

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

BACTÉRIAS PRODUTORAS DE SIDERÓFOROS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO PARA A AGRICULTURA

Gabriel Mendes Ribeiro, Lincoln Xavier Correa, Marcella Augusta Falci Demarque, Vanessa Sessa Dian, Serli de Oliveira Cabral, Dalila da Costa Gonçalves, Willian Bucker Moraes, André da Silva Xavier.

Universidade Federal do Espírito Santo - Campus Alegre, Alto Universitário, s/n Guararema, Alegre -ES, 29500-000- Brasil, gabrielmendes0069@gmail.com, lincolnxavier229@gmail.com, marcela.falcci@gmail.com, vanessasessa2@gmail.com, biologiaserli@gmail.com, dalilant@hotmail.com, willian.fito@gmail.com, andre.s.xavier@ufes.br

Resumo

O ferro (Fe) é micronutriente relevante para o crescimento saudável das plantas, contudo, sua disponibilidade pode ser limitada. Procedeu-se a avaliação *in vitro* da habilidade produtiva de sideróforos por bactérias cultivados em meio de cultura King B, mantidos em temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 11 dias. Os isolados foram criteriosamente selecionados com antecedência em meio de cultura TSA (10%). 3 μL de suspensão dos isolados bacterianos, juntamente com os controles positivos *Pseudomonas fluorescens*, A1F3, *Azospirillum brasiliensis*, e *Pseudomonas syringae* pv. tomato, e água destilada esterilizada como controle negativo foram inoculados em placas de Petri® contendo meio King B. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. A capacidade de produzir sideróforos foi evidenciado pela fluorescência detectada na luz negra. Dos 32 isolados bacterianos avaliados, 15 tiveram notável exsudação de sideróforos. A produção de sideróforos pode ser alternativa, pois as plantas podem aumentar sua absorção de ferro e, consequentemente, melhorar sua saúde e crescimento.

Palavras-chave: Sideróforos. Potencial Biotecnológico. Biorremediação. Ferro. Quelantes.

Área do Conhecimento: Engenharia agrônômica

Introdução

O ferro (Fe) é micronutriente essencial para as plantas e desempenha papel fundamental em muitas funções vitais, atuando como cofator de enzimas e proteínas envolvidas no metabolismo vegetal (FERREIRA *et al.*, 2019). Uma de suas principais ações está na composição da ferredoxina, enzima que atua na transferência de energia na cadeia transportadora de elétrons e nas reações redox, o ferro também está envolvido em outras vias metabólicas, como fixação biológica de nitrogênio, respiração celular, catalisador na síntese de clorofila (TAIZ *et al.*, 2015; CROWLEY, 2006). Frequentemente o ferro se encontra indisponível, muitas vezes na sua forma oxidada (Fe^{3+}) e inacessível. Porém, alguns microrganismos presentes no solo (epifíticos) ou que habitam o interior das plantas (endofíticos), produzem tipo de composto chamado de sideróforo, que atua na complexação do ferro insolúvel, deixando-o disponível (RICHARDSON *et al.*, 2009).

Os sideróforos são compostos moleculares secretados por organismos vivos, como bactérias, fungos, leveduras e plantas (AHMED; HOLMSTRÖM, 2014). Quimicamente se caracterizam pelo baixo peso molecular e alta afinidade por Fe^{3+} (SAHA *et al.*, 2013). Essas moléculas têm a capacidade de se ligar e formar complexos com íons de ferro (Fe^{3+}), sendo após formado transportado para o citosol bacteriano, onde é reduzido a Fe^{2+} , tornando-o disponível e acessível para o metabolismo dos vegetais (SULTANA *et al.*, 2021). Por isso os sideróforos microbianos podem auxiliar na absorção e transporte de ferro, proporcionando vantagem de sobrevivência para planta (FERREIRA *et al.*, 2019). Além de sua importância na captação e disponibilização de ferro, os sideróforos estão envolvidos na regulação do metabolismo de outros metais, ajudando na adaptação às diferentes condições ambientais (SULTANA *et al.*, 2021) e na defesa da planta devido às vantagens competitivas, pois os sideróforos sintetizados pelos microrganismos canalizam o ferro para os processos físico-bioquímicos da planta, privando os fitopatógenos deste recurso (BENEDUZI *et al.*, 2012). Segundo Haas e Défago (2005), a produção de sideróforos também confere vantagens

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

competitivas às PGPR, que podem colonizar raízes e excluir outros microrganismos desse nicho ecológico.

