



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

**SIDERÒFORS, AGENTS QUELANTS DEL FERRO PER
UNA AGRICULTURA SOSTENIBLE**

Esther Roca Fàbregas

TREBALL DE FI DE GRAU DE BIOTECNOLOGIA

Revisió bibliogràfica

Tutor acadèmic: Ricardo Cordero Otero, Biotecnologia, ricardo.cordero@urv.cat

Gener 2023

Jo, Esther Roca Fàbregas, amb DNI 77791109-A, soc coneixedora de la guia de prevenció del plagi a la URV *Prevenció, detecció i tractament del plagi en la docència: guia per a estudiants* (aprovada el juliol 2017) (<http://www.urv.cat/ca/vidacampus/serveis/crai/que-us-oferim/formacio-competencies-nuclears/plagi/>) i afirmo que aquest TFG no constitueix cap de les conductes considerades com a plagi per a la URV.

Tarragona, 28 de desembre de 2022



AGRAÏMENTS

En primer lloc, vull agrair als meus pares, Jordi i Montse i al meu germà Andreu tot el suport que m'han donat durant aquests mesos. No deu haver estat fàcil aguantar-me. També a la meva parella, Tito, que sempre ha estat al meu costat i m'ha resolt alguns dubtes sobre química necessaris per entendre alguns conceptes.

Per altra banda, als meus amics per escoltar com em queixava sempre i a les meves companyes de pràctiques Àngels i Amina per donar-nos entre nosaltres aquella empenta que tant ens feia falta.

A la Cristina Comas i al Daniel García que m'han acompanyat durant les pràctiques a AFEPASA i que sempre m'han ajudat sempre que ha calgut.

Finalment, al meu tutor acadèmic Ricardo Cordero per els seus consells i la seva ajuda immediata quan la necessitava.

ÍNDEX

RESUM	1
ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓ	2
2. HIPÒTESIS I OBJECTIUS.....	6
3. METODOLOGIA DE LA REVISIÓ BIBLIOGRÀFICA.....	7
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ	9
4.1. ELS SIDERÒFORS.....	9
4.1.1. Hidroxamats.....	9
4.1.2. Catecolats.....	10
4.1.3. Carboxilats.....	10
4.1.4. Sideròfors mixts.....	10
4.2. BACTERIS PRODUCTORS DE SIDERÒFORS	13
4.3. MECANISMES DE SÍNTESI, REGULACIÓ I TRANSPORT DE SIDERÒFORS	14
4.3.1. Biosíntesi de sideròfors	14
4.3.2. Regulació de la biosíntesi de sideròfors	16
4.3.3. Transport dels complexos ferro-sideròfor	17
4.4. APLICACIÓ DE SIDERÒFORS I/O ELS SEUS BACTERIS PRODUCTORS EN PLANTES	19
4.4.1. Millora de la nutrició de ferro en plantes d'estratègia I.....	20
4.4.2. Millora de la nutrició de ferro en plantes d'estratègia II.....	25
4.5. TAULES RESUM DE RESULTATS	30
5. CONCLUSIONS	35
6. PERSPECTIVES DE FUTUR	36
7. REFERÈNCIES	38
8. ANNEX: llistat d'abreviatures.....	43
9. AUTOAVALUACIÓ	45

RESUM

Actualment hi ha una gran demanda alimentària i per tal d'assolir-la s'han de resoldre alguns problemes existents en els cultius, com és el cas de la clorosis fèrrica. Aquesta carència de ferro es produeix sobretot en sòls de naturalesa alcalina degut a que el ferro es torna insoluble en pH bàsics. Fins ara s'han utilitzat fertilitzants inorgànics i sintètics per posar remei a aquesta deficiència nutricional però aquests agroquímics representen un problema mediambiental. Per aquesta raó, els sideròfors són una àrea emergent de recerca en agricultura. Aquestes molècules secretades per microorganismes presenten l'habilitat de quelar el ferro i tornar-lo biodisponible, fet que permet aportar a la planta aquest nutrient i permetre'n el seu creixement. És per aquest motiu, que aquesta revisió bibliogràfica està dedicada a aportar coneixements sobre els sideròfors i els seus beneficis en agricultura. D'aquesta manera, el desenvolupament de bioestimulants, en aquest cas basats en sideròfors, permetran aconseguir una agricultura més sostenible.

Paraules clau: sideròfors; bioestimulant; clorosis fèrrica; fertilitzants; ferro fèrric

ABSTRACT

To meet the currently demand for food, there are some existing issues in crops that must be solved, as is the case of iron chlorosis. This iron deficiency occurs mainly in alkaline soils due to the insolubility of iron in basic pH. Until now, inorganic and synthetic fertilizers have been used to remedy this nutritional deficiency, but these agrochemicals represent an environmental problem. For this reason, siderophores are an emerging area of research in agriculture. These molecules are secreted by microorganisms and have the ability to chelate iron and make it bioavailable, which allows the plant to acquire this nutrient and allow its growth. Thereby, this bibliographic review is dedicated to providing knowledge about siderophores and their benefits in agriculture. In this way, the development of biostimulants, in this case based on siderophores, will make it possible to achieve a more sustainable agriculture.

Keywords: siderophores; biostimulant; iron chlorosis; fertilizer; ferric iron

1. INTRODUCCIÓ

El ferro és un microelement essencial per a les plantes, ja que està implicat en diversos processos importants així com la fotosíntesi i la respiració cel·lular. També participa en la biosíntesi de la clorofil·la i forma part dels grups catalítics d'enzims redox del tipus hemoproteïnes com les catalases i peroxidases (antioxidants), i els citocroms (que participen en la cadena de transport d'electrons en la fotosíntesi i en la fosforilació oxidativa). Conseqüentment, el ferro es un element clau per a la producció de biomassa i en l'obtenció d'un alt valor nutricional en els cultius, degut a que aquest element juga un paper important en la salut humana [1].

Cal destacar que el ferro és un dels elements més abundants en el sòl però la seva biodisponibilitat depèn fortament del pH. Al voltant d'un pH neutre els ions de ferro es troben en la seva forma insoluble (Fe^{3+}), que reacciona per donar òxids i hidròxids inaccessibles, sent així un factor limitant pel creixement de les plantes en sòls alcalins, com per exemple, els calcaris [2]. La deficiència d'aquest element és coneguda com clorosis fèrrica i els seus símptomes es manifesten per l'aparició de fulles joves grogues com a conseqüència de la falta de producció de clorofil·les (Fig. 1). Per tant, la clorosis és un problema en agricultura perquè causa la disminució del rendiment dels cultius i del seu valor nutricional en ferro [3].

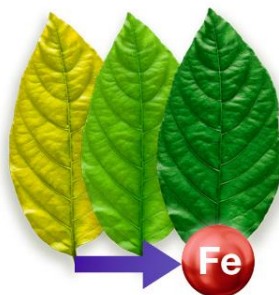


Figura 1. Símtomes de la clorosis fèrrica.

De fet, a Espanya aquest problema està molt present, ja que un gran percentatge del sòl del territori és alcalí [4] (Fig. 2).

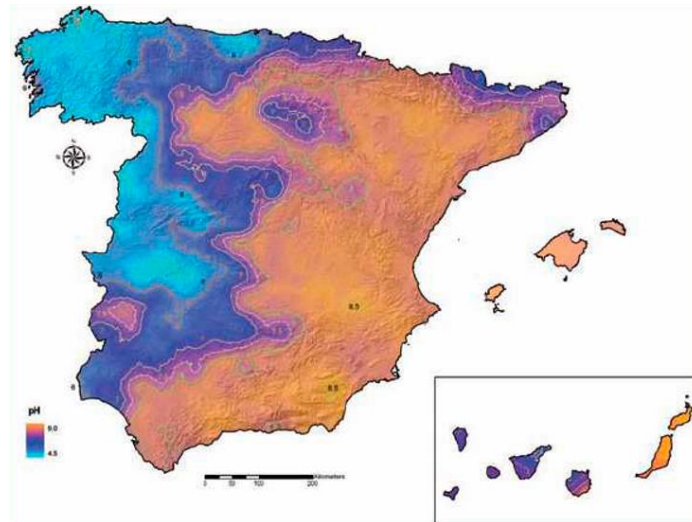


Figura 2. Mapa d'Espanya (2009) on es mostren les zones que contenen sòls alcalins i àcids. Les zones alcalines es senyalitzen amb un color taronja/ vermell i les zones àcides amb un color blau/ lila [4].

Tot i així, existeixen tractaments que consisteixen en l'aplicació de fertilitzants inorgànics com el sulfat de ferro (II) (FeSO_4). Tanmateix, l'aplicació d'aquestes sals és bastant ineficient en els sòls anteriorment descrits degut a la transformació de gairebé tot el ferro aplicat en compostos altament insolubles. També hi ha fertilitzants que contenen quelants de ferro sintètics com l'àcid etilendiaminotetraacètic (EDTA) que és el més comú. Aquests agents sintètics són molt eficaços en sòls calcaris perquè quelen el ferro en un rang ampli de valors de pH. No obstant, són cars i molt poc biodegradables, fet que provoca la seva persistència en sòls. Això pot causar toxicitat en organismes aquàtics i mamífers degut a la mobilització de metalls pesats, ja que els quelants sintètics també hi tenen afinitat [1,3].

És per això, que es necessiten desenvolupar fórmules més sostenibles que promoguin el creixement vegetal tal com ho fan els agroquímics. Patrick du Jardin 2015 [5] va establir la definició de bioestimulant com "qualsevol substància o microorganisme aplicat a les plantes amb l'objectiu de millorar l'eficiència nutritiva, la tolerància a estressos abiòtics i/o els trets de qualitat del cultiu, independentment del seu contingut en nutrients". Addicionalment, proposa els biofertilizants com "una subcategoria de bioestimulants, els quals poden ser qualsevol inòcul de bacteris o fongs, que augmenten l'eficiència de l'ús de nutrients i obren noves rutes d'adquisició de nutrients per les plantes". A més, afirma que "els microorganismes aplicats poden exercir una funció dual com a

bioestimulant i agent de biocontrol d'altres organismes". Aquests, s'anomenen microorganismes promotors del creixement vegetal (MPCV) i colonitzen la rizosfera per establir relacions simbiòtiques amb els seus hostes. Els MPCVs, presenten mecanismes directes i indirectes implicats en la millora del creixement de les plantes [6]:

- Mecanismes directes: millora en la nutrició d'alguns nutrients i estimulació del creixement per la regulació de fitohormones.
- Mecanismes indirectes: antibiosis, inducció de resistència sistèmica, competència per nutrients i nínxols.

Alguns d'aquests microorganismes són capaços de produir sideròfors, uns pèptids no ribosomals de baix pes molecular (<10 KDa) i que també són produïts per alguns tipus de plantes i mamífers. Tal com indica el seu nom (del grec *sideros* "ferro" i *phoros* "portador"), la seva principal funció és quelar i transportar el ferro fèrric (Fe^{3+}) per tal de permetre'n la seva adquisició a través de sistemes de captació. Per tant, exerceix d'agent quelant orgànic del ferro i juga un paper molt important en la nutrició d'aquest element en diferents organismes. A més, són biodegradables, ja que poden ser degradats pels seus organismes productors o per factors abiòtics com la hidròlisi, l'oxidació o bé per radiacions [7].

Finalment, front al problema de la clorosis fèrrica les plantes han desenvolupat dues estratègies per a l'absorció de ferro [3,8]:

- Estratègia I (estratègia de reducció): consisteix de forma general en acidificar el sòl alliberant protons o àcids orgànics induint així la solubilització del Fe^{3+} . El ferro fèrric que inicialment es troba unit a minerals poc solubles o a sòlids amorfs (ex: $Fe(OH)_3$) serà substituït en la superfície d'adsorció pels protons i serà alliberat en el sòl. El ferro un cop a l'apoplast de la planta, és unit per compostos fenòlics i posteriorment serà reduït a Fe^{2+} per l'enzim oxidasa de reducció fèrrica FRO, situat en la membrana plasmàtica. Finalment, serà introduït a l'interior de la cèl·lula pel transportador de ferro regulat IRT.
- Estratègia II (estratègia de quelació): consisteix en quelar el ferro a través dels fitosideròfors/ sideròfors microbians i absorbir el complex

format amb el Fe^{3+} per tal de ser reduït dins la planta. Aquesta estratègia està basada en la biosíntesi, secreció i transport dels sideròfors.

