



## Produção de sideróforos em estirpes bacterianas isoladas de *Paspalum* sp *Siderophore production in bacteria strains isolated from Paspalum sp.*

AMARAL, Mayan Blanc<sup>1</sup>; RIBEIRO, Rafael Chaves<sup>2</sup>; BALDANI, Jose Ivo<sup>3</sup>;  
BALDANI, Vera Lúcia Divan<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ),  
mayan\_gbi@hotmail.com, <sup>2</sup>rafaelcribeiro@hotmail.com <sup>3</sup> Embrapa Agrobiologia,  
ivo.baldani@embrapa.br, vera.baldani@embrapa.br

### Eixo temático: Manejo de Agroecossistemas de Base Ecológica

**Resumo:** Objetivou-se com este trabalho avaliar a produção de 55 estirpes bacterianas isoladas de genótipos de *Paspalum* sp. A avaliação da produção de sideróforos *in vitro* foi realizada com o uso do meio CAS. Dos 55 isolados bacterianos avaliados, cerca de 40 isolados cresceram em meio sólido CAS. A capacidade de produção de sideróforos pode ser uma alternativa ao uso de defensivos químicos. Em próximos ensaios devem ser analisados o efeito deste no biocontrole dos principais patógenos, bem como sua capacidade em promover crescimento vegetal em pastagens tropicais.

**Palavras-chave:** Bactérias promotoras de crescimento vegetal; *Pastagens tropicais*.

**Keywords:** Plant growth promoting bacteria; *tropical grasses*.

### Introdução

Sideróforos (*Sideros*, ferro e *pheros*, portador) são moléculas orgânicas com baixo peso molecular sintetizadas por microrganismos que são agentes quelantes de metais que capturam o ferro ferroso insolúvel de diferentes habitats (NAGOBA & VEDPATHAK, 2011).

O Sideróforo liga-se primeiro com ferro ( $Fe^{+3}$ ) firmemente e então o complexo sideróforo-ferro move-se para dentro da célula através da membrana celular utilizando os receptores específicos de sideróforos (AHMED & HOLMSTROM, 2014).

Mais de 500 sideróforos diferentes foram relatados, dos quais 270 foram bem caracterizados (BOUKHALFA et al., 2003), e os demais não foram caracterizadas e suas funções ainda não foram determinadas (ALI & VIDHALE, 2013)

Existem vários métodos de detecção da produção dos sideróforos, dentre estes, o uso do método CAS (Azul Cromo-Azurol) ágar proposto por Schwyn & Neilands (1987), a produção é determinada pela alteração na coloração do meio.

Os sideróforos podem ser considerados uma alternativa ecológica aos defensivos químicos no setor agrícola, são relatados o potencial de estirpes de *Pseudomonas fluorescens* como promotora de crescimento vegetal e controle biológico de *Erwinia carotovora* (KLOEPPER et al., 1980), da inibição de fungos fitopatogênicos, tais como *Phytophthora Parasítica*, *Pythium ultimum* e *Sclerotinia sclerotiorum* (SEUK et al,



1988, HAMDAN et al, 1991; MCLOUGHLIN et al, 1992). Nesse sentido, objetivou-se com este trabalho avaliar a produção de sideróforos *in vitro* de isolados bacterianos obtidos de genótipos de *Paspalum* sp.

## Metodologia

A avaliação foi feita baseando-se no protocolo de Schwyn e Neilands (1987), modificado por Tortora *et al.* (2011) com alterações. Os isolados foram previamente crescidos em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio específico dos quais foram isolados NFB, LGI e LG (livre de ferro e suplementado com 0,1% de NH<sub>4</sub>Cl, sem adição de azul de bromotimol) e incubados por 72 h à 30° C sob agitação constante de 150 rpm.