Como o Ferro é micronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, o isolamento de microrganismos produtores de sideróforos envolvidos na biodisponibilidade deste elemento é de interesse em termos agrônômicos, podendo melhorar a eficiência do uso dos recursos disponíveis e aumentar os rendimentos dos cultivos agrícolas. A partir do exposto, objetivou-se com este estudo isolar microrganismos epifíticos e endofíticos capazes de produzir sideróforos e discutir seu potencial biotecnológico para a agricultura.

Metodologia

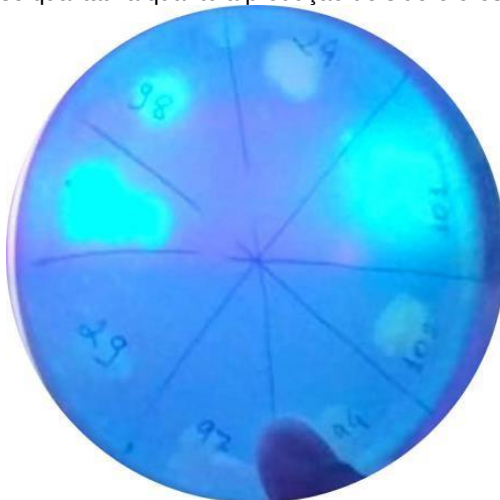
Foram utilizadas 32 bactérias pertencentes da coleção de microrganismos do Laboratório de Biotecnologia Agrícola e Ambiental (Biota), da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), *campus* Alegre-ES, previamente cultivados em meio TSA 10% com reduzida atividade de água (Aw) (HALLSWORTH *et al.*, 1998). Os microrganismos foram reativados em meio BDA (Batata 200 g L⁻¹; Dextrose, 20 g L⁻¹ e Ágar, 15 g L⁻¹), e repicados em tubos de ensaio com meio de cultura caldo nutriente (Nutrient Broth) e levados para crescimento em incubadora tipo Shaker regulada para condição de 28°C ± 2 °C e 160 RPM (Rotações Por Minuto), mantidas *overnight*.

Avaliou-se a capacidade de produção de sideróforos dos isolados selecionados mediante cultivo em meio de cultura King B [peptona 20g L⁻¹; glicerol 12g L⁻¹; K₂HPO₄ (anidro) 1,5g L⁻¹; MgSO₄. 7H₂O 1M 6mL L⁻¹; Ágar 15g L⁻¹] durante 11 dias, incubados em estufa de crescimento a 28°C ± 2 °C. Em cada placa de Petri, foram inoculados 3μL de suspensão bacteriana e dos controles positivos, compostos por *Pseudomonas fluorescens*, A1F.3, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* e *Azospirillum brasiliensis*, e água destilada estéril como controle negativo. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. A fluorescência emitida pelos isolados foi observada em luz negra, indicando o potencial do isolado em produzir sideróforos (KING *et al.*, 1954).

Resultados

Para o ensaio de aferição da produção de sideróforos foram identificadas 15 isolados positivos, ou seja, capazes de florescer na presença da luz negra (Figura 1). Ao todo foram 32 isolados testados, sendo três endofíticos e 12 epifíticos. A Figura 2 apresenta a relação entre bactérias endofíticas e epifíticas quanto a produção de sideróforos. Neste estudo analisou-se a progressão temporal da produção de sideróforos até o 11º dia. Percebe-se que desde o 2º dia de avaliação as bactérias epifíticas predominaram quanto a produção de sideróforos.

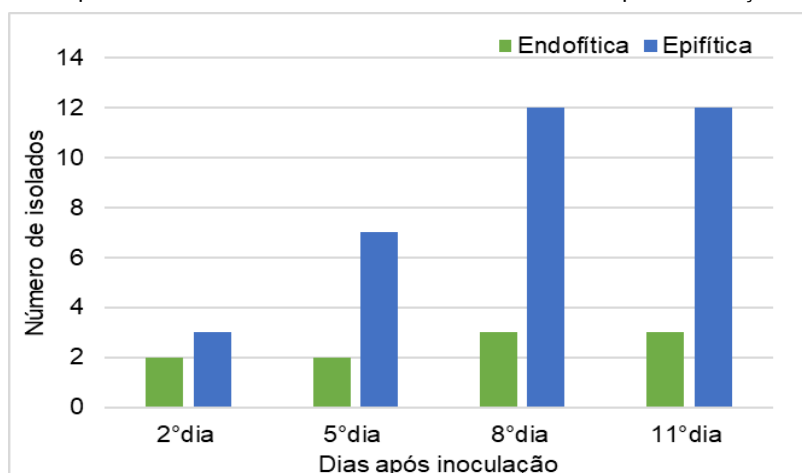
Figura 1 - Análise qualitativa quanto à produção de sideróforos em meio King B.



