



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**Dinâmica de quorum sensing e produção de violaceína em
cocultivos de *Chromobacterium subtsugae* e *Bacillus***

JACKELYNE PANTA CARDOSO

2025



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

JACKELYNE PANTA CARDOSO

Dinâmica de *quorum sensing* e produção de violaceína em cocultivos de *Chromobacterium subtsugae* e *Bacillus*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora
Profa. Dra. Renata Silva-Mann

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2025

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

C268d Cardoso, Jackelyne Panta.
Dinâmica de *quorum sensing* e produção de violaceína em cocultivos de
Chromobacterium subtsugae e *Bacillus* / Jackelyne Panta Cardoso; orientadora
Renata Silva-Mann. – São Cristóvão, SE, 2025.
98 f.: il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade
Federal de Sergipe, 2025.

1. Agrobiodiversidade. 2. Bactérias gram-negativas. 3. Comunicação. 4.
Biossíntese. 5. Metabólitos. 6. Pigmentos. 7. Metabolismo microbiano. I. Silva-Mann,
Renata da, orient. II. Título.

CDU 579.84

JACKELYNE PANTA CARDOSO

Dinâmica de *quorum sensing* e produção de violaceína em cocultivos de *Chromobacterium subtsugae* e *Bacillus*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA em 11 de julho de 2025.

Dra. Ana Cardoso Clemente Filha Ferreira de Paula (Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia de Minas Gerais)

Dra. Roberta Pereira Miranda Fernandes (UFS)

Profa. Dra. Renata Silva Mann
(Orientadora)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

Dedico à memória do meu querido avô Antônio,
minha eterna saudade, por sempre acreditar em
mim e ser minha maior inspiração.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, por ter sido meu sustento em cada etapa desta jornada. Em meio às incertezas, medos e desafios, foi a fé que me manteve firme e me deu forças para seguir. Tudo o que alcancei até aqui é fruto da graça d'Ele em minha vida. Como está escrito em Filipenses 4:13: *“Posso todas as coisas naquele que me fortalece.”*

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Renata Silva-Mann, por ter acreditado em mim e no potencial deste trabalho, mesmo diante das dificuldades. Agradeço por cada palavra de incentivo, por sua paciência, por cada orientação atenta e pelo exemplo de profissionalismo e humanidade. Sua orientação foi fundamental não apenas para a conclusão desta pesquisa, mas para a minha formação como pesquisadora.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Paulo Roberto Gagliard, que esteve comigo desde a graduação e foi quem me apresentou ao universo da pesquisa. Obrigada pelo apoio constante, pelas contribuições valiosas em todas as etapas e por acreditar no meu crescimento acadêmico.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade, em especial às professoras Dr.^a Roberta Miranda Fernandes e Dr.^a Ana Cardoso Clemente Filha, pelas críticas construtivas e sugestões relevantes que enriqueceram este trabalho.

À Universidade Federal de Sergipe, pelo espaço de formação científica e humana. Ao CNPq, pelo apoio financeiro que possibilitou a realização desta pesquisa. Aos laboratórios LaFiBio, Lentes e Lameb, por todo o suporte técnico e científico. À empresa BIOWORLD, especialmente ao P&D da empresa Wallison Oliveira e o presidente Isac Pereira Soares Martins, pelo incentivo, parceria e ajuda ao longo dessa caminhada.

Aos meus amigos do grupo de pesquisa GENAPLANT Maria Suzana Oliveira, Natali Santana, Valdinete V. Nunes, Lucas Alexandre Rocha, Crislaine Calazans e Ana Paula Alves pelo companheirismo, apoio, troca de ideias e pela presença constante nos bons e maus momentos desses dois anos. Em especial, ao meu amigo e conselheiro Matheus Emmanuel Oliveira Vieira, por toda ajuda, pelas ideias, pelos experimentos, pelo apoio moral e pelas conversas sinceras nos momentos de desespero. Muito mais do que colega, você foi essencial nesta jornada. Sem você, esse trabalho não existiria, literalmente!

À técnica de laboratório Maria Conceição Goes, por todo o suporte, pelos conselhos de mãe e amiga e pelas mensagens diárias cheias de cuidado, sempre perguntando se eu precisava de algo. Sua generosidade me marcou profundamente.

Aos meus amigos e ICs Nicolas de Mesquita Nery e Emersson dos Santos Bispo Júnior, por me ajudarem em tantos momentos, por aturarem minhas ideias mirabolantes e horários confusos e, acima de tudo, por estarem sempre dispostos a me apoiar. Muito obrigada por tudo!

À minha família do coração Jackeline da Silva Moreira, Joyce Herculano Lopes, David Patrick, Michele Santos de Jesus, Felipe Brunelli, Steffany Souza, Hemersson Souza Santos, Michel Figueiredo, Jisleide Matos, Nicolas de Mesquita Nery, Emersson dos Santos, Josefa Livia Silva, Amanda Alves, João Pedro Moura e Matheus Emmanuel Oliveira Vieira, por nunca desistirem de mim. Obrigada pelo apoio moral, pelas conversas, pelas gargalhadas, pelas lágrimas enxugadas e por estarem ao meu lado até aqui.

À minha família, pelo amor incondicional. Aos meus pais Cleide de Souza Panta e Ney Paulo Almeida Andrade, por nunca medirem esforços para que eu pudesse seguir meus sonhos. À minha vó Maria Izabel de Souza Panta, meus irmãos Jamyle Panta e Paulo Victor Panta, minha sobrinha Sophia Panta, meus tios, tias e primos, especialmente Samara Panta e Vivian Ribeiro, por todo carinho, incentivo e torcida constante.

Aos meus amigos Brenda Fernanda Almeida, Vitória Almeida, Jéssica Oliveira, Douglas Almeida e Adrino Andrade, que mesmo distantes estiveram sempre por perto com palavras de apoio, mensagens de ânimo e por celebrarem comigo cada conquista.

Ao meu namorado Heitor Nunes Doria, pelo amor, paciência e presença firme. Por me ouvir, me aconselhar, me motivar e não me deixar desistir diante das dificuldades. À minha

sogra Arali Nunes e à minha cunhada Vitória Nunes Doria, por me acolherem como parte da família e torcerem sinceramente por mim.

A todos que, de alguma forma, fizeram parte desta trajetória: meu mais sincero e profundo obrigado.

BIOGRAFIA

Jackelyne Panta Cardoso é graduada em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Sergipe (UFS), onde iniciou sua trajetória na pesquisa científica como bolsista de Iniciação Científica no laboratório de Fitopatologia do Departamento de Engenharia Agrônômica. Ao longo da graduação, participou de projetos de pesquisa com foco em controle de fitopatógenos utilizando produtos naturais, além de atuar em ações de extensão junto a escolas públicas.

Possui formação técnica em Agronegócio pelo SENAR/SE e experiência profissional na empresa BioLab, do grupo Bioworld, onde atuou com bioprospecção de microrganismos, análises laboratoriais de produtos biológicos e produção de inóculos para uso agrícola.

Desde 2023, é mestranda no Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade da UFS, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, desenvolvendo estudos sobre interações microbianas, *quorum sensing* e biossíntese de compostos bioativos. É membro do grupo de pesquisa GENAPLANT, onde atua em projetos voltados à biotecnologia e biodiversidade microbiana com potencial agrônômico e farmacológico.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	iv
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. Introdução aos metabólitos microbianos	2
2.1.1 Metabólitos primários	2
2.1.2 Relevância dos microrganismos na produção e aplicação de metabólitos secundários	2
2.2. Características microbiológicas dos gêneros <i>Bacillus</i> e <i>Chromobacterium</i> e	4
2.2.1 O gênero <i>Bacillus</i>	4
2.2.2 O gênero <i>Chromobacterium</i>	5
2.3. Violaceína: Estrutura, Produção e Aplicações	5
2.3.1 Características químicas e estrutura molecular da violaceína	5
2.3.2 Bactérias produtoras de violaceína e mecanismos biossintéticos	6
2.3.3 Fatores que influenciam a produção de violaceína	8
2.3.4 Aplicações farmacológicas, antimicrobianas e antioxidantes da violaceína	9
2.4. Interações Bacterianas e Competição Microbiana	10
2.4.1 Comunicação e inibição entre microrganismos	10
2.4.2 Mecanismos de competição microbiana	11
2.4.3 Impacto das interações microbianas na produção de metabólitos secundários	12
2.5. Aplicações Biotecnológicas das Interações entre <i>Chromobacterium</i> e <i>Bacillus</i>	13
2.5.1 Uso potencial dessas interações na produção de compostos bioativos	13
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
4. ARTIGO 1 – INFLUÊNCIA DO QUORUM SENSING NA EXPRESSÃO GÊNICA E PRODUÇÃO DE VIOLACEÍNA EM <i>CHROMOBACTERIUM</i> SP.: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA	28
RESUMO	28
4.1. Introdução	28
4.2. Metodologia	29
4.3. Resultados e discussão	31
4.3.1 Bibliometria	31
4.3.2 O <i>quorum sensing</i> e a violaceína em <i>Chromobacterium</i>	34
4.4. Conclusão	45
4.5. Referências Bibliográficas	46

5. ARTIGO 2 – INTERAÇÃO COMPETITIVA ENTRE <i>CHROMOBACTERIUM SUBTSUGAE</i> , <i>BACILLUS</i> SP. E <i>PRIESTIA</i> SP.: REGULAÇÃO DA PRODUÇÃO DE VIOLACEÍNA	54
RESUMO	54
5.1. Introdução	54
5.2. Material e Métodos	56
5.2.1 Obtenção dos isolados.....	56
5.2.2 Avaliação da produção de violaceína sob diferentes condições de cultivo em meio líquido.....	56
5.2.3 Avaliação das interações entre <i>Chromobacterium subtsugae</i> e <i>Bacillus</i> e <i>Priestia</i> : ensaios de sinergismo, <i>quorum sensing</i> e cocultivo.....	57
5.2.4 Interação entre <i>C. subtsugae</i> e <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	59
5.2.5 Análise estatística.....	60
5.3. Resultados.....	60
5.3.1 Avaliação da produção de violaceína sob diferentes condições de cultivo em meio líquido.....	60
5.3.2 Avaliação das interações entre <i>Chromobacterium subtsugae</i> e <i>Bacillus</i> : ensaios de sinergismo, <i>quorum sensing</i> e cocultivo	63
5.3.3 Interação entre <i>C. subtsugae</i> e <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	67
5.4. Conclusão.....	70
5.5. Referências Bibliográficas	71
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
ANEXOS	78

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura		Página
1	Estrutura química da violaceína.....	06
2	Via biossintética da violaceína.	07

ARTIGO 1

Figura		Página
1	Fluxograma da pesquisa científica sobre <i>quorum sensing</i> na expressão gênica e produção de violaceína em <i>Chromobacterium</i> sp.	30
2	Produção científica anual de estudos relacionados ao <i>quorum sensing</i> na expressão gênica e produção de violaceína em <i>Chromobacterium</i> sp.....	31
3	Produção científica por país: principais contribuintes para a pesquisa sobre <i>quorum sensing</i> na expressão gênica e produção de violaceína em <i>Chromobacterium</i> sp.....	32
4	Periódicos mais relevantes na pesquisa.....	33
5	Relação das palavras-chave mais frequentemente utilizadas nos estudos citados.....	34
6	Biossíntese da violaceína e regulação por <i>quorum sensing</i> em <i>Chromobacterium violaceum</i>	36
7	Distribuição dos grupos de compostos utilizados em estudos de modulação do <i>quorum sensing</i> (QS) em <i>Chromobacterium</i> spp.....	43

ARTIGO 2

Figura		Página
1	Curva de crescimento de <i>Chromobacterium subtsugae</i> em função da dose de inoculação e tempo de incubação.	61
2	Produção de violaceína por <i>Chromobacterium subtsugae</i> após 48 horas de cultivo sob diferentes condições de aeração: compressor, shaker e estático. Foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). Os dados representam a média de três repetições independentes $\pm$ desvio padrão	62
3	Cultivos de <i>Chromobacterium subtsugae</i> ATCC 31532 em diferentes condições de oxigenação, após 24 horas em caldo nutriente. (A) Condição estática, com coloração roxa intensa; (B) Agitação shake, com coloração amarelada; (C) Aeração forçada com compressor, com ausência visível de pigmento	63
4	Dendrograma da análise de agrupamento hierárquico dos tratamentos com <i>Chromobacterium subtsugae</i> , baseado nas médias da área do halo de inibição e pigmentação. A análise foi realizada pelo método de Ward com distância euclidiana, resultando na formação de três grupos distintos C1, C2 e C3, indicando diferentes padrões de interação interespecífica.....	64
5	Ensaio de difusão em disco demonstrando a interação entre <i>Chromobacterium subtsugae</i> e diferentes cepas de microrganismos. A presença de halos claros ao redor dos discos indica inibição do crescimento de <i>C. subtsugae</i> , enquanto a formação de pigmento violáceo sugere ativação da produção de violaceína.....	65

- 6 Produção de violaceína (μg) por *Chromobacterium subtsugae* (CS) em monocultivo e cocultivo com diferentes cepas do gênero *Bacillus* e *Priestia*. Os dados representam a média e o desvio padrão da produção total de pigmento. Observa-se variação significativa entre os tratamentos (teste de Kruskal-Wallis, $p = 0,0439$). Siglas: BT – *B. thuringiensis*, Ary – *P. aryabhattai*, BM – *P. megaterium*, BP – *B. pumilus*, BA – *B. amyloliquefaciens*, BL – *B. licheniformis*, BS – *B. subtilis*, BV – *B. velezensis*, BSAF – *B. safensis*. As barras verticais indicam $\pm$ erro padrão (EP) da média ($n = 3$)..... 66
- 7 (A) Monocultura de Cs, (B) Monocultura de Btk, (C) Cocultura de Cs + Btk, (D) Cocultura de Btk + Cs, (E) MEV da monocultura de Cs, (F) MEV da monocultura de Btk, (G) MEV da cocultura de Cs + Btk, (H) MEV da cocultura Btk + Cs. MEV, microscopia eletrônica de varredura. Setas verdes indicam bastonetes bacterianos; setas amarelas indicam possíveis cristais Cry 68
- 8 Produção de violaceína por *Chromobacterium subtsugae* ($\mu\text{g/mL}$) em diferentes estratégias de cocultivo com *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (BTK): CS (monocultivo), CS+BTK (inoculação de *C. subtsugae* 24 h antes), BTK+CS (inoculação de BTK 24 h antes) e CB (inoculação simultânea). No entanto, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). As barras verticais indicam $\pm$ erro padrão (EP) da média ($n = 3$)..... 69

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela		Página
1	Lista de genes expressos relacionados ao mecanismo de <i>quorum sensing</i>	35
2	Moléculas sinalizadoras identificadas na pesquisa.	37
3	Mecanismos de inibição de <i>quorum sensing</i> e seus efeitos em <i>Chromobacterium</i> spp.....	38

ARTIGO 2

Tabela		Página
1	Cepas bacterianas utilizadas.	58

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AHL	–	Acyl-homoserine lactone
ANOVA	–	Análise de Variância
ATCC	–	American Type Culture Collection
BA	–	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
BL	–	<i>Bacillus licheniformis</i>
BM	–	<i>Priestia megaterium</i> (anteriormente <i>Bacillus megaterium</i>)
BOD	–	Biochemical Oxygen Demand
BP	–	<i>Bacillus pumilus</i>
BS	–	<i>Bacillus subtilis</i>
BSAF	–	<i>Bacillus safensis</i>
BT	–	<i>Bacillus thuringiensis</i>
BTK	–	<i>Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki</i>
BV	–	<i>Bacillus velezensis</i>
CB	–	Cocultivo simultâneo
Cry	–	Cristal
CS	–	<i>Chromobacterium subtsugae</i>
DMSO	–	Dimetilsulfóxido
DO600	–	Densidade óptica a 600 nm
EBD	–	Energia de dissociação de ligação
EP	–	Erro padrão
EPS	–	Substâncias poliméricas extracelulares
ERN	–	Espécies Reativas de Nitrogênio
ERO	–	Espécies Reativas de Oxigênio
FAD	–	Flavina adenina dinucleotídeo
IPA	–	ácido indol-3-pirúvico
LB	–	Luria-Bertani
MS	–	Metabólito secundário
MEV	–	Microscópio eletrônico de varredura
ml	–	Mililitro
mm	–	Milímetro
nm	–	Nanômetro
NA	–	Ágar nutriente
NB	–	<i>Nutriente Broth</i>

NRPS – Sintetases peptídicas não ribossomais

PHAs – poli-hidroxialcanoatos

QQ – *Quorum quenching*

QS – *Quorum Sensing*

QSI – Inibidor de *Quorum Sensing* (*Quorum Sensing Inhibitor*)

rpm – Rotações por minuto

ROS – Espécies reativas de oxigênio (*Reactive Oxygen Species*)

SD – Desvio padrão (*Standard Deviation*)

UFS – Universidade Federal de Sergipe

UV – Ultravioleta

VioA-E – Enzimas codificadas pelos genes *vioA*, *vioB*, *vioC*, *vioD* e *vioE*, envolvidos na biossíntese da violaceína

% – Porcentagem

RESUMO

CARDOSO, Jackelyne Panta. Dinâmica de *quorum sensing* e produção de violaceína em cocultivos de *Chromobacterium subtsugae* e *Bacillus*. São Cristóvão: UFS, 2025. 98p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).*

A comunicação entre microrganismos desempenha um importante papel na regulação de comportamentos coletivos, como a produção de metabólitos secundários, incluindo pigmentos com atividade bioativa. Em *Chromobacterium subtsugae*, a síntese de violaceína é regulada por mecanismos de *quorum sensing* (QS), que modulam a expressão de genes em resposta à densidade populacional bacteriana. Essa comunicação pode ser influenciada por interações interespecíficas, como o cocultivo com outras espécies bacterianas, que atuam como indutoras ou inibidoras da expressão gênica relacionada ao QS. Diante disso, se investigou a influência de interações microbianas sobre a síntese de violaceína, iniciando com uma revisão sistemática da literatura seguida de ensaios experimentais de cocultivo. No primeiro capítulo, por meio da revisão sistemática, houve a identificação dos principais genes envolvidos, com destaque para o papel de *cviI*, *cviR* e do operon *vioABCDE*, além das moléculas sinalizadoras e das estratégias de interferência no *quorum sensing*, destacando suas potenciais aplicações biotecnológicas. No segundo capítulo, houve a modulação experimental da produção de violaceína em *C. subtsugae* ATCC-31532, em cocultivos com diferentes espécies de *Bacillus*, com destaque para *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*. A competição microbiana interespecífica influenciou a biossíntese do pigmento. Por meio da microscopia eletrônica de varredura, foram observadas alterações morfológicas e a presença de cristais Cry em coculturas com *B. thuringiensis*, evidenciando respostas competitivas. Além disso, foram testadas quatro condições de cultivo: *C. subtsugae* isolada (CS), cocultivo sequencial com inoculação de *C. subtsugae* seguida da adição de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* após 24 h (CS + BTK), cocultivo inverso com inoculação inicial de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* seguida da adição de *C. subtsugae* (BTK + CS), e cocultivo simultâneo de ambas as espécies (CB). Observou-se que, no tratamento CS + BTK, houve o maior incremento na produção de violaceína em comparação ao cultivo isolado, enquanto os arranjos BTK + CS e CB apresentaram níveis semelhantes ao controle. Assim, a dinâmica temporal das interações bacterianas exerce influência direta sobre a modulação do *quorum sensing* e a biossíntese de metabólitos secundários, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de estratégias de otimização na produção de compostos bioativos de interesse farmacológico e industrial.

Palavras-chave: comunicação bacteriana, biossíntese microbiana, coevolução microbiana, metabólitos secundários, pigmentos naturais.

* Comitê Orientador: Renata Silva Mann – UFS (Orientadora), coorientador: Paulo Roberto Gagliardi – UFS.

ABSTRACT

CARDOSO, Jackelyne Panta. Quorum Sensing Dynamics and violacein production in cocultures of *Chromobacterium subtsugae* and *Bacillus*. São Cristóvão: UFS, 2025. 98. (Thesis – Master's in Agriculture and Biodiversity).

Microbial communication plays a critical role in regulating collective behaviors, such as the production of secondary metabolites, including pigments with bioactive properties. In *Chromobacterium subtsugae*, violacein synthesis is regulated by quorum sensing (QS) mechanisms that modulate gene expression in response to bacterial population density. This communication can be influenced by interspecies interactions, such as cocultivation with other bacterial species, which may act as inducers or inhibitors of QS-related gene expression. In this context, the influence of microbial interactions on violacein synthesis was investigated, beginning with a systematic literature review followed by experimental coculture assays. The first chapter, through the systematic review, identified the key genes involved, notably *cviI*, *cviR*, and the *vioABCDE* operon, and showed molecules and quorum sensing interference strategies, highlighting their potential biotechnological applications. In the second chapter, experimental assays demonstrated modulation of violacein production in *C. subtsugae* ATCC-31532 when cocultured with various *Bacillus* species, particularly *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*. Interspecies microbial competition influenced pigment biosynthesis. Scanning electron microscopy revealed morphological changes and the presence of Cry crystals in cocultures with *B. thuringiensis*, indicating competitive responses. Four cultivation conditions were tested: isolated *C. subtsugae* (CS), sequential coculture first inoculated with *C. subtsugae* followed by *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* after 24 hours (CS + BTK), inverse coculture with initial inoculation of *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* followed by *C. subtsugae* (BTK + CS), and simultaneous coculture of both species (CB). The CS + BTK treatment showed the highest increase in violacein production compared to monoculture, while the BTK + CS and CB conditions yielded levels similar to the control. These findings suggest that the temporal dynamics of bacterial interactions directly influence quorum sensing modulation and secondary metabolite biosynthesis, providing a foundation for developing strategies to optimize the production of bioactive compounds with pharmaceutical and industrial relevance.

