



Categoria: Iniciação Científica

Núcleo temático: ABC

Isolamento de sideróforos produzidos *in vitro* por mutante de *Gluconacetobacter diazotrophicus* estirpe PAL5^T

Thomas Nascimento da Silva¹, Isadora de Jesus da Silva²,
Cleiton de Paula Soares³, José Ivo Baldani⁴, Marcia Soares Vidal⁴

¹Graduando em Engenharia Química, UFRRJ, thomasdasilva25@hotmail.com; ²Graduanda em Engenharia Química, UFRRJ, isadorajs@gmail.com; ³Pós-Doc-Fitotecnia, UFRRJ, cleiton_depaula@yahoo.com.br, ⁴Pesquisadores Embrapa Agrobiologia, ivo.baldani@embrapa.br, marcia.vidal@embrapa.br

Gluconacetobacter diazotrophicus é uma bactéria fixadora de nitrogênio que também produz fatores estimulantes do crescimento vegetal, como sideróforos, que são pequenas biomoléculas que apresentam alta afinidade pelo íon férrico. O ferro é elemento essencial no processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN), pois está presente nos dois componentes conhecidos como ferro-proteína e ferro-molibdênio proteína, que constituem a nitrogenase, responsável pela redução enzimática do N₂ atmosférico em NH₃. O mutante da *G. diazotrophicus* estirpe PAL5^T, designado Gdiaa31, foi gerado pela inserção do transposon Tn5 na região promotora do grupo gênico *tonB-exbB-exbD*, genes estes envolvidos com a internalização do complexo ferro-sideróforos. Na estirpe Gdiaa31 foi observado o acúmulo de sideróforos no meio durante o cultivo *in vitro*, com isso o objetivo do trabalho foi isolá-los a partir do método de partição química. O mutante foi cultivado em meio de LGI-P modificado pela adição de 1 g.L⁻¹ de ácido succínico e 5,1 g.L⁻¹ de D-glicose que serve como fonte de carbono substituindo a sacarose. Após o crescimento das bactérias, o sobrenadante coletado após centrifugação à 4.000 rpm e 4°C durante 15 minutos, é filtrado e, posteriormente, acidificado com solução de HCl a 5% (v/v), para que pudesse ser misturado a 0,4 volume de acetato de etila para a precipitação das moléculas de sideróforos. A mistura permaneceu sob homogeneização por cerca de 16 horas e, no dia seguinte, foi centrifugada a 6.000 rpm e 4°C durante 10 minutos e seu sobrenadante foi recolhido em microtubos para evaporação do líquido no SpeedVac. O método de cromo azuroil S (CAS) confirmou a presença de sideróforos antes e depois do isolamento dos mesmos. A quantificação realizada pelo teste de Csáky (1948) mostrou uma concentração de 119,78 µmol.L⁻¹ de cultivo. Posteriormente, análises mais refinadas como Ressonância Nuclear Magnética irão auxiliar na determinação da estrutura química desses sideróforos.

Palavras chave:

bactéria diazotrófica, quelantes de ferro, acetato de etila.