGAT, formando os aminoácidos glutamina e glutamato. Nas plantas não leguminosas, é principalmente sob a forma de glutamina que o nitrogênio é exportado para os órgãos vegetais, a fim de ser incorporado nas moléculas nitrogenadas.

7.5.3:Assimilação de NO_3^- absorvido do solo pelas raízes

A maioria das plantas que não realizam associação com organismos fixadores, absorvem o nitrogênio do solo sob a forma de nitrato. A assimilação do nitrato é um processo de redução, que culminam com a formação do íon amônio no qual duas enzimas estão envolvidas: a nitrato redutase (enzima citoplasmática) e a nitrito redutase (enzima existente nos plastideos ou cloroplastos).

Inicialmente, o nitrato é reduzido a nitrito pela ação da redutase e, em seguida esse é reduzido a NH_4^+ pela ação da nitrito redutase.

Uma vez produzido o NH_4^+ , este será assimilado pelas enzima GS e GOGAT, como visto nas plantas não leguminosas.

O processo de assimilação do nitrato pode ocorrer nas próprias raízes que absorveram ou nas folhas. Aparentemente, um fator importante que controla em que local será a assimilação é o conteúdo de nitrato no solo. Quando o nutriente está escasso no solo, ele é assimilado preferencialmente nas raízes, quando está abundantemente, nas folhas.(BARON, ZAMBRYSKI 1995).

8- APLICAÇÃO DO NITROGÊNIO NA MEDICINA

As neoplasias de pele e tecido subcutâneo são as mais freqüentemente reconhecidas nos animais domésticos, notadamente nos cães. Nestes, também, é de certa freqüência o desenvolvimento de fístulas perianais.

A criocirurgia tem sido empregada em alguns tipos de neoplasias por ser, uma técnica que limita a produção de metástases, sem os efeitos colaterais nocivos da radioterapia e da quimioterapia; é relativamente indolor não requer anestesia geral e não deprime as defesas imunológicas do organismo.

A ablação de tecidos pela criocirurgia consiste na extração de calor deles, até que deixem de ser viáveis . Uma vez atingido o ponto de congelamento do protoplasma (-1°C), a célula pode ser destruída por desidratação ou por congelamento intracelular, ocorrendo a lesão celular no momento do descongelamento.(BORTHWICK1972).

Como regra, recomendam-se dois ciclos de congelamento e descongelamento para evitar a sobrevivência das células na borda da estrutura de gelo. A velocidade do congelamento deve ser rápida e o descongelamento deve ser lento e não assistido.

Os criógenos mais comuns são o nitrogênio líquido, o óxido nitroso, diversos tipos de freons e o dióxido de carbono . O nitrogênio líquido não é inflamável, é atóxico e totalmente inerte para com as superfícies metálicas ou biológicas. (BRYNE1980).

O nitrogênio líquido é usado em forma de pulverização para lesões maiores de 1,0cm de diâmetro e 0,5cm de espessura ou de formato irregular, incluindo todo o tecido que interessa na linha de congelamento e mais 0,5 a 1,0cm. Para proteger os tecidos vizinhos do escape do nitrogênio líquido durante o congelamento de grandes massas tumorais, Giannone (1985) fez uso de uma seringa plástica com o fundo removido e colocada firmemente no centro do tumor. O nitrogênio, em pulverização, era depositado em pequenas quantidades e a intervalos regulares no interior do tubo, evitando com isso o avanço do congelamento para outras áreas. Precisa apenas uma contenção química, sem fazer uso de anestesia geral, sendo útil em pacientes geriátricos e de alto risco anestésico. Imediatamente após a criocirurgia instalam-se edema e eritema, há exsudação de líquido seroso, que poderá ser pronunciada se o tumor estava ulcerado ou sofreu biópsia, ocorrendo inclusive

hemorragia capilar. De 24 a 72h o esfacelo é demarcado, causando pouca ou nenhuma reação inflamatória nos tecidos ao redor, permanecendo, nesse período, o edema (GIANONNE 1985).

O tumor submetido à criocirurgia começa a se destacar entre quatro e cinco dias, secretando material liquefeito. Do sétimo ao 14º dia a crionecrose se completa, expondo um leito de tecido de granulação. A cicatrização ocorre por contração e epitelização em 14 a 21 dias, raramente excedendo 30 dias, mesmo em tumores muito grandes, deixando uma cicatriz plana.