La primera estratègia és pròpia de dicotiledònies i plantes monocotiledònies no-gramínies i la segona està present en plantes monocotiledònies gramínies. Els rizobacteris promotors del creixement vegetal (RPCV) també presenten aquestes dues estratègies i per tant, en potenciaran l'efecte ajudant així a la seva planta hoste en l'adquisició de ferro [8].

2. HIPÒTESIS I OBJECTIUS

Hipòtesis

Els sideròfors i els RPCVs productors de sideròfors són d'interès agronòmic degut a la seva activitat promotora del creixement vegetal. Per tant, són una alternativa als fertilitzants químics tradicionals per combatre la deficiència de ferro dels cultius.

Objectius

Tenint en compte els coneixements prèviament esmentats sobre la dependència de la solubilitat del ferro respecte el pH, la definició de bioestimulant i la hipòtesis plantejada, **l'objectiu principal d'aquest treball és revisar bibliogràficament els coneixements actuals sobre els sideròfors bacterians per comprendre el seu potencial biotecnològic per a la fabricació de bioestimulants en la indústria agroquímica.**

Per tal d'assolir-ho, s'han plantejat els següents **objectius específics**:

- I. Entendre la classificació de sideròfors segons la seva estructura química.
- II. Conèixer les característiques dels bacteris productors de sideròfors.
- III. Estudiar quins són els mecanismes de síntesi, transport i regulació de sideròfors.
- IV. Revisar estudis on s'afronti la deficiència de ferro en plantes mitjançant sideròfors i/o amb els seus microorganismes productors.

3. METODOLOGIA DE LA REVISIÓ BIBLIOGRÀFICA

Per realitzar la cerca bibliogràfica s'han utilitzat diferents criteris i paraules clau per a la selecció dels diferents articles usats en aquest treball. Per buscar-los s'han fet servir les bases de dades Web of Science, PubMed i Google Acadèmic. La cerca s'ha realitzat durant el període de setembre fins al desembre de 2022. Mentrestant, es va anar redactant de forma general el que es volia explicar en el treball i finalment durant el desembre de 2022 es va acabar de redactar el contingut de forma clara i específica.

Un cop obtinguts els resultats, la informació s'ha ordenat, resumit i contrastat entre els diferents articles seleccionats.

Per recollir la informació, primerament es va realitzar una cerca amb paraules clau menys específiques per obtenir una visió general del tema i posteriorment es van utilitzar paraules més específiques amb la finalitat de trobar la informació necessària per a cada apartat (Taula 1):

Taula 1. Paraules clau utilitzades per a la recerca bibliogràfica.

Paraules clau generals	Paraules clau específiques
Microbial siderophores	Siderophore producing bacteria
Plant growth promoting rhizobacteria	Bacterial siderophores
Iron nutrition	Biosynthesis
Plants	Transport mechanisms
-	Iron chlorosis
-	Iron deficiency
-	Iron biofortification
-	Biostimulants

Aquestes paraules es van utilitzar en diferents combinacions amb l'operador AND. Els operadors OR o NOT no es van acabar utilitzant ja que s'obtenien articles que es desviaven dels objectius plantejats en aquest treball i tampoc va ser necessari descartar articles que presentessin termes no buscats. Així doncs, les paraules clau seleccionades van ser suficientment específiques per trobar la informació desitjada degut a que el tema escollit és bastant recent.

Exemple d'una combinació de paraules clau: bacterial siderophores AND iron chlorosis AND biostimulant.

A més, es van utilitzar els següents criteris de selecció per escollir els diferents articles trobats (Taula 2):

Taula 2. Criteris d'inclusió i exclusió per la selecció d'articles.

Criteris d'inclusió	<u>Any de publicació:</u> a partir del 2017 (inclòs)
	<u>Idioma:</u> Anglès
	<u>Àrea de recerca:</u> <i>Agriculture, Biotechnology applied microbiology, microbiology, Environmental Sciences Ecology</i>
	<u>Pels estudis experimentals:</u> <i>in planta</i> . Articles que evidencien els efectes de sideròfors o dels BPS en el proveïment de ferro en plantes d'interès alimentari.
Criteris d'exclusió	<u>Any de publicació:</u> anterior al 2017 (no inclòs)
	<u>Idioma:</u> diferent a l'anglès
	<u>Àrea de recerca:</u> altres àrees que no siguin les anterior
	<u>Pels estudis experimentals:</u> <i>in vitro</i> . Exemple: estudis on aïllen i caracteritzen els sideròfors produïts per bacteris però no s'apliquen <i>in planta</i> .

Un cop feta la selecció dels estudis seguint aquests criteris, es va realitzar una lectura dels resums de cada article per escollir definitivament aquells que encaixaven més per complir els objectius proposats.

Alguns dels articles seleccionats es van obtenir a través de les referències d'altres articles prèviament escollits.

Destacar que al principi es volia fer una revisió bibliogràfica sobre sideròfors bacterians i fúngics però aquests últims, seguint els criteris de selecció, es van desestimar degut a la falta d'informació.

Finalment, s'han consultat un total de 48 referències. La bibliografia consultada va resultar en 44 referències (36 de les quals amb data posterior o igual al 2017) i les 4 restants corresponen a llocs web de bases de dades.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.1. ELS SIDERÒFORS

S'han descrit més de cinc-cents sideròfors però, de forma general, aquestes molècules es classifiquen segons el grup funcional que es coordina amb el ferro. Així doncs, existeixen diferents grups de sideròfors basats en aquest criteri: els hidroxamats, els catecolats i els carboxilats. També existeixen els sideròfors mixts, que estan formats per més d'un tipus de lligand [9].

Hi ha diversos factors que defineixen l'estabilitat del complex, com ara el tipus de grup donador d'electrons i les cadenes laterals. Tot i així, la denticitat (nombre de grups donadors d'un únic lligand que s'uneixen a l'àtom central) és de gran importància, ja que com més denticitat, més estabilitat de l'agent quelant. És per aquest motiu, que en la natura els sideròfors més comuns són els que formen complexos octaèdrics hexadentats (sis àtoms donadors) (Fig. 3) amb el metall [1].

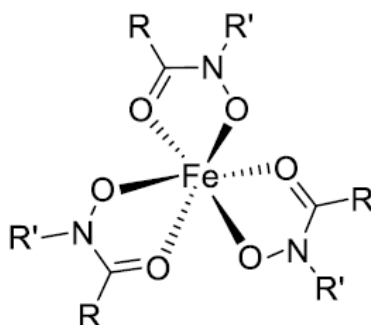


Figura 3. Exemple de complex octaèdric hexadentat (provinent d'un hidroxamat) [10].

4.1.1. Hidroxamats

Els hidroxamats són el grup més comú trobat a la naturalesa i el seu grup funcional està conformat per C(=O) N-(OH) R (Taula 3). La R com a residu orgànic, el CO com a grup carbonil i NH-OH com a grup hidroxilamino. Per tal de formar la unió amb el Fe³⁺, els dos àtoms d'oxigen que aporta el grup hidroxamat cedeixen dos parells d'electrons en aquest metall. [9,11].

Un exemple molt conegut és la desferrioxamina B la qual és sintetitzada pel bacteri *Streptomyces coelicolor*. Un altre exemple és la vicibactin produïda per *Rhizobium leguminosarum* [9,10].

4.1.2. Catecolats

Els sideròfors que pertanyen en aquest grup tenen el 2,3-dihidroxibenzoat (2,3-DHB) com a fragment funcional (Taula 3). En aquest cas, per tal de formar el complex octaèdric hexadentat cada catecolat proveeix dos àtoms d'oxigen que són els responsables de quelar els ions de ferro [11].

Un dels més ben estudiats és l'enterobactina produït per enterobacteris com *Escherichia coli*. Un altre cas comú, és el de *Bacillus subtilis*, que produeix el sideròfor anomenat bacillibactin [12].

4.1.3. Carboxilats

La quelació del ferro en aquesta categoria de sideròfors es duu a terme gràcies als grups carboxil o hidroxicarboxil, els quals aportaran els electrons necessaris per lligar-se amb el ferro [13] (Taula 3). Destacar que a aquest grup de sideròfors se'ls pot anomenar carboxilats (normalment els anomenen així) però també hidroxicarboxilats degut a la presència dels grups hidroxicarboxil.

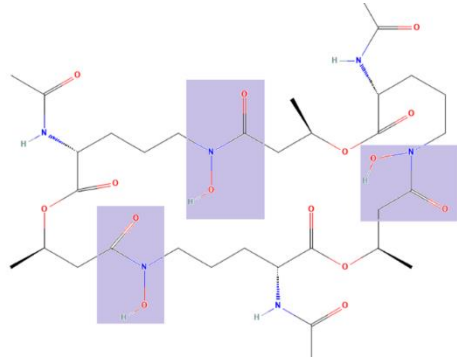
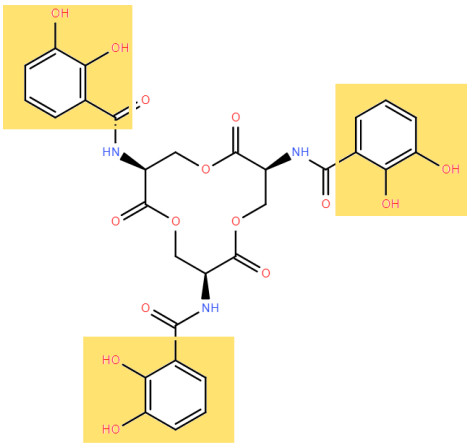
Alguns dels representants d'aquest grup són la vibrioferrina i la rizobactina produïdes per *Azotobacter vinelandii* i *Rhizobium meliloti* respectivament [14,15].

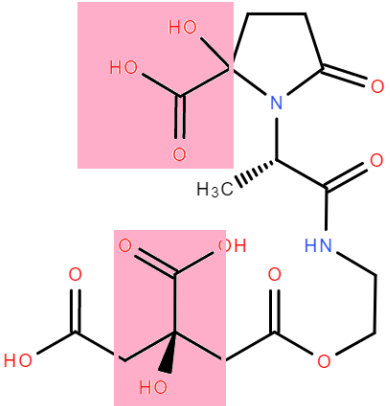
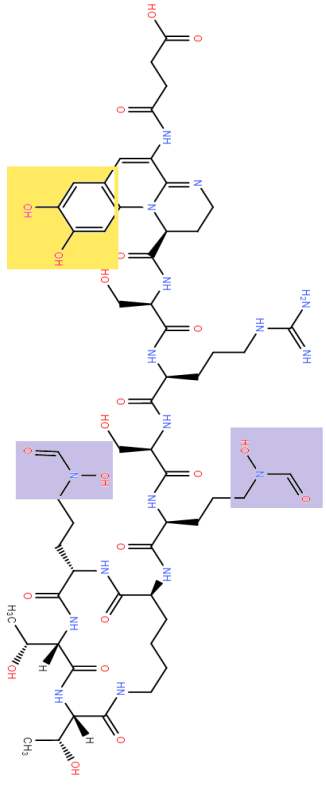
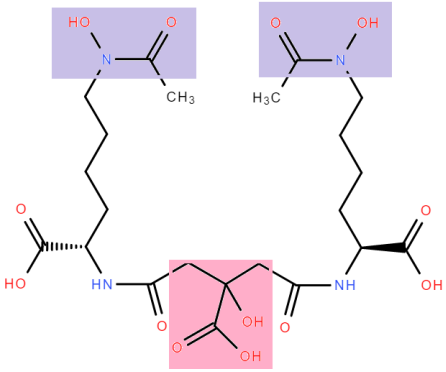
4.1.4. Sideròfors mixts

Alguns microorganismes són capaços de produir sideròfors mixts, els quals posseeixen com a mínim dos tipus diferents de lligands de ferro [11] (Taula 3).

Un dels exemples més estudiats segons la literatura és la pioverdina, que presenta un grup catecolat i dos hidroxamats i és produït per *Pseudomonas aeruginosa*. Per altra banda, l'aerobactina produïda per *E. coli* posseeix dos grups hidroxamats i un carboxilat [9,16].

Taula 3. Exemples dels diferents tipus de sideròfors. Els fragments funcionals de cada sideròfor estan emmarcats per poder-los distingir millor. La font de les estructures és: “Chemical Entities of Biological Interest” (ChEBI) [17] i PubChem [18]. El color lila representa els grups hidroxamat; el color groc representa els grups catecolat; el color rosa representa els grups carboxilats.