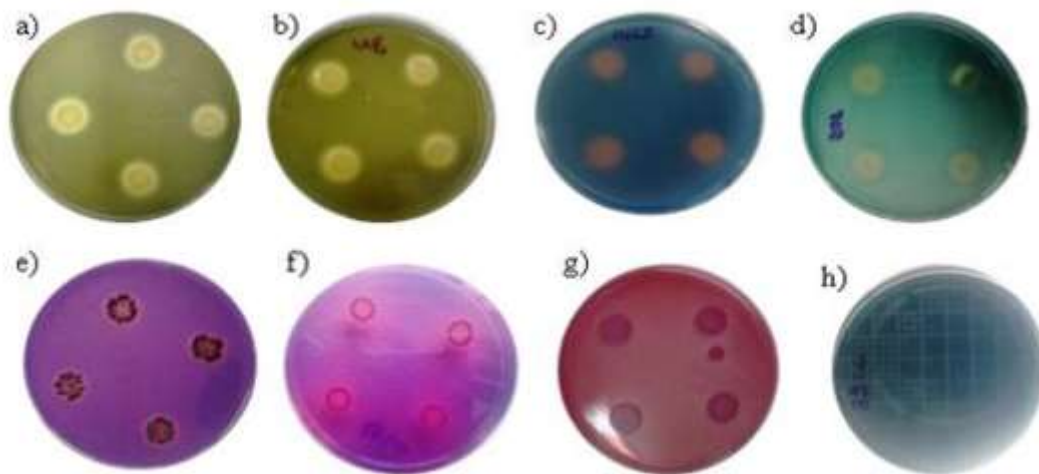
Em seguida, as células foram centrifugadas à 8000 x g por 10 minutos e o pellet foi lavado 3 vezes com água estéril deionizada e a concentração celular foi ajustada para DO<sub>560</sub> = 0,2. 4 alíquotas de 10 µl da suspensão bacteriana foi inoculada em placas de Petri contendo meio LG, NFB e LGI sólido (sem azul de bromotimol e suplementada com 0,1% NH<sub>4</sub>Cl) e Cromoazurol S (CAS) e incubada a 30°C por 7 dias. A detecção da produção de sideróforos foi avaliada de acordo com a formação de um halo roxo, laranja, verde ou amarelo em volta das colônias.

Todas as vidrarias utilizadas foram lavadas com solução de HCl 10% e enxaguadas com água deionizada antes do uso.

## Resultados e Discussão

Nas condições testadas apenas os isolados crescidos em meio NFB (CAS) produziram halo indicando a produção de sideróforos, no entanto, nos demais meios não houve a formação do halo, no entanto houve a alteração da cor do meio e o crescimento bacteriano, indicando a produção de sideróforos.

Dos 55 isolados bacterianos avaliados, cerca de 40 isolados cresceram em meio sólido LG, LGI ou NFB (CAS) e apresentaram produção de sideróforos indicada como a alteração da cor do meio de azul para lilás, roxo ou rosa no meio LG (CAS) e de azul para roxo ou laranja no meio LGI (CAS) e de azul para verde em meio NFB (CAS). Onze isolados não conseguiram crescer nos meios indicados. E os isolados 43LG, 48LG, 73LG e 81LG cresceram no meio, mas não produziram sideróforos até o 14º dia de avaliação. (Figura 1).



**Figura 1.** Produção de Sideróforos por isolados bacterianos de genótipos de *Paspalum* aos 14 dias após crescimento em meio LG, NFB e LGI, acrescido de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  à 0,1%, sem indicador e CAS, utilizando a estirpe ZAE 94 como controle positivo. a) ZAE 94; b) 3N; c) 96LG; d) 14LI; e) 123LG; f) 13LG; g) 21LG; h) 105LG; 39LG como não produtora.

A variação de coloração no meio indica a produção de diferentes tipos de sideróforos microbianos, que podem ser classificados principalmente de acordo com o grupo funcional quelante do Ferro em 3 tipos: catecolatos (fenolatos), hidroximatos e hidroxicarboxilatos o que forma complexos octaédricos hexadentados com o metal. Os sideróforos produzidos pelas bactérias podem ser de um ou mais tipos, alguns sideróforos são mais eficazes do que outros e a grande diversidade de moléculas produzidas relaciona-se ao fato da diversidade de substratos que podem usar (MARAHIEL, 1997; CROSA & WALSH, 2002; AGUADO-SANTACRUZ et al, 2012) (Tabela 1).