LISKA & WITHROW (1978) relatam sucesso em 92,8% dos casos de adenoma perianal. A reincidência de adenoma da glândula perianal ou o surgimento de adenomas primários adicionais, após a criocirurgia, é menor que 10%. A resolução dos tumores venéreos transmissíveis foi obtida sem o auxílio da quimioterapia ou radioterapia, pelo congelamento com nitrogênio líquido, feito o acesso prévio à cavidade prepucial ou vaginal, por meios cirúrgicos.

Com respeito ao tratamento criocirúrgico das fístulas perianais, LISKA ET AL. (1975) e WITHROW ET AL. (1975) recomendam fazer previamente à saculectomia bilateral a exploração cirúrgica dos tratos fistulares. Em alguns casos, a cura não é obtida enquanto toda a zona cutânea do canal anal, junto com os sacos anais e glândulas perianais, não for removida (LISKA, WITHROW 1978).

Para o congelamento de fístulas, sugere-se que o nitrogênio líquido seja pulverizado com movimentos de vaivém, ou então, o frio seja conduzido através de sondas refrigerantes, introduzidas não congeladas e permitindo que se resfriem e transmitam o frio por adesão dos tecidos.

A resolução de fístulas perianais tratadas pela criocirurgia variou entre 90-95%, 70% e 48%, respectivamente.

O presente trabalho teve como objetivo estudar os efeitos do nitrogênio líquido no tratamento de alguns tumores cutâneos e venéreos e fístulas da região anal em cães.

Utilizaram-se 16 cães de diversas raças, oito machos e oito fêmeas, com idade entre 1,5 e 15 anos. Desses animais, seis eram portadores de neoplasia cutânea (quatro machos e duas fêmeas), dos quais um macho apresentava também fístula de glândula do seio paranal; cinco apresentavam tumor venéreo transmissível (fêmeas) e cinco desenvolveram fístulas perianais ou paranais (quatro machos e uma fêmea), totalizando 17 afecções cirúrgicas.

O nitrogênio líquido foi aplicado diretamente, em pulverização, em jato constante no centro da lesão, permitindo a expansão da estrutura de gelo ou fazendo-se movimentos lentos de vaivém, como nos casos das fístulas superficiais.

Quando necessário, os tecidos ao redor do tumor ou da fístula foram protegidos com uma camada de vaselina sólida. Para evitar o escoamento do criógeno, foi utilizado algodão hidrófilo em torno das lesões.

Na maioria dos casos, utilizou-se como instrumento auxiliar o corpo de seringa plástica descartável de 3, 5, 10 ou 20ml, cujo fundo fora removido. Tal tubo era aplicado firmemente sobre a área de interesse e seguro por meio de uma pinça de madeira usada para tubo de ensaio. Nas fístulas de diâmetro maior foram utilizadas sondas uretrais plásticas de números 4, 6 ou 8, introduzidas no seu trajeto.

Como regra, utilizou-se um duplo ciclo de congelamento e descongelamento (C-D). O congelamento era rápido e o descongelamento se fazia espontaneamente. Considerou-se atingida a temperatura satisfatória quando a lesão recobria-se de gelo, tornando-se branca, dura, ressonante ao choque dos dedos e nitidamente delimitada.

Em todos os casos de neoplasia foram efetuadas biópsias para exame histológico, após o segundo ciclo C-D.

O aparelho com nitrogênio líquido consistiu de garrafa térmica de aço inoxidável, com tampa rosqueada, de paredes duplas e isoladas entre si com perlita na espessura de 1,0cm. Posteriormente, foi encapada com isopor de 0,25cm de espessura e a pêra do esfigmomanômetro substituída por um tubo de látex de 0,5cm de diâmetro interno, adaptado para o controle da pressão interna do nitrogênio pela variação do seu diâmetro, por meio de uma pinça laboratorial de Hofmann. De início, o aparelho

preconizado apresentou problemas no seu isolamento térmico e ventilação, havendo sempre necessidade de recarga de nitrogênio líquido entre dois congelamentos.

Edema e rubefação, moderados ou acentuados, foram achados pós-operatórios constantes e ocorriam imediatamente após o segundo ciclo C-D. O edema permaneceu, em média, por quatro dias e a rubefação, por três dias. Ao cessarem esses fenômenos, observava-se a delimitação da necrose. Observou-se hemorragia discreta ou moderada após a biópsia, havendo necessidade de realizar sutura em dois casos de adenoma (animais nº 7 e 15).