Keywords: bacterial communication, microbial biosynthesis, quorum sensing inhibition, microbial coevolution, secondary metabolites, natural pigments.

* Guidance Committee: Renata Silva Mann (Advisor), Paulo Roberto Gagliardi (Adjunct advisor).

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os ecossistemas são compostos por uma vasta diversidade de microrganismos que, ao interagirem entre si e com o ambiente, desenvolvem mecanismos complexos de comunicação e síntese de metabólitos bioativos. Um desses mecanismos é o *quorum sensing* (QS) o qual permite a coordenação de comportamentos celulares em função da densidade populacional bacteriana por meio de moléculas sinalizadoras. Essa forma de comunicação regula uma variedade de funções biológicas, como a formação de biofilmes, motilidade, virulência e a produção de metabólitos secundários, tais como pigmentos e antibióticos (Netzker *et al.*, 2015; Azimi *et al.*, 2020; Luís e Domingues, 2025).

Dentre os metabólitos microbianos, a violaceína, pigmento de coloração violeta produzido por algumas espécies de bactérias, em especial *C. violaceum* e *C. subtsugae*, é resultado da condensação de duas moléculas de L-triptofano, regulada por um sistema de *quorum sensing* do tipo acil-homosserina lactona (AHL). A violaceína possui propriedades antibacterianas, antimicóticas, inseticidas e antitumorais, despertando interesse crescente na área farmacêutica e industrial (Harrison e Soby, 2020; Immanuel *et al.*, 2018; Lyakhovchenko *et al.*, 2022).

O gênero *Bacillus*, por sua vez, compreende bactérias Gram-positivas amplamente distribuídas no ambiente e reconhecidas por sua versatilidade metabólica. Esse gênero tem sido explorado em diversas aplicações biotecnológicas devido à sua capacidade de produzir enzimas industriais, antibióticos, lipopeptídeos, probióticos e adjuvantes vacinais. Além disso, é capaz de crescer e sobreviver em condições ambientais adversas, características que reforçam seu potencial como agentes de controle biológico e promotores de crescimento vegetal (Herrmann *et al.*, 2024; Liu *et al.*, 2024; Meena e Kanwar, 2015).

Nesse contexto, o estudo de cocultura bacteriana tem se mostrado uma abordagem promissora para investigar como interações entre diferentes espécies podem influenciar a produção de compostos bioativos. A cocultura busca reproduzir a complexidade dos habitats microbianos naturais, tendo potencial de aumentar o título, a taxa e/ou o rendimento das fermentações (Li *et al.*, 2025). Interações sinérgicas ou antagônicas entre microrganismos podem desencadear respostas metabólicas complexas, incluindo a ativação ou repressão de vias biossintéticas. Assim, compreender como diferentes interações e arranjos de cocultivo impactam a regulação QS e, conseqüentemente, a produção de violaceína pode oferecer novos caminhos para a otimização de processos biotecnológicos.

Assim, este estudo tem como objetivo investigar a influência das interações microbianas na dinâmica de *quorum sensing* e na produção de violaceína em cocultivos de *Chromobacterium subtsugae* e *Bacillus*. Para isso, a atualização no estado da arte do tema foi

realizada através de revisão sistemática da literatura, seguida por experimentos com diferentes estratégias de cocultivo, visando compreender como as interações interespécies afetam a síntese do pigmento. Os resultados obtidos contribuem para o entendimento dos fatores que modulam a biossíntese de metabólitos secundários e ampliam as perspectivas de aplicação de microrganismos na produção de compostos de interesse biotecnológico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Introdução aos metabólitos microbianos

2.1.1 Metabólitos primários

Os metabólitos primários são aqueles considerados essenciais para o crescimento adequado de microrganismos. São fundamentais para o desempenho celular, pois fornecem tudo que é necessário para que a célula mantenha suas atividades vitais, dando suporte a processos como crescimento, divisão, maturação e reprodução e permitindo que a célula se mantenha funcional e em condições adequadas de saúde. Alguns exemplos conhecidos desses compostos são aminoácidos, nucleotídeos e produtos finais de fermentação, como etanol e ácidos orgânicos. Entre as inúmeras formas de produção, a síntese microbiana de aminoácidos se sobressai por sua elevada eficiência, baixo custo e menor impacto ambiental, além da capacidade de gerar enantiômeros com alta pureza (Demain, 2018; Prabhu *et al.*, 2025; Sun *et al.*, 2015).

2.1.2 Relevância dos microrganismos na produção e aplicação de metabólitos secundários

Microrganismos são reconhecidos como importantes produtores de metabólitos secundários (MS), sendo uma das principais fontes de compostos bioativos com ampla aplicação biotecnológica. Esses metabólitos são geralmente sintetizados em fases específicas do crescimento ou como resposta a condições de estresse ambiental, refletindo a notável capacidade adaptativa desses organismos a ambientes em constante mudança (Bind *et al.*, 2022; Choudhury *et al.*, 2023; Haruna & Yahaya, 2021; Li *et al.*, 2024).

Ao longo das últimas décadas, fungos e bactérias têm se destacado na produção dos MS, muitos dos quais são utilizados como base para medicamentos disponíveis no mercado. Em especial, microrganismos endofíticos (bactérias, fungos e vírus) têm sido amplamente investigados, sobretudo em estratégias combinadas que buscam otimizar tanto a produção, quanto a regulação dos metabólitos secundários. Tais compostos apresentam atividades antibacterianas, antifúngicas e antitumorais e têm demonstrado potencial em setores como a

indústria farmacêutica, agrícola, alimentícia, cosmética e ambiental (Gakuubi *et al.*, 2021; Oladipo *et al.*, 2022; Raimi e Adeleke, 2021; Yao *et al.*, 2023).

Os MS produzidos por microrganismos podem ser classificados em diferentes categorias de acordo com sua estrutura química, como antibióticos, toxinas, fitohormônios e reguladores de crescimento de plantas. São geralmente agrupados em cinco classes estruturais e funcionais principais: os terpenos, que incluem substâncias como voláteis, glicosídeos e esteróis; os fenólicos, representados por flavonoides e cumarinas; os compostos nitrogenados, como os alcaloides; os peptídeos, exemplificados por surfactina e iturina e os policetídeos, dentre os quais se destaca o 2,4-diacetilfloroglucinol (Balthazar *et al.*, 2022; Dhanarasu, 2012; Dong *et al.*, 2022; Song *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2023).

Dentre os microrganismos, fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium* e *Phomopsis* estão entre os mais frequentemente patenteados, refletindo sua relevância na descoberta de novos metabólitos com aplicações industriais. Entre as bactérias, destacam-se os gêneros *Streptomyces*, *Saccharopolyspora* e *Bacillus*. Esse último é reconhecido por sua diversidade metabólica e capacidade de produzir substâncias antagônicas com aplicações no controle biológico e na biotecnologia. Além disso, o gênero *Chromobacterium* tem despertado crescente interesse, devido à produção da violaceína um pigmento com propriedades antimicrobianas, antioxidantes e antitumorais (Torres-Mendoza *et al.*, 2020; Bertrand *et al.*, 2023; Fira *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2017; Park *et al.*, 2021).

A biossíntese de metabólitos secundários é regulada por complexas redes genéticas e metabólicas, muitas vezes ativadas durante a fase estacionária do crescimento microbiano. Esses compostos desempenham papéis estratégicos na competição por nichos ecológicos, antagonismo microbiano e autodefesa, sendo determinantes para a sobrevivência dos microrganismos em ambientes hostis. Tais características ampliam o interesse científico na elucidação desses processos, sobretudo para aplicações industriais (Kumar *et al.*, 2021; Steinke *et al.*, 2021).

A utilização de microrganismos como plataformas biossintéticas oferece vantagens significativas, como baixo custo e eficiência de produção. Essa abordagem pode ainda ser aprimorada por manipulações genéticas e epigenéticas, resultando em compostos mais seletivos e com mecanismos de ação otimizados (Bind *et al.*, 2022; Oladipo *et al.*, 2022; Yonet *et al.*, 2024).

Nesse cenário, áreas emergentes como a genômica, epigenética, metabolômica e bioinformática vêm sendo intensamente exploradas, oferecendo novas possibilidades para a descoberta e caracterização de metabólitos bioativos. Paralelamente, os avanços em biologia sintética e engenharia metabólica têm permitido a otimização dos rendimentos e a geração de

compostos inéditos com propriedades bioativas (Gakuubi *et al.*, 2021; Ragozzino *et al.*, 2025; Vinale e Sivasithamparam, 2020).

Dessa forma, a importância dos microrganismos na produção de compostos bioativos vai além de sua função ecológica, consolidando-se como uma fonte estratégica de novos fármacos, promotores de crescimento vegetal, agentes de resistência a estresses abióticos e biológicos e soluções sustentáveis para diversas demandas humanas. As pesquisas nessa área têm potencial de impacto em campos como a medicina, a agricultura e a indústria alimentícia e de cosméticos, além de reforçarem o papel dos microrganismos na biologia vegetal e na biotecnologia (Choudhury *et al.*, 2023; Pandey, 2019; Mohd Zahid *et al.*, 2024).

2.2. Características microbiológicas dos gêneros *Bacillus* e *Chromobacterium* e

2.2.1 O gênero *Bacillus*

O gênero *Bacillus* é composto por bactérias Gram-positivas, em forma de bastonete, presentes nos mais diversos ambientes, formadoras de endósporos, podendo ser aeróbicas ou facultativamente anaeróbias. Espécies como *Bacillus subtilis*, *Bacillus velezensis* e *Bacillus thuringiensis* estão entre as mais estudadas, principalmente pela sua capacidade de produzir metabólitos que possuem inúmeras aplicabilidades biotecnológicas (Qiao *et al.*, 2024; Silva, Rodrigues e Ulian, 2021; Son *et al.*, 2019).

Esses microrganismos possuem capacidade de produzir lipopeptídeos, como surfactina, a fengicina, com atividades antibacteriana e antifúngica. Além disso, sintetizam compostos como bacilisina, bacileno, bacilibactina e sideróforos, os quais podem ser utilizados em estratégias de biocontrole e promoção do crescimento vegetal. Outro destaque é a produção de ácidos poli-hidroxialcanoatos (PHAs), devido à ausência de lipopolissacarídeos em sua estrutura celular, tornando-os candidatos ideais para aplicações biomédicas. No caso específico de *B. thuringiensis*, por exemplo, destaca-se a produção de proteínas Cry (Crystal), consideradas inseticidas, usadas em formulações pulverizáveis ou produzidas em culturas transgênicas. Além disso, possui a capacidade de produzir uma β -exotoxina conhecida como turingia, um MS termoestável com atividade inseticida contra uma ampla gama de ordens de insetos e de nematóides (Abdel-Mawgoud, Aboulwafa e Hassouna, 2008; Meena e Kanwar, 2015; Sa *et al.*, 2018; Zhang e Sun, 2018; Jurat-Fuentes, Heckel e Ferré, 2021; Sparks *et al.*, 2012).

2.2.2 O gênero *Chromobacterium*

O gênero *Chromobacterium* pertence à família Chromobacteriaceae e à classe de bactérias Gram-negativas β -proteobactérias. Bactérias deste gênero são caracterizadas por apresentarem células em formato de bastonete, ocorrendo isoladamente em pares ou em cadeias curtas, podendo ser anaeróbias facultativas encontradas no solo e/ou água, tanto em climas tropicais, quanto subtropicais (Monnerat *et al.*, 2020; Abedin *et al.*, 2024; Adeolu e Gupta, 2013; Johnson *et al.*, 2023).

Quatorze espécies compreendem ao gênero *Chromobacterium*: *C. violaceum*, *C. subtsugae*, *C. aquaticum*, *C. haemolyticum*, *C. pseudoviolaceum*, *C. piscinae*, *C. vaccinii*, *C. amazonense*, *C. rhizoryzae*, *C. alkanivorans*, *C. sphagni*, *C. fluviatile*, *C. paludis* e *C. phragmitis*. Essas espécies destacam-se pela sua capacidade de produzir pigmentos roxos, violaceína e desoxiviolaceína. Destas, *C. violaceum* se destaca como modelo produtor de violaceína e em estudos de comunicação bacteriana. Além disso, foi a primeira espécie do gênero *Chromobacterium* a ter seu genoma completamente sequenciado (Parte *et al.*, 2020; Blackburn *et al.*, 2020; Park, H. *et al.*, 2021; Choudhary *et al.*, 2024).

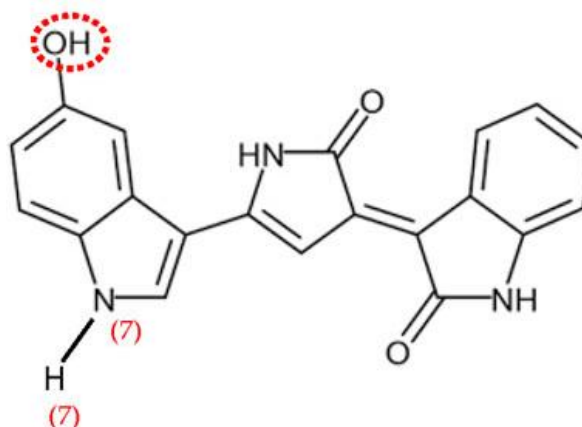
A espécie *C. subtsugae* vem ganhando destaque devido a suas aplicações na agricultura, seja diretamente ou através de seus metabólitos secundários, que apresentam estabilidade ao calor e resistência à protease. Dentre esses metabólitos, estão a violaceína, os sideróforos, o cianeto de hidrogênio e as quitinases (Martin *et al.*, 2007; Vöing, Harrison e Soby, 2015).

2.3. Violaceína: Estrutura, Produção e Aplicações

2.3.1 Características químicas e estrutura molecular da violaceína

A violaceína é um pigmento violeta produzido por bactérias gram-negativas, sendo o gênero *Chromobacterium* um dos maiores produtores (Durán, Fávoro, *et al.*, 2021). Com peso molecular 443,3 g/mol, é classificada como um composto bisindólico formado por três heterociclos e uma molécula de 2-pirrolidona que liga dois indóis, um oxindóis e um 5-hidroxiindóis (Figura 1) (Rivero Berti *et al.*, 2023).

Figura 1 - Estrutura química da violaceína.



Fonte: Rivero Berti *et al.* (2023)

Devido à sua natureza altamente hidrofóbica, a violaceína é insolúvel em meios aquosos, mas parcialmente solúvel em solventes orgânicos como metanol, etanol e DMSO. Sua biossíntese envolve a condensação de duas moléculas de L-triptofano catalisadas por uma série de cinco reações enzimáticas mediadas pelas enzimas VioA-E (Park *et al.*, 2021; Durán *et al.*, 2021).

A sua estrutura química apresenta duas unidades, cada uma contendo um anel pirrol conjugado a um anel benzênico. A estrutura de alta ressonância compreende um composto aromático conjugado a grupos acrílicos permite a absorção de radiação UV de alta energia. Espectros de UV-Visível revelam dois picos máximos em $\lambda_{\text{max}} = 577\text{-}585\text{ nm}$, dependendo do solvente orgânico utilizado, permitindo assim sua quantificação por meio de métodos espectrofotométricos (Suryawanshi *et al.*, 2015; Abboud e Arment, 2013).

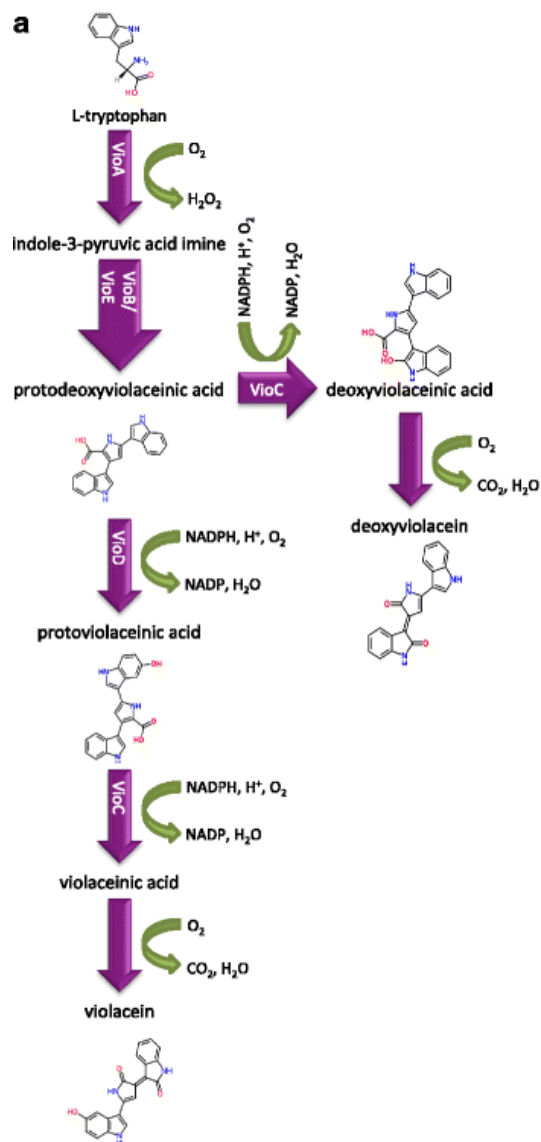
2.3.2 Bactérias produtoras de violaceína e mecanismos biossintéticos

Vários organismos gram-negativos que apresentam consideráveis distâncias filogenéticas e presentes em diferentes nichos ambientais foram relatados como sintetizadores de violaceína, tais como membros dos gêneros *Janthinobacterium*, *Alteromonas*, *Chromobacterium*, *Collimonas*, *Duganella*, *Pseudoalteromonas*, *Massilia* e *Iodobacter* (Doing, Perron e Jude, 2018; Durán *et al.*, 2007; Kuzyk *et al.*, 2021).

Para a violaceína ser sintetizada, é necessária uma série de sequências com reações enzimáticas, sendo catalisadas por cinco enzimas que são codificadas pelos genes *vioA*, *vioB*, *vioC*, *vioD* e *vioE*. Inicialmente, a L-triptofano oxidase (VioA) catalisa a desaminação oxidativa do L-triptofano, resultando na produção de ácido indol-3-pirúvico (IPA) na presença de dinucleótido de flavina adenina (FAD). Em seguida, o IPA é convertido em um dímero de

imina IPA (CAP) pela poliketídeo sintase (VioB). Posteriormente, a enzima VioE converte o CAP em ácido protodesoxiviolaceínico, o qual é então transformado em desoxiviolaceína por meio da oxidação por uma monooxigenase (VioC). Subsequentemente, o ácido protodesoxiviolaceínico é hidroxilado pela triptofano hidroxilase (VioD), gerando o ácido protoviolaceínico, que por fim é convertido em violaceína pelo VioC (Park *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2022; Batista *et al.*, 2024) (Figura 2).

Figura 2 - Via biossintética da violaceína.



Fonte: Bilslund *et al.*, 2018.

A produção de violaceína é acionada em densidades celulares elevadas por meio de um sistema de sinalização de *quorum sensing* (QS), um tipo de comunicação célula-célula, que é baseado em acil homosserina lactona (AHL), uma molécula sinalizadora que se liga ao

receptor. Esse sistema é composto pela enzima sintase de AHL, CviI, e pelo receptor CviR. Quando os AHLs se ligam ao CviR, ocorre a ativação da transcrição do *operon* vioABCDE, resultando na indução da produção de violaceína.

A produção de violaceína é acionada em densidades celulares elevadas, por meio do *quorum sensing* (QS), um sistema de comunicação célula-célula baseado em moléculas sinalizadoras conhecidas como acil homosserina lactonas (AHLs). Essas moléculas se ligam ao receptor CviR, enquanto a enzima CviI atua como sintetizadora das AHLs. A ligação dos AHLs ao CviR ativa a transcrição do *operon* vioABCDE, resultando na síntese de violaceína (Batista *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2024).

2.3.3 Fatores que influenciam a produção de violaceína

A produção de violaceína varia conforme a cepa bacteriana, o meio de cultivo e as condições ambientais, podendo representar uma resposta adaptativa para a defesa do microrganismo a estresses externos (Pantanella *et al.*, 2006).

Diversos fatores influenciam significativamente a biossíntese de violaceína, modulando tanto o crescimento microbiano, quanto a ativação de vias do metabolismo secundário. Entre os aspectos nutricionais, pode-se destacar a disponibilidade de fontes de carbono, como o glicerol, e de precursores como o extrato de levedura, peptona, L-triptofano, além de estimulantes químicos como a ampicilina e o ácido fórmico (Cheng *et al.*, 2022; Kanelli *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2009).

Condições físico-químicas como o pH próximo de 7, temperatura entre 20 e 35 °C, baixa concentração de sais e intensidade de agitação variando de 0 a 200 rpm também afetam a produção do pigmento (Yang *et al.*, 2007; Sasidharan *et al.*, 2015).