## Conclusões

A capacidade de estirpes bacterianas em produzir sideróforos apresenta-se como uma boa alternativa ao uso de defensivos químicos. Testes como a produção de sideróforos *in vitro* são métodos simples e eficazes na seleção de isolados com estas características.

## Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e a Embrapa Agrobiologia.

## Referências bibliográficas

AHMED, E.; HOLMSTROM, S.J.M. Siderophores in environmental research: roles and applications. **Microbiology Biotechnologic**, v.7, p.196–208, 2014.

Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 - Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia, São Cristóvão, Sergipe - v. 15, no 2, 2020.



ALI, S.S.; VIDHALE, N.N. Bacterial siderophore and their application: a review. **International Journal Current Microbiology Applied Science**, v.2, p.303–312, 2013.

BOUKHALFA, H.; LACK, J. G.; REILLY, S. D.; HERSMAN, L.; NEU, M. P. Siderophore production and facilitated uptake of iron and plutonium in *P. putida*. No. LA-UR-03-0913. Los Alamos National Laboratory, 2003.

CAI, Y., WANG, R.; AN, M. M.; BEI-BEI, L. Iron-depletion prevents biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* through twitching motility and quorum sensing. **Brazilian Journal of Microbiology**. V. 41, p. 37-41, 2010.

CROSA, J. H; WALSH C. T., Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. **Microbiol. Molec. Biol. Rev.** 66:223-249. 2002.

HAMDAN H, WELLER D. M., THOMASHOW L. S. Relative importance of fluorescent siderophores and other factors in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. Tritici by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 and M4-80R. **Applied Environmental Microbiology**. v. 57, p.3270-3277, 1991.

KLOEPFER J. W., LEONG J, TEINTZE M, SCHIROTH M. N. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting Rhizobacteria. **Nature**. v. 286, p. 885-886, 1980.

MESSENGER A. J., BARCLAY R Bacteria, iron and pathogenicity. **Biochem Educ.** v.11, p.54-63.1983.

NAIR, A.; JUWARKAR, A. A., SINGH, S. K. Production and characterization of siderophores and its application in arsenic removal from contaminated soil. **Water Air Soil Pollution**. v.180, p.199-212, 2007.

NAGOBA, B., VEDPATHAK, D. Medical applications of siderophores. **Eur Journal Gen Med**. v. 8, p. 229-235, 2011.

RAJKUMAR, M.A.E.N.; PRASAD, M.N.V.; FREITAS, H. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. **Trends Biotechnology**. v. 28, p.142-149, 2010.

SANTACRUZ, G. A. A; GÓMEZ, B. M; FRANCISCO, J. B; MOYA, E. G.; ORTIZ, R. E. P. Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos em La asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. **Rev. Fitotec. Mex.** Vol. 35(1): 9-21.2012.

SEUK C, PAULITA T, BAKER R Attributes associate with increased biocontrol activity of *Pseudomonas fluorescent*. **Journal of Plant Pathology**.v.4: p.218-225, 1988.

SCHWYN, B. & NEILANDS, J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. **Analytical Biochem**. v. 160, p.47-56, 1987.

Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 - Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia, São Cristóvão, Sergipe - v. 15, no 2, 2020.



SAHA, M.; SARKAR, S.; SARKAR, B.; SHARMA, B. K.; BHATTACHARJEE, S.; TRIBEDI, P. Microbial siderophores and their potential applications: a review. **Environmental Science Pollution Research**. v. 39, p.84-99, 2015.

TORTORA, M. L., DÍAZ RICCI, J. C, PEDRAZA, R .*Azospirillum brasilense* siderophores with antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*. **Archives of Microbiology** v. 193, p. 275-286, 2011.