Tipus sideròfor	Nom sideròfor	Estructura	Microorganisme	Ref.
Hidroxiamat	Vicibactin		<i>Rhizobium leguminosarum</i>	[10]
Catecolat	Enterobactin		<i>Escherichia coli</i>	[12]

<p>Carboxilat</p>	<p>Vibrioferina</p>		<p><i>Azotobacter vinelandii</i></p>	<p>[15]</p>
<p>Mixt</p>	<p>Pioverdina</p>		<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p>[16]</p>
	<p>Aerobactina</p>		<p><i>Escherichia coli</i></p>	<p>[9]</p>

4.2. BACTERIS PRODUCTORS DE SIDERÒFORS

Els RPCVs són un grup molt ampli de bacteris que es troba en la rizosfera i es poden trobar associats a les arrels de forma endofítica formant nòduls (RPCVs-intracel·lulars) o poden habitar en la seva superfície (RPCVs-extracel·lulars). Per tal de formar aquestes associacions simbiòtiques, les plantes poden estimular la colonització de les arrels per bacteris rizosfèrics exsudant ions, oxigen, aigua, diversos metabòlits, entre d'altres que poden ser utilitzats pels RPCVs, fet que provoca que la població bacteriana a la rizosfera sigui mil vegades més densa que en la resta del sòl. Aquests bacteris poden promoure el creixement a través de mecanismes directes. Alguns exemples són la fixació de nitrogen, solubilització de fosfats, estimulació de la producció de fitohormones i la **producció de sideròfors**. També poden estimular el creixement de forma indirecta que inclou mecanismes de biocontrol com ara la producció d'antibiòtics, la inducció de la resistència sistèmica o la competència per substrats i nínxols mitjançant per exemple, la **producció de sideròfors** que segreguen el ferro disponible i conseqüentment limiten el creixement de microorganismes patògens [1].

Per tant, els RPCVs poden ser també BPS. Els bacteris produeixen formes extracel·lulars de sideròfors que els serviran per captar el ió fèrric exogen. Tan bacteris gramnegatius com grampositius així com els anaeròbics facultatius i la majoria d'aeròbics poden sintetitzar aquestes molècules sota condicions limitants de ferro [19]. A més, els BPS produeixen principalment hidroxamats i catecolats (o mixts que contenen aquests grups), els quals són els sideròfors que presenten una major afinitat pel ferro [20]. Per exemple, la pioverdina presenta una constant d'afinitat de $K=10^{32}$ i la enterobactina una $K = 10^{52}$ les quals són més altes que les dels sideròfors fúngics (10^{29}) [13] i els fitosideròfors (10^{18}) [8]. Per tant, els sideròfors bacterians provocaran una gran competició pel ferro entre els sideròfors d'altres organismes degut a la seva gran afinitat pel metall i per la captació dels complexos a través de receptors específics de membrana. És per aquest motiu que aquest fet els confereix la possibilitat d'actuar al mateix temps com agents de biocontrol de fitopatògens, ja que inhibiran el creixement d'aquells que no posseeixen el sistema d'assimilació específic per reconèixer el complex [13,21,22] (Fig. 4).

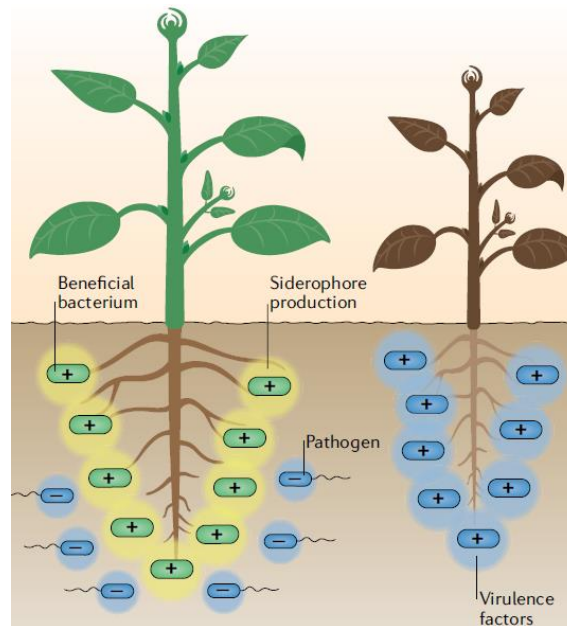


Figura 4. Representació esquemàtica de l'acció dels BPS en el biocontrol de fitopatògens [22].

Alguns dels gèneres més ben coneguts de RPCVs i en els quals s'ha observat producció de sideròfors són *Rhizobium*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pantoea* i *Pseudomonas* [1,23] tot i que en aquest treball també s'han documentat d'altres com *Gluconacetobacter*, *Arthrobacter*, *Enterococcus* i *Streptomyces*. Els altres gèneres trobats coincideixen amb els primers mencionats.

4.3. MECANISMES DE SÍNTESI, REGULACIÓ I TRANSPORT DE SIDERÒFORS

4.3.1. Biosíntesi de sideròfors

Les proteïnes clau en la producció de sideròfors són els enzims pèptid sintetasa no ribosòmica (PSNR) [19,22,24,25].

Aquests enzims constitueixen línies d'assemblatge responsables d'unir aminoàcids (inclosos aminoàcids no proteínogènics) així com carboxi i hidroxil àcids per formar una cadena peptídica, la qual és posteriorment modificada per formar el sideròfor final. L'estructura estàndard d'un PSNR està constituïda per mòduls i cada un d'ells presenta 4 dominis principals: adenilació (A), condensació (C), portador de peptidil (P) (en alguns casos aquest domini es pot trobar com domini T de tiolació) i tioesterasa (T). La biosíntesi succeeix en 3 etapes principals: iniciació, condensació i terminació [26,27] (Fig. 5).

La iniciació comença quan el domini A activa i incorpora el primer aminoàcid corresponent. L'activació es duu a terme per l'addició d'un AMP gràcies al domini d'adenilació (A) formant així un aminoacil-AMP. Després, s'uneix covalentment al domini P, el qual presenta un grup tiol que realitza un atac nucleofílic al grup carboxil de de l'aminoacil-AMP causant la pèrdua de l'AMP, i d'aquesta manera el mòdul 1 queda activat. Posteriorment, la fase de condensació és possible quan dos mòduls adjacents també s'activen i es forma un enllaç peptídic entre els dos aminoàcids, deixant el dipèptid en el segon domini P. La formació d'aquest enllaç està catalitzada pel domini C. Quan el tercer mòdul és activat, es forma el segon enllaç peptídic generant un tripèptid en el tercer domini P. El procés es repeteix fins que la cadena peptídica està completa. A continuació, el domini tioesterasa (T) (normalment situat en l'últim mòdul) permet la hidròlisis i l'alliberament del pèptid situat en l'últim domini P. Finalment, per tal que els sideròfors siguin bioactius, altres dominis específics dels PSNR s'encarreguen de modificar els aminoàcids de la cadena. Aquestes modificacions poden ser epimeritzacions (conversió de L a D aminoàcids), metilacions, oxidacions, ciclitzacions entre d'altres [26,28,29]. Un exemple d'aquesta via és la biosíntesi de pioverdina, que utilitza 4 NPRS: el PvdL i el PvdI que contenen 4 mòduls i el PvdJ i PvdD que contenen 2 mòduls [25,27] (Fig. 6).

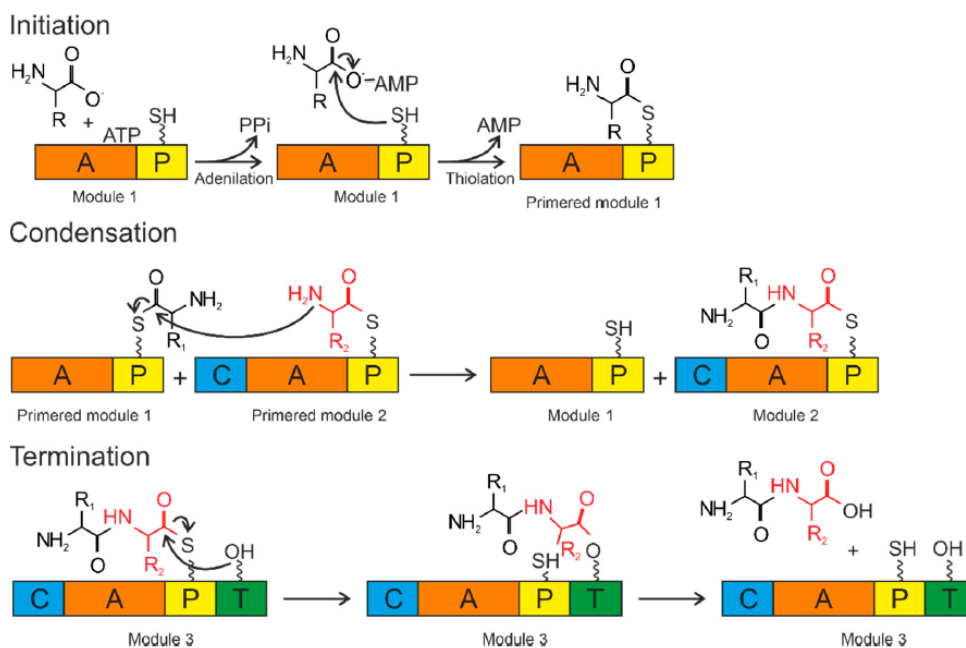


Figura 5. Via de biosíntesi per NPRS on es mostren els 3 passos principals: iniciació, condensació i terminació. En taronja: domini d'adenilació (A); en groc: domini portador de peptidil (P); en blau: domini de condensació (C); en verd: domini tioesterasa (T) [26].

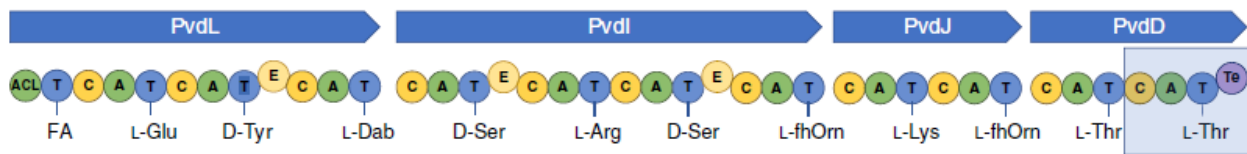


Figura 6. Exemple de la biosíntesi de la pioverdina. Les fletxes blaves representen els clústers de gens que codifiquen el seu PSNR corresponent. En verd: domini d'adenilació (A); en blau: domini de tiolació (T); en groc: domini de condensació (C); en beix: domini d'epimerització (E); en lila: domini tioesterasa (Te) [27].

Els bacteris també poden sintetitzar els sideròfors a través de la via dels enzims sintetases de sideròfors independents de PSNR (SIP), tot i que no s'ha trobat informació detallada i tampoc s'ha pogut accedir al contingut de l'única revisió trobada on semblava que s'expliqués en més profunditat. Malgrat els pocs coneixements obtinguts, se sap que els sideròfors sintetitzats per aquesta via contenen cetoglutarat, àcid cítric o àcid succínic. L'enzim conté un domini d'aciladenilació que forma, per exemple, un citrat-AMP el qual prové un enllaç ric en energia per a la reacció de condensació amb un aminoàcid o una poliamina. Alguns exemples de sideròfors produïts per SIP són l'aerobactina i la desferrioxamina [26].

4.3.2. Regulació de la biosíntesi de sideròfors

La producció de síntesis només succeeix en situacions estrictament necessàries degut a que és un procés altament regulat. Tanmateix, l'energia requerida per la seva biosíntesi així com la concentració de ferro intracel·lular estan controlades, ja que un excés de ferro pot provocar el desenvolupament d'espècies reactives d'oxigen mitjançant reaccions de Fenton [9]:



En bacteris, la regulació del procés es duu a terme per la proteïna reguladora de la captació del ió fèrric, també anomenada Fur. Aquesta actua com un repressor transcripcional dels gens encarregats de la captació del ferro i utilitza el Fe^{2+} com a co-repressor. És a dir, en la presència d'una quantitat suficient de Fe^{2+} en el citoplasma, la Fur s'uneix amb el ió ferrós i aquest complex després s'uneix a la regió Fur box situada aigües amunt dels gens implicats en la biosíntesi de sideròfors o del seu transport a través de la membrana cel·lular, impedit que la RNA-polimerasa trobi la regió promotora. Un cop la concentració de ferro torna

a disminuir, aquest es dissocia de la Fur i conseqüentment es separa de la regió promotora, la qual cosa permet iniciar la síntesi de sideròfors [9,19,24,26]. Per tant, la seva biosíntesi és regulada segons la disponibilitat de ferro que hi ha a l'ambient (Fig. 7).

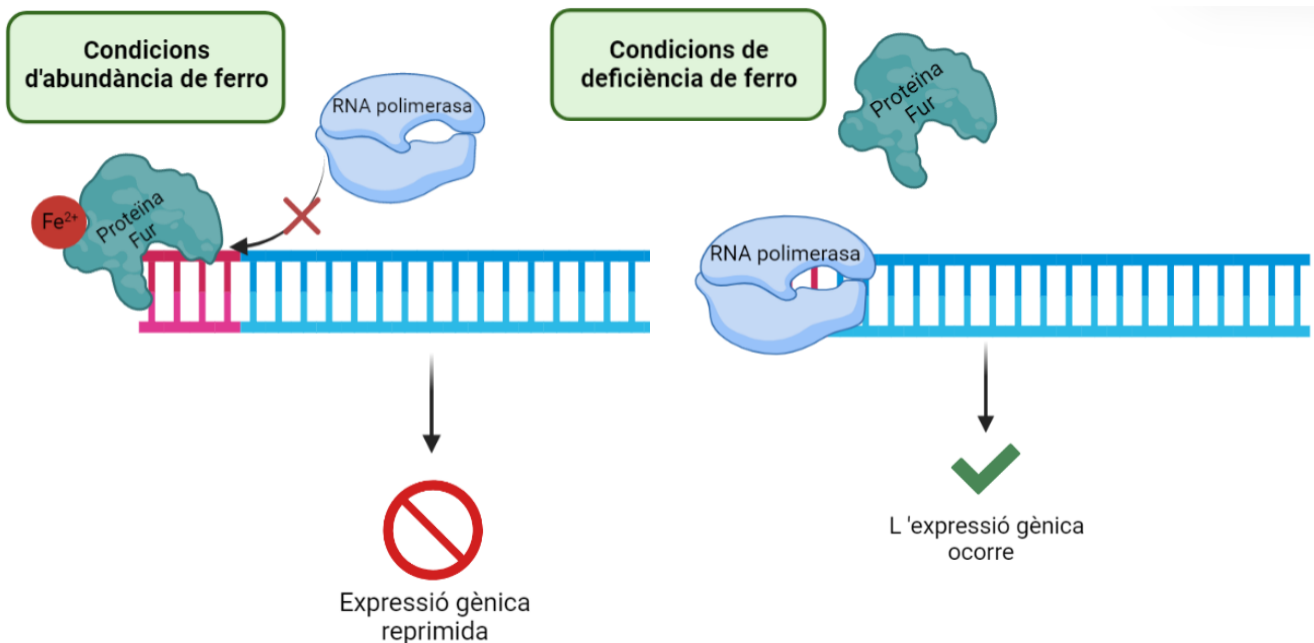


Figura 7. Regulació de la biosíntesi de sideròfors pel repressor Fur i el Fe^{2+} com a co-repressor. En la cadena d'ADN hi estan representats la Fur box (en vermell) i els gens implicats en la síntesi de sideròfors (en blau). La figura ha estat creada mitjançant Biorender.

4.3.3. Transport dels complexos ferro-sideròfor

Els organismes productors de sideròfors estan implicats en la solubilització dels ions Fe^{3+} mitjançant la secreció de sideròfors seguidament de la captació dels complexos formats amb aquest element per a la seva posterior reducció intracel·lular.

Per a la secreció, no s'ha trobat informació gaire detallada però s'ha documentat que els sideròfors són exportats per bombes d'eflux que requereixen d'energia i pertanyen a 3 superfamílies diferents depenent del sideròfor transportat: la superfamília facilitadora principal (SFP), l'"ATP-binding cassette" (ABC) i la de resistència, nodulació i divisió cel·lular (RND) [9,19,22].

Per altra banda, els mecanismes de transport a l'interior de la cèl·lula del complex Fe^{3+} -sideròfor, difereixen entre els bacteris gramnegatius i grampositius (Fig. 8). Això és degut a l'absència dels receptors de la membrana externa en els grampositius [30].

En els **bacteris gramnegatius**, el reconeixement del complex es fa a través d'un receptor del tipus barril β en la membrana externa. Després de la unió amb el lligand, el receptor pateix un canvi conformacional, la qual cosa permet transportar el complex Fe^{3+} -sideròfor al periplasma [22]. Existeixen diferents tipus de proteïnes receptores de membrana que reconeixen diferents tipus de sideròfors. Per exemple, en *P. aeruginosa* hi ha el FoxA pel sideròfor ferrioxamina B i el FpvA per la pioverdina [31,32], i en *E. coli* el FepA per l'enterobactina i el FhuA pel ferricrom [19,33].

El moviment a través de la membrana cel·lular bacteriana fins al periplasma està regulat pel complex proteic TonB-ExbB-ExbD present en la membrana interna i que aporta l'energia necessària pel transport a través de la força protomotriu. Un cop el complex es troba en el periplasma, aquest s'uneix a la proteïna d'unió paraplasma (PBP) [22,30].

A més, en aquest procés de transport també hi està implicat un sistema proteic de transport del tipus ABC localitzat en el periplasma i el qual està format per una subunitat extracitoplasmàtica (permeasa) i una altra citoplasmàtica. Quan el complex interactua amb la subunitat extracitoplasmàtica, aquest és transportat a través del canal de membrana. La subunitat citoplasmàtica hidrolitza l'ATP per proveir l'energia necessària pel transport. Posteriorment, en el citosol es produeix la reducció del ió fèrric a ió ferrós [19,30]. Com que el sideròfor no tenen afinitat pel Fe^{2+} , el complex es separa i els sideròfors són degradats o bé reciclats per un sistema d'excreció [13,34].

En **bacteris grampositius**, tot el procés ocorre en el periplasma i el citoplasma. Els complexos Fe^{3+} -sideròfor s'uneixen a les proteïnes ancorades a la membrana plasmàtica. Després, el complex és directament importat pel sistema de transport ABC. Finalment, la reducció del ió fèrric succeeix també en el citosol [26,30].

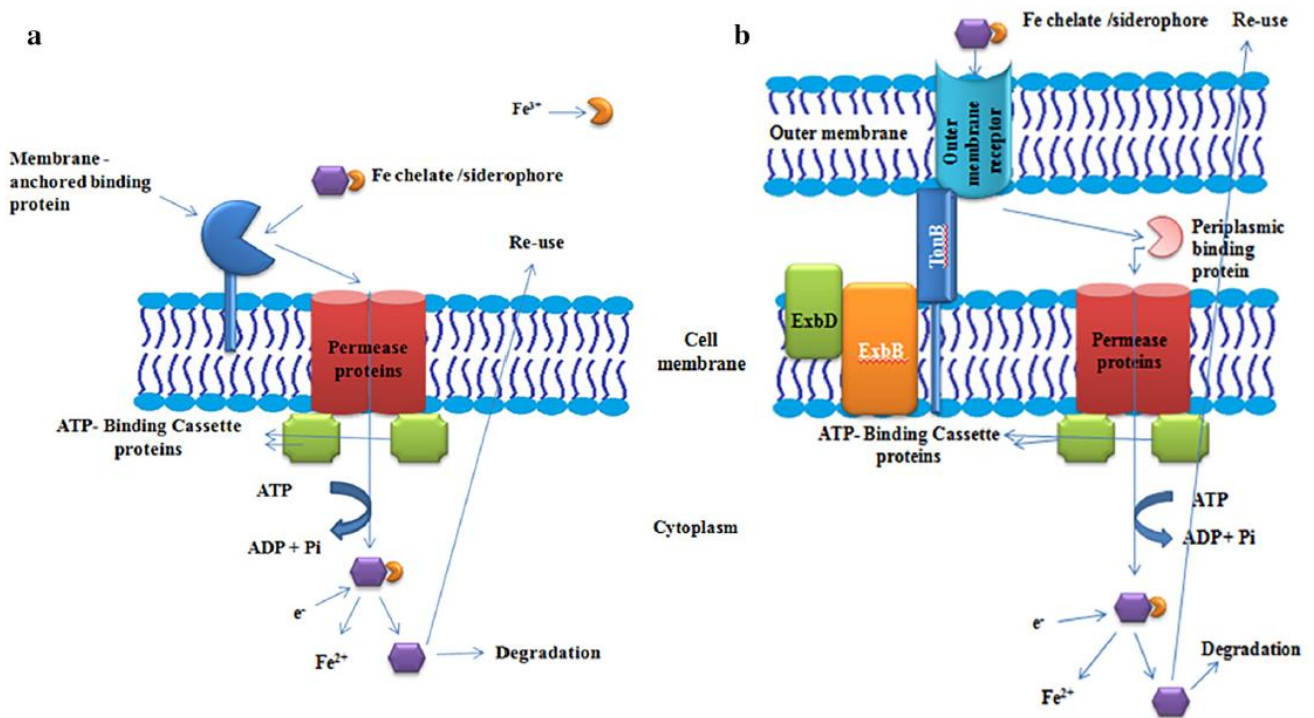


Figura 8. Mecanismes de captació i transport del complex Fe^{3+} - sideròfor; a) bacteri grampositiu i b) bacteri gramnegatiu [19].

4.4. APLICACIÓ DE SIDERÒFORS I/O ELS SEUS BACTERIS PRODUCTORS EN PLANTES

Existeixen principalment dos maneres d'utilitzar els sideròfors per a propòsits agronòmics: I) aplicació d'una fórmula que contingui només la molècula o II) aplicació d'una fórmula que contingui els microorganismes productors de sideròfors (MPS) [34]. Ambdós casos impliquen la necessitat d'utilitzar microorganismes innocus per a la producció de bioestimulants, els quals pertanyen al grup de risc 1 d'agents biològics [35]. A més, els MPS que s'apliquen com a bioinoculants haurien de presentar altres característiques per ser MPCVs ideals, així com: ser altament compatible amb la rizosfera de la planta hoste; alta capacitat de colonització de les arrels; ampli espectre d'acció; presentar diversos trets de promoció del creixement vegetal; ser tolerant a factors fisicoquímics (calor, dessecació, radiació, oxidants, etc.) [6].

Tot i així, encara que s'han documentat diversos RPCVs del grup de risc 1 capaços de produir sideròfors [1], alguns dels bacteris en els estudis trobats sobre la relació directa dels sideròfors i la seva aplicació en agricultura, no

compleixen aquesta característica tan important. Per tant, aquests ens aporten coneixement científic però no es podrien comercialitzar.

Com bé s'ha explicat anteriorment, el ferro és un micronutrient essencial i per tant, la seva deficiència implica la reducció de la qualitat i quantitat de la producció dels cultius. No obstant, la gran majoria de microorganismes del sòl sintetitzen els sideròfors en condicions de deficiència de ferro per tal de solubilitzar-lo i fer-lo així disponible. Així doncs, segueixen el principi de l'estratègia II de les plantes, la qual està basada en la biosíntesi, regulació i transport de sideròfors anteriorment explicats [8,30,34]. A més, el ferro que redueixen els microorganismes intracel·lularment, pot ser utilitzat pel metabolisme del microorganisme i/o també serà lliurat a la zona rizosfèrica, proveint així a l'hoste amb una font de ferro [30,36].

4.4.1. Millora de la nutrició de ferro en plantes d'estratègia I

Maduixeres (*Fragaria ananassa*)

En l'estudi de Delaporte-Quintana et al. 2020 [37] el bacteri *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 i *Azospirillum brasilense* REC3 van demostrar una promoció del creixement vegetal en maduixeres, tot i que la soca PAL5 va resultar més eficaç de forma general en tots els paràmetres comprovats com l'àrea de les fulles, l'àrea de les arrels, el contingut de clorofil·les i el contingut de ferro (Fig. 9). Els autors proposen que un dels factors implicats en això es deu a l'estructura química dels sideròfors ja que els catecolats de REC3 són hidrofòbics i queden associats a la superfície cel·lular, en comparació als hidroxamats de PAL5 que són hidròfils i poden difondre més en la solució nutritiva del cultiu hidropònic. A més, els tractaments van consistir en aplicar les suspensions bacterianes suplementades amb diferents fonts de ferro: control negatiu absent de font de ferro, suplementació amb Fe^{2+} i suplementació amb Fe^{3+} (Fig. 9). Cal destacar que les plantes tractades amb la suplementació de Fe^{2+} van mostrar sempre un creixement similar a les tractades amb Fe^{3+} . Tot i així, s'ha de tenir en compte que la participació de sideròfors va ser només possible en la presència del ferro oxidat degut a que en la de ferro reduït no es van produir, fet que corrobora l'anteriorment explicat en l'apartat de regulació de síntesis dels sideròfors. Tanmateix, també s'ha de tenir en compte que el mecanisme d'acció

de cada RPCV pot variar segons el genotip del seu hoste, les etapes de desenvolupament, les condicions ambientals, entre d'altres [6]. Això vol dir que per molt que en aquest cas la PAL5 hagi demostrat ser més efectiva, potser en estudis de camp, altres condicions i tipus de cultiu ho seria la REC3.

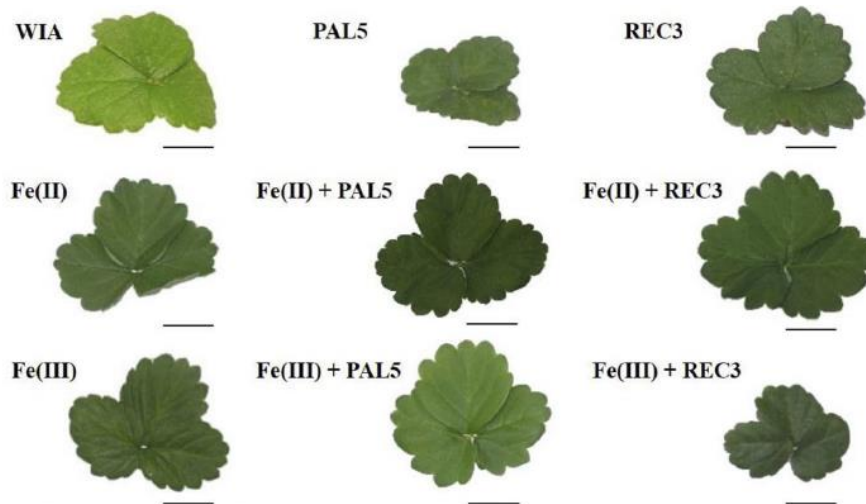


Figura 9. Imatges de fulles representatives provinents de plantes de cada tractament [37].

Soja (*Glycine max*)

Ferreira et al. 2019 [38] van demostrar l'eficàcia dels sideròfors front als quelants sintètics. Els autors van avaluar i comparar la capacitat de diferents compostos per mitigar l'estrès causat per la clorosis fèrrica en plantes de soja (*Glycine max*). Aquests són l'azotoquelina (catecolat) produïda per *Azotobacter vinelandii*, el DPH (N,N-dihidroxid-N,N'-diisopropilhexanodiamida), que és un anàleg de sideròfor hidroxamat, i els agents sintètics EDTA i l'EDDHA (etilendiamina-N,N'-bis(àcid 2-hidroxifenilacètic)). L'experiment es va duu a terme en cambra climàtica i els paràmetres avaluats van ser l'estabilitat del complex Fe-quelant amb els diferents compostos del sòl de forma individual, la concentració de ferro en planta i el contingut en clorofil·les. Per a mesurar l'estabilitat dels complexos, els tubs van ser coberts amb alumini per protegir-los de la llum (ja que és un factor abiòtic que afecta a la biodegradabilitat dels sideròfors). Els resultats obtinguts van mostrar que el complex format pel DPH amb el ferro va ser retingut un 80% en Ca- montmoril·lonita en comparació a l'azotoquelina, l'EDTA i EDDHA que van mostrar una retenció aproximada del 20% en tots els diferents compostos testats. Els autors proposen que això probablement es deu a que els hidroxamats són més propensos a adsorbir-se en les argiles. A més, el DPH

també va mostrar una major adsorció en goethita i ferrihidrita (minerals d'òxids i hidròxids de ferro) degut a la seva simple estructura en comparació a l'azotoquelina que té una estructura més complexa, causant d'impediments estèrics que obstaculitzen l'adsorció. Aquests factors es van veure reflectits *in planta*, ja que el DPH va demostrar ser menys eficient que l'azotoquelina en el proveïment de ferro. Finalment, els diferents agents quelants van mostrar diferents perfils cinètics: el contingut en ferro de les plantes tractades amb EDTA i EDDHA va ser més alt en comparació a l'azotoquelina en un període de temps curt (7 dies), no obstant, en un període de temps més llarg (21 dies), l'azotoquelina va resultar més eficaç en proveir ferro a les plantes que els quelants sintètics.

Un altre estudi realitzat pels mateixos autors [39], també en soja, va consistir en produir i avaluar l'eficàcia de dos biofertilitzants liofilitzats que contenien els sideròfors d'*A. vinelandii* i *B. subtilis*, respectivament per examinar la seva capacitat de disminució de la clorosis fèrrica en sòls calcaris. L'experiment es va duu a terme en cambra climàtica i també es va comparar l'eficàcia dels biofertilitzants respecte al fertilitzant sintètic EDDHA (control positiu). Els resultats van mostrar tan fenotípicament (Fig. 10) com numèricament que el biofertilitzant dels sideròfors d'*A. vinelandii* va demostrar ser més efectiu que el de *B. subtilis* en els paràmetres avaluats com el pes sec i el contingut en clorofil·les i, respecte al control positiu (EDDHA) va donar sempre uns valors molt similars, tot i que lleugerament inferiors (possiblement degut a la degradabilitat dels sideròfors [7]). A més, en el seu estudi previ l'azotoquelina mostrava uns valors més elevats de ferro per planta en comparació al biofertilitzant d'*A. vinelandii*. Tot i així, s'ha de tenir en compte que en l'anterior estudi van obtenir valors SPAD¹ de només dos etapes de les fulles (2 i 3) i en aquest van recollir valors de 5 etapes. Les fulles d'etapes més desenvolupades presenten un índex en clorofil·les més baix i conseqüentment un contingut de ferro més baix. Per tant, el fet d'haver mesurat més etapes foliars va disminuir el contingut de ferro per planta total. No obstant, les quantitats de ferro obtingudes per la planta van

¹ Valors que representen el contingut en clorofil·les de les fulles.

ser suficients per combatre la clorosis fèrrica quan va ser tractada amb els sideròfors d'*A. vinelandii* respecte al control negatiu.

Finalment, les diferències entre els biofertilitzants d'*A. vinelandii* i *B. subtilis* es poden deure a que els liofilitzats van ser obtinguts a partir del sobrenedant produït per centrifugació. És a dir, en la solució de sideròfors d'*A. vinelandii* a més de l'azotoquelina també hi estava present la protoquelina (un altre sideròfor produït pel bacteri [29]), i en el cas de *B. subtilis* només es va detectar la bacillibactin. També podria influenciar la presència d'una barreja de diferents quelants de ferro (àcids orgànics secretats pels bacteris) amb diferents estabilitats, els diferents exudats de cada bacteri, les interaccions planta-bacteri o un fenomen d'adsorció dels sideròfors en el sòl degut a la diferència de càrregues i hidrofobicitats dels diferents sideròfors. De fet, per al liofilitzat de *B. subtilis* es va observar que al cap de 3 dies només presentava un 8,7% de ferro solubilitzat respecte a l'inicial en Ca-montmoril-Ionita i un 13,4% en CaCO₃, a diferència del d'*A. vinelandii* que presentava un 50,7% i un 92,5% de ferro soluble en presència d'aquests dos components del sòl respectivament.



Figura 10. Imatges de les plantes al dia 21 després del tractament. C-: control negatiu; C+: control positiu; A: biofertilitzant de sideròfors d'*A. vinelandii*; B: biofertilitzant de sideròfors de *B. subtilis*; A(2): segona aplicació del biofertilitzant d'*A. vinelandii* al dia 15; B(2): segona aplicació del biofertilitzant de *B. subtilis* al dia 15 [39].

Tomaqueres (*Solanum lycopersicum*)

En el present estudi realitzat per Nagata 2017 [40] es va avaluar la simbiosis entre tomaqueres i *Pseudomonas fluorescens* 13525 (el qual produeix pioverdina) per avaluar l'efecte melioratiu de l'inòcul en la deficiència de ferro. A

més, en aquest estudi es van analitzar les expressions dels gens implicats en l'absorció de ferro mitjançant qRT-PCR, concretament els dels transportadors IRT1 i Nramp3. També es va analitzar l'activitat de la FRO. L'experiment es va duu a terme en cambra climàtica i les tomaqueres van ser cultivades en medi líquid més una font de ferro en forma de FeCl₃.

Així doncs, els resultats obtinguts van resultar en una acumulació 3 vegades més alta de ferro en les plantes inoculades respecte el control en el dia 4 (de 14) després d'aplicar el tractament. El fenotip de les plantes tractades va mostrar ser més pigmentat que el del control, que analitzant el contingut en clorofil·les, es tradueix en el doble de pigments respecte el control en els dies 4 i 14. Els nivells d'expressió de l'IRT1 de les plantes inoculades va disminuir respecte el control. Contràriament, l'expressió del Nramp3 va augmentar en les plantes tractades. L'activitat de la FRO també va resultar ser 4 vegades més alta respecte el control. Aquests resultats suggereixen que el Nramp3 i la FRO estan implicats en l'absorció del ferro quelat per la pioverdina i que l'IRT1 no és tan necessari per aquest procés. Finalment, també es van comparar els pesos humits de les plantes els quals no van mostrar diferències significatives entre les tractades i el control. Malgrat això, potser el més adequat hagués sigut analitzar els pesos secs, tal i com es va fer en els altres estudis presentats en aquest treball, per observar un efecte més real de la concentració de ferro *in planta* en l'augment de biomassa.

Sèsam (*Sesamum indicum*)

Nithyapriya et al. 2021 [41] van aïllar una soca de *B. subtilis* de la zona rizosfèrica de plantes de sèsam i, d'aquesta manera, van comprovar l'efectivitat tant del sideròfor produït (bacillibactin) com de la suspensió bacteriana en la millora de la nutrició de ferro. L'experiment es va realitzar en condicions d'hivernacle i els resultats van mostrar que el contingut en ferro tant en fulles, brots i llavors va ser més alt en les plantes tractades amb la suspensió bacteriana (34%, 29% i 47% respectivament) que en les plantes tractades només amb la solució de sideròfors (1%, 11% i 19%) respecte del control. També es va observar un major increment en la producció de clorofil·la respecte al control i a les plantes tractades amb la solució de sideròfors. Això segurament es deu a que els sideròfors purificats es poden anar degradant [7], en canvi, els microorganismes en produeixen

contínuament, a més d'aportar ferro a través de l'estratègia de reducció (I) i també poden aportar Fe^{2+} prèviament reduït intracel·lularment, fet que permet nodrir a la planta de forma més eficient [26,30].

Cogombre (*Cucumis sativus*)

Un altre estudi interessant, és el de Al-Karablieh et al. 2022 [42], on van tractar llavors de cogombre amb una suspensió bacteriana de *Pseudomonas fluorescens* NK4 i amb una solució dels seus sideròfors en condicions d'hivernacle. En aquest estudi no es van caracteritzar els sideròfors secretats pel bacteri, només es va detectar la seva presència. Tot i així, els autors tenien en consideració que el sideròfor produït de forma general en *P. fluorescens* és la pioverdina tot i que en pot secretar d'altres. Els resultats van mostrar una millora en els paràmetres de creixement vegetatiu com l'àrea de les fulles, el pes sec dels brots i el contingut en clorofil·les. Els valors obtinguts van ser similars en els dos tractaments aplicats respecte el control. En aquest estudi a més, es van centrar en analitzar quin era l'efecte de suplementar el medi de cultiu deficient de ferro amb ZnO per a la producció de sideròfors. Així doncs, van observar que la suplementació d'aquest òxid augmentava la secreció de sideròfors i disminuïa el temps necessari per arribar a la fase estacionària. També es va comprovar l'efecte contra els fitopatògens *Pseudomonas viridiflava* NK2 i els fongs *Fusarium* sp. i *Pythium* sp. submergint les plàntules en la solució bacteriana i la de sideròfors, i es va observar que un gran percentatge de plantes no presentava símptomes causats per la infecció dels fitopatògens i podien sobreviure. En aquest cas *P. fluorescens* NK4 aconsegueix nodrir a la planta amb el ferro necessari a la vegada que actua d'agent biocontrol, fet que promou el creixement de forma directa i indirecta tal com expliquen du Jardin 2015 [5] i Basu et al. 2021 [6].

4.4.2. Millora de la nutrició de ferro en plantes d'estratègia II

Blat (*Triticum aestivum*)

El grup de Singh et al. 2020 [43] va avaluar el rol de dos bacteris endòfits productors de sideròfors (*Arthrobacter sulfonivorans* DS- 68 i *Enterococcus hirae* DS- 163) en la biofortificació de ferro en grans de 4 genotips diferents de blat. Aquests genotips consistien en: baix acumulador de ferro en sòl en alt contingut

de ferro; alt acumulador de ferro en sòl en alt contingut de ferro; baix acumulador de ferro en sòl en baix contingut de ferro; alt acumulador de ferro en sòl en baix contingut de ferro. Destacar que en aquest estudi no s'especifica en cap moment quin tipus de sideròfor produeixen els dos bacteris. L'experiment es va duu a terme en hivernacle i va consistir en inocular plantes cultivades en sòls de baix (calcaris) i alt (argila sorrenca) contingut de ferro disponible, comparant a més, l'efecte d'un fertilitzant inorgànic de sulfat de ferro (FeSO_4). En general, la inoculació d'endòfits va provocar un augment aproximat d'1,5 i 2,2 vegades la concentració de ferro en els grans de blat respecte al tractament amb FeSO_4 i el control no inoculat respectivament, en tots els genotips i ambdós tipus de sol. Tot i així, la soca DS- 68 va mostrar sempre millors resultats (de forma no significativa) que la soca DS- 163 en l'àrea de les fulles. En el nombre de puntes d'arrel va mostrar valors més alts en els dos genotips cultivats en el sòl en alt contingut de ferro, en canvi, en el de baix contingut de ferro va ser la DS- 163 la que va donar millors valors. No obstant, es van analitzar els percentatges de translocació de ferro de les arrels fins als brots i dels brots als grans. Les dos soques van mostrar uns resultats molt similars en els 4 genotips i ambdós sòls. Mencionar que els tractaments amb DS- 68 van mostrar una major translocació de l'arrel als brots indicant que probablement aquest bacteri aporta més ferro a l'hoste però la cinètica de translocació és més lenta que la de DS- 168, fet que explicaria els valors gairebé idèntics en la translocació de brots a grans, tal com expliquen Ferreira et al. 2019 quan discuteixen sobre la baixa concentració de ferro trobada en la tija respecte a la observada en les fulles [38]. Per tant, es pot afirmar que aquests dos bacteris van millorar el valor nutritiu en ferro dels grans de blat dels diferents genotips i en els dos tipus de sòl. A més, els propis autors també corroboren que la millora del creixement vegetal i la mobilització de nutrients per endòfits estan influenciats en certa mesura per les diferències genotípiques dels hostes i el tipus de sòl. Finalment, en aquest estudi també es proposa l'ús de BPS com una alternativa als fertilitzants inorgànics ja que han presentat ser més efectius en els dos tipus de condicions de disponibilitat de ferro.

Un altre estudi en blat va ser el que van realitzar Abiraami et al. 2021 [44]. Per aquest estudi es van utilitzar 3 bacteris diferents (*Pantoea agglomerans*,

Pseudomonas plecoglossicida i *Lactococcus lactis*) productors de catecolats, hidroxamats i carboxilats respectivament i es va comprovar l'eficiència de la quelació de ferro dels sideròfors mitjançant ferro radiomarcant (^{59}Fe) i el seu rol en els paràmetres biomètrics de les plantes, en la captació de ferro i en els enzims antioxidants en cultius hidropònics. Es van tractar els cultius amb inòculs dels bacteris i les seves solucions de sideròfors respectives. Contràriament a l'estudi realitzat per Nithyapriya et al. 2021 [41], en aquest cas van ser les solucions de sideròfors les que van expressar millors resultats en comparació a les solucions bacterianes, concretament la solució de catecolats, seguida de la de hidroxamats i carboxilats. Aquest fet potser es deu a que els sideròfors són més efectius a curt termini ja que aquest experiment es va realitzar en un període de temps més curt. També podria dependre de les quantitats aplicades de cada solució. Una altra causa es podria deure a que en la solució nutritiva hi hagués algun component que ralenti el creixement bacterià i conseqüentment la producció de sideròfors. A més, en aquest cas s'afirma que els catecolats demostren ser més eficients que els hidroxamats, al contrari que l'estudi de Delaporte-Quintana et al. 2020 [37]. Cal destacar que en el seu estudi no es van aplicar solucions de sideròfors "purs" i per tant, els catecolats que generalment es queden adsorbits en la membrana cel·lular del bacteri, en aquest experiment devien difondre millor en la solució nutritiva. Malgrat tot, els experiments anteriorment comparats s'han dut a terme en condicions i organismes molt diferents i per tant no es pot extreure una conclusió clara.

Arròs (*Oryza sativa*)

Altrament, Cao et al. 2021 [45], van realitzar un assaig en hivernacle que va consistir en avaluar els efectes d'inocular espores de *Streptomyces hygroscopicus* OsiSh-2 en el creixement i el contingut de ferro en plantes d'arròs cultivades en condicions de deficiència i suficiència de ferro. Els sideròfors produïts per aquest bacteri són del tipus hidroxamat. Així doncs, els resultats obtinguts van demostrar que el tractament aplicat va augmentar la biomassa (Fig. 11), la concentració de ferro i el contingut en clorofil·les gràcies a la producció de sideròfors (estratègia II) i l'acidificació del medi (estratègia I) respecte el control en els dos tipus de condicions de cultiu. També es va observar que l'expressió dels gens implicats en la síntesi de fitosideròfors en l'arròs van disminuir en

comparació al control no inoculat. Aquest fet es deu a que la biosíntesi de fitosideròfors també està regulada per l'homeòstasi del ferro [3,9,19] i per tant, això implica un estalvi energètic per a la planta ja que, a l'obtenir la font de ferro a través dels sideròfors microbians, poden redirigir aquesta energia en altres processos metabòlics i garantir un ric creixement sota deficiència de ferro.

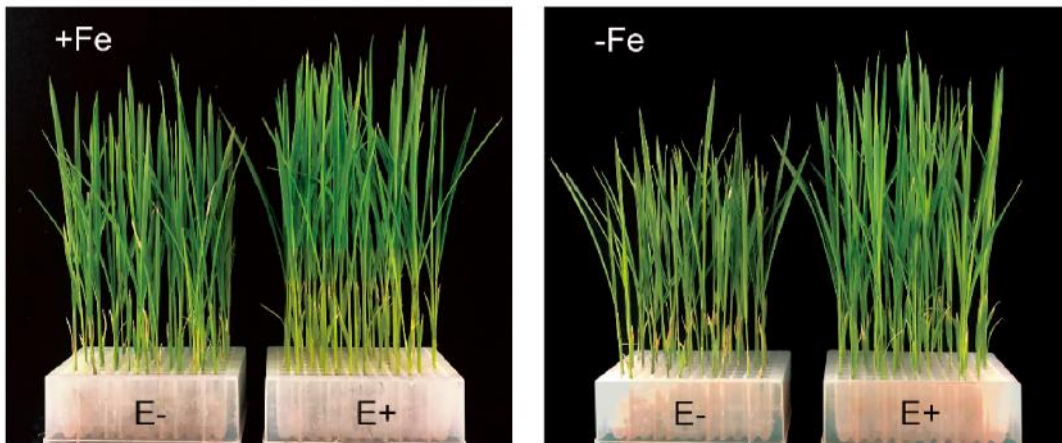


Figura 11. Efectes de *S. hygroscopicus* OiSh-2 sobre el fenotip del creixement de les plantes d'arròs. Suficiència de ferro (+Fe); deficiència de ferro (-Fe); plantes no inoculades (E-); plantes inoculades amb *S. hygroscopicus* OiSh-2 (E+) [45].

Moresc (*Zea mays*)

Shirinbayan et al. 2019 [46] van aïllar i caracteritzar 20 soques d'*Azotobacter* provinents de regions semiàrides de les quals les soques Az63, Az69 i Az70 van demostrar ser les més eficaces en la producció de sideròfors i altres trets de la promoció del creixement vegetal com la solubilització del fòsfor i del potassi. La soca Az63 va ser identificada com *A. chroococcum* i les soques Az69 i Az70 com *A. salinestris*. En aquest estudi no es van caracteritzar quins són els sideròfors que secreten els bacteris, només es va comprovar la seva producció. L'experiment es va dur a terme en hivernacle i els resultats van mostrar que la inoculació dels bacteris en plantes de moresc va augmentar la producció de biomassa, la concentració de fòsfor i ferro i el contingut en clorofil·les. A més, les soques Az69 i Az70 van mostrar ser dependents del sodi fet que indica que es van aïllar de sòls salítics i que per tant poden ser eficients també en sota aquest tipus d'estrès, tal com proposa Sulltana et al. 2021 [47] en el seu estudi on va aïllar una soca de *Bacillus* que va mostrar alts rendiments en la producció de sideròfors en una concentració de NaCl 200mM. En aquest cas, els BPS no

només van ser avaluats per a la producció de sideròfors sinó que també per altres trets del creixement vegetal pels quals van resultar eficients i per tant, poden conferir un efecte bioestimulant a la planta [5].

Encara que s'han observat evidències de la relació entre els sideròfors i la millora de la nutrició de ferro en plantes, els mecanismes exactes pels quals ho fan encara no s'han elucidat. Malgrat això, s'han establert 2 hipòtesis [8,21,22,26,30]:

- I) Els complexos Fe^{3+} -sideròfor poden ser internalitzats a l'apoplast de l'hoste on possiblement es produirà la reducció a Fe^{2+} .
- II) Els sideròfors microbians poden realitzar un intercanvi de lligands amb els fitosideròfors, tot i que aquest fet depèn principalment de les constants d'afinitat i de la concentració dels dos tipus de sideròfors.

Finalment, mencionar que seguint els criteris de cerca, no s'han trobat estudis que es realitzessin en camp.

4.5. TAULES RESUM DE RESULTATS

Taula 4. Recull de les característiques més importants dels BPS.

Característiques BPS	
Relació que estableixen amb la planta hoste	Extracel·lular i intracel·lular
Principals sideròfors produïts	Hidroxiamsats i catecolats
Constants afinitat sideròfor-Fe³⁺	10 ³² - 10 ⁵²
Biosíntesi	Enzims del tipus PSNR i SIP
Regulació	El repressor Fur inhibeix la RNA polimerasa per transcriure els gens dels PSNR.
Captació	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Gramnegatius</u>: receptors de membrana externa específics. - <u>Grampositius</u>: proteïnes ancorades a la membrana cel·lular.
Transport	<ul style="list-style-type: none"> - Complex proteic TonB-ExbB-ExbD - Proteïna d'unió paraplasma PBP - Sistema de transport ABC
Reducció del ferro	Citosol

Taula 5. Taula resum dels estudis trobats on s'evidencien els efectes dels BPS i els seus respectius sideròfors en la millora de la nutrició de ferro i altres observacions. Els grups de risc dels agents biològics s'han extret de BacDive [48].

Microorganisme	Tipus de sideròfor	Mètode de cultiu	Planta	Resultats	Grup de risc	Ref.
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAL5 i <i>Azospirillum brasilense</i> REC3	- PAL 5: Hidroxamats - REC 3: Catecolats	Hidropònic	<i>Maduixeres</i> <i>Fragaria ananassa</i>	- Els dos bacteris van mostrar una promoció del creixement vegetal alleujant la deficiència de ferro però PAL 5 va demostrar ser més eficient en tots els paràmetres analitzats.	1/1	[37]
<i>Azotobacter vinelandii</i>	Azotoquelina (catecolat)	Cambra climàtica	Soja <i>Glycine max</i>	- L'azotoquelina va resultar més eficient que el DPH en el proveïment de ferro. - L'azotoquelina va mostrar ser més eficient per aportar ferro que l'EDTA i EDDHA a llarg termini.	1	[38]
<i>Azotobacter vinelandii</i> i <i>Bacillus subtilis</i>	- Azotoquelina (catecolat) i protoquelina (catecolat)	Cambra climàtica	Soja <i>Glycine max</i>	- Els liofilitzats d' <i>A. vinelandii</i> van resultar millors que els de <i>B. subtilis</i> per combatre la clorosis fèrrica.	1/1	[39]

	- Bacillibactin (catecolat)			- Els liofilitzats d' <i>A. vinelandii</i> van donar uns valors similars als del tractament amb EDDHA en els paràmetres analitzats i per tant poden ser bons candidats per a la substitució dels quelants sintètics.		
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 13525	Pioverdina (mixt de catecolats i hidroxamats)	Cambra climàtica	Tomaqueres <i>Solanum lycopersicum</i>	- Acumulació 3 vegades més alta de ferro en les plantes inoculades respecte el control. - El transportador Nramp3 i la FRO estan implicats en l'absorció de ferro de la planta.	1	[40]
<i>Bacillus subtilis</i>	Bacillibactin (catecolat)	Hivernacle	Sèsam <i>Sesamum indicum</i>	- Les plantes tractades amb la suspensió bacteriana va mostrar una acumulació de ferro i un contingut en clorofil·les més gran que les tractades amb la solució de sideròfors.	1	[41]
<i>Pseudomonas fluorescens</i> NK4	Pioverdina	Hivernacle	Cogombre <i>Cucumis sativus</i>	- La inoculació d'aquest bacteri en plantes va mostrar una millora en	1	[42]

				<p>el creixement vegetatiu, el pes sec i el contingut en clorofil·les.</p> <ul style="list-style-type: none"> - La suplementació del medi amb ZnO va augmentar la producció de sideròfors. - El bacteri va mostrar ser un agent biocontrol contra diferents fitopatògens. 		
<p><i>Arthrobacter sulfonivorans</i> DS-68 i <i>Enterococcus hirae</i> DS- 163</p>	No especificat	Hivernacle	<p>Blat <i>Triticum aestivum</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - La inoculació dels 2 endòfits va mostrar un augment de la concentració de ferro en els grans de blat respecte al control negatiu (no inòcul) i al positiu (FeSO₄). 	1/2	[43]
<p><i>Pantoea agglomerans</i>, <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> i <i>Lactococcus lactis</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Catecolats - Hidroxamats - Carboxilats 	Hidropònic	<p>Blat <i>Triticum aestivum</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Les solucions de sideròfors van mostrar millors resultats que les solucions bacterianes. - Els catecolats van mostrar ser els sideròfors més efectius en el proveïment de ferro seguit dels hidroxamats i carboxilats. 	2/2/1	[44]

<p><i>Streptomyces hygroscopicus</i> OsiSh-2</p>	<p>Hidroxamats</p>	<p>Hivernacle</p>	<p>Arròs <i>Oryza sativa</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - La inoculació de les espores d'aquest bacteri va resultar en l'augment de la biomassa, la concentració de ferro i el contingut en clorofil·les gràcies als sideròfors (estratègia II) i a l'acidificació del medi (estratègia I). 	<p>1</p>	<p>[45]</p>
<p><i>Azotobacter salinestris</i> Az69 i Az70; <i>Azotobacter chroococcum</i> Az63 .</p>	<p>No especificat</p>	<p>Hivernacle</p>	<p>Moresc <i>Zea mays</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Les soques bacterianes inoculades van mostrar un augment de biomassa, concentració de ferro i contingut en clorofil·les en plantes de moresc. - Les soques Az69 i Az70 poden ser eficients en el proveïment de ferro també en sols salínics. - Els BPS poden conferir un efecte bioestimulant. 	<p>1/1</p>	<p>[46]</p>

5. CONCLUSIONS

En aquesta revisió bibliogràfica s'han recollit evidències sobre els sideròfors i dels seus bacteris productors, com una potencial alternativa viable als fertilitzants químics tradicionals per a la producció de bioestimulants, i així desenvolupar una agricultura més sostenible:

- Els sideròfors presenten l'avantatge de ser biodegradables i mostren uns rendiments similars als dels quelants sintètics per alleujar els símptomes de la clorosis fèrrica.
- Els bacteris produeixen majoritàriament hidroxamats i catecolats, els quals s'ha demostrat que són els sideròfors que presenten més efectivitat per tornar biodisponible el ferro i a més, presenten una gran afinitat pel ferro respecte als sideròfors fúngics i als fitosideròfors.
- En els mecanismes de captació dels complexos formats pel ferro i el sideròfor hi intervenen receptors específics. Sumant la gran afinitat dels sideròfors bacterians pel ferro, aquests permeten restringir l'absorció de ferro per altres microorganismes fitopatògens inhibint així el seu creixement i proporcionant protecció a la planta hoste.
- Els sideròfors bacterians poden alleujar la deficiència de ferro en diferents sòls de naturalesa alcalina com els sòls calcaris, els sòls salino-alcalins i els sòls on l'augment del pH s'ha vist afectat per la sequera.
- Els sideròfors i els seus bacteris productors poden proporcionar una font de ferro en un rang molt ampli de plantes, ja que són aptes tant en plantes d'estratègia I i II, fet que els fa de gran interès en la indústria agroquímica.
- Els BPS poden aportar ferro reduït intracel·lularment a la planta hoste o a través dels seus sideròfors (estratègia II) i/o acidificant el medi (estratègia I).

6. PERSPECTIVES DE FUTUR

Malgrat tot el potencial que ofereixen els sideròfors o els seus BPS, existeixen certs factors que encara s'han d'investigar per arribar a obtenir un coneixement ple sobre la seva utilització.

Encara que es cert que les rutes biosintètiques d'alguns sideròfors com la pioverdina són ben conegudes [27], falten coneixements sobre rutes d'altres sideròfors [6]. Conèixer aquestes vies així com el seu mecanisme de regulació seria de gran utilitat a l'hora d'optimitzar el procés creant noves estratègies d'edició genòmica o modificant les condicions del cultiu, com per exemple amb la suplementació d'altres elements com el zinc, que en el cas de *Pseudomonas fluorescens*, influeix en la síntesi per augmentar la producció de sideròfors [42].

També es necessiten elucidar els mecanismes de captació i transport dels complexos formats pel sideròfor i el ferro o de quina altra manera les plantes obtenen ferro a través dels sideròfors, ja que això permetrà avaluar quins són els sideròfors o BPS més eficients en combatre la deficiència d'aquest nutrient en els seus hostes i així millorar la seva potencial aplicació.

Tanmateix, les estructures químiques de molts sideròfors encara son desconegudes. Per tant, és important caracteritzar-les per tal d'analitzar quin paper juga la seva estructura amb l'afinitat pel ferro, l'efecte que provoca en el creixement de la planta i el seu desenvolupament així com les interaccions que exerceix amb el seu entorn, ja que aquestes poden afectar a la seva efectivitat.

Elucidar tots aquests factors i l'habilitat que tenen alguns sideròfors per quelar altres metalls implica l'oportunitat de millorar les aplicacions dels sideròfors en agricultura però també desenvolupar-ne en altres camps i sectors emergents, com poden ser la bioremediació de metalls pesats, biosensors, medicina (diagnòstic, antibiòtics i vacunes basades en sideròfors), entre d'altres [9].

Tot i així, existeixen certes limitacions en la ruta de producció de bioestimulants o biofertilitzants que també cal superar (Fig. 12). Per arribar a comercialitzar fórmules que continguin sideròfors o els seus BPS es necessita caracteritzar-los, en el cas dels metabòlits purificar-los, i produir-los a gran escala.

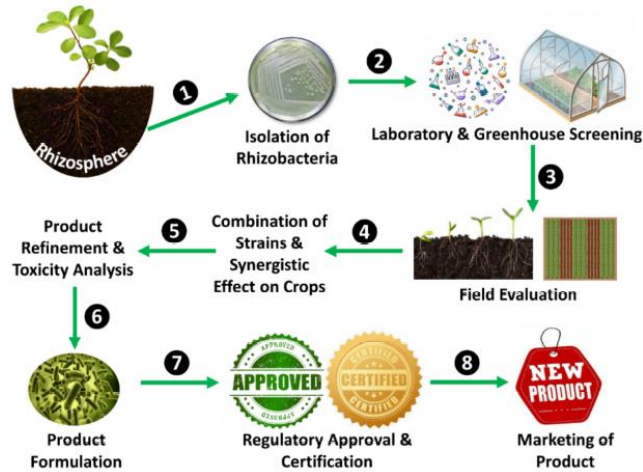


Figura 12. Ruta per a la comercialització d'un bioestimulant [6].

Així doncs, el primer pas consistiria en aïllar BPS d'interès que pertanyin només al grup de risc 1 i posteriorment s'haurà d'avaluar el seu comportament o el dels sideròfors d'interès en condicions de laboratori/ hivernacle i sobretot en condicions reals, ja que la majoria d'estudis es realitzen en laboratoris o en hivernacles. Aquests, proporcionen uns resultats en unes condicions òptimes, i per tant els estudis en camp aportaran noves dades sobre les interaccions entre la microbiota de la planta i les interaccions microbiota-planta, que amb l'ajuda de les òmiques i les eines bioinformàtiques, ens ajudaran a comprendre com funciona l'holobiont [8]. En aquest sentit, no només es buscarà millorar un sol caràcter (com la nutrició de ferro) sinó que també es buscaran microorganismes que compleixin les característiques d'un MPCV ideal i que puguin a més, formar consorcis beneficiosos per a la planta hoste amb altres microorganismes de la rizosfera [8]. Per exemple, els fongs micorrízics poden actuar com una extensió de les arrels per explorar més el terreny i aportar nutrients al seu hoste a la vegada que estableixen relacions simbiòtiques amb RPCVs [36].

Altres limitacions a superar tenen a veure amb l'adequada formulació del producte, l'emmagatzematge i transport (ja que al ser cèl·lules vives o productes biodegradables aquests tres factors poden afectar a la seva viabilitat), les infraestructures i el personal qualificat escàs. Per tant, es necessita més inversió en aquest sector per part de governs i empreses per tal d'arribar a obtenir una agricultura més sostenible.

7. REFERÈNCIES

- [1] Ferreira CMH, Soares HMVM, 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* 2019;682:779–99. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.225>.
- [2] Lurthy T, Cantat C, Jeudy C, Declerck P, Gallardo K, Barraud C, et al. Impact of Bacterial Siderophores on Iron Status and Ionome in Pea. *Front Plant Sci* 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00730>.
- [3] Abadía J, Vázquez S, Rellán-Álvarez R, El-Jendoubi H, Abadía A, Álvarez-Fernández A, et al. Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis. *Plant Physiology and Biochemistry* 2011;49:471–82. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.01.026>.
- [4] Rodríguez Martín JA, López Arias M; Grau Corbí JM. *Metales pesados, materia orgánica y otros parámetros de los suelos agrícolas y pastos de España*. Madrid: Coedición: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino/Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) - Ministerio de Ciencia e Innovación, 2009.
- [5] du Jardin P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci Hortic* 2015;196:3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>.
- [6] Basu A, Prasad P, Das SN, Kalam S, Sayyed RZ, Reddy MS, et al. Plant growth promoting rhizobacteria (Pgpr) as green bioinoculants: Recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability* (Switzerland) 2021;13:1–20. <https://doi.org/10.3390/su13031140>.
- [7] Johnstone TC, Nolan EM. Beyond iron: Non-classical biological functions of bacterial siderophores. *Dalton Transactions* 2015;44:6320–39. <https://doi.org/10.1039/c4dt03559c>.
- [8] Lurthy T, Pivato B, Lemanceau P, Mazurier S. Importance of the Rhizosphere Microbiota in Iron Biofortification of Plants. *Front Plant Sci* 2021;12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.744445>.
- [9] Soares E v. Perspective on the biotechnological production of bacterial siderophores and their use. *Appl Microbiol Biotechnol* 2022;106:3985–4004. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11995-y>.
- [10] al Shaer D, al Musaimi O, de la Torre BG, Albericio F. Hydroxamate siderophores: Natural occurrence, chemical synthesis, iron binding affinity and use as Trojan horses against pathogens. *Eur J Med Chem* 2020;208. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112791>.
- [11] Sharma R, Bhardwaj R, Gautam V, Kohli SK, Kaur P, Bali RS, et al. Microbial Siderophores in Metal Detoxification and Therapeutics: Recent Prospective and Applications. In: Egamberdieva, D., Ahmad, P. (eds) *Plant Microbiome: Stress Response*.

- Microorganisms for Sustainability*, vol 5. Springer, Singapore. 2018:337–50. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5514-0_15.
- [12] Maier GP, Butler A. Siderophores and mussel foot proteins: the role of catechol, cations, and metal coordination in surface adhesion. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* 2017;22:739–49. <https://doi.org/10.1007/s00775-017-1451-6>.
- [13] Khan A, Singh P, Srivastava A. Synthesis, nature and utility of universal iron chelator – Siderophore: A review. *Microbiol Res* 2018;212–213:103–11. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.10.012>.
- [14] Das K, Prasanna R, Saxena AK. Rhizobia: a potential biocontrol agent for soilborne fungal pathogens. *Folia Microbiol (Praha)* 2017;62:425–35. <https://doi.org/10.1007/s12223-017-0513-z>.
- [15] McRose DL, Baars O, Morel FMM, Kraepiel AML. Siderophore production in *Azotobacter vinelandii* in response to Fe-, Mo- and V-limitation. *Environ Microbiol* 2017;19:3595–605. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13857>.
- [16] Bonneau A, Roche B, Schalk IJ. Iron acquisition in *Pseudomonas aeruginosa* by the siderophore pyoverdine: an intricate interacting network including periplasmic and membrane proteins. *Sci Rep* 2020;10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56913-x>.
- [17] Chemical Entities of Biological Interest (ChEBI). Available from: <https://www.ebi.ac.uk/chebi/> (accessed October 10, 2022).
- [18] PubChem. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed October 10, 2022).
- [19] Ghosh SK, Bera T, Chakrabarty AM. Microbial siderophore – A boon to agricultural sciences. *Biological Control* 2020;144. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104214>.
- [20] Ferreira CMH, Vilas-Boas Â, Sousa CA, Soares HMVM, Soares E v. Comparison of five bacterial strains producing siderophores with ability to chelate iron under alkaline conditions. *AMB Express* 2019;9. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0796-3>.
- [21] Ahmed E, Holmström SJM. Siderophores in environmental research: Roles and applications. *Microb Biotechnol* 2014;7:196–208. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>.
- [22] Kramer J, Özkaya Ö, Kümmerli R. Bacterial siderophores in community and host interactions. *Nat Rev Microbiol* 2020;18:152–63. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0284-4>.
- [23] Fasusi OA, Cruz C, Babalola OO. Agricultural sustainability: Microbial biofertilizers in rhizosphere management. *Agriculture (Switzerland)* 2021;11:1–19. <https://doi.org/10.3390/agriculture11020163>.

- [24] Pecoraro L, Wang X, Shah D, Song X, Kumar V, Shakoor A, et al. Biosynthesis Pathways, Transport Mechanisms and Biotechnological Applications of Fungal Siderophores. *Journal of Fungi* 2022;8. <https://doi.org/10.3390/jof8010021>.
- [25] Gulick AM. Nonribosomal peptide synthetase biosynthetic clusters of ESKAPE pathogens. *Nat Prod Rep* 2017;34:981–1009. <https://doi.org/10.1039/c7np00029d>.
- [26] Timofeeva AM, Galyamova MR, Sedykh SE. Bacterial Siderophores: Classification, Biosynthesis, Perspectives of Use in Agriculture. *Plants* 2022;11:3065. <https://doi.org/10.3390/plants11223065>.
- [27] Calcott MJ, Owen JG, Ackerley DF. Efficient rational modification of non-ribosomal peptides by adenylation domain substitution. *Nat Commun* 2020;11. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18365-0>.
- [28] Lamb AL. Breaking a pathogen's iron will: Inhibiting siderophore production as an antimicrobial strategy. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom* 2015;1854:1054–70. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2015.05.001>.
- [29] Hider RC, Kong X. Chemistry and biology of siderophores. *Nat Prod Rep* 2010;27:637–57. <https://doi.org/10.1039/b906679a>.
- [30] Singh P, Chauhan PK, Upadhyay SK, Singh RK, Dwivedi P, Wang J, et al. Mechanistic Insights and Potential Use of Siderophores Producing Microbes in Rhizosphere for Mitigation of Stress in Plants Grown in Degraded Land. *Front Microbiol* 2022;13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.898979>.
- [31] Josts I, Veith K, Tidow H. Ternary structure of the outer membrane transporter FoxA with resolved signalling domain provides insights into TonB-mediated siderophore uptake. *eLife* 2019. <https://doi.org/10.7554/eLife.48528.001>.
- [32] González J, Salvador M, Özkaya Ö, Spick M, Reid K, Costa C, et al. Loss of a pyoverdine secondary receptor in *Pseudomonas aeruginosa* results in a fitter strain suitable for population invasion. *ISME Journal* 2021;15:1330–43. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00853-2>.
- [33] Casanova-Hampton K, Carey A, Kassam S, Garner A, Donati GL, Thangamani S, et al. A genome-wide screen reveals the involvement of enterobactin-mediated iron acquisition in *Escherichia coli* survival during copper stress. *Metallomics* 2021;13. <https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfab052>.
- [34] Pahari A, Pradhan A, Nayak SK, Mishra BB. Bacterial siderophore as a plant growth promoter. *Microb Biotechnol*, vol. 1, Springer Singapore; 2018, p. 163–80. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6847-8_7.

- [35] EUR-Lex | El acceso al Derecho de la Unión Europea. Directive 2000/54/EC — protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/EN/legal-content/summary/protection-of-workers-from-exposure-to-biological-agents.html> (accessed November 30, 2022).
- [36] González-Guerrero M, Escudero V, Saéz Á, Tejada-Jiménez M. Transition metal transport in plants and associated endosymbionts: Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia. *Front Plant Sci* 2016;7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01088>.
- [37] Delaporte-Quintana P, Lovaisa NC, Rapisarda VA, Pedraza RO. The plant growth promoting bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Azospirillum brasilense* contribute to the iron nutrition of strawberry plants through siderophores production. *Plant Growth Regul* 2020;91:185–99. <https://doi.org/10.1007/s10725-020-00598-0>.
- [38] Ferreira CMH, Sousa CA, Sanchis-Pérez I, López-Rayó S, Barros MT, Soares HMVM, et al. Calcareous soil interactions of the iron(III) chelates of DPH and Azotochelin and its application on amending iron chlorosis in soybean (*Glycine max*). *Science of the Total Environment* 2019;647:1586–93. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.069>.
- [39] Ferreira CMH, López-Rayó S, Lucena JJ, Soares E v., Soares HMVM. Evaluation of the Efficacy of Two New Biotechnological-Based Freeze-Dried Fertilizers for Sustainable Fe Deficiency Correction of Soybean Plants Grown in Calcareous Soils. *Front Plant Sci* 2019;10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01335>.
- [40] Nagata T. Effect of *Pseudomonas fluorescens* inoculation on the improvement of iron deficiency in tomato. *Plant Root* 2017;11:1–10. <https://doi.org/10.3117/plantroot.11.1>.
- [41] Nithyapriya S, Lalitha S, Sayyed RZ, Reddy MS, Dailin DJ, el Enshasy HA, et al. Production, purification, and characterization of bacillibactin siderophore of *Bacillus Subtilis* and its application for improvement in plant growth and oil content in sesame. *Sustainability (Switzerland)* 2021;13. <https://doi.org/10.3390/su13105394>.
- [42] Al-Karablieh N, Al-Shomali I, Al-Elami L, Hasan K. *Pseudomonas fluorescens* NK4 siderophore promotes plant growth and biocontrol in cucumber. *J Appl Microbiol* 2022;133:1414–21. <https://doi.org/10.1111/jam.15645>.
- [43] Singh D, Geat N, Rajawat MVS, Prasanna R, Saxena AK. Performance of low and high Fe accumulator wheat genotypes grown on soils with low or high available Fe and endophyte inoculation. *Acta Physiol Plant* 2020;42. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2997-4>.
- [44] Abiraami T v., Suman A, Singh B, Aswini K, Annapurna K. Radiochemical Evidence for the Contribution of Chemotyped Siderophore Producing Bacteria Towards Plant Iron Nutrition. *Curr Microbiol* 2021;78:4072–83. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02658-8>.

- [45] Cao L, Gao Y, Yu J, Niu S, Zeng J, Yao Q, et al. *Streptomyces hygrosopicus* OsiSh-2-induced mitigation of Fe deficiency in rice plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 2021;158:275–83. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.013>.
- [46] Shirinbayan S, Khosravi H, Malakouti MJ. Alleviation of drought stress in maize (*Zea mays*) by inoculation with *Azotobacter* strains isolated from semi-arid regions. *Applied Soil Ecology* 2019;133:138–45. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.09.015>.
- [47] Sultana S, Alam S, Karim MM. Screening of siderophore-producing salt-tolerant rhizobacteria suitable for supporting plant growth in saline soils with iron limitation. *J Agric Food Res* 2021;4. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100150>.
- [48] BacDive | The Bacterial Diversity Metadatabase. Available from: <https://bacdive.dsmz.de/> (accessed December 19, 2022).

8. ANNEX: llistat d'abreviatures

Les abreviatures d'aquest treball han fet referència a la paraula catalana. Tot i així, a continuació es mostra un llistat amb les abreviatures angleses per facilitar al lector la cerca i l'enteniment dels noms en cas que es vulgui informar més sobre el tema. Mencionar que algunes abreviatures s'utilitzen indistintament tant en català com en anglès.

Abreviatura (català)	Català	Abreviatura (anglès)	Anglès
EDTA	Àcid etilendiaminotetraacètic	EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
MPCV	Microorganisme promotor del creixement vegetal	PGPM	Plant Growth Promoting Microorganism
RPCV	Rizobacteri promotor del creixement vegetal	PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria
EDDHA	Etilendiamina-N,N'-bis(àcid 2-hidroxifenilacètic)	EDDHA	Ethylenediamine-N,N'-bis(2-hydroxyphenylacetic acid)
FRO	Oxidasa de reducció fèrrica	FRO	Ferric Reduction Oxidase
IRT	Transportador de ferro regulat	IRT	Iron Regulated Transporter
MPS	Microorganismes productors de sideròfors	SPM	Siderophore producing microorganism
BPS	Bacteris productors de sideròfors	SPB	Siderophore producing bacteria
Fur	Regulador de captació del ió fèrric	Fur	Ferric uptake regulator
DPH	N,N-dihidroxid-N,N'-diisopropilhexanodiamida	DPH	N,N-dihydroxy-N,N'-diisopropylhexanediamide

PSNR	Pèptid sintetasa no ribosòmica	NRPS	Nonribosomal Peptide-Synthetase
SIP	Sintetases de sideròfors independents de PSNR	NIS	NRPS- independent siderophore synthetases
ABC	-	ABC	ATP-binding cassette
SFP	Superfamília facilitadora principal	MFS	Major facilitator superfamily
RND	Resistència, nodulació i divisió cel·lular	RND	Resistance-nodulation-division

9. AUTOAVALUACIÓ

Personalment, la realització d'aquest treball m'ha suposat tot un repte. Els sideròfors son unes molècules que estan emergint en la investigació i per tant, encara no hi ha una informació ben consolidada. A més, me n'he adonat que en l'àmbit de l'agricultura costa molt trobar el contingut desitjat degut a la falta d'investigació. Un exemple podria ser quan al principi volia fer una comparació entre fongs i bacteris però dels primers la informació era molt escassa en l'àmbit relacionat amb els sideròfors. Tot i així, ha sigut una experiència enriquidora a la vegada que dura en certs moments ja que he pogut veure tot el treball que hi ha darrere de les "reviews".

També crec que gràcies a aquest treball m'he interessat més pel camp de l'agricultura. M'ha semblat un sector molt interessant, ja que vetlla per un món més sostenible i en el qual crec que s'hauria d'invertir més per tal d'assolir aquest repte. Per exemple, els sideròfors així com els seus microorganismes productors han demostrat ser una gran alternativa als fertilitzants tradicionals per combatre la clorosis fèrrica, però he après que no és tan fàcil produir, conservar i comercialitzar un producte que contingui microorganismes o els seus metabòlits degut a limitacions biològiques, però també econòmiques i legislatives.