Outros fatores incluem a exposição a estresses abióticos, como peróxido de hidrogênio. Além disso, condições de cocultivo com outras bactérias podem impactar a síntese da violaceína, seja por competição por nutrientes, sinalização cruzada ou inibição do sistema de *quorum sensing* (Bagoghli e Hosseini-Abari, 2024; Shiau e Lin, 2011).

Além desses fatores, o estágio do ciclo de crescimento celular também influencia a produção do pigmento. A síntese de violaceína tem início na fase estacionária e atinge seu pico no início da fase de morte, momento em que a sobrevivência celular é prolongada nas culturas produtoras de pigmento (Pantanella *et al.*, 2006).

2.3.4 Aplicações farmacológicas, antimicrobianas e antioxidantes da violaceína

A violaceína apresenta uma ampla gama de atividades biológicas, com efeitos sobre células humanas e animais, incluindo propriedades anticancerígenas, imunomoduladoras, analgésicas e antiparasitárias. Além disso, demonstra potente atividade antimicrobiana, antifúngica e antiviral, atuando contra diversos patógenos (Durán *et al.*, 2016; Rivero Berti *et al.*, 2023).

Diversos estudos evidenciam o potencial farmacológico da violaceína. Sua elevada atividade citotóxica permite aplicações na indústria farmacêutica, especialmente em células tumorais, nas quais induz a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS). Esse aumento de ROS pode desencadear a cascata apoptótica intrínseca, levando à morte celular pela via mitocondrial (Masuelli *et al.*, 2016; Leal *et al.*, 2015).

No âmbito antimicrobiano, a violaceína apresenta ampla atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Essa ação se deve principalmente à interferência na membrana citoplasmática, causando permeabilização que leva à perda da força motriz do próton, desequilíbrio iônico, comprometimento do ATP e danos às proteínas celulares. Etapas subsequentes resultam na perda de componentes intracelulares, promovendo desequilíbrio osmótico e, futuramente, a morte celular (Monnerat *et al.*, 2020; Cauz *et al.*, 2019; Aruldass *et al.*, 2018).

A violaceína também demonstra potencial antifúngico, interferindo no crescimento das hifas e na formação de biofilmes. Essa atividade pode estar relacionada à indução de ROS em células de biofilme fúngico, à produção de cianeto e à atividade quitinolítica da bactéria (Durán *et al.*, 2022; Barreto *et al.*, 2008).

Além disso, apresenta ação antioxidante. Como molécula orgânica, possui um grupo hidroxila e três grupos amino, que conferem capacidade de doação de elétrons. Seu isômero coplanar é ainda capaz de doar hidrogênio e elétrons, favorecendo a neutralização de radicais livres por meio de dissociação de ligações energéticas e transferência de prótons, regulada pelo potencial de ionização. Dessa forma, a violaceína pode proteger os organismos produtores contra estresse oxidativo induzido por espécies reativas de oxigênio (ERO) ou nitrogênio (ERN) (Park *et al.*, 2021; Rivero Berti *et al.*, 2023; Ahmed, Zedan e Ibrahim, 2021).

Embora a violaceína apresente várias atividades biológicas, há limitações na produção desses produtos, considerando o baixo rendimento da violaceína, devido ao extenso processo de síntese e à baixa taxa de produção ou à disponibilidade insuficiente de precursores (Xu *et al.*, 2022).

2.4. Interações Bacterianas e Competição Microbiana

2.4.1 Comunicação e inibição entre microrganismos

O *quorum-sensing* (QS) desempenha um papel fundamental para entender os mecanismos de interação entre espécies de fungos e bactérias. Esse sistema coordena diversos processos relacionados ao desenvolvimento de biofilmes, incluindo a adesão à superfície, a secreção de EPS e a ativação de fatores de virulência.

O *quorum-quenching* (QQ) é o mecanismo que pode interromper o sinalizador do QS. Diante disso, bactérias usam o mecanismo de QQ como uma forma de antagonismo. O sinal de QS pode ser interrompido de diversas formas e, entre elas, destaca-se a paralização de uma molécula sinalizadora, desativando ou destruindo uma molécula de sinalização, e o bloqueio de genes que seriam desencadeados pelo sinal QS. A grande vantagem do QQ é não causar a morte do patógenos e não realizar pressões seletivas severas, reduzindo assim o desenvolvimento de resistência (Grandclément *et al.*, 2016; Moradi e Hadi, 2021; Prazdnova *et al.*, 2022; Turovskiy *et al.*, 2007; Qu. *et al.*, 2024).

Alguns processos metabólicos do *quorum-sensing* podem ser interrompidos por meio de inibidores de quorum, conhecidos como (QSIs). Os QSIs são moléculas que tem um alto potencial para inibir os processos que são desenvolvidos pelo QS, como a inibição de bioluminescência, fluorescência, formação de biofilme, produção de pigmentos e atividade enzimática. Dessa forma, essa taxa de inibição interrompe a comunicação bacteriana, podendo haver um controle da patogenicidade (Dimitrova, Damyanova e Paunova-Krasteva, 2023).

As principais estratégias de atuação dos QSIs envolvem a inibição da biossíntese de autoindutores, sintetizados por várias enzimas que catalisam certos substratos. Além disso, podem promover a degradação das moléculas sinalizadoras, impedindo que estas alcancem a concentração limite para ativar as respostas regulatórias. Um exemplo bastante estudado é o gene *aiiA*, que codifica uma enzima do tipo lactonase capaz de hidrolisar o anel de lactona das moléculas de AHL, inativando o sinal de *quorum sensing* e, conseqüentemente, suprimindo a expressão de genes relacionados à virulência e outros comportamentos mediados por QS. Outra estratégia consiste na utilização de análogos estruturais das moléculas sinalizadoras, que competem com os ligantes naturais pelos receptores, bloqueando sua ativação e, assim, interferindo na sinalização e nos processos mediados por QS (Qu, Y. *et al.*, 2024; Ramírez-Pool *et al.*, 2024).

Em bactérias Gram-negativas que pertencem ao gênero *Chromobacterium*, o fator de transcrição do tipo LuxR/CviR desempenha um importante papel no sistema de QS. Servindo como um receptor para moléculas de AHL e sua ativação, desencadeia processos de expressão

gênica à medida que contribui para os comportamentos coordenados da população bacteriana. No entanto, em gram-positivas, como os *Bacillus*, a comunicação célula-célula depende no geral de sensores citoplasmáticos regulados por peptídeos de sinalização secretados e reimportados (Revanasiddappa *et al.*, 2024; Slamti *et al.*, 2014).

Dessa forma, o QS é um mecanismo bastante utilizado por bactérias para controlar fatores de virulência, produção de metabólitos secundários e também para se adaptar em diferentes condições conforme à necessidade do seu metabolismo (Pena *et al.*, 2019).

2.4.2 Mecanismos de competição microbiana

Em ambientes microbianos diversos, os microrganismos precisam competir por recursos para garantir sua sobrevivência. Essa competição pode ocorrer de duas formas principais: competição exploratória e por interferência. Na competição exploratória, uma população consome rapidamente o recurso limitante necessário a outra, sem interação direta entre elas. Já na competição por interferência, há interações antagônicas diretas entre as populações concorrentes (Stubbenieck e Straight, 2016; García-Bayona e Comstock, 2018).

Como resposta, os microrganismos desenvolveram diferentes estratégias como forma de defesa contra a competição microbiana (Wang e Kuzyakov, 2024), como a síntese de antibióticos, motilidade, funções predatórias e formação de biofilme. Um exemplo clássico é o de *Chromobacterium*, cujo mecanismo QS do tipo AHL's regula genes (*CviR/ CviI*) que induzem a produção de toxinas e exoprodutos como a violaceína, um pigmento com ações antimicrobianas (Venkatramanan e Nalini, 2024).

Algumas bactérias possuem capacidade de produzir compostos antimicrobianos que são influenciados pela condição na qual foram produzidos e regulados por um mecanismo de QS. Assim, o habitat e o estilo de vida de um produtor podem influenciar a especificidade do alvo dos antibióticos que são produzidos. Em grandes densidades populacionais ou situação de competição ou estresse, é necessária a transcrição de genes que codificam a produção de fatores de virulência por toda a colônia, possibilitando assim uma resposta ao estímulo. Em bactérias gram-positivas, o sinal peptídico pode induzir a esporulação, o desenvolvimento de competência e formação de biofilme em *Bacillus subtilis* (Abisado *et al.*, 2018; Hibbing *et al.*, 2010; Lee e Zhang, 2015; Mukherjee e Bassler, 2019; Anju *et al.*, 2018).

Entre os mecanismos de interferência, a síntese de toxinas é uma estratégia competitiva. Esses compostos podem danificar a fisiologia do alvo celular, atuando principalmente sobre o envelope celular ou no metabolismo central. Muitas toxinas passam por etapas intermediárias até atingirem o alvo celular, enquanto outras podem ser transferidas diretamente por meio do

contato célula a célula, através da liberação de componentes tóxicos por meio de sistemas secreção (Shaheen *et al.*, 2011; Vassallo *et al.*, 2017; Chassaing e Cascales, 2018).

Outra estratégia adotada por bactérias é a de formar biofilme, no qual comunidades microbianas ficam envoltas por uma matriz extracelular composta por carboidratos, polissacarídeos e proteínas. Quando expostas a condições de estresse, formam o biofilme como uma alternativa que auxilia na sobrevivência desses microrganismos, conferindo-lhes resistência a antibióticos, dessecação, altas temperaturas, proteção contra fitopatógenos e produtos de origem química. Sob essa perspectiva, a capacidade de formar biofilme é essencial em algumas espécies bacterianas, pois desempenha um papel essencial para sua sobrevivência (Pandit *et al.*, 2020; Stubbendieck e Straight, 2016).

2.4.3 Impacto das interações microbianas na produção de metabólitos secundários

A produção de metabólitos secundários (MS) está relacionada às interações entre os microrganismos que habitam em comunidades microbianas complexas, podendo mediar competições de interferência, virulência e eliminação de nutrientes que são produzidos por diversos microrganismos (Abrudan *et al.*, 2015; D’Onofrio *et al.*, 2010; Yamanaka *et al.*, 2005; Bech *et al.*, 2024).

A interação entre microrganismos se caracteriza pela interação entre suas diversas atividades metabólicas e arranjos espaciais que se interligam uns aos outros. Em consequente, muitas espécies microbianas habitam em ambientes onde há uma interação dinâmica de sinergismo, em que essas interações necessitam ser mantidas mesmo diante de mudanças ambientais e de ação de outros microrganismos. Mudanças ambientais como alteração de PH e níveis de oxigênio podem impactar essas interações, além de propiciar o acesso de outros microrganismos na comunidade (Lewin, Evans e Whiteley, 2024).

Os microrganismos vivem em comunidades em que os comportamentos podem beneficiar o grupo. Um exemplo disso é a secreção de exopolissacarídeos (formadores do biofilme) e enzimas. Essas substâncias, uma vez secretada no meio, podem beneficiar todos os indivíduos ao redor, mas impõem um custo individual para aqueles que produzem. Entretanto, surgem microrganismos chamados “furtivos”, que não produzem esses compostos, mas se beneficiam de alguma forma, o que lhes confere vantagens de crescimento, visto que estão economizando energia. Os furtivos se multiplicam de forma desordenada, podendo acarretar a redução ou desaparecimento tanto dos cooperadores, quanto dos furtivos, cenário conhecido como tragédia dos comuns, um exemplo clássico de interação microbiana (Schuster *et al.*, 2017; Leenheer, De, Schuster e Smith, 2019).

Além disso, o contato com outras espécies pode levar à produção de novos compostos, até então não produzidos em monoculturas (Abisado *et al.*, 2018; Traxler *et al.*, 2013).

Um exemplo ocorre entre o modelo de dupla espécie *Chromobacterium violaceum* e *Burkholderia thailandensis*, que utilizam antimicrobianos regulados por *quorum sensing* para competir entre si. *C. violaceum* aumenta sua resistência à bactobolina (antibiótico produzido por *B. thailandensis*) através da regulação de bombas de efluxo dependentes de QS. Além disso, a presença de bactobolina restringe o crescimento de mutantes com QS defeituoso, o que favorece aumento de cooperadores produtores de antibióticos, levando *C. violaceum* a ser mais competitiva. Esses resultados indicam que, além de regular a produção de metabólitos secundários, o QS também pode reforçar comportamentos cooperativos ao impor restrições a mutantes com quorum defeituosos (Evans *et al.*, 2018).

Considerando a diversidade de interações ecológicas (parasitárias, antagônicas ou competitiva), a investigação dos MS e de suas funções tem se intensificado, por meio do uso de ferramentas como a metabolômica, espectrometria de massas por imagem e análises moleculares. Essas abordagens têm ampliado o conhecimento sobre as interações microbianas e sua aplicação em ecologia (Braga, Dourado e Araújo, 2016; Davies, 2013; Price-Whelan, Dietrich e Newman, 2006).

2.5. Aplicações Biotecnológicas das Interações entre *Chromobacterium* e *Bacillus*

2.5.1 Uso potencial dessas interações na produção de compostos bioativos

A exploração de microrganismos como fonte de compostos bioativos tem ganhado destaque recentemente. Esses organismos apresentam notável capacidade de sintetizar moléculas com diversas atividades de interesse industrial, além de representarem uma alternativa sustentável aos métodos tradicionais de obtenção de compostos bioativos. No entanto, a obtenção de novos compostos e as condições ideais para produção destes continua sendo um desafio (Ruiz-Sanchez *et al.*, 2023).

Bactérias dos gêneros *Chromobacterium* e *Bacillus* vêm se destacando nesse cenário devido à sua capacidade de produzir metabólitos secundários com propriedades biológicas relevantes, tais como pigmentos, enzimas, antibióticos, biossurfactantes e toxinas (Choi *et al.*, 2020; Parthipan *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2025; Oliveira & Mendes., 2022).

A violaceína, principal metabólito produzido por espécies de *Chromobacterium*, é um pigmento de coloração roxa com diversas aplicações biotecnológicas. Estudos demonstram que a violaceína possui atividades antibacteriana, antifúngica, antiviral, anticâncer, antiparasitária, antioxidante e anti-inflamatória. Além disso, também tem sido empregada em formulações

cosméticas com efeito microbicida e antioxidante, na área têxtil, em tecidos com coloração resistente à luz, na fabricação de protetores solares como aditivo natural e como agente entomopatogênico na agricultura (Antonisamy *et al.*, 2014; Antonisamy e Ignacimuthu, 2010; Durán *et al.*, 2012; Suryawanshi *et al.*, 2015b; Venil *et al.*, 2015; Venil, Zakaria e Ahmad, 2013).

Além disso, o gênero *Bacillus* atrai o interesse de microbiologistas até hoje devido às suas inúmeras aplicações nas áreas médicas, ambientais e industriais, como antibióticos peptídicos (biofármacos), moléculas bioativas, biopesticidas, biocombustíveis e biopolímeros (Chandra Kalia, 2011; Huma, 2011; Khurana *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2013; Singh, Patel e Kalia, 2009).

Diante da diversidade de compostos bioativos produzidos isoladamente por *Chromobacterium* e *Bacillus*, estudos recentes têm apontado que o cultivo de multiespécies de diferentes gêneros bacterianos pode favorecer a expressão de vias biossintéticas alternativas, tendo o potencial de produzir metabólitos secundários ainda mais diversos. A literatura destaca que essas interações microbianas, ao promoverem sinergias metabólicas, ampliam o potencial de aplicação desses microrganismos ou compostos resultantes em múltiplas áreas. Assim, compreender o papel das interações entre culturas mistas se mostra relevante para fundamentar novas estratégias de exploração biotecnológica com base em cocultivos microbianos (Bertrand *et al.*, 2014; Selegato e Castro-Gamboa, 2023; Yu *et al.*, 2024).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOUD, A. N.; ARMENT, A. The Protective Effects of the Violacein Pigment Against UV-C Irradiation in *Chromobacterium violaceum*. **Ohio J. Ciência**. v. 111 n. 2-5, p. 28-32, 2013.

ABDEL-MAWGOUD, A. M.; ABOULWAFI, M. M.; HASSOUNA, N. A.-H. Characterization of Surfactin Produced by *Bacillus subtilis* Isolate BS5. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 150, n. 3, p. 289-303, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8153-z>

ABEDIN, S. M. M.; TARAFDAR, M. R.; SAHA, A.; ATIQUA; RAHIM, S.; KARIM, M. M.; KHAN, S. N. Isolation and characterization of *Chromobacterium violaceum* and antibacterial activities of its metabolite violacein. **Dhaka University Journal of Biological Sciences**, v. 33, n. 1, p. 109-119, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3329/dujbs.v33i1.72487>

ABISADO, R. G.; BENOMAR, S.; KLAUS, J. R.; DANDEKAR, A. A.; CHANDLER, J. R. Bacterial Quorum Sensing and Microbial Community Interactions. **mBio**, v. 9, n. 3, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mBio.02331-17>

ABRUDAN, M. I.; SMAKMAN, F.; GRIMBERGEN, A. J.; WESTHOFF, S.; MILLER, E. L.; VAN WEZEL, G. P.; ROZEN, D. E. Socially mediated induction and suppression of antibiosis during bacterial coexistence. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 35, p. 11054-11059, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1504076112>

ADEOLU, M.; GUPTA, R. S. Phylogenomics and molecular signatures for the order Neisseriales: Proposal for division of the order Neisseriales into the emended family Neisseriaceae and Chromobacteriaceae fam. nov. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 104, n. 1, p. 1-24, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10482-013-9920-6>

AHMED, S. O.; ZEDAN, H. H.; IBRAHIM, Y. M. Quorum sensing inhibitory effect of bergamot oil and aspidosperma extract against *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 7, p. 4663-4675, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02455-8>

ANJU, S.; APARNA, Y.; BHIMA, B.; SARADA, J. Novel Insights on the Bacillus Quorum Sensing Mechanism: Its Role in Competence, Virulence, Sporulation and Biofilm Formation. In: BRAMHACHARI, P. V. (Ed.). **Implication of Quorum Sensing System in Biofilm Formation and Virulence**. Singapore: Springer Singapore, 2018. p. 313-327. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-13-2429-1_21

ANTONISAMY, P.; IGNACIMUTHU, S. Immunomodulatory, analgesic and antipyretic effects of violacein isolated from *Chromobacterium violaceum*. **Phytomedicine**, v. 17, n. 3-4, p. 300-304, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.05.018>

ANTONISAMY, P.; KANNAN, P.; ARAVINTHAN, A.; DURAI PANDIYAN, V.; VALAN ARASU, M.; IGNACIMUTHU, S.; ABDULLAH AL-DHABI, N.; KIM, J.-H. Gastroprotective Activity of Violacein Isolated from *Chromobacterium violaceum* on Indomethacin-Induced Gastric Lesions in Rats: Investigation of Potential Mechanisms of Action. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-10, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2014/616432>

ARULDASS, C. A.; MASALAMANY, S. R. L.; VENIL, C. K.; AHMAD, W. A. Antibacterial mode of action of violacein from *Chromobacterium violaceum* UTM5 against Staphylococcus aureus and methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 6, p. 5164-5180, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8855-2>

AZIMI, S.; KLEMENTIEV, A. D.; WHITELEY, M.; DIGGLE, S. P. Bacterial Quorum Sensing During Infection. **Annual Review of Microbiology**, v. 74, n. 1, p. 201-219, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-032020-093845>

BAGOGHLI, N.; HOSSEINI-ABARI, A. Improvement of violacein production using abiotic stresses and microbial adaptation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 5, p. 149, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-024-03966-4>

BALTHAZAR, C.; ST-ONGE, R.; LÉGER, G.; LAMARRE, S. G.; JOLY, D. L.; FILION, M. Pyoluteorin and 2,4-diacetylphloroglucinol are major contributors to *Pseudomonas protegens* Pf-5 biocontrol against *Botrytis cinerea* in cannabis. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.945498>

BARRETO, E. S.; TORRES, A. R.; BARRETO, M. R.; VASCONCELOS, A. T. R.; ASTOLFI-FILHO, S.; HUNGRIA, M. Diversity in antifungal activity of strains of *Chromobacterium violaceum* from the Brazilian Amazon. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 35, n. 7, p. 783-790, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0331-z>

BATISTA, B. B.; DE LIMA, V. M.; PICINATO, B. A.; KOIDE, T.; DA SILVA NETO, J. F. A quorum-sensing regulatory cascade for siderophore-mediated iron homeostasis in *Chromobacterium violaceum*. **mSystems**, v. 9, n. 4, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/msystems.01397-23>

BATISTA, J. H.; LEAL, F. C.; FUKUDA, T. T. H.; ALCOFORADO DINIZ, J.; ALMEIDA, F.; PUPO, M. T.; DA SILVA NETO, J. F. Interplay between two quorum sensing-regulated pathways, violacein biosynthesis and VacJ/Yrb, dictates outer membrane vesicle biogenesis in *Chromobacterium violaceum*. **Environmental Microbiology**, v. 22, n. 6, p. 2432-2442, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15033>

BECH, P. K.; JARMUSCH, S. A.; RASMUSSEN, J. A.; LIMBORG, M. T.; GRAM, L.; HENRIKSEN, N. N. S. E. Succession of microbial community composition and secondary metabolism during marine biofilm development. **ISME Communications**, v. 4, n. 1, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ismeco/ycae006>