Fonte: o autor.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Figura 2- Bactérias produtoras de sideróforos no 2º, 5º, 8º e 11º dias após inoculação em meio King B.



Fonte: o autor.

Discussão

A bioprospecção de microrganismos, como rizobactérias, bactérias endofíticas e epifíticas, tem-se mostrado promissora para estimular o crescimento de plantas em solos carentes de ferro (TIMOFEEVA *et al.*, 2022). Esse efeito benéfico está relacionado à produção de sideróforos, moléculas que possuem alta afinidade por íons de ferro de baixo peso molecular (BENITE; MACHADO, 2002). As rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR) são um grupo de bactérias benéficas que normalmente habitam a rizosfera, a região do solo que está próxima das raízes das plantas. Elas podem estabelecer associações tanto na superfície radicular (rizosfera) quanto dentro dos tecidos das raízes (associações endofíticas), podendo direta ou indiretamente facilitar o crescimento da planta em condições de estresse biótico ou abiótico (BORAH; THAKUR, 2020). Um dos mecanismos de promoção inclui o sequestro de ferro por sideróforos bacterianos (NIU *et al.*, 2018).

Os sideróforos são moléculas versáteis que se ligam a vários metais, não se limitando apenas ao ferro. Embora o termo "sideróforo" tenha origem grega e significa "portador de ferro", muitos sideróforos podem sequestrar íons metálicos além do ferro, inclusive algumas moléculas tóxicas (BENITE; MACHADO, 2002). As bactérias produtoras de sideróforos apresentam potencial para serem utilizadas em aplicações de biorremediação de solos contaminados, seu efeito desintoxicante pode ser vantajoso para as plantas em solos afetados por metais pesados (AHMED *et al.*, 2014).

Com base nos resultados iniciais deste estudo, 15 (quinze) bactérias demonstraram ser positivas na produção de sideróforos, possivelmente devido à função quinolina responsável pela fluorescência detectada em luz negra, conforme ilustrado na Figura 1. Esse fenômeno também foi observado em estudos envolvendo *Pseudomonas fluorescentes*, onde sideróforos pseudobactina e a pioverdina contendo função quinolina, juntamente com cadeia peptídica de comprimento variável carregando funções ácido hidroxâmico e α -hidroxiácidos, foram associados ao estímulo do crescimento das plantas. Essas substâncias controlam organismos tóxicos no solo por meio do processo de quelatção (BENITE; MACHADO, 2002). Muleta *et al.* (2021) associou o aumento significativo no teor de ferro nos tecidos vegetais à produção de sideróforos por *fluorescens*.

As pseudobactina e a pioverdina foram evidenciadas em mutante superprodutor de sideróforos *K. ascorbata* SUD165/26 conferindo crescimento favorável em plantas de tomate, canola e mostarda, mesmo em solos com altas concentrações de níquel, zinco e chumbo. Isso sugere que essas substâncias fornecem ferro de forma adequada, resultando em um efeito inibitório em relação aos metais pesados (BURD *et al.*, 2000).

Crowley (2006) destacou que plantas e microrganismos utilizam mecanismos distintos para aumentar a solubilidade do ferro e enfrentar esse desafio. Plantas dicotiledôneas empregam redutases e liberam prótons para acidificar a rizosfera e reduzir a condição redox, tornando o ferro inorgânico mais solúvel. Por outro lado, plantas monocotiledôneas e microrganismos dependem dos sideróforos, que são moléculas orgânicas, para aumentar a solubilidade do ferro.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Outra característica de grande relevância é a produção de sideróforos bacterianos multifuncionais. Essas substâncias, além de estimularem o crescimento das plantas, também possuem efeito antagonista contra patógenos (TIMOFEEVA *et al.*, 2022), como demonstrado em estudos envolvendo isolados de *B. subtilis* NUU4, os quais produzem sideróforos com atividade antagonista contra diversos patógenos, como *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum*, *A. alternate* e *B. cinerea* (EGAMBERDIEVA *et al.*, 2017). Embora a produção de sideróforos não seja restrita exclusivamente às PGPR, é importante mencionar que algumas bactérias patogênicas humanas também possuem habilidades similares contra patógenos vegetais (TIMOFEEVA *et al.*, 2022), como observado por De Los Santos-Villalobos *et al.* (2012), em sua pesquisa com a bactéria *Burkholderia cepacia* XXVI contra o agente causador da antracnose.