Após a delimitação da crionecrose e antes do esfacelamento, geralmente o tumor se recobria por uma crosta úmida, nos casos de adenoma hepatóide, ou seca, nos demais casos. O desprendimento dos tumores variou de um a 12 dias, observando-se secreção do tipo seromucoso enquanto se processava o esfacelamento, de um a seis dias, ou alguns dias após o esfacelamento.

A granulação ocorria sob a crosta formada por tecido necrosado em desprendimento (esfacelo); a epitelização iniciou-se, em média, quatro dias após o esfacelamento, mas em alguns casos ela começou antes de terminar o esfacelamento (animais nº 1 e 14). A epitelização demorou em média 15 dias para se completar, variando de 10 a 25 dias, formando um néo-epitélio, mais espesso e liso em relação à pele, alopecico e sem formação de quelóide.

Os tumores venéreos transmissíveis (TVT) submetidos à criocirurgia localizavam-se tanto na vulva quanto na vagina, obtendo-se resultado favorável nos animais nº 5, 11 e 13, nos quais os tumores eram pediculados. Nos demais casos não houve esfacelamento completo dos tumores que se apresentavam infiltrados na mucosa vulvovaginal. Nesses animais, a repetição do ciclo C-D por duas ou três vezes, em ocasiões distintas, não produziu a regressão total dos tumores.

A hemorragia foi discreta mas constante em todos os animais logo após o primeiro ou segundo descongelamento, tendo sido profusa após a biópsia no animal nº 11. A hiperemia que se seguia de imediato à criocirurgia foi muito acentuada em todos os casos, ocasião em que os tumores apresentavam uma coloração avermelhada, muito escura, com duração de até quatro dias.

Nos animais nº11 e 13 os pedículos se esfacelaram no dia seguinte ao desprendimento do tumor, deixando uma pequena ulceração na mucosa, que se epitelizou normalmente. No animal nº 5 o tumor se desprende sem deixar lesão visível na mucosa.

Os seis animais submetidos ao tratamento criocirúrgico das fístulas compreenderam dois casos de fístulas de glândula do seio paranal (fístulas paranaís; animais nº 7 e 10) e quatro fístulas paranal e perianal (fistulação das glândulas circumanais; animais nº 2, 3, 6 e 8). Nos primeiros, para a resolução do processo, foi suficiente apenas uma intervenção criocirúrgica em dois ciclos C-D. Neles houve discreta hemorragia após cada ciclo C-D, com edema e hiperemia moderada por três dias, seguindo-se os esfacelos, sem secreção, em três e nove dias, respectivamente. A epitelização ocorreu em 20 dias no primeiro e em 17 dias no segundo animal, com formação de cicatriz despigmentada.

Nos quatro casos restantes, ocorreu cicatrização total nos animais nº 3 e 6, obtendo-se cicatrização parcial nos demais. O animal nº 2 recebeu, em cinco meses, cinco aplicações criocirúrgicas em fístulas de glândulas paranaís e perianaís que, ao cicatrizarem, cederam lugar a outras, até que a pele da região fosse substituída pelo neo-epitélio espesso e aglandular. Durante o período de observação houve episódios de produção de secreção seromucosa. O animal morreu por envenenamento acidental durante a recuperação.

O animal nº 3, portador de duas fístulas extensas nas glândulas paranaís, extirpadas anteriormente, e de dois conjuntos de pequenas fístulas perianaís nas posições de 6 e 12h, recebeu apenas um tratamento criocirúrgico, com duplo ciclo C-D. Houve edema e hiperemia no primeiro dia, e até o quinto dia, secreção sero-mucosa. O esfacelamento dos tecidos congelados terminou após o período secretor e a epitelização total ocorreu dois meses após o tratamento inicial.

No animal nº 6 o congelamento atingiu o complexo de fístulas das glândulas paranal e perianal, à direita do ânus. À medida que a região congelada se esfacelava surgiam fístulas mais profundas. No decorrer de quatro meses foram necessárias quatro seções criocirúrgicas, para a completa resolução.

No animal nº 8, portador de fístulas perianais que se estendiam das posições de 2 às 5h e de 9 às 7h, foram necessárias seis intervenções criocirúrgicas em cinco meses; as três últimas, numa mesma fístula, não apresentaram resultado satisfatório. As demais cicatrizaram sem complicações.

Nos animais nº 2, 6 e 8 edema e eritema foram constantes com duração de um a quatro dias e de um a oito dias, respectivamente. Nesses cães, o esfacelamento da crionecrose variou de um a 13 dias, com granulação concomitante, e o início da epitelização tornou-se evidente dentro da primeira semana do esfacelo.

A retração cicatricial na região anal produziu estenose e conseqüente constipação e tenesmo em dois animais (nº 2 e 3), de uma e duas semanas de duração, respectivamente, ao final do tratamento. Nesse período administrou-se laxante aos cães.

8.1: CONCLUSÕES

As manifestações clínicas observadas no pós-operatório imediato, com edema e rubefação, são conseqüências das lesões intracelulares. No processo de congelamento admite-se que o edema deriva dos transtornos circulatórios, traduzidos pelo aumento da permeabilidade dos tecidos e da dificuldade de circulação de retorno, representando a área de necrose, em última análise, os efeitos da estase sangüínea.

Contudo, a formação de crosta úmida nos adenomas hepatóides ocorreu, provavelmente, em função da maior retenção de líquidos no seu interior, antes bastante irrigados, do seu volume e das características próprias do tecido, o que conduzia ao seu esfacelo em tempo relativamente longo em relação aos papilomas.

A não regressão dos tumores venéreos transmissíveis pode ser atribuída ao fato de ter sido realizada a cirurgia sem a concomitante episiotomia, uma vez que preconizam a exposição do tumor por meios cirúrgicos. Por esse motivo, nem a superposição de áreas de congelamento, na mesma aplicação, nem sua repetição, após o esfacelo, foram capazes de destruir os tumores, pois suas bases mais profundamente localizadas não foram totalmente congeladas. Desse modo, somente quando o tumor se apresentava pediculado e de fácil exposição é que a criocirurgia produzia resultados satisfatórios pelo esfacelamento, inclusive do pedículo tumoral.

Por ser o tumor venéreo muito vascularizado e sem a proteção da pele, é previsível o aparecimento de hemorragias ao final de cada ciclo C-D, que se fez profuso após biópsia, a exemplo do que se verificou no animal nº 11. Após o descongelamento, entretanto, a hiperemia foi mais intensa do que a verificada nos adenomas, o que pode ser atribuído, inclusive, ao grau de vascularização do tumor venéreo.

O motivo pelo qual houve ou não resposta satisfatória após a criocirurgia das fístulas perianais e paranais é meramente especulativo; pode se dever à categoria das fístulas (superficiais ou profundas) ou aos fatores desencadeantes da sua formação. No animal nº 3, essas fístulas se estenderam por ampla área da pele devido à cronicidade, sendo porém superficiais, o que tornava sua recuperação mais rápida. No caso do animal nº 2, mesmo após cinco meses, não houve resolução completa das fístulas, portanto, deve-se considerar que, em alguns casos, a cura não se realiza enquanto toda a zona cutânea do ânus, junto com as glândulas, não for removida. Além de matéria fecal, as glândulas paranais podem albergar germes patogênicos, portanto, é importante a recomendação de removê-las previamente à criocirurgia das fístulas.

Os resultados da criocirurgia das fístulas perianais referidas com porcentagem de cura de 70% a 95% são superiores aos 50% encontrados nesta pesquisa obtiveram índice de cura de 48% nos animais submetidos à criocirurgia das fístulas perianais. Esses fatos revelam que os resultados dessa cirurgia oscilam muito e sugerem ser decorrentes de variáveis relacionadas com a gravidade da lesão e a metodologia adotada para a aplicação do nitrogênio líquido.

Das possíveis complicações pós-operatórias, neste trabalho foram encontradas estenose seguida de constipação e tenesmo, de forma passageira ao final do tratamento, resultado da retração cicatricial (animais nº 2 e 3) de lesões extensas.

No presente trabalho, o uso de sondas uretrais plásticas, de calibre apropriado ao diâmetro da fístula, mostrou-se bastante eficiente para a destruição da fístula, sendo o congelamento mais controlável por meio de seringas plásticas do que a pulverização do nitrogênio.

As fístulas da glândula do seio paranal responderam de forma muito favorável, necessitando apenas de uma intervenção cirúrgica. A epitelização ocorreu em prazo substancialmente menor em relação aos complexos fistulares das glândulas paranais e

perianais, pelo que se pode considerar a criocirurgia como terapia alternativa para esta afecção.

O uso de algodão e de tubos de seringa plástica foram os procedimentos mais eficientes na contenção do nitrogênio na área da criocirurgia. O algodão, mesmo congelando, evitava o escoamento do criógeno de forma que a associação de ambos foi muito benéfica.

A utilização de um duplo ciclo C-D nesta pesquisa foi considerada eficiente para a destruição dos tumores cutâneos, de alguns tumores venéreos transmissíveis e da maioria das fístulas, o que está de acordo com vários autores.

O monitoramento da temperatura sem o uso de aparelhos sensores foi considerado satisfatório e permitiu indicar, com ampla margem de segurança, que o congelamento pode se estender por cerca de 0,5 a 1,0cm em torno dos tumores e por cerca de 0,25cm em torno das fístulas, para que eles sejam efetivamente englobados na estrutura de gelo.

Dentre os criógenos mais comumente utilizados para fins criocirúrgicos, o nitrogênio líquido foi escolhido pelo seu maior poder de resfriamento, por ser inerte, de fácil aquisição e armazenamento, e pelo seu custo relativamente baixo.

O isolamento interno do aparelho pulverizador com perlita foi insuficiente para evitar, totalmente, a transferência da baixa temperatura para a sua parede externa, tornando-se necessário seu revestimento externo com isopor. A falta de isolamento limita o uso do aparelho pelo gasto de nitrogênio líquido e pelos cuidados de manipulação. O consumo de nitrogênio líquido (três a quatro litros por cirurgia) foi considerado relativamente alto, uma vez que o aparelho necessitava alcançar internamente o equilíbrio térmico.

A substituição da pêra do esfigmomanômetro por um tubo de látex permitiu que o fluxo de nitrogênio passasse a ser controlado por uma pinça de Hofmann. O excesso de nitrogênio volatilizado era liberado à distância, sem oferecer riscos para o cirurgião. Essas modificações contribuíram decisivamente para a eficiência de manipulação do aparelho e para o controle da pulverização do nitrogênio.

Pelos resultados, conclui-se que a criocirurgia: a) é útil nos tumores venéreos transmissíveis pediculados como alternativa à cirurgia cruenta, não apresentando

resultados satisfatórios naqueles profundamente disseminados; b) representa uma técnica alternativa para a exérese de neoplasias cutâneas benignas, principalmente adenomas hepatóides, particularmente em cães idosos e de risco anestésico; c) pela pulverização controlada do nitrogênio líquido, representa uma alternativa bastante favorável para o tratamento de fístulas superficiais da região anal. (GIANONNE 1985).

9- CONCLUSÃO

Abordamos neste trabalho a importância do elemento nitrogênio e vimos como se deu sua descoberta, sua abundância no planeta, que grande parte do nitrogênio encontrado no solo vem de matérias orgânicos mortos, a formação dos principais aminoácidos e vários outros compostos nitrogenados fundamentais para a vida terrestre. O nitrogênio tem papel fundamental na agricultura porque ele é importante para o crescimento das plantas. Este também é um dos principais gases que afetam o aquecimento global, o acúmulo de óxido nítrico no ar no período pré-industrial produziu cerca de um terço da magnitude do aquecimento adicional provocada pelo metano.

Existem ecossistemas inteiros, que abrangem desde florestas e águas oceânicas que estão hoje completamente dominados pelo nitrogênio, o excesso do íon nitrato na água é problemático devido a sua potencial relação com o câncer de estômago.

Explicamos também como se dá a fixação biológica do nitrogênio através das bactérias, e sua importância na medicina, com um estudo feito para curar de carcinoma que obteve sucesso, a criocirurgia.

10- REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- BARBER ,NIELSEN, NE;, SA
Differences Among Genotypes of Corn in the Kinetics of P Uptake
Agronomy Journal Vol. 70, 1978.
- BAIRD, Colin Química Ambiental /Colin Baird; Trad. Maria Angeles Lobo Recio e Luiz Carlos Marques Corrêa 2º ed. Porto Alegre /RS Bookmam, 2002
- BARON, C. & ZAMBRYSKI, P.C. Notes from the underground: highlights from plant-microbe interactions. Trends Biotechnol.,13 : 356-361, 1995.
- BUCHANAN,Bb B; GRUÍSSEM,Wilhelm,Jones Russel : Biochemistry & molecular biology of plants,Lavoisier-2000.
- BUCHMAN ,L.V;I.B.Mertsalov, D.A.Kulikova, M.V.Alimova-Kost, N.N.Ninkina, L.I.Korochkin and (2000) Structure and expression of two members of the d4 gene family in mouse. Mammalian Genome.
- BUCHANAN, GRUISSEM , Jones
Biochemistry and Molecular Biology of Plants 2000
Am Soc. Plant. Physiology
- BRYNE, M. Cryosurgical instrumentation. Vet. Cli. North Am. Small Anim. Pract. V.10, p. 771-778, 1980.
- BORTHWICK, R. Cryosurgery and its role in the treatment of malignant neoplasms. J. Small Anim. Pract., v.13, p. 369-371, 1972.
- FOSKET, D. E. Plant growth and development: a molecular approach. Academic Press, 1994, 580 p.
- GASS, I. G., and Masson Smith, D., *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.*, A, 255, 417 (1963).
- GASS, I. G., *Nature*, 220, 39 (1968).
- GRANT, GEORGE. *Buchanan: Caught in the Crossfire*. Nashville, TN: Thomas Nelson, 1996.
- GLICK, B. R. & PASTERNAK, J.J. Molecular biotechnology : principles and applications of recombinant DNA. Washington, D.C., ASM Press, 1994.
- GIANONNE, J.A. Cryotherapy for perianla and tail lesions. V. 66, p- 35-38, 1985.

HOPKINS, W.G. Introduction to plant physiology. New York, Jonh Wiley & Sons, 1995. 464 p.

LEE,J.D,Química inorgânica não tão concisa/ tradução da 5ª ed. Inglesa: Henrique E. Toma, Koiti Araki, Reginaldo C.Rocha – São Paulo: Edgard Blucher,1999.

LEA, P. J. & LEEGOOD, R. C. (Ed.). Plant biochemistry and molecular biology. John Wiley e Sons, 1993.

LISKA, W. D., WITHROW, S. J. Cryosurgical treatment of perianal gland adenomas in the dog. V.14. p.457-463, 1978.

MALAVOLTA, Luiz André ; Eurípedes. As Ciências Agrícolas no Brasil, São Paulo: EPU: Ed. da Universidade de São Paulo, 1979-1982.

MALAVOLTA, E.; NEPTUNE, A. M. L. Características e eficiência dos adubos nitrogenados. São Paulo: SN Centro de Pesquisa e Promoção de Sulfato de Amônio,1983.

MARTINEZ, M. C. & VERA, J. J. (1994). La estructura del prejuicio: realidad y simbolismo. *Boletín de Psicología*, 42, 21-38.

NOBEL, L De Souza Pinto. Hidrologia Básica, São Paulo/ SP ; Edgar Blucher; 1976.

SALISBURY, F.B. & ROSS, C.W. Plant physiology. Belmont, Wadsworth Publ. Co, 1991. 682 p.

SANTOS FILHO, Davino Francisco dos, 1532- Tecnologia de Tratamento de Água para Industria/ Davino Francisco dos Santos Filho / São Paulo/ SP : Nobel

SEIM, H.B. Mechanisms of cold-induced cellular death. Philadelphia. V. 10, p. 755-768, 1980.

SOLOMONS, T.W.G. Organic Chemistry. New York: John Wiley & Sons, 1996.

TEIXEIRA, Wilson & TOLEDO, M. Cristina Fairechierd, Thomas; Taide Fabio Decifrando a Terra. Oficina de texto são Paulo 2000,2º Reimpressão 2003

SITES CONSULTADOS:

www.scielo.com.br DATA : 10/09/07 HORA: 15:45

www.saudetotal.com.br DATA: 28/08/07 HORA: 22:44

www.serrana.com.br DATA: 30/07/07 HORA: 15:02

www.ufpa.br DATA: 28/09/07 HORA : 23:43

www.ufpa.br/ccen/quimica/laboratorio DATA: 28/09/07 HORA : 23:43