BERTRAND, C. D. F.; MARTINS, R.; QUINTAS-NUNES, F.; REYNOLDS-BRANDÃO, P.; CRESPO, M. T. B.; NASCIMENTO, F. X. *Saccharopolyspora* sp. NFXS83 in marine biotechnological applications: From Microalgae growth promotion to the production of secondary metabolites. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 902, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040902>

BERTRAND, S.; BOHNI, N.; SCHNEE, S.; SCHUMPP, O.; GINDRO, K.; WOLFENDER, J.-L. Metabolite induction via microorganism co-culture: A potential way to enhance chemical diversity for drug discovery. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 6, p. 1180-1204, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.03.001>

BILSLAND, E.; TAVELLA, T. A.; KROGH, R.; STOKES, J. E.; ROBERTS, A.; AJIOKA, J.; SPRING, D. R.; ANDRICOPULO, A. D.; COSTA, F. T. M.; OLIVER, S. G. Antiplasmodial and trypanocidal activity of violacein and deoxyviolacein produced from synthetic operons. **BMC Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 22, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12896-018-0428-z>

BIND, S.; BIND, S.; SHARMA, A. K.; CHATURVEDI, P. Epigenetic Modification: A key tool for secondary metabolite production in microorganisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.784109>

BLACKBURN, M. B.; FARRAR, R. R.; SPARKS, M. E.; KUJAR, D.; MOWERY, J. D.; MITCHELL, A.; GUNDERSEN-RINDAL, D. E. *Chromobacterium paludis* sp. Nov., a novel bacterium isolated from a chesapeake bay marsh. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 12, p. 6142-6146, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004509>

BRAGA, R. M.; DOURADO, M. N.; ARAÚJO, W. L. Microbial interactions: ecology in a molecular perspective. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 86-98, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.005>

CAUZ, A. C. G.; CARRETERO, G. P. B.; SARAIVA, G. K. V.; PARK, P.; MORTARA, L.; CUCCOVIA, I. M.; BROCCHI, M.; GUEIROS-FILHO, F. J. Violacein targets the cytoplasmic membrane of bacteria. **ACS Infectious Diseases**, v. 5, n. 4, p. 539-549, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.8b00245>

CHANDRA KALIA, V. Genomic analysis reveals versatile organisms for quorum quenching enzymes: acyl-homoserine lactone-acylase and -lactonase. **The Open Microbiology Journal**, v. 3, n. 1, p. 1-11, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1874285801105010001>

CHASSAING, B.; CASCALES, E. Antibacterial weapons: targeted destruction in the microbiota. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 4, p. 329-338, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.01.006>

CHENG, K. C.; HSIAO, H. C.; HOU, Y. C.; HSIEH, C. W.; HSU, H. Y.; CHEN, H. Y.; LIN, S. P. Improvement in violacein production by utilizing formic acid to induce quorum sensing in *Chromobacterium violaceum*. **Antioxidants**, v. 11, n. 5, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox11050849>

CHODKOWSKI, J. L.; SHADE, A. Bioactive exometabolites drive maintenance competition in simple bacterial communities. **mSystems**, v. 9, n. 4, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/msystems.00064-24>

CHOI, S. Y.; LIM, S.; CHO, G.; KWON, J.; MUN, W.; IM, H.; MITCHELL, R. J. *Chromobacterium violaceum* delivers violacein, a hydrophobic antibiotic, to other microbes in membrane vesicles. **Environmental Microbiology**, v. 22, n. 2, p. 705-713, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14888>

CHOUDHARY, B. K.; CHOUDHARY, M.; BARBUDDHE, S. B.; SHANKER, A. Partial genomic characterization of *Chromobacterium piscinae* from India reveals multi drug resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42770-024-01288-z>

CHOUDHURY, D.; TARAFDAR, S.; PARVIN, N.; RIT, R.; ROY, S.; KR. SADHU, S.; DUTTA, S. Endophytic microbes and their diverse beneficial aspects in various sectors: A critical insight. **Plant Science Today**, [s. l.], v. 10, n. 1, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.14719/pst.1877>

DAVIES, J. Specialized microbial metabolites: functions and origins. **The Journal of Antibiotics**, v. 66, n. 7, p. 361-364, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ja.2013.61>

DE LEENHEER, P.; SCHUSTER, M.; SMITH, H. Strong cooperation or tragedy of the commons in the chemostat. **Mathematical Biosciences and Engineering**, v. 16, n. 1, p. 139-149, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3934/mbe.2019007>

DHANARASU, S. Chromatography and Its Applications. **Chem. Biol.** v. 1, p. 212, 2012.

DIMITROVA, P. D.; DAMYANOVA, T.; PAUNOVA-KRASTEVA, T. *Chromobacterium violaceum*: A Model for Evaluating the Anti-Quorum Sensing Activities of Plant Substances. **Scientia Pharmaceutica**, v. 91, n. 3, p. 33, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/scipharm91030033>

DOING, G.; PERRON, G. G.; JUDE, B. A. Draft genome sequence of a violacein-producing *Iodobacter* sp. from the Hudson Valley Watershed. **Genome Announcements**, v. 6, n. 1, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/genomeA.01428-17>

DONG, L.; WANG, P.; ZHAO, W.; SU, Z.; ZHANG, X.; LU, X.; LI, S.; MA, P.; GUO, Q. Surfactin and fengycin contribute differentially to the biological activity of *Bacillus subtilis* NCD-2 against cotton verticillium wilt. **Biological Control**, v. 174, p. 104999, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.104999>

D'ONOFRIO, A.; CRAWFORD, J. M.; STEWART, E. J.; WITT, K.; GAVRISH, E.; EPSTEIN, S.; CLARDY, J.; LEWIS, K. Siderophores from neighboring organisms promote the growth of uncultured bacteria. **Chemistry & Biology**, v. 17, n. 3, p. 254-264, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2010.02.010>

DURÁN, N.; CASTRO, G. R.; PORTELA, R. W. D.; FÁVARO, W. J.; DURÁN, M.; TASIC, L.; NAKAZATO, G. Violacein and its antifungal activity: comments and potentialities. **Letters in Applied Microbiology**, v. 75, n. 4, p. 796-803, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/lam.13760>

DURÁN, N.; FÁVARO, W. J.; BROCCHI, M.; JUSTO, G. Z.; CASTRO, G. R.; DURÁN, M.; NAKAZATO, G. Patents on violacein a compound with great diversity of biological activities and industrial potential. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 15, n. 2, p. 102-111, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/2213476X07666201221111655>

DURÁN, N.; JUSTO, G. Z.; DURÁN, M.; BROCCHI, M.; CORDI, L.; TASIC, L.; CASTRO, G. R.; NAKAZATO, G. Advances in *Chromobacterium violaceum* and properties of violacein-Its main secondary metabolite: A review. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 5, p. 1030-1045, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.06.003>

DURÁN, N.; JUSTO, G. Z.; FERREIRA, C. V.; MELO, P. S.; CORDI, L.; MARTINS, D. Violacein properties and biological activities. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 48, n. 3, p. 127-133, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/BA20070115>

DURÁN, N.; NAKAZATO, G.; DURÁN, M.; BERTI, I. R.; CASTRO, G. R.; STANISIC, D.; BROCCHI, M.; FÁVARO, W. J.; FERREIRA-HALDER, C. V.; JUSTO, G. Z.; TASIC, L. Multi-target drug with potential applications: violacein in the spotlight. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 37, n. 9, p. 151, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03120-4>

DURÁN, M.; PONEZI, A. N.; FALJONI-ALARIO, A.; TEIXEIRA, M. F. S.; JUSTO, G. Z.; DURÁN, N. Potential applications of violacein a microbial pigment. **Medicinal Chemistry Research**, v. 21, n. 7, p. 1524-1532, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00044-011-9654-9>

EVANS, K. C.; BENOMAR, S.; CAMUY-VÉLEZ, L. A.; NASSERI, E. B.; WANG, X.; NEUENSWANDER, B.; CHANDLER, J. R. Quorum-sensing control of antibiotic resistance stabilizes cooperation in *Chromobacterium violaceum*. **The ISME Journal**, v. 12, n. 5, p. 1263-1272, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0047-7>

FIRA, D.; DIMKIĆ, I.; BERIĆ, T.; LOZO, J.; STANKOVIĆ, S. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. **Journal of Biotechnology**, v. 285, p. 44-55, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.07.044>

GAKUUBI, M. M.; MUNUSAMY, M.; LIANG, Z.-X.; NG, S. B. Fungal endophytes: a promising frontier for discovery of novel bioactive compounds. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 10, p. 786, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7100786>

GARCÍA-BAYONA, L.; COMSTOCK, L. E. Bacterial antagonism in host-associated microbial communities. **Science**, v. 361, n. 6408, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aat2456>

GRANDCLÉMENT, C.; TANNIÈRES, M.; MORÉRA, S.; DESSAUX, Y.; FAURE, D. Quorum quenching: role in nature and applied developments. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 40, n. 1, p. 86-116, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv038>

HARUNA, A.; YAHAYA, S. M. Recent Advances in the Chemistry of Bioactive Compounds from Plants and Soil Microbes: a Review. **Chemistry Africa**, v. 4, n. 2, p. 231-248, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42250-020-00213-9>

HARRISON, A. M.; SOBY, S. D. Reclassification of *Chromobacterium violaceum* ATCC 31532 and its quorum biosensor mutant CV026 to *Chromobacterium subtsugae*. **AMB Express**, v. 10, n. 1, p. 202, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01140-1>

HERRMANN, L. W.; LETTI, L. A. J.; PENHA, R. de O.; SOCCOL, V. T.; RODRIGUES, C.; SOCCOL, C. R. *Bacillus* genus industrial applications and innovation: First steps towards a circular bioeconomy. **Biotechnology Advances**, v. 70, p. 108300, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108300>

HIBBING, M. E.; FUQUA, C.; PARSEK, M. R.; PETERSON, S. B. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 1, p. 15-25, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2259>

HUMA, N. Diversity and polymorphism in AHL-Lactonase gene (aiiA) of *Bacillus*. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 10, p. 1001-1011, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.4014/jmb.1105.05056>

IMMANUEL, S. R. C.; BANERJEE, D.; RAJANKAR, M. P.; RAGHUNATHAN, A. Integrated constraints based analysis of an engineered violacein pathway in *Escherichia coli*. **Biosystems**, v. 171, p. 10-19, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2018.06.002>

JOHNSON, E. T.; BOWMAN, M. J.; GOMES, R. P.; CARNEIRO, L. C.; DUNLAP, C. A. Identification of 2,4-diacetylphloroglucinol production in the genus *Chromobacterium*. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41277-0>

JURAT-FUENTES, J. L.; HECKEL, D. G.; FERRÉ, J. Mechanisms of Resistance to Insecticidal Proteins from *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, v. 66, n. 1, p. 121-140, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-052620-073348>

KANADE, Y.; PATWARDHAN, R.; ABHYANKAR, P. Properties of Violacein A Promising Natural Pharmaceutical Secondary Metabolite from Marine Environment with Emphasis on Its Anticancer Activity. In: BRAMHACHARI, P. V.; BERDE, C. V. (eds.).

Marine Bioactive Molecules for Biomedical and Pharmacotherapeutic Applications.

Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. p. 197-230. Disponível em:
https://doi.org/10.1007/978-981-99-6770-4_11

KANELLI, M.; MANDIC, M.; KALAKONA, M.; VASILAKOS, S.; KEKOS, D.; NIKODINOVIC-RUNIC, J.; TOPAKAS, E. Microbial production of violacein and process optimization for dyeing polyamide fabrics with acquired antimicrobial properties. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01495>

KHURANA, H.; SHARMA, M.; VERMA, H.; LOPES, B. S.; LAL, R.; NEGI, R. K. Genomic insights into the phylogeny of *Bacillus* strains and elucidation of their secondary metabolic potential. **Genomics**, v. 112, n. 5, p. 3191-3200, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.06.005>

KUMAR, P.; PATEL, S. K. S.; LEE, J.-K.; KALIA, V. C. Extending the limits of *Bacillus* for novel biotechnological applications. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 8, p. 1543-1561, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.08.007>

KUMAR, V.; AHLUWALIA, V.; SARAN, S.; KUMAR, J.; PATEL, A. K.; SINGHANIA, R. R. Recent developments on solid-state fermentation for production of microbial secondary metabolites: Challenges and solutions. **Bioresource Technology**, v. 323, p. 124566, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124566>

KUZYK, S. B.; PRITCHARD, A. O.; PLOUFFE, J.; SORENSEN, J. L.; YURKOV, V. Psychrotrophic violacein-producing bacteria isolated from Lake Winnipeg, Canada. **Journal of Great Lakes Research**, v. 47, n. 3, p. 715-724, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2020.04.008>

LEAL, A. M. de S.; DE QUEIROZ, J. D. F.; DE MEDEIROS, S. R. B.; LIMA, T. K. de S.; AGNEZ-LIMA, L. F. Violacein induces cell death by triggering mitochondrial membrane hyperpolarization in vitro. **BMC Microbiology**, v. 15, n. 1, p. 115, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0452-2>

LEE, J.; ZHANG, L. The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. **Protein & Cell**, v. 6, n. 1, p. 26-41, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13238-014-0100-x>

LEWIN, G. R.; EVANS, E. R.; WHITELEY, M. Microbial interactions impact stress tolerance in a model oral community. **Microbiology Spectrum**, v. 12, n. 10, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/spectrum.01005-24>

LI, Y.; ZHANG, Y.; HE, X.; GUO, Z.; YANG, N.; BAI, G.; ZHAO, J.; XU, D. The mitochondrial blueprint: unlocking secondary metabolite production. **Metabolites**, v. 14, n. 12, p. 711, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/metabo14120711>

LI, Y. Z.; ZHANG, W.-Q.; HU, P.-F.; YANG, Q.-Q.; MOLNÁR, I.; XU, P.; ZHANG, B.-B. Harnessing microbial co-culture to increase the production of known secondary metabolites. **Natural Product Reports**, v. 42, n. 3, p. 623-637, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D4NP00052H>

LIU, S.; ZHAO, L.; LI, M.; ZHU, Y.; LIANG, D.; MA, Y.; SUN, L.; ZHAO, G.; TU, Q. Probiotic *Bacillus* as fermentation agents: Status, potential insights, and future perspectives.

Food Chemistry: X, v. 22, p. 101465, 2024. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101465>

LUÍS, Â.; DOMINGUES, F. Quorum sensing inhibition evaluation method: An experiment-based microbiology laboratory course. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 53, n. 2, p. 191-199, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bmb.21874>

LYAKHOVCHENKO, N. S.; TRAVKIN, V. M.; SENCHENKOV, V. Y.; SOLYANIKOVA, I. P. Bacterial violacein: properties, biosynthesis and application prospects. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 58, n. 6, p. 692-700, 2022. Disponível em:
<https://doi.org/10.1134/S0003683822060072>

MARTIN, P. A. W.; GUNDERSEN-RINDAL, D.; BLACKBURN, M.; BUYER, J. *Chromobacterium subtsugae* sp. nov., a betaproteobacterium toxic to Colorado potato beetle and other insect pests. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 5, p. 993-999, 2007. Disponível em:
<https://doi.org/10.1099/ijls.0.64611-0>

MASUELLI, L. *et al.* Violacein, an indole-derived purple-colored natural pigment produced by *Janthinobacterium lividum*, inhibits the growth of head and neck carcinoma cell lines both in vitro and in vivo. **Tumor Biology**, v. 37, n. 3, p. 3705-3717, 2016. Disponível em:
<https://doi.org/10.1007/s13277-015-4207-3>

MEENA, K. R.; KANWAR, S. S. Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: applications in food safety and therapeutics. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1-9, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/473050>

MENDES, W. M.; OLIVEIRA, J. A. Dos S. *Chromobacterium Subtsugae* Como Fonte De Metabólitos Inseticidas E Acaricidas: Uma Alternativa Eco-Friendly. **Saber Científico (1982-792X)**, [S. l.], v. 11, n. 1, 2022.

MONNERAT, R. G.; QUEIROZ, P. R. M.; MARTINS, E. S.; PRAÇA, L. B.; SOARES, C. M. S. Controle de artrópodes-praga com bactérias enteropatógenicas. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLES, M. C. **Controle biológico de pragas da agricultura**. (Eds.). Brasília: Embrapa, 2020. p. 167-175.

MOHD ZAHID, N. I. I.; SYED OTHMAN, S. M. I.; MUSTAFFA, A. F.; ISMAIL, I.; CHE-OTHMAN, M. H. Fine-tuning plant valuable secondary metabolite biosynthesis via small RNA manipulation: strategies and potential. **Planta**, v. 260, n. 4, p. 89, 2024. Disponível em:
<https://doi.org/10.1007/s00425-024-04521-z>

MORADI, F.; HADI, N. Quorum-quenching activity of some Iranian medicinal plants. **New Microbes and New Infections**, v. 42, p. 100882, 2021. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.nmni.2021.100882>

MUKHERJEE, S.; BASSLER, B. L. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 6, p. 371-382, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0186-5>

NETZKER, T.; FISCHER, J.; WEBER, J.; MATTERN, D. J.; KÖNIG, C. C.; VALIANTE, V.; SCHROECKH, V.; BRAKHAGE, A. A. Microbial communication leading to the

activation of silent fungal secondary metabolite gene clusters. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00299>

NEWMAN, D. J. Predominately Uncultured Microbes as Sources of Bioactive Agents. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01832>

OLADIPO, A.; ENWEMIWE, V.; EJEROMEDOGENE, O.; ADEBAYO, A.; OGUNYEMI, O.; FU, F. Production and functionalities of specialized metabolites from different organic sources. **Metabolites**, v. 12, n. 6, p. 534, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/metabo12060534>

PANDEY, A. Pharmacological significance of marine microbial bioactive compounds. **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, n. 4, p. 1741-1751, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00908-7>

PANDIT, A.; ADHOLEYA, A.; CAHILL, D.; BRAU, L.; KOCHAR, M. Microbial biofilms in nature: unlocking their potential for agricultural applications. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, n. 2, p. 199-211, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jam.14609>

PANTANELLA, F.; BERLUTTI, F.; PASSARIELLO, C.; SARLI, S.; MOREA, C.; SCHIPPA, S. Violacein and biofilm production in *Janthinobacterium lividum*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 0, n. 0, p. 061120055200056-???, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03155.x>

PARK, H.; PARK, S.; YANG, Y.-H.; CHOI, K.-Y. Microbial synthesis of violacein pigment and its potential applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 41, n. 6, p. 879-901, 2021 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1892579>

PARTE, A. C.; SARDÀ CARBASSE, J.; MEIER-KOLTHOFF, J. P.; REIMER, L. C.; GÖKER, M. List of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 11, p. 5607-5612, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004332>

PARTHIPAN, P.; PREETHAM, E.; MACHUCA, L. L.; RAHMAN, P. K. S. M.; MURUGAN, K.; RAJASEKAR, A. Biosurfactant and degradative enzymes mediated crude oil degradation by bacterium *Bacillus subtilis* A1. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00193>

PENA, R. T.; BLASCO, L.; AMBROA, A.; GONZÁLEZ-PEDRAJO, B.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, L.; LÓPEZ, M.; BLERIOT, I.; BOU, G.; GARCÍA-CONTRERAS, R.; WOOD, T. K.; TOMÁS, M. Relationship between quorum sensing and secretion systems. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01100>

PRABHU, S.; POORNIAMMAL, R.; DUFOSSÉ, L. Microbial Metabolites: A Sustainable Approach to Combat Plant Pests. **Metabolites**, v. 15, n. 6, p. 418, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/metabo15060418>

PRAZDNOVA, E. V.; GOROVTSOV, A. V.; VASILCHENKO, N. G.; KULIKOV, M. P.; STATSENKO, V. N.; BOGDANOVA, A. A.; REFELD, A. G.; BRISLAVSKIY, Y. A.; CHISTYAKOV, V. A.; CHIKINDAS, M. L. Quorum-Sensing inhibition by gram-positive

bacteria. **Microorganisms**, v. 10, n. 2, p. 350, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020350>

PRICE-WHELAN, A.; DIETRICH, L. E. P.; NEWMAN, D. K. Rethinking “secondary” metabolism: physiological roles for phenazine antibiotics. **Nature Chemical Biology**, v. 2, n. 2, p. 71-78, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nchembio764>

QIAO, J.; BORRISS, R.; SUN, K.; ZHANG, R.; CHEN, X.; LIU, Y.; LIU, Y. Research advances in the identification of regulatory mechanisms of surfactin production by *Bacillus*: a review. **Microbial Cell Factories**, v. 23, n. 1, p. 100, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02372-7>

QU, Y.; ZOU, Y.; WANG, G.; ZHANG, Y.; YU, Q. Disruption of communication: recent advances in antibiofilm materials with anti-quorum sensing properties. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 16, n. 11, p. 13353-13383, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsami.4c01428>

RAGOZZINO, C. *et al.* Last decade insights in exploiting marine microorganisms as sources of new bioactive natural products. **Marine Drugs**, v. 23, n. 3, p. 116, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md23030116>

RAIMI, A.; ADELEKE, R. Bioprospecting of endophytic microorganisms for bioactive compounds of therapeutic importance. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 5, p. 1917-1942, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02256-z>

RAMÍREZ-POOL, J. A.; CALDERÓN-PÉREZ, B.; RUIZ-MEDRANO, R.; ORTIZ-CASTRO, R.; XOCONOSTLE-CAZARES, B. *Bacillus* strains as effective biocontrol agents against phytopathogenic bacteria and promoters of plant growth. **Microbial Ecology**, v. 87, n. 1, p. 76, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-024-02384-1>