O ferro desempenha função crucial em diversas atividades fisiológicas e metabólicas das plantas. Ao ser mais biodisponibilizado desempenha papel significativo na produção de biomassa vegetal e no valor nutricional das culturas, por isso utilizar bactérias que produzem sideróforos é ferramenta biotecnológica sustentável capaz de proporcionar a redução no uso excessivo de fertilizantes químicos (SULTANA *et al.*, 2021), bem como minimizar a deficiência de ferro e promover o crescimento vegetal em condições de estresse aumentando, assim, sua resistência.

Conclusão

Os resultados deste estudo revelam que as bactérias analisadas, provenientes de diferentes regiões do Estado do Espírito Santo, demonstraram a capacidade de produzir sideróforos, com variações notáveis no tempo de início da fluorescência. Os microrganismos epifíticos se destacaram como produtores de sideróforos, o que abre portas para explorar seu potencial na promoção do crescimento vegetal em sistemas agrícolas sustentáveis. Esta abordagem oferece uma alternativa promissora aos agroquímicos tradicionais, com a perspectiva de redução de custos de produção e, consequentemente, benefícios econômicos para os agricultores. Além disso, a análise das características biológicas e moleculares dessas bactérias sugere novas possibilidades para futuras aplicações agrícolas, apontando para um futuro mais sustentável e produtivo na agricultura. Portanto, este estudo fornece uma base sólida para futuras pesquisas e desenvolvimentos visando uma agricultura mais eficiente e amiga do meio ambiente.

Referências

AHMED, E.; HOLMSTRÖM, S. J. M. Siderophores in environmental research: roles and applications: Siderophores in environmental research. **Microbial biotechnology**, v. 7, n. 3, p. 196–208, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1https://ami-journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1751-7915.12117751-7915.12117> Acesso em: 25 jul.2023.

BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. **Genetics and molecular biology**, v. 35, p. 1044-1051, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572012000600020> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/gmb/a/nBs38RzksfS9SwPZSKVd6kL/?lang=en> Acesso em: 18 jul. 2023.

BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. DE P.; MACHADO, B. DA C. Sideróforos: uma resposta dos microorganismos. **Química nova**, v. 25, n. 6b, p. 1155–1164, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000700016> Disponível em: SciELO - Brasil - Sideróforos: uma resposta dos microorganismos Sideróforos: uma resposta dos microorganismos Acesso em: 25 jul. 2023

BORAH, A.; THAKUR, D. Phylogenetic and functional characterization of culturable endophytic actinobacteria associated with *Camellia* spp. for growth promotion in commercial tea cultivars. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 318, 2020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00318> Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.00318/full> Acesso em: 18 jul. 2023.

BURD, G. I.; DIXON, D. G.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. **Canadian journal of microbiology**, v. 46, n. 3, p. 237–245, 2000. <https://doi.org/10.1139/w99-143> Disponível em: Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants (cdnsiencepub.com) Acesso em: 25 jul. 2023

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

CROWLEY, D. E.; Microbial siderophores in the plant rhizosphere. In: Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Dordrecht: Springer Netherlands, 2006. p. 169-198. https://doi.org/10.1007/1-4020-4743-6_8 Disponível em: [Microbial Siderophores in the Plant Rhizosphere | SpringerLink](#) Acesso em: 25 jul. 2023

DE LOS SANTOS-VILLALOBOS, S.; BARRERA-GALICIA, G. C.; MIRANDA-SALCEDO, M. A.; PEÑA-CABRIALES, J. J. *Burkholderia cepacia* XXVI siderophore with biocontrol capacity against Colletotrichum gloeosporioides. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 2615-2623, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1071-9> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-012-1071-9#Sec30> Acesso em: 18 jul. 2023.

EGAMBERDIEVA, D.; WIRTH, S. J.; SHURIGIN, V. V.; HASHEM, A.; ABD-ALLAH, E. F. Endophytic bacteria improve plant growth, symbiotic performance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and induce suppression of root rot caused by *Fusarium solani* under salt stress. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1887, 2017. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01887> Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01887/full> Acesso em: 16 jul. 2023.

FERREIRA, C. M.; SOARES, H. M.; SOARES, E. V. Promising bacterial genera for agricultural practices: An insight on plant growth-promoting properties and microbial safety aspects. **Science of the total environment**, v. 682, p. 779-799, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.225> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719317541?casa_token=W1rTu3oz_2MAA AAA:rwD_8W-76HyfcPe1ZDDRvxvu3ATNZpjRbTUqSlvS5Cu62ovZ3-gTCkieXr4GykD16lwI5ov8Jd3a Acesso em: 18 jul. 2023.

HAAS, D.; DÉFAGO, G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. **Nature reviews microbiology**, v. 3, n. 4, p. 307-319, 2005. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1129> Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro1129#citeas> Acesso em: 15 jul. 2023.

HALLSWORTH, J. E.; NOMURA, Y.; IWAHARA, M. Ethanol-induced water stress and fungal growth. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 86, n. 5, p. 451-456, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0922-338X\(98\)80150-5](https://doi.org/10.1016/S0922-338X(98)80150-5) Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0922338X98801505> Acesso em: 15 jul. 2023.

KING, E. O.; WARD, M. K.; RANEY, D. E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 44, n. 2, p. 301-307, 1954. <https://doi.org/10.5555/uri:pii:002221435490222X> Disponível em: [https://www.translationalres.com/article/0022-2143\(54\)90222-X/fulltext](https://www.translationalres.com/article/0022-2143(54)90222-X/fulltext) Acesso em: 10 jul. 2023.

MULETA, A.; TESFAYE, K.; HAILE SELASSIE, T. H.; COOK, D. R.; ASSEFA, F. Phosphate solubilization and multiple plant growth promoting properties of Mesorhizobium species nodulating chickpea from acidic soils of Ethiopia. **Archives of Microbiology**, v. 203, p. 2129-2137, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02189-7#citeas> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00203-021-02189-7#citeas> Acesso em: 20 jul. 2023.

NIU, X.; SONG, L.; XIAO, Y.; GE, W. Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria associated with foxtail millet in a semi-arid agroecosystem and their potential in alleviating drought stress. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2580, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02580> Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.02580/full> Acesso em: 17 jul. 2023.

RICHARDSON, A. E.; BAREA, J. M.; MCNEILL, A. M.; PRIGENT-COMBARET, C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. **Plant Soil**, v. 321, p. 305-339, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9895-2> Disponível em:

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

<https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-009-9895-2> Acesso em: 17 jul. 2023.

SAHA, R.; SAHA, N.; DONOFRIO, R. S.; BESTERVELT, L. L. Microbial siderophores: a mini review. **Journal of basic microbiology**, v. 53, n. 4, p. 303-317, 2013. <https://doi.org/10.1002/jobm.201100552> Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jobm.201100552?casa_token=ovNgmFhsOOIAAAAA:l dFlpZ4H5Qpq75ioysCggjo6Mz74aIJpUCG5WYS JGtBwH fLGvjh4VmYX2jYT7AZ7if 7QHtv iww7x1A Acesso em: 17 jul. 2023.

SULTANA, S.; ALAM, S.; KARIM, M. M. Screening of siderophore-producing salt-tolerant rhizobacteria suitable for supporting plant growth in saline soils with iron limitation. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 4, p. 100150, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100150> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666154321000521> Acesso em: 11 jul. 2023.

SULTANA, S.; PAUL, S. C.; PARVEEN, S.; ALAM, S.; RAHMAN, N.; JANNAT, B.; HOQUE, S.; RAHMAN, M. T.; KARIM, M. M. Isolation and identification of salt-tolerant plant-growth-promoting rhizobacteria and their application for rice cultivation under salt stress. **Canadian journal of microbiology**, v. 66, n. 2, p. 144-160, 2020. <https://doi.org/10.1139/cjm-2019-0323> Disponível em: <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/cjm-2019-0323> Acesso em: 11 jul. 2023.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Plant physiology and development**. Sinauer Associates Incorporated, 2015.

TIMOFEEVA, A. M.; GALYAMOVA, M. R.; SEDYKH, S. E. Bacterial siderophores: Classification, biosynthesis, perspectives of use in agriculture. **Plants**, v. 11, n. 22, p. 3065, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11223065> Disponível em: [Plants | Free Full-Text | Bacterial Siderophores: Classification, Biosynthesis, Perspectives of Use in Agriculture \(mdpi.com\)](https://doi.org/10.3390/plants11223065) Acesso em: 11 jul. 2023.

Agradecimentos

Ao Centro de Ciências Agrárias Engenharias e ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) da Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Alegre, nas dependências dos quais os experimentos ocorreram, bem como o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).