REVANASIDDAPPA, P. D. *et al.* Computational exploration of *Picrasma quassioides* compounds as CviR-mediated quorum sensing inhibitors against *Chromobacterium violaceum*. **Frontiers in Chemistry**, v. 12, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fchem.2024.1286675>

RIVERO BERTI, I.; GANTNER, M. E.; RODRIGUEZ, S.; ISLAN, G. A.; FÁVARO, W. J.; TALEVI, A.; CASTRO, G. R.; DURÁN, N. Potential biocide roles of violacein. **Frontiers in Nanotechnology**, v. 5, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnano.2023.1186386>

RUIZ-SANCHEZ, J. P.; VILLEGAS-MENDEZ, M. A.; MONTAÑEZ, J.; BENAVENTE-VALDÉS, J. R.; MORALES-OYERVIDES, L. Microbial production of bioactive compounds: recent advancements and trends. In: SONI, S.; SUYAL, D. C.; MORALES-OYERVIDES, L. (Eds.). **Microbial Bioactive Compounds**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2023. p. 1-20. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-031-40082-7_1

SA, R.-B.; AN, X.; SUI, J.-K.; WANG, X.-H.; JI, C.; WANG, C.-Q.; LI, Q.; HU, Y.-R.; LIU, X. Purification and structural characterization of fengycin homologues produced by *Bacillus subtilis* from poplar wood bark. **Australasian Plant Pathology**, v. 47, n. 3, p. 259-268, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13313-018-0552-1>

SASIDHARAN, A.; SASIDHARAN, N. K.; AMMA, D. B. N. S.; VASU, R. K.; NATARAJA, A. V.; BHASKARAN, K. Antifungal activity of violacein purified from a

- novel strain of *Chromobacterium* sp. NIIST (MTCC 5522). **Journal of Microbiology**, v. 53, n. 10, p. 694-701, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12275-015-5173-6>
- SCHUSTER, M.; FOXALL, E.; FINCH, D.; SMITH, H.; DE LEENHEER, P. Tragedy of the commons in the chemostat. **PLOS ONE**, v. 12, n. 12, p. e0186119, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186119>
- SELEGATO, D. M.; CASTRO-GAMBOA, I. Enhancing chemical and biological diversity by co-cultivation. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1117559>
- SHAHEEN, M.; LI, J.; ROSS, A. C.; VEDERAS, J. C.; JENSEN, S. E. *Paenibacillus polymyxa* PKB1 produces variants of polymyxin b-type antibiotics. **Chemistry & Biology**, v. 18, n. 12, p. 1640-1648, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2011.09.017>
- SHIAU, R.-J.; LIN, T.-W. *Chryseobacterium indologenes* improves survival of the *Chromobacterium violaceum* and violacein production. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 13, p. 2486-2492, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJB10.2548>
- SILVA, M. E. da C.; RODRIGUES, R. B.; ULIAN, A. A. REVISÃO DAS PROPRIEDADES METABÓLICAS DO *BACILLUS SUBTILIS* E SUAS APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS FAVORÁVEIS À BIOCENOSE. In: Congresso Nacional de Microbiologia Clínica Online, 1, 2021, [s. l.]. **Anais...** Revista Multidisciplinar em Saúde, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.51161/remis/1157>
- SINGH, M.; KUMAR, A.; SINGH, R.; PANDEY, K. D. Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. **3 Biotech**, v. 7, n. 5, p. 315, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0942-z>
- SINGH, M.; PATEL, S. K.; KALIA, V. C. *Bacillus subtilis* as potential producer for polyhydroxyalkanoates. **Microbial Cell Factories**, v. 8, n. 1, p. 38, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1475-2859-8-38>
- SLAMTI, L.; PERCHAT, S.; HUILLET, E.; LERECLUS, D. Quorum sensing in *Bacillus thuringiensis* is required for completion of a full infectious cycle in the insect. **Toxins**, v. 6, n. 8, p. 2239-2255, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxins6082239>
- SON, J.-S.; HWANG, Y.-J.; LEE, S.-Y.; GHIM, S.-Y. *Bacillus salidurans* sp. nov., isolated from salt-accumulated pepper rhizospheric soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 69, n. 1, p. 116-122, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003110>
- SONG, H. C.; SHEN, W. Y.; DONG, J. Y. Nematicidal metabolites from *Gliocladium roseum* YMF1.00133. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 52, n. 3, p. 324-330, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S0003683816030169>
- SPARKS, T. C.; DRIPPS, J. E.; WATSON, G. B.; PAROONAGIAN, D. Resistance and cross-resistance to the spinosyns - A review and analysis. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 102, n. 1, p. 1-10, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.11.004>

STEINKE, K.; MOHITE, O. S.; WEBER, T.; KOVÁCS, Á. T. Phylogenetic distribution of secondary metabolites in the *Bacillus subtilis* species complex. **mSystems**, v. 6, n. 2, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/msystems.00057-21>

STUBBENDIECK, R. M.; STRAIGHT, P. D. Multifaceted interfaces of bacterial competition. **Journal of Bacteriology**, v. 198, n. 16, p. 2145-2155, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JB.00275-16>

SUN, X.; SHEN, X.; JAIN, R.; LIN, Y.; WANG, J.; SUN, J.; WANG, J.; YAN, Y.; YUAN, Q. Synthesis of chemicals by metabolic engineering of microbes. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 11, p. 3760-3785, 2015 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C5CS00159E>

SURYAWANSHI, R. K.; PATIL, C. D.; BORASE, H. P.; NARKHEDE, C. P.; STEVENSON, A.; HALLSWORTH, J. E.; PATIL, S. V. Towards an understanding of bacterial metabolites prodigiosin and violacein and their potential for use in commercial sunscreens. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 37, n. 1, p. 98-107, 2015 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ics.12175>

SURYAWANSHI, R. K.; PATIL, C. D.; BORASE, H. P.; NARKHEDE, C. P.; STEVENSON, A.; HALLSWORTH, J. E.; PATIL, S. V. Towards an understanding of bacterial metabolites prodigiosin and violacein and their potential for use in commercial sunscreens. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 37, n. 1, p. 98-107, 2015 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ics.12175>

TANG, R.; TAN, H.; DAI, Y.; LI, L.; HUANG, Y.; YAO, H.; CAI, Y.; YU, G. Application of antimicrobial peptides in plant protection: making use of the overlooked merits. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1139539>

TORRES-MENDOZA, D.; ORTEGA, H. E.; CUBILLA-RIOS, L. Patents on endophytic fungi related to secondary metabolites and biotransformation applications. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 2, p. 58, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof6020058>

TRAXLER, M. F.; WATROUS, J. D.; ALEXANDROV, T.; DORRESTEIN, P. C.; KOLTER, R. Interspecies interactions stimulate diversification of the *Streptomyces coelicolor* secreted metabolome. **mBio**, v. 4, n. 4, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mBio.00459-13>

TUROVSKIY, Y.; KASHTANOV, D.; PASKHOVER, B.; CHIKINDAS, M. L. Quorum Sensing: Fact, Fiction, and Everything in Between. **Advances in applied microbiology**, v. 62, p. 191-234, 2007. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(07\)62007-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(07)62007-3)

VASSALLO, C. N.; CAO, P.; CONKLIN, A.; FINKELSTEIN, H.; HAYES, C. S.; WALL, D. Infectious polymorphic toxins delivered by outer membrane exchange discriminate kin in myxobacteria. **eLife**, v. 6, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.7554/eLife.29397>

VENIL, C. K.; ARULDASS, C. A.; ABD HALIM, M. H.; KHASIM, A. R.; ZAKARIA, Z. A.; AHMAD, W. A. Spray drying of violet pigment from *Chromobacterium violaceum* UTM 5 and its application in food model systems. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 102, p. 324-329, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.02.006>

VENIL, C. K.; ZAKARIA, Z. A.; AHMAD, W. A. Bacterial pigments and their applications. **Process Biochemistry**, v. 48, n. 7, p. 1065-1079, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.06.006>

VENKATRAMANAN, M.; NALINI, E. Regulation of virulence in *Chromobacterium violaceum* and strategies to combat it. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1303595>

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K. Beneficial effects of *Trichoderma* secondary metabolites on crops. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 11, p. 2835-2842, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.6728>

VÖING, K.; HARRISON, A.; SOBY, S. D. Draft Genome sequences of three *Chromobacterium subtsugae* isolates from wild and cultivated cranberry bogs in Southeastern Massachusetts. **Genome Announcements**, v. 3, n. 5, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/genomeA.00998-15>

WANG, C.; KUZUYAKOV, Y. Mechanisms and implications of bacterial-fungal competition for soil resources. **The ISME Journal**, v. 18, n. 1, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae073>

WANG, H.; JIANG, P.; LU, Y.; RUAN, Z.; JIANG, R.; XING, X.-H.; LOU, K.; WEI, D. Optimization of culture conditions for violacein production by a new strain of *Duganella* sp. B2. **Biochemical Engineering Journal**, v. 44, n. 2-3, p. 119-124, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.11.008>

XU, X.; CHU, X.; DU, B.; HUANG, C.; XIE, C.; ZHANG, Z.; JIANG, L. Functional characterization of a novel violacein biosynthesis operon from *Janthinobacterium* sp. B9-8. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 106, n. 8, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11929-8>

YAMANAKA, K.; OIKAWA, H.; OGAWA, H.; HOSONO, K.; SHINMACHI, F.; TAKANO, H.; SAKUDA, S.; BEPPU, T.; UEDA, K. Desferrioxamine E produced by *Streptomyces griseus* stimulates growth and development of *Streptomyces tanashiensis*. **Microbiology**, v. 151, n. 9, p. 2899-2905, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/mic.0.28139-0>

YANG, L. H.; XIONG, H.; LEE, O. O.; QI, S.-H.; QIAN, P.-Y. Effect of agitation on violacein production in *Pseudoalteromonas luteoviolacea* isolated from a marine sponge. **Letters in Applied Microbiology**, v. 44, n. 6, p. 625-630, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02125.x>

YANG, X.; MAO, Y.; CHEN, L.; GUAN, X.; WANG, Z.; HUANG, T. Structural characteristics, biotechnological production and applications of exopolysaccharides from *Bacillus* sp.: A comprehensive review. **Carbohydrate Polymers**, v. 355, p. 123363, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.123363>

YAO, H.; LIU, S.; LIU, T.; REN, D.; YANG, Q.; ZHOU, Z.; MAO, J. Screening of marine sediment-derived microorganisms and their bioactive metabolites: a review. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 7, p. 172, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03621-4>

YONET, N.; ARI YUKA, S.; TURKER, M.; YILMAZ, A. Comparative analysis of retrosynthesis applications for predicting of pathways for plant secondary metabolite production. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 38, n. 1, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13102818.2024.2431041>

YU, G.; GE, X.; LI, W.; JI, L.; YANG, S. Interspecific cross-talk: The catalyst driving microbial biosynthesis of secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 76, p. 108420, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108420>

ZHANG, L.; SUN, C. Fengycins, Cyclic Lipopeptides from Marine *Bacillus subtilis* Strains, Kill the Plant-Pathogenic fungus *Magnaporthe grisea* by inducing reactive oxygen species production and chromatin condensation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 18, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.00445-18>

4. ARTIGO 1 – INFLUÊNCIA DO QUORUM SENSING NA EXPRESSÃO GÊNICA E PRODUÇÃO DE VIOLACEÍNA EM *CHROMOBACTERIUM* SP.: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

RESUMO

Esta revisão sistemática analisou o papel do *quorum sensing* (QS) na regulação da expressão gênica e na produção de pigmento em espécies do gênero *Chromobacterium*. Foram revisados os mecanismos que conectam a comunicação bacteriana à biossíntese do pigmento. Seleccionamos selecionados artigos publicados entre 2019 e 2024, nas bases de dados Web of Science e Scopus, totalizando 38 documentos incluídos. A avaliação revelou uma predominância de estudos voltados à repressão do QS, especialmente por meio da inibição das moléculas sinalizadoras ou de genes reguladores como *cviI*, *cviR* e o operon *vioABCDE*. Uma ampla variedade de agentes naturais e sintéticos foi revisada, com destaque para substâncias de origem vegetal e enzimas bloqueadoras de *quorum sensing*, devido ao seu potencial inibitório. Além disso, esta revisão destaca o potencial de *Chromobacterium subtsugae* como espécie alvo para aplicações biotecnológicas, apresentando mecanismos de QS específicos e possíveis aplicações nos campos da agricultura, biotecnologia e medicina.

Palavras-chave: AHLs, violaceína, potencial biotecnológico, regulação gênica

ABSTRACT

This systematic review analyzed the role of quorum sensing (QS) in the regulation of gene expression and pigment production in species of the genus *Chromobacterium*. The mechanisms linking bacterial communication to pigment biosynthesis were reviewed. We selected articles published between 2019 and 2024 from the Web of Science and Scopus databases, totaling 38 included documents. The evaluation revealed a predominance of studies focused on QS repression, particularly through the inhibition of signaling molecules or regulatory genes such as *cviI*, *cviR*, and the *vioABCDE* operon. A wide variety of natural and synthetic agents was reviewed, with emphasis on plant-derived substances and quorum-sensing-blocking enzymes due to their inhibitory potential. Furthermore, this review highlights the potential of *Chromobacterium subtsugae* as a target species for biotechnological applications, exhibiting specific QS mechanisms and possible uses in agriculture, biotechnology, and medicine.

Keywords: AHLs, violacein, biotechnological potential, gene regulation

4.1. Introdução

A comunicação célula a célula mediada por *quorum sensing* (QS) é um mecanismo utilizado por bactérias para coordenar comportamentos coletivos em resposta à densidade populacional. Esse sistema permite a regulação da expressão gênica, controlando atividades como virulência, formação de biofilmes e produção de pigmentos. Espécies do gênero *Chromobacterium* destacam-se pelo seu potencial biotecnológico, relevância ecológica e patogenicidade associada ao QS (Chen *et al.*, 2025; Rashiya *et al.*, 2021a).

Chromobacterium violaceum é considerado um organismo modelo devido à sua capacidade de produzir violaceína, um pigmento cuja biossíntese é bem caracterizada e regulada por moléculas sinalizadoras acyl-homoserine lactones (AHLs), por meio do sistema

CviI/R. Essa via regulatória desempenha um papel central na ativação da produção de violaceína, tornando *C. violaceum* um microrganismo biossensor para a identificação de indutores e inibidores de QS. Em contraste, *C. subtsugae*, uma espécie filogeneticamente relacionada, apresenta comportamentos ecológicos e regulatórios distintos, incluindo menor potencial patogênico e um sistema QS mais flexível, capaz de responder a sinais exógenos. Isso sugere a presença de uma plasticidade regulatória adaptativa ainda pouco explorada (Xu *et al.*, 2024; Revanasiddappa *et al.*, 2024; Harrison & Soby, 2020; Deryabin *et al.*, 2025).

Nos últimos anos, o interesse em compreender e manipular o sistema de QS tem se intensificado, sobretudo devido à sua influência sobre processos biológicos essenciais, como a expressão de fatores de virulência, formação de biofilmes, esporulação, simbiose, conjugação, resposta ao estresse ambiental, transferência horizontal de genes e produção de metabólitos secundários, síntese de antibióticos, biossurfactantes, pigmentos e outras moléculas protetoras, como a violaceína (Yi *et al.*, 2021; Chugani & Greenberg, 2014; Durán *et al.*, 2016; Rajamanikandan & Srinivasan, 2017; Vadakkan *et al.*, 2018; Pena *et al.*, 2019; Saeki *et al.*, 2020; Dimitrova *et al.*, 2023).

Dessa forma, esta revisão sistemática tem como objetivo abordar os principais avanços relacionados aos mecanismos de modulação do *quorum sensing* em espécies do gênero *Chromobacterium* sp., analisando as estratégias regulatórias centrais, os agentes naturais e sintéticos mais promissores, os genes e moléculas sinalizadoras envolvidos, bem como suas potenciais aplicações futuras em diferentes áreas da biotecnologia.

4.2. Metodologia

Os artigos foram obtidos nas bases de dados científicas Scopus (<http://www.scopus.com>) e Web of Science (<http://www.webofknowledge.com>), selecionadas por sua abrangência e relevância na área de pesquisa. A busca abrangeu os últimos seis anos, compreendendo o período de 2019 a 2024.

As palavras-chave e operadores booleanos utilizados em ambas as plataformas foram: (("chromobacterium") AND ("violacein") AND ("quorum AND sensing") AND ("gene AND expression")).

Os documentos foram analisados com base em seus títulos e resumos, sendo excluídos aqueles que não apresentavam relação com as palavras-chave "expressão gênica" ou "violaceína" associadas ao mecanismo de *quorum sensing* em *Chromobacterium* sp.

Os dados de publicações científicas para cada termo, oriundos de ambas as bases, foram exportados em formato BibTeX, consolidados em um único conjunto de dados, e os registros duplicados foram eliminados. Em seguida, foram realizadas análises descritivas e bibliométricas

com o auxílio do pacote Bibliometrix, no software R (Aria e Cuccurullo, 2017). O fluxograma do processo de mapeamento científico está apresentado na Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma da pesquisa científica sobre quorum sensing na expressão gênica e produção de violaceína em *Chromobacterium* sp.



Fonte: Elaboração própria (2024).

Na Figura 1, são ilustradas quatro etapas principais para a obtenção de bibliografia relevante sobre o tema. A primeira etapa envolveu a coleta de dados em bases de artigos científicos. Na segunda etapa, os dados coletados foram avaliados quanto à relevância e à qualidade. A terceira etapa consistiu na visualização, análise e interpretação dos resultados obtidos. Na quarta etapa, foi realizado um processo de refinamento: todos os registros foram revisados com base em seus títulos e resumos, sendo excluídos aqueles que não atendiam aos critérios da pesquisa. Foram incluídos apenas os artigos que abordavam mecanismos de QS em *Chromobacterium* spp., com foco na produção de violaceína, nos genes envolvidos na regulação desse processo e nas moléculas sinalizadoras associadas. Foram excluídos os estudos que não estavam relacionados aos assuntos, eram revisões, comunicações em eventos, dissertações, teses

ou capítulos de livros e não estavam disponíveis em texto completo. Em seguida, foi feita a leitura integral dos artigos selecionados.

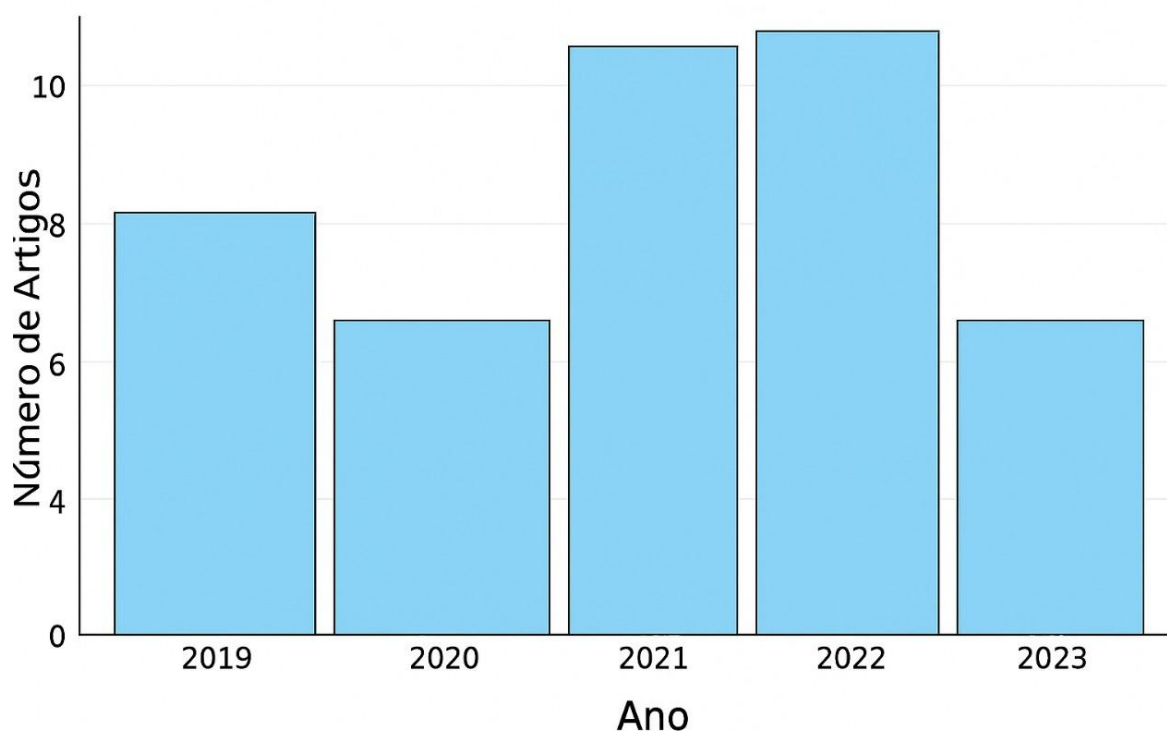
Além dos estudos identificados por meio da busca sistemática, também foram consultadas referências complementares para subsidiar a análise comparativa entre *Chromobacterium violaceum* e *Chromobacterium subtsugae*. Essas fontes adicionais forneceram informações relevantes sobre ambas as espécies, especialmente no que se refere aos seus mecanismos de *quorum sensing*.

4.3. Resultados e discussão

4.3.1 Bibliometria

A busca resultou em 100 documentos, com 46 indexados nas bases de dados Web of Science e 54 na base de dados Scopus. Destes foram removidos 54 artigos duplicados. As publicações abrangem o período de 2019 a 2024, com destaque para o ano de 2022, que apresentou o maior número de artigos publicados (11 publicações) (Figura 2).

Figura 2 - Produção científica anual de estudos relacionados ao quorum sensing na expressão gênica e produção de violaceína em *Chromobacterium* sp.



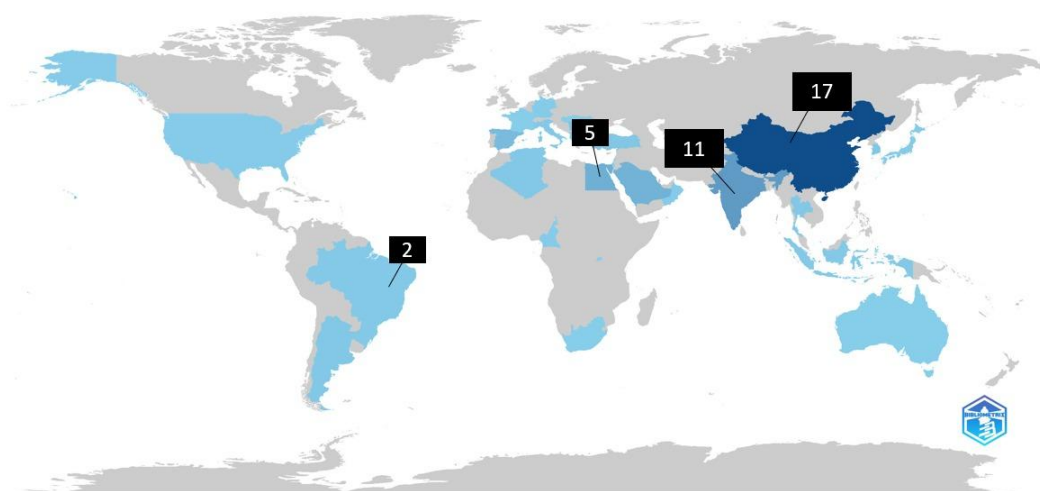
Fonte: Elaboração própria (2024).

A análise dos dados revelou que a China lidera com o maior número de publicações sobre *quorum sensing*, expressão gênica e produção de violaceína, totalizando 17 publicações. A Índia ocupa a segunda posição, com 11 artigos, seguida pelo Egito, com 5. Em contraste, o Brasil figura na décima posição no cenário global, com duas publicações registradas no período analisado (Figura 3).

Esses estudos evidenciam o grande potencial para o avanço das pesquisas sobre os mecanismos de comunicação bacteriana em *C. violaceum* e *C. subtsugae* no Brasil. Existe uma oportunidade significativa para explorar estratégias de otimização da produção de violaceína e investigar novas aplicações. A integração desses resultados com pesquisas anteriores reforça a necessidade de estudos adicionais na área, destacando a importância de se aprofundar na compreensão dos sistemas regulatórios complexos que influenciam a produção de compostos bioativos.

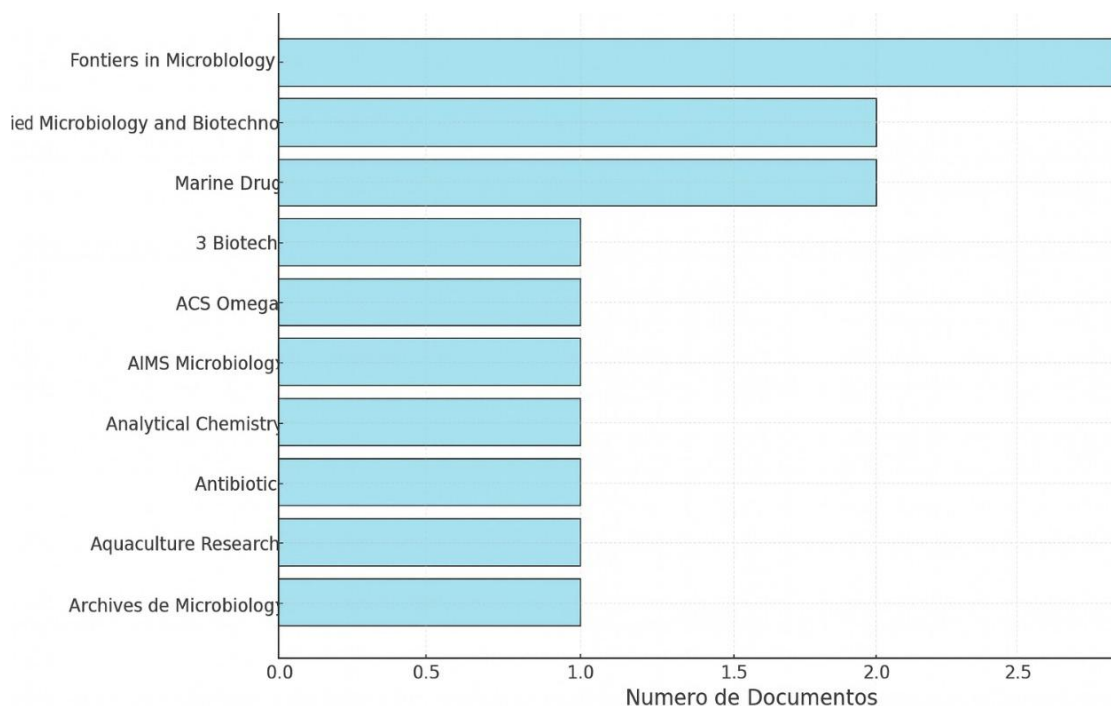
Figura 3 - Produção científica por país: principais contribuintes para a pesquisa sobre quorum sensing na expressão gênica e produção de violaceína em *Chromobacterium* sp.

Country Scientific Production



Fonte: Elaboração própria (2024).

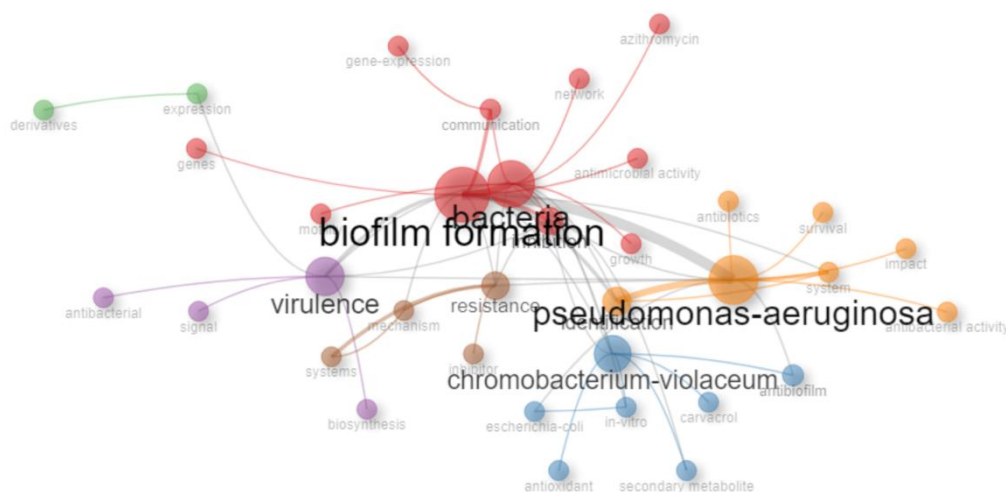
A revisão mostrou três periódicos de maior relevância na área: *Frontiers in Microbiology*, *Applied Microbiology and Biotechnology* e *Marine Drugs* (Figura 4). Esses periódicos se destacam por apresentarem os maiores índices de impacto (H-index) no campo. *Frontiers in Microbiology* lidera com 4,6, seguido por *Applied Microbiology and Biotechnology* com 4,5 e *Marine Drugs* com 4,0. Esses altos índices de impacto ressaltam a importância e a influência desses periódicos nas publicações científicas da área.

Figura 4 - Periódicos mais relevantes na pesquisa.

Fonte: Elaboração própria (2024).

Entre as palavras-chave mais utilizadas sobre o tema, foram identificados seis agrupamentos (clusters) (Figura 5). O primeiro cluster, em vermelho, destacou-se com dois termos principais: "formação de biofilme" e "bactérias". O segundo cluster, em laranja, teve como termo central "pseudomonas-aeruginosa". O terceiro cluster, em azul, concentrou-se no termo "chromobacterium-violaceum". O quarto cluster, em roxo, teve como foco o termo "virulência". O quinto cluster, em verde, esteve associado ao termo "quorum". Já o sexto cluster, em marrom, destacou o termo "resistência". Esses agrupamentos revelam mecanismos centrais que regulam a virulência bacteriana e características de adaptação.

Figura 5 - Relação das palavras-chave mais frequentemente utilizadas nos estudos citados.



Fonte: Elaboração própria (2024).

Após o processo de refinamento, 8 artigos foram excluídos com base nos critérios de exclusão. Como resultado, obteve-se uma amostra de 38 artigos.

4.3.2 O *quorum sensing* e a violaceína em *Chromobacterium*

O *quorum sensing* (QS) é um sistema de comunicação célula a célula baseado em acil-homoserina lactona (AHL), que se ativa em altas densidades celulares. Esse sistema é composto pela enzima sintase de AHL, CviI, e pelo receptor CviR. Quando as AHLs se ligam ao CviR, ocorre a ativação transcricional do operon *vioABCDE*, resultando na indução da produção de violaceína (Batista *et al.*, 2020; Park *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2024).

A presente revisão identificou genes relacionados ao sistema de QS que regulam a expressão de fatores de virulência, como a produção de pigmento cuja expressão está associada à atividade do sistema QS (Tabela 1). A importância desses genes para a regulação e a comunicação celular está bem estabelecida e contribui para a compreensão dos mecanismos de virulência, suas aplicações no contexto da resistência bacteriana, bem como em diferentes áreas da biotecnologia, incluindo a produção de compostos de interesse industrial e a engenharia genética (Park, H. *et al.*, 2021; Reina *et al.*, 2019).

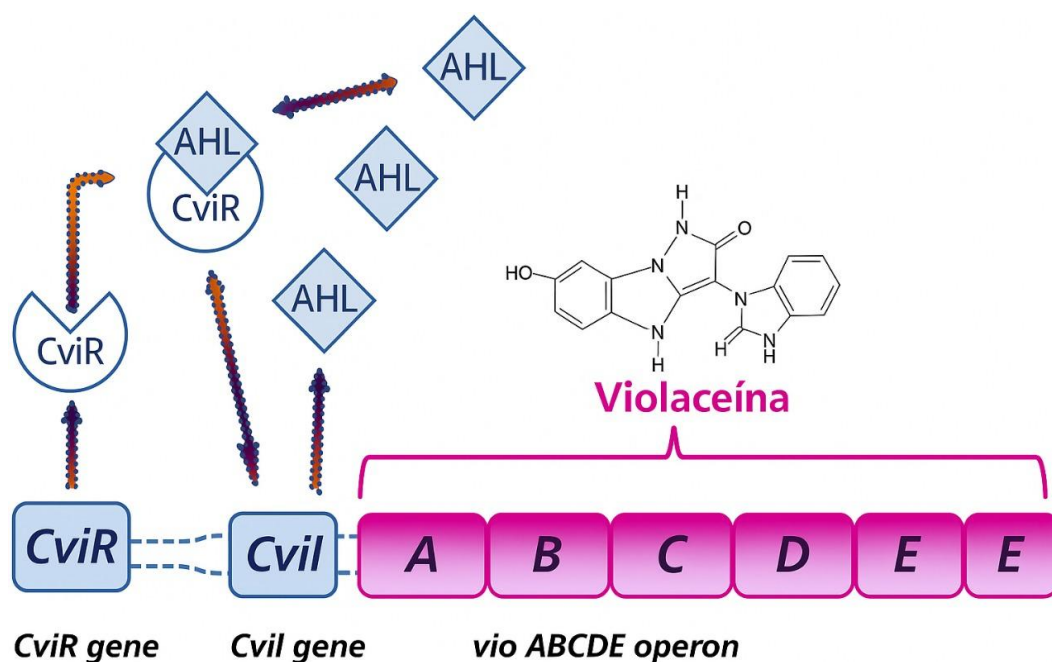
Tabela 1 - Lista de genes expressos relacionados ao mecanismo de *quorum sensing*.

Ação	Gene	Referência
Receptor AHL / Regulador transcricional	<i>CviI</i>	Cheng <i>et al.</i> , 2020; Fazal <i>et al.</i> , 2021; Kanekar & Devasya, 2022; W. Wang <i>et al.</i> , 2022; Wang, H. <i>et al.</i> , 2019
	<i>cviR</i>	Ahmed <i>et al.</i> , 2021; Cheng <i>et al.</i> , 2020; Fazal <i>et al.</i> , 2021; Kanekar & Devasya, 2022; Wang <i>et al.</i> , 2022
Síntese de AHL		
Biossíntese da violaceína	<i>VioA-E</i>	Ahmed <i>et al.</i> , 2021; Kanekar & Devasya, 2022; Li <i>et al.</i> , 2024; Wang <i>et al.</i> , 2022; Wang, H. <i>et al.</i> , 2019; Wang, L. <i>et al.</i> , 2019)
Formação de biofilme	<i>hmsN</i> , <i>hmsR</i> <i>hmsH</i> <i>hmsF</i>	Wang, W. <i>et al.</i> , 2019
Produção de elastase	<i>lasA-B</i>	
Produção de cianeto	<i>hcnA-C</i>	
Pili tipo IV	<i>pilE1-3</i>	

Fonte: Elaboração própria (2024).

Os genes *cviI* e *cviR* constituem os principais componentes reguladores do sistema de *quorum sensing* (QS) em espécies do gênero *Chromobacterium*. O gene *cviI* codifica a enzima responsável pela síntese das moléculas sinalizadoras do tipo AHL, enquanto *cviR* codifica o receptor transcricional que detecta essas moléculas. À medida que a densidade celular aumenta, as AHLs se acumulam no ambiente e, ao atingirem uma concentração limite, ligam-se ao receptor CviR. Essa interação ativa a transcrição de genes regulados por QS, incluindo o operon *vioABCDE*, diretamente envolvido na biossíntese da violaceína (Figura 6) (Batista *et al.*, 2020; Park, H. *et al.*, 2021).

Figura 6 - Biossíntese da violaceína e regulação por *quorum sensing* em *Chromobacterium violaceum*.



Fonte: Durán *et al.*, (2016).

A presença do receptor CviR com capacidade de detecção expandida sugere uma versatilidade adaptativa que pode conferir vantagens competitivas em comunidades microbianas mistas. Essa flexibilidade é particularmente relevante, considerando que os sistemas de *quorum sensing* regulam uma ampla variedade de comportamentos bacterianos, incluindo a produção de toxinas, exoprodutos e componentes estruturais da matriz de biofilme (Loo *et al.*, 2023).

Um estudo conduzido por Wang, W. *et al.* (2019b) relatou a capacidade do óleo essencial de *Melaleuca bracteata* de inibir genes regulados por *quorum sensing* em *Chromobacterium violaceum*, sem afetar o crescimento bacteriano. A expressão dos genes *cviI* e *cviR* foi significativamente suprimida, resultando na redução da produção de violaceína (*vioA–E*) e da formação de biofilme (*hmsN*, *hmsR*). No entanto, genes como *hmsH*, *hmsF*, *pilE2* e *hcnA/C* não foram afetados, indicando que nem todos os fatores de virulência são regulados exclusivamente pelo sistema QS.

A AHL é uma molécula sinalizadora que desempenha um papel crucial na mediação do sistema de *quorum sensing*, estando presente em bactérias Gram-negativas. Esses sinais químicos extracelulares são produzidos, liberados e detectados dentro das comunidades bacterianas como parte do sistema de QS. Quando as AHLs atingem uma concentração limiar, ativam a transcrição de genes específicos que permitem às bactérias realizarem atividades coordenadas, como a produção de bioluminescência, secreção de fatores de virulência,

formação de biofilmes e síntese de metabólitos secundários. Cada família bacteriana produz diferentes moléculas de classe AHL. As AHL se diferem principalmente no comprimento da cadeia de ácido graxo. Dessa forma, o sistema baseado em AHL apresenta especificidade de espécie, na qual cada bactéria é capaz de reconhecer apenas a molécula de AHL que ela própria produz (Khajanchi *et al.*, 2012; Hawver, Jung e Ng, 2016; Mukherjee e Bassler, 2019; Stephens e Bentley, 2020).

Normalmente, múltiplas moléculas de AHL são utilizadas pelas bactérias para regular a expressão gênica, facilitando a comunicação intra e interespecífica (Papenfort e Bassler, 2016).

Entre os artigos que abordam moléculas sinalizadoras, destacam-se aqueles listados na Tabela 2, por identificarem moléculas específicas que desempenham papéis cruciais na regulação da expressão de genes associados à virulência.

Tabela 2 - Moléculas sinalizadoras identificadas na pesquisa

Moléculas sinalizadoras	Referência
C4-HSL	Lu <i>et al.</i> , 2023
C6-HSL	Chang <i>et al.</i> , 2019; Li <i>et al.</i> , 2024c; Wang, W. <i>et al.</i> , 2019b; Yu <i>et al.</i> , 2021
C10-HSL	Cheng <i>et al.</i> , 2020
3-OH-C10-HSL	Quecan <i>et al.</i> , 2019
3-oxo-C6-AHL	Ulusoy <i>et al.</i> , 2022
3-oxo-C12HSL	Ulusoy <i>et al.</i> , 2022; Yu <i>et al.</i> , 2021

Fonte: Elaboração própria (2024).

A molécula sinalizadora mais frequentemente citada pelos autores foi a C6-HSL, associada a *Chromobacterium violaceum*. Essa molécula é reconhecida como o autoindutor natural sintetizado pela enzima CviI e detectado pelo receptor CviR, desempenhando um papel central na regulação do *quorum sensing* (QS) e na produção de violaceína. No entanto, a C10-HSL também foi identificada como uma AHL produzida pela cepa *C. violaceum* ATCC12472, igualmente sob o controle de CviI, indicando variabilidade no perfil de sinalização entre cepas (Chang *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2024; Wang, W. *et al.*, 2019b; Yu *et al.*, 2021; Cheng *et al.*, 2020).

Algumas das AHLs identificadas, como C4-HSL, 3-oxo-C6-HSL e 3-oxo-C12-HSL, foram avaliadas utilizando cepas biossensoras como *C. violaceum* CV026 e VIR07, que não produzem AHLs, mas sintetizam violaceína em resposta a sinais exógenos, sendo ferramentas úteis para investigar a atividade de QS (Lu *et al.*, 2023; Ulusoy *et al.*, 2022; Yu *et al.*, 2021). Além dessas, a molécula 3-OH-C10-HSL também foi testada em estudos de *docking* molecular com o receptor CviR de *C. violaceum* ATCC12472 para avaliar seu potencial de ligação e com o sistema de QS (Quecan *et al.*, 2019a).

A revisão dos sistêmica indicou que muitos estudos se concentram na inibição dos mecanismos de comunicação *quorum sensing* (QS) em *Chromobacterium violaceum*, em grande parte por esta ser considerada uma cepa modelo para o estudo de QS, especialmente no contexto de pesquisas relacionadas à resistência antimicrobiana (Tabela 3). Diversas estratégias inibitórias foram investigadas, incluindo a degradação ou bloqueio das moléculas de AHL, a supressão direta de genes reguladores do QS, a ligação competitiva ao receptor CviR e o uso de enzimas capazes de degradar as moléculas sinalizadoras AHLs.

Tabela 3 - Mecanismos de inibição de *quorum sensing* e seus efeitos em *Chromobacterium* spp.

Autor	Espécie	Mecanismo QS	Efeito	Agente/Composto Testado
Abdel-Rhman, Rizk e Abdelmegeed, 2020	<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472	Interrupção da sinalização de <i>quorum sensing</i> mediada por AHL.	Redução na produção de violaceína por meio da interrupção da sinalização mediada por AHL.	Tirosol e EDTA
Ahmed, Zedan e Ibrahim, 2021	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Bloqueio dos receptores de <i>quorum sensing</i> (CviR).	Redução da expressão gênica relacionada ao <i>quorum sensing</i> , da produção de violaceína e da formação de biofilme.	Óleo de bergamota e extrato de <i>Aspidosperma</i> .
Ayyappan Bhaskaran, 2022	<i>Chromobacterium subtsugae</i>	Degradação enzimática de AHLs.	Redução na produção de violaceína e na formação de biofilme.	Sobrenadante livre de células de <i>Bacillus velezensis</i> PM7 (atividade lactonase).
Boudiba <i>et al.</i> , 2023	<i>Chromobacterium violaceum</i> CV12472; CV026	Bloqueio dos receptores de <i>quorum sensing</i> .	Redução na produção de violaceína.	BHBANA (novo derivado de diarilidrazona).
Reina <i>et al.</i> , 2019	<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472	Adsorção ou bloqueio de AHLs.	Redução na produção de violaceína; inibição de fenótipos de virulência (Motilidade por	Tiramina e N-acetiltiramina (<i>Vibrio alginolyticus</i> M3-10).

			enxameamento e por natação		
Chang et al., 2019	<i>Chromobacterium violaceum</i> CV026	Interferência na ligação aos receptores ou competição com moléculas sinalizadoras.	Redução na produção de violaceína.	na	Tirosol (Proveniente de fungos marinhos).
Cheng et al., 2020	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Supressão de genes reguladores do <i>quorum sensing</i> (<i>cviI</i> , <i>cviR</i> , genes <i>vio</i>).	Redução na produção de violaceína; redução na produção de C10-HSL.	na	Derivados do ácido cinâmico (DCA e MCA).
Elekhrawy et al., 2022	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Bloqueio dos receptores de QS	Atividade anti-QS e antibiofilme; inibição da violaceína de forma dependente da dose		Extrato de <i>Dioon spinulosum</i>
Fazal et al., 2021	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína e na formação de biofilme por meio da repressão de <i>CviR</i> e genes biossintéticos	na	Shikonin (SK) e Acetyl-shikonin
Inchagova, Duskaev e Deryabin, 2023	<i>Chromobacterium subtsugae</i> 026	Bloqueio dos receptores de QS	Inibição completa da produção de violaceína em concentração subinibitória	na	Extrato de folhas de eucalipto (componentes: pirogalol, ácido gálico, γ -lactonas)
Kanekar e Devasya, 2022	<i>Chromobacterium violaceum</i> CV026	Inibição completa da produção de violaceína em concentrações subinibitórias	Redução na produção de violaceína e na formação de biofilme	na	Linalol (monoterpenoide)
Khadraoui et al., 2024	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína (dependente da dose)	na	Extrato de folhas de <i>Myrtus communis</i> e frações (especialmente n-BuOH)

Khoiri Damayanti, 2021	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína	AHL-lactonase (gene <i>aiiA</i> , <i>Brevibacillus brevis</i>)
Li <i>et al.</i> , 2024	<i>Chromobacterium violaceum</i> CV026	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína e na formação de biofilme de forma dependente da dose	Ácido 2,3-Dimethoxycinnamic (2,3-DCA)
Liu <i>et al.</i> , 2022	<i>Chromobacterium violaceum</i> CV026	Bloqueio dos receptores de QS	Produção ativada por concentrações nanomolares de AHL	Sistema VRS-bAHL (sistema repórter baseado em AHL)
Loo <i>et al.</i> , 2023	<i>Chromobacterium subtsugae</i>	Interferência na ligação aos receptores ou competição com moléculas sinalizadoras	Ativação da produção de cianeto de hidrogênio via sinalização de AHL entre espécies	AHLs (C6-HSL, C8-HSL, 3OHC8-HSL por <i>B. thailandensis</i>)
Lu <i>et al.</i> , 2023	<i>Chromobacterium violaceum</i> CV026	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína; redução na produção de AHL; interfere na sinalização de QS	Carvacrol
Marques Cunha <i>et al.</i> , 2023	<i>Chromobacterium violaceum</i> CV026	Interferência na ligação aos receptores ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na expressão dos genes <i>vioA</i> e <i>vioC</i> .	Adutos de Morita-Baylis-Hillman (MBHA)
Ohta <i>et al.</i> , 2020	<i>Chromobacterium violaceum</i> CV026	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Inibição do QS; redução na produção de violaceína	Cinco compostos derivados de actinobactérias
Quecan <i>et al.</i> , 2019	<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472	Interferência na ligação ao receptor ou competição	Redução na produção (significativa para aglicona e RO-1); sem	Aglicona de quercetina, quercetina 3-β-D-glicosídeo, RO-1

		com moléculas sinalizadoras	inibição de biofilme	(extratos de cebola)	de
Rambaran <i>et al.</i> , 2024	<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472 and <i>Chromobacterium subtsugae</i> CV017	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína em CV017 ATCC12472	Nanopartículas de prata (AgNPs) fitossintetizadas a partir de <i>Embelia ruminata</i>	de
Rashiya <i>et al.</i> , 2021	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína	Sobrenadante de cultura livre de células de <i>Brevibacterium casei</i> Alu 1	de
Saptami <i>et al.</i> , 2022	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína e na formação de biofilme via ligação ao CviR	Thymol	
Thabit <i>et al.</i> , 2022	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína via interação com CviR	Prazosin	
Ulusoy <i>et al.</i> , 2022	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Adsorção ou bloqueio de AHLs	Redução na produção de violaceína	Zeolite 4 ^a	
Wang, H. <i>et al.</i> , 2019	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína, na formação de biofilme e no motilidade por enxameamento	Chlorogenic acid (CA)	
Wang, W. <i>et al.</i> , 2019b	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Degradação enzimática de AHLs	Redução na produção de violaceína, de C6-HSL e degradação direta	Óleo essencial de <i>Melaleuca bracteata</i> (OE)	de
Wang, W. <i>et al.</i> , 2019a	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína, inibição do QS e supressão da expressão de genes associados à virulência	Óleo essencial de <i>Cinnamomum camphora</i>	de

Wang, W. <i>et al.</i> , 2022	<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 31532	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína e de C6-HSL em concentrações subinibitórias	na produção de Methyleugenol (ME)
Yang <i>et al.</i> , 2021	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Adsorção/ bloqueio de moléculas sinalizadoras	Interfere na sinalização de QS, reduz a produção de violaceína e a formação de biofilme	na Caulinita > Goetita > Montmorilonita
Yu <i>et al.</i> , 2021	<i>Chromobacterium violaceum</i> CV026	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína	Extratos brutos do fungo marinho <i>Penicillium chrysogenum</i> DX Y-1 ciclo (L-Tyr-L-Pro)
Zhan <i>et al.</i> , 2024	<i>Chromobacterium subtsugae</i> CV026	Interferência na ligação ao receptor ou competição com moléculas sinalizadoras	Redução na produção de violaceína	Emodina derivada de <i>Trichoderma</i>

Fonte: elaboração própria (2024).

Muitos estudos analisados exploram a interferência na ligação das moléculas sinalizadoras ao receptor de *quorum sensing* (QS) ou na competição com elas. Esses mecanismos interrompem a interação entre sinalizadores e seus receptores, seja por competição com análogos estruturais, ou pela ação de compostos bloqueadores de receptores. Em *C. violaceum*, por exemplo, o composto derivado de *Penicillium chrysogenum* DXY-1, ciclo (L-Tyr-L-Pro), apresenta maior afinidade pelo receptor CviR do que a molécula sinalizadora natural C6-HSL, atuando como um inibidor competitivo do QS. Esse tipo de interação evidencia o potencial de análogos estruturais como moduladores negativos da ativação de CviR, podendo suprimir fatores de virulência bacteriana, incluindo a produção de violaceína (Prazdnova *et al.*, 2022; Yu *et al.*, 2021; Fazal *et al.*, 2021).

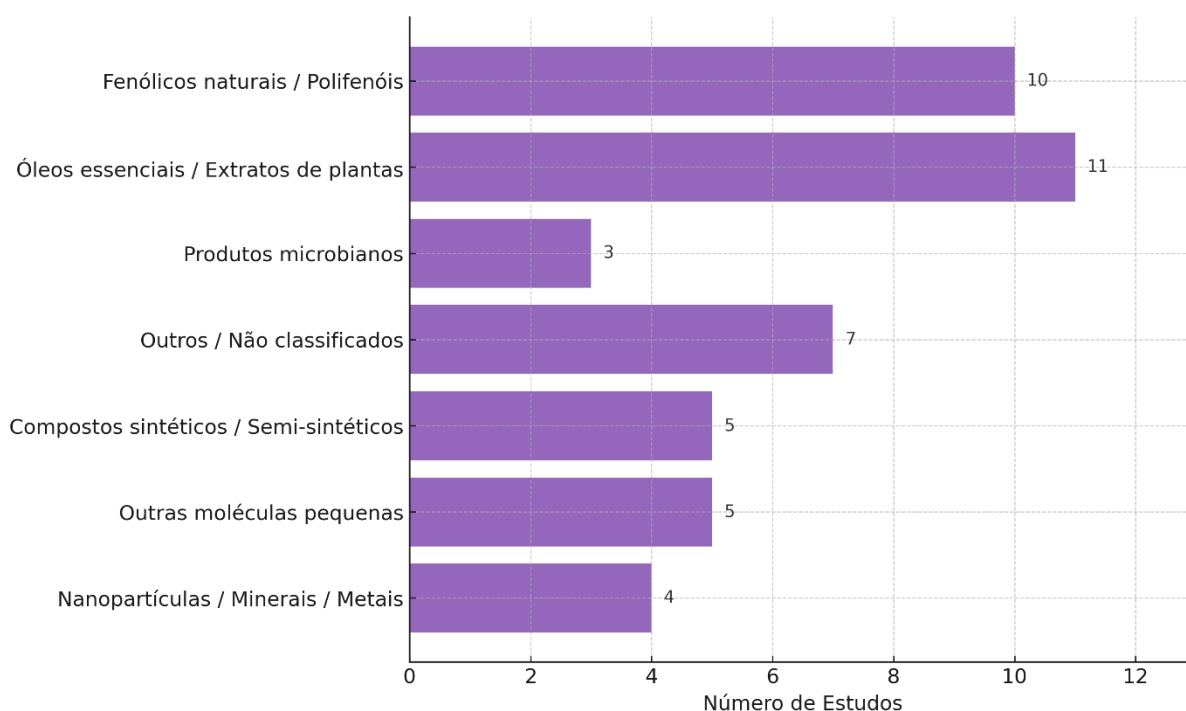
Além disso, outros estudos demonstraram a supressão de genes-chave do QS, como *cviR*, *vioA*, *vioB* e *vioE*. Esses genes são essenciais para o reconhecimento de sinalizadores e a síntese de violaceína. A produção de violaceína em *C. violaceum* é controlada pelo operon *vioA–E*, cuja ativação depende do sistema regulatório CviI/CviR. A inibição de *vioA* ou *vioB* interrompe a síntese do intermediário prodeoxiviolaceína, enquanto *vioE* desempenha papel crucial na formação do pigmento por meio de uma transposição intramolecular 1,2 do anel indólico. Assim, qualquer perturbação na expressão desses genes reduz a produção de violaceína

e, consequentemente, a virulência bacteriana (Inchagova, Duskaev e Deryabin, 2023; Li, Yanqun *et al.*, 2024a; Xu *et al.*, 2024; Durán *et al.*, 2016; Hoshino, 2011).

Estratégias baseadas em quorum quenching (QQ), especialmente aquelas que envolvem a degradação enzimática de AHLs por lactonases ou acilases, têm mostrado ampla aplicabilidade em ambientes microbianos complexos. Diferentemente da supressão gênica, essa degradação atua diretamente sobre as moléculas sinalizadoras, reduzindo a probabilidade de resistência. Estudos recentes destacam a eficiência e a resiliência ambiental de certas enzimas de QQ, reforçando seu potencial biotecnológico para o controle de biofilmes e a biorremediação. Por exemplo, lactonases como a LrsL degradam AHLs e reduzem significativamente a biomassa de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* sem afetar a viabilidade bacteriana, reforçando o potencial dessas enzimas no controle de biofilmes patogênicos (Paluch *et al.*, 2020; Sikdar & Elias, 2020; Rehman *et al.*, 2022).

Além da atuação das enzimas mencionadas, os estudos analisados demonstram o predomínio de compostos de origem vegetal, especialmente óleos essenciais e extratos botânicos, como principal abordagem explorada para a inibição do *quorum sensing* (QS) em *Chromobacterium* spp. (Figura 7).

Figura 7 - Distribuição dos grupos de compostos utilizados em estudos de modulação do *quorum sensing* (QS) em *Chromobacterium* spp.



Fonte: Elaboração própria (2024).

Esses resultados estão de acordo com os de Asif e Imran (2019), que enfatizaram a ação direta dos compostos naturais sobre os mecanismos de comunicação QS e seu potencial como inibidores específicos do sistema regulador da virulência. O reino vegetal é altamente diverso e representa uma fonte rica de metabólitos secundários com uma ampla gama de atividades biológicas, entre as quais está o potencial de atuar como inibidores de QS. Substâncias como óleo essencial de bergamota, extratos de *Artemisia* e derivados de ácido cinâmico mostraram efeitos significativos sobre a produção de violaceína e formação de biofilmes, demonstrando seu potencial como agentes antivirulência. Além disso, polifenóis naturais se destacaram por sua capacidade de interferir diretamente no sistema receptor CviR. Produtos de origem microbiana, incluindo sobrenadantes livres de células e enzimas degradadoras de AHLs, representam uma abordagem biológica sustentável por meio de mecanismos de *quorum quenching*. Embora menos frequentemente relatados, nanopartículas e minerais também vêm sendo investigados por suas vantagens estruturais e pelo melhor controle da liberação dos compostos ativos (Dimitrova, Damyanova e Paunova-Krasteva, 2023a; Ahmed, Zedan e Ibrahim, 2021a; Kong *et al.*, 2021; Cheng *et al.*, 2020a; Quecan *et al.*, 2019; Ayyappan e Bhaskaran, 2022b; Rambaran *et al.*, 2024; Yang *et al.*, 2021).

As pesquisas sobre o gênero *Chromobacterium* concentrou-se, por muito tempo, em *C. violaceum* ATCC 12472, a primeira espécie identificada e amplamente utilizada como modelo na produção de violaceína. Com o passar do tempo, novas espécies do gênero como *C. subtsugae* foram descobertas, mas a ausência de ferramentas de sequenciamento genômico acessíveis até alguns anos atrás, em conjunto com o crescente aumento no número de espécies reconhecidas, podem ter contribuído para erros na classificação de *Chromobacterium* spp. Dessa forma, estudos mais recentes têm se voltado para a identificação e correta classificação dessas espécies (Gillis & Logan, 2015; Kämpfer *et al.*, 2018).

Um exemplo disto é a cepa modelo CV026, muito utilizada como mutante biossensor de QS descrita como derivada de *C. violaceum* ATCC 31532, sendo posteriormente reclassificada como *C. subtsugae*, demonstrando a necessidade de reclassificação de espécies do gênero. As AHLs produzidas por *C. subtsugae* ATCC 31532 utilizam N-hexanoil-HSL (C6-HSL) como principal sinal de QS, sem produção de cianeto de hidrogênio, ao contrário de *C. violaceum* ATCC 12472, que depende majoritariamente de N-decanoil-HSL (C10-HSL) e sintetiza HCN, composto associado à virulência. Em estudos voltados para genômica, a cepa de *C. subtsugae* PRAA4-1, produtora de compostos inseticidas, apresenta menor número de genes relacionados à produção de polissacarídeos capsulares e à assimilação de nitrato, mas maior abundância de sequências associadas a fagos do que *C. violaceum* ATCC 12472. Essas diferenças entre as espécies demonstram que, embora ambas sintetizem a violaceína regulada pelo sistema

CviI/CviR, suas particularidades genômicas e metabólicas tornam arriscada a comparação direta de uma espécie com a outra. Assim, o estudo de *C. subtsugae* em contextos biotecnológicos e de estilo de vida deve ser considerado, diferenciando-a da característica patogênica de *C. violaceum* (Blackburn *et al.*, 2016; Deryabin *et al.*, 2025; Harrison & Soby, 2020).

Alguns estudos mais atuais redirecionaram o foco da inibição para a indução do QS em *Chromobacterium subtsugae*, revelando como essa espécie pode responder a sinais exógenos de AHL por meio da comunicação interespecífica. A produção de violaceína em *C. subtsugae* CV026, uma cepa deficiente na produção de AHL, foi restaurada quando cocultivada com *Burkholderia ambifaria*, indicando que a sinalização de QS foi ativada pelas AHLs produzidas pela espécie vizinha. (Cacchio *et al.*, 2023). De forma semelhante, observou-se que *C. subtsugae* responde a AHLs não cognatas, como C6-HSL, C8-HSL e 3OHC8-HSL, derivadas de *B. thailandensis*. Esses sinais foram reconhecidos pelo receptor CviR promíscuo, que posteriormente ativou a expressão de *hcnABC*, um agrupamento gênico associado à produção de cianeto de hidrogênio. Essa detecção de sinais interespecíficos destaca a plasticidade ecológica do QS em *C. subtsugae* (Loo *et al.*, 2023a).

Esta revisão destaca diversos mecanismos para a modulação do QS em espécies de *Chromobacterium*, especialmente por meio de estratégias não bactericidas voltadas à redução da virulência. Muitos dos compostos avaliados demonstraram inibição eficaz da produção de violaceína e da formação de biofilme, sem comprometer o crescimento bacteriano, o que reforça sua aplicabilidade como agentes anti-QS ou antivirulência (Dai *et al.*, 2025; Rashiya *et al.*, 2021c; Wang, H. *et al.*, 2019). Essas características são relevantes no contexto da resistência antimicrobiana, pois permitem a interferência em comportamentos patogênicos sem exercer pressão seletiva. Além disso, cepas como *C. subtsugae* CV026 têm demonstrado potencial como biossensores para a detecção de AHLs exógenas, o que sustenta seu uso em monitoramento ambiental e em aplicações de biologia sintética (Qu, C. *et al.*, 2024). Assim, os resultados reforçam a relevância biotecnológica da regulação do *quorum sensing* (QS) em *Chromobacterium* sp., tanto para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas, quanto para potenciais aplicações nos setores agrícola, farmacêutico e industrial.

4.4. Conclusão

Nesta revisão, buscamos compilar e discutir as principais evidências relacionadas ao *quorum sensing* em espécies do gênero *Chromobacterium*, principalmente nos mecanismos genéticos e de sinalização envolvidos na produção de violaceína. A análise revelou que a maioria dos estudos envolve a inibição do QS, especialmente por meio do uso de compostos

naturais e sintéticos que interferem nos genes reguladores e nas moléculas sinalizadoras do tipo AHL. No entanto, *C. subtsugae*, uma espécie não patogênica, apresenta características regulatórias distintas que trazem novas possibilidades para aplicações biotecnológicas. Assim, sugerimos que futuras pesquisas explorem estratégias de indução positiva baseadas em QS, visando potencializar a produção de metabólitos como a violaceína com relevância nos setores agrícola, industrial e farmacêutico.

4.5. Referências Bibliográficas

ABDEL-RHMAN, S. H.; RIZK, D. E.; ABDELMEGEED, E. S. Effect of sub-minimum inhibitory concentrations of tyrosol and edta on quorum sensing and virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. **Infection and Drug Resistance**, v. 13, p. 3501-3511, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IDR.S264805>

AHMED, S. O.; ZEDAN, H. H.; IBRAHIM, Y. M. Quorum sensing inhibitory effect of bergamot oil and aspidosperma extract against *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 7, p. 4663-4675, 2021 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02455-8>

ARIA, M.; CUCCURULLO, C. bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. **Journal of Informetrics**, v. 11, n. 4, p. 959-975, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joi.2017.08.007>

ASIF, M.; IMRAN, M. Quorum Sensing Inhibition: Current Advances of the Natural Antimicrobial Agents. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, v. 45, n. 6, p. 488-504, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S1068162019060049>

AYYAPPAN, S. V.; BHASKARAN, K. Extracellular lactonase-mediated quorum quenching by a novel *Bacillus velezensis*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 369, n. 1, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnac095>

AYYAPPAN, S. V.; BHASKARAN, K. Extracellular lactonase-mediated quorum quenching by a novel *Bacillus velezensis*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 369, n. 1, 2022 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnac095>

BATISTA, B. B.; DE LIMA, V. M.; PICINATO, B. A.; KOIDE, T.; DA SILVA NETO, J. F. A quorum-sensing regulatory cascade for siderophore-mediated iron homeostasis in *Chromobacterium violaceum*. **mSystems**, v. 9, n. 4, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/msystems.01397-23>

BATISTA, J. H.; LEAL, F. C.; FUKUDA, T. T. H.; ALCOFORADO DINIZ, J.; ALMEIDA, F.; PUPO, M. T.; DA SILVA NETO, J. F. Interplay between two quorum sensing-regulated pathways, violacein biosynthesis and VacJ/Yrb, dictates outer membrane vesicle biogenesis in *Chromobacterium violaceum*. **Environmental Microbiology**, v. 22, n. 6, p. 2432-2442, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15033>

BLACKBURN, M. B.; SPARKS, M. E.; GUNDERSEN-RINDAL, D. E. The genome of the insecticidal *Chromobacterium subtsugae* PRAA4-1 and its comparison with that of

Chromobacterium violaceum ATCC 12472. **Genomics Data**, v. 10, p. 1-3, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2016.08.013>

BOUDIBA, S.; TAMFU, A. N.; HANINI, K.; SELATNIA, I.; BOUDIBA, L.; SAOULI, I.; MOSSET, P.; CEYLAN, O.; EGBE, D. A. M.; SID, A.; DINICA, R. M. Synthesis of a new diarylhydrazone derivative and an evaluation of its in vitro biofilm inhibition and quorum sensing disruption along with a molecular docking study. **Journal of Chemical Research**, v. 47, n. 4, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/17475198231184603>

CACCHIO, P.; PELLEGRINI, M.; FARDA, B.; DJEBAILI, R.; TABACCHIONI, S.; DEL GALLO, M. Preliminary indication of the role of AHL-dependent quorum sensing systems in calcium carbonate precipitation in Gram-negative bacteria. **AIMS Microbiology**, v. 9, n. 4, p. 692-711, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3934/microbiol.2023035>

CHANG, A.; SUN, S.; LI, L.; DAI, X.; LI, H.; HE, Q.; ZHU, H. Tyrosol from marine Fungi, a novel Quorum sensing inhibitor against *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Bioorganic Chemistry**, v. 91, p. 103140, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103140>

CHEN, X.; WANG, C.; ZHENG, Q. Y.; HU, W.-C.; XIA, X.-H. Emerging advances in biosensor technologies for quorum sensing signal molecules. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 417, n. 1, p. 33-50, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-024-05659-1>

CHENG, W.-J.; ZHOU, J.-W.; ZHANG, P.-P.; LUO, H.-Z.; TANG, S.; LI, J.-J.; DENG, S.-M.; JIA, A.-Q. Quorum sensing inhibition and tobramycin acceleration in *Chromobacterium violaceum* by two natural cinnamic acid derivatives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 11, p. 5025-5037, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10593-0>

CHUGANI, S.; GREENBERG, E. P. An evolving perspective on the *Pseudomonas aeruginosa* orphan quorum sensing regulator QscR. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 4, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00152>

DAI, Y.; ZHONG, J.; GENG, D.; YIN, L.; DONG, J.; XIA, X. Inhibition of fermented and unfermented soy whey extracts on the quorum sensing and biogenic amine production of *Morganella morganii* wf-1. **Food and Bioprocess Technology**, v. 18, n. 1, p. 325-337, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03475-0>

DERYABIN, D. G.; INCHAGOVA, K. S.; NIKONOROVA, E. R.; KARIMOV, I. F.; DUSKAEV, G. K. Quorum Sensing in *Chromobacterium subtsugae* ATCC 31532 (Formerly *Chromobacterium violaceum* ATCC 31532): transcriptomic and genomic analyses. **Microorganisms**, v. 13, n. 5, p. 1021, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13051021>

DIMITROVA, P. D.; DAMYANOVA, T.; PAUNOVA-KRASTEVA, T. *Chromobacterium violaceum*: a model for evaluating the anti-quorum sensing activities of plant substances. **Scientia Pharmaceutica**, v. 91, n. 3, p. 33, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/scipharm91030033>

DURÁN, N.; JUSTO, G. Z.; DURÁN, M.; BROCCHI, M.; CORDI, L.; TASIC, L.; CASTRO, G. R.; NAKAZATO, G. Advances in *Chromobacterium violaceum* and properties of violacein-

Its main secondary metabolite: A review. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 5, p. 1030-1045, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.06.003>

ELEKHNAWY, E.; NEGM, W. A.; EL-AASR, M.; KAMER, A. A.; ALQARNI, M.; BATIHA, G. E.-S.; OBAIDULLAH, A. J.; FAWZY, H. M. Histological assessment, anti-quorum sensing, and anti-biofilm activities of *Dioon spinulosum* extract: in vitro and in vivo approach. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 180, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03953-x>

FAZAL, A.; YANG, M.; WANG, M.; ALI, F.; WEN, Z.; YIN, T.; ZHAO, X.; HUA, X.; HAN, H.; LIN, H.; WANG, X.; LU, G.; QI, J.; YANG, Y. Assessment of shikonin and acetylshikonin for mitigating quorum sensing potential of *C. violaceum*. **Plant Growth Regulation**, v. 94, n. 3, p. 233-243, 2021 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10725-021-00712-w>

GILLIS, M.; LOGAN, N. A. *Chromobacterium*. In: WHITMAN, W. B. (Ed.). **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**. Hoboken: Wiley, 2015, p. 1-9. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00975>

HARRISON, A. M.; SOBY, S. D. Reclassification of *Chromobacterium violaceum* ATCC 31532 and its quorum biosensor mutant CV026 to *Chromobacterium subtsugae*. **AMB Express**, v. 10, n. 1, p. 202, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01140-1>

HAWVER, L. A.; JUNG, S. A.; NG, W.-L. Specificity and complexity in bacterial quorum-sensing systems. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 40, n. 5, p. 738-752, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw014>

HOSHINO, T. Violacein and related tryptophan metabolites produced by *Chromobacterium violaceum*: biosynthetic mechanism and pathway for construction of violacein core. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, n. 6, p. 1463-1475, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3468-z>

INCHAGOVA, K. S.; DUSKAEV, G. K.; DERYABIN, D. G. Quorum Sensing in *Chromobacterium subtsugae* (Formerly, *C. violaceum*) Is Inhibited by Gamma-Lactones, the Minor Components of Eucalyptus Leaf Extract. **Microbiology**, v. 92, n. 1, p. 47-54, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S0026261722602597>

KÄMPFER, P.; GLAESER, S. P.; SOBY, S. D. *Chromobacterium pseudoviolaceum* Kämpfer et al. 2009 is a later heterotypic synonym of *Chromobacterium violaceum* Bergonzini 1880. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 68, n. 9, p. 2967-2968, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002930>

KANEKAR, S.; DEVASYA, R. P. Growth-phase specific regulation of cvil/R based quorum sensing associated virulence factors in *Chromobacterium violaceum* by linalool, a monoterpenoid. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 2, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03208-x>

KHADRAOUI, N.; ESSID, R.; DAMERGI, B.; FARES, N.; GHARBI, D.; FORERO, A.M.; RODRÍGUEZ, J.; ABID, G.; KEREKES, E.B.; LIMAM, F.; JIMÉNEZ, C.; TABBENE, O. Myrtus communis leaf compounds as novel inhibitors of quorum sensing-regulated virulence factors and biofilm formation: In vitro and in silico investigations. **Biofilm**, v. 8, p. 100205, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2024.100205>

KHAJANCHI, B. K.; KOZLOVA, E. V.; SHA, J.; POPOV, V. L.; CHOPRA, A. K. The two-component QseBC signalling system regulates in vitro and in vivo virulence of *Aeromonas hydrophila*. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 259-271, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/mic.0.051805-0>

KHOIRI, S.; ASMIRA DAMAYANTI, T. **Characterization of acyl-homoserine lactonase gene from *Brevibacillus brevis* strain B37** *Indian Journal of Biotechnology*. [S. l.: s. n.]. Disponível em: <https://swissmodel.ch>.

KONG, J.; WANG, Y.; XIA, K.; ZANG, N.; ZHANG, H.; LIANG, X. New insights into the antibacterial and quorum sensing inhibition mechanism of *Artemisia argyi* leaf extracts towards *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. **3 Biotech**, v. 11, n. 2, p. 97, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02663-5>

LI, Y.; DING, W.; YIN, J.; LI, X.; TIAN, X.; XIAO, Z.; WANG, F.; YIN, H. 2,3-Dimethoxycinnamic acid from a marine actinomycete, a promising quorum sensing inhibitor in *Chromobacterium violaceum*. **Marine Drugs**, v. 22, n. 4, p. 177, 2024 a. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md22040177>

LIU, X.; LI, J.; LI, Y.; LI, J.; SUN, H.; ZHENG, J.; ZHANG, J.; TAN, H. A visualization reporter system for characterizing antibiotic biosynthetic gene clusters expression with high-sensitivity. **Communications Biology**, v. 5, n. 1, p. 901, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03832-9>

LOO, C.; KOIRALA, P.; SMITH, N. C.; EVANS, K. C.; BENOMAR, S.; PARISI, I. R.; OLLER, A.; CHANDLER, J. R. Cross-species activation of hydrogen cyanide production by a promiscuous quorum-sensing receptor promotes *Chromobacterium subtsugae* competition in a dual-species model. **Microbiology (United Kingdom)**, v. 169, n. 2, 2023 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/mic.0.001294>

LU, L.; WANG, J.; QIN, T.; CHEN, K.; XIE, J.; XI, B. Carvacrol Inhibits Quorum Sensing in Opportunistic Bacterium *Aeromonas hydrophila*. **Microorganisms**, v. 11, n. 8, p. 2027, 2023 b. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11082027>

MARQUES CUNHA, S.; FAVERO, F.; MENESES SOUZA, D.; ARAUJO FONSECA, C.; ALVES TOLENTINO, T.; SOBRAL SILVA, V.; ANCHIETA LOURENÇO SILVA, C.; LEITE PEREIRA, A.; HENRIQUE LIRA MACHADO, A. Assessment of Morita-Baylis-Hillman adducts as novel modulators of quorum sensing phenotypes in *Chromobacterium* CV026 by targeting CviR. **Tetrahedron Letters**, v. 125, p. 154620, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2023.154620>

MUKHERJEE, S.; BASSLER, B. L. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 6, p. 371-382, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0186-5>

OHTA, T.; FUKUMOTO, A.; IIZAKA, Y.; KATO, F.; KOYAMA, Y.; ANZAI, Y. Quorum sensing inhibitors against *Chromobacterium violaceum* CV026 Derived from an Actinomycete metabolite library. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 43, n. 1, p. 179-183, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1248/bpb.b19-00564>

PALUCH, E.; REWAK-SOROCZYŃSKA, J.; JĘDRUSIK, I.; MAZURKIEWICZ, E.; JERMAKOW, K. Prevention of biofilm formation by quorum quenching. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 5, p. 1871-1881, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10349-w>

PAPENFORT, K.; BASSLER, B. L. Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 9, p. 576-588, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.89>

PARK, H.; PARK, S.; YANG, Y.-H.; CHOI, K.-Y. Microbial synthesis of violacein pigment and its potential applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 41, n. 6, p. 879-901, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1892579>

PENA, R. T.; BLASCO, L.; AMBROA, A.; GONZÁLEZ-PEDRAJO, B.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, L.; LÓPEZ, M.; BLERIOT, I.; BOU, G.; GARCÍA-CONTRERAS, R.; WOOD, T. K.; TOMÁS, M. Relationship between quorum sensing and secretion systems. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01100>

PRAZDNOVA, E. V.; GOROVTSOV, A. V.; VASILCHENKO, N. G.; KULIKOV, M. P.; STATSENKO, V. N.; BOGDANOVA, A. A.; REFELD, A. G.; BRISLAVSKIY, Y. A.; CHISTYAKOV, V. A.; CHIKINDAS, M. L. Quorum-Sensing inhibition by gram-positive bacteria. **Microorganisms**, v. 10, n. 2, p. 350, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020350>

QU, C.; GENG, Y.; DING, Z.; LI, Y.; JIANG, H.; SU, M.; LIU, H. *In Situ* Spatiotemporal SERS Profiling of bacterial quorum sensing by hierarchical hydrophobic plasmonic arrays in agar medium. **Analytical Chemistry**, v. 96, n. 6, p. 2396-2405, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c04299>

QUECAN, B. X. V.; SANTOS, J. T. C.; RIVERA, M. L. C.; HASSIMOTTO, N. M. A.; ALMEIDA, F. A.; PINTO, U. M. Effect of quercetin rich onion extracts on bacterial quorum sensing. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00867>

RAJAMANIKANDAN, S.; SRINIVASAN, P. Exploring the selectivity of auto-inducer complex with LuxR using molecular docking, mutational studies and molecular dynamics simulations. **Journal of Molecular Structure**, v. 1131, p. 281-293, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.11.056>

RAMBARAN, N.; NAIDOO, Y.; MOHAMED, F.; CHENIA, H. Y.; BAIJNATH, H. Antibacterial and anti-quorum sensing properties of silver nanoparticles phytosynthesized using *Embelia ruminata*. **Plants**, v. 13, n. 2, p. 168, 2024a. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants13020168>

RASHIYA, N.; PADMINI, N.; AJILDA, A. A. K.; PRABAKARAN, P.; DURGADEVI, R.; VEERA RAVI, A.; GHOSH, S.; SIVAKUMAR, N.; SELVAKUMAR, G. Inhibition of biofilm formation and quorum sensing mediated virulence in *Pseudomonas aeruginosa* by marine sponge symbiont *Brevibacterium casei* strain Alu 1. **Microbial Pathogenesis**, v. 150, p. 104693, 2021a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104693>

REHMAN, Z. U.; MOMIN, A. A.; ALDEHAIMAN, A.; IRUM, T.; GRÜNBERG, R.; AROLD, S. T. The exceptionally efficient quorum quenching enzyme LrsL suppresses

Pseudomonas aeruginosa biofilm production. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.977673>

REINA, J. C.; PÉREZ-VICTORIA, I.; MARTÍN, J.; LLAMAS, I. A Quorum-sensing inhibitor strain of *Vibrio alginolyticus* blocks qs-controlled phenotypes in *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Marine Drugs**, v. 17, n. 9, p. 494, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md17090494>

REVANASIDDAPPA, P. D. *et al.* Computational exploration of Picrasma quassioides compounds as CviR-mediated quorum sensing inhibitors against *Chromobacterium violaceum*. **Frontiers in Chemistry**, v. 12, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fchem.2024.1286675>

SAEKI, E. K.; KOBAYASHI, R. K. T.; NAKAZATO, G. Quorum sensing system: target to control the spread of bacterial infections. **Microbial Pathogenesis**, v. 142, p. 104068, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104068>

SAPTAMI, K.; AROKIA BALAYA REX, D.; CHANDRASEKARAN, J.; REKHA, P. D. Competitive interaction of thymol with cviR inhibits quorum sensing and associated biofilm formation in *Chromobacterium violaceum*. **International Microbiology**, v. 25, n. 3, p. 629-638, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10123-022-00247-8>

SIKDAR, R.; ELIAS, M. Quorum quenching enzymes and their effects on virulence, biofilm, and microbiomes: a review of recent advances. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 18, n. 12, p. 1221-1233, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1794815>

STEPHENS, K.; BENTLEY, W. E. Synthetic biology for manipulating quorum sensing in microbial consortia. **Trends in Microbiology**, v. 28, n. 8, p. 633-643, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.03.009>

THABIT, A. K.; ELJAALY, K.; ZAWAWI, A.; IBRAHIM, T. S.; EISSA, A. G.; ELBARAMAWI, S. S.; HEGAZY, W. A. H.; ELFAKY, M. A. Muting bacterial communication: evaluation of prazosin anti-quorum sensing activities against gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, and *Serratia marcescens*. **Biology**, v. 11, n. 9, p. 1349, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biology11091349>

ULUSOY, S.; BAKALIN, R.; ÇEVİKBAŞ, H.; BERISHA, A.; ORAL, A.; BOŞGELMEZ-TINAZ, G. Zeolite 4A as a jammer of bacterial communication in *Chromobacterium Violaceum* and *Pseudomonas Aeruginosa*. **Future Microbiology**, v. 17, n. 11, p. 861-871, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.2217/fmb-2021-0174>

VADAKKAN, K.; CHOUDHURY, A. A.; GUNASEKARAN, R.; HEMAPRIYA, J.; VIJAYANAND, S. Quorum sensing intervened bacterial signaling: Pursuit of its cognizance and repression. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 16, n. 2, p. 239-252, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.07.001>

WANG, H.; CHU, W.; YE, C.; GAETA, B.; TAO, H.; WANG, M.; QIU, Z. Chlorogenic acid attenuates virulence factors and pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* by regulating quorum sensing. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 2, p. 903-915, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9482-7>

- WANG, W.; LI, D.; HUANG, X.; YANG, H.; QIU, Z.; ZOU, L.; LIANG, Q.; SHI, Y.; WU, Y.; WU, S.; YANG, C.; LI, Y. Study on Antibacterial and quorum-sensing inhibition activities of *Cinnamomum camphora* leaf essential oil. **Molecules**, v. 24, n. 20, p. 3792, 2019a. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules24203792>
- WANG, W.; HUANG, X.; YANG, H.; NIU, X.; LI, D.; YANG, C.; LI, L.; ZOU, L.; QIU, Z.; WU, S.; LI, Y. Antibacterial Activity and anti-quorum sensing mediated phenotype in response to essential oil from *Melaleuca bracteata* leaves. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 22, p. 5696, 2019b. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20225696>
- WANG, W.; LIN, X.; YANG, H.; HUANG, X.; PAN, L.; WU, S.; YANG, C.; ZHANG, L.; LI, Y. Anti-quorum sensing evaluation of methyleugenol, the principal bioactive component, from the *Melaleuca bracteata* leaf oil. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.970520>
- XU, C.; NI, L.; LI, S.; DU, C.; SANG, W.; JIANG, Z. Quorum sensing regulation in *Microcystis aeruginosa*: Insights into AHL-mediated physiological processes and MC-LR production. **Science of The Total Environment**, v. 919, p. 170867, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170867>
- YANG, S.; QU, C.; MUKHERJEE, M.; WU, Y.; HUANG, Q.; CAI, P. Soil phyllosilicate and iron oxide inhibit the quorum sensing of *Chromobacterium violaceum*. **Soil Ecology Letters**, v. 3, n. 1, p. 22-31, 2021 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42832-020-0051-5>
- YI, L.; DONG, X.; GRENIER, D.; WANG, K.; WANG, Y. Research progress of bacterial quorum sensing receptors: Classification, structure, function and characteristics. **Science of The Total Environment**, v. 763, p. 143031, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143031>
- YU, X.; LI, L.; SUN, S.; CHANG, A.; DAI, X.; LI, H.; WANG, Y.; ZHU, H. A cyclic dipeptide from marine fungus *Penicillium chrysogenum* DXY-1 exhibits anti-quorum sensing activity. **ACS Omega**, v. 6, n. 11, p. 7693-7700, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00020>
- ZHAN, X.; WANG, R.; ZHANG, M.; LI, Y.; SUN, T.; CHEN, J.; LI, J.; LIU, T. *Trichoderma*-derived emodin competes with ExpR and ExpI of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* to biocontrol bacterial soft rot. **Pest Management Science**, v. 80, n. 3, p. 1039-1052, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.7835>

5. ARTIGO 2 – INTERAÇÃO COMPETITIVA ENTRE *CHROMOBACTERIUM SUBTSUGAE*, *BACILLUS* SP. E *PRIESTIA* SP.: REGULAÇÃO DA PRODUÇÃO DE VIOLACEÍNA

RESUMO

A produção de violaceína, regulada por quorum sensing (QS), pode ser modulada por interações interespecíficas entre bactérias. *Chromobacterium subtsugae* ATCC-31532, reconhecida por sua capacidade biossintética, foi cocultivada com diferentes cepas dos gêneros *Bacillus* e *Priestia* com o objetivo de avaliar como as interações mistas modulam a produção de violaceína e o sistema de *quorum sensing*. Diferentes condições de cultivo em meio líquido revelaram maior produção de violaceína sob baixa oxigenação. Ensaios de difusão em disco e cocultivos líquidos demonstraram que determinadas cepas, como *B. thuringiensis subsp. kurstaki* (Btk), favorecem a produção do pigmento, enquanto outras, como *B. safensis* e *B. velezensis*, promovem sua supressão, possivelmente via mecanismos de *quorum quenching* (QQ). A microscopia eletrônica de varredura revelou alterações morfológicas e maior formação de cristais Cry nas coculturas com Btk, sugerindo respostas competitivas. A sequência de inoculação influenciou a resposta metabólica de *C. subtsugae*, com maior produção de violaceína observada quando esta foi estabelecida antes da introdução de Btk. Esses resultados destacam o papel das interações microbianas na regulação de QS e na produção de metabólitos secundários, oferecendo perspectivas promissoras para aplicações biotecnológicas.

Palavras-chave: Cocultivo bacteriano, *quorum sensing*, violaceína, competição microbiana, *Chromobacterium subtsugae*, *Bacillus thuringiensis*.

ABSTRACT

Violacein production, regulated by quorum sensing (QS), can be modulated by interspecies bacterial interactions. *Chromobacterium subtsugae* ATCC-31532, known for its biosynthetic capabilities, was cocultured with various *Bacillus* AND *Priestia* strains to assess how mixed-species interactions influence violacein production and QS activity. Different liquid culture conditions revealed increased violacein production under low-oxygen environments. Disk diffusion assays and liquid cocultures showed that certain strains, such as *Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki* (Btk), promoted pigment production, while others, including *B. safensis* and *B. velezensis*, suppressed it – possibly via quorum quenching (QQ) mechanisms. Scanning electron microscopy revealed morphological alterations and increased Cry crystal formation in cocultures with Btk, suggesting competitive interactions. The inoculation sequence also influenced the metabolic response of *C. subtsugae*, with higher violacein production observed when it was established prior to Btk introduction. These findings underscore the role of microbial interactions in regulating QS and secondary metabolite production, offering promising perspectives for biotechnological applications.

Keywords: Bacterial coculture, quorum sensing, violacein, microbial competition, *Chromobacterium subtsugae*, *Bacillus thuringiensis*.

5.1. Introdução

Microrganismos interagem nos ecossistemas, competindo ou cooperando por recursos e espaço. Essas interações microbianas são frequentemente mediadas por sinais químicos, como os envolvidos no sistema de *quorum sensing* (QS), um mecanismo de comunicação célula-

célula dependente da densidade populacional, capaz de regular funções como a produção de metabólitos secundários (MS) (Azimi *et al.*, 2020; Lechón-Alonso *et al.*, 2021)

O interesse pelo uso de microrganismos como fontes naturais de MS tem crescido nos últimos anos, pois esses organismos demonstram capacidade de produzir metabólitos com diversas aplicações industriais. A possibilidade de explorar esse potencial metabólico tem favorecido abordagens mais sustentáveis, além de oferecer alternativas menos agressivas ao meio ambiente. Os microrganismos permitem a obtenção tanto de moléculas já conhecidas, quanto de novas, de estrutura complexa, muitas vezes difíceis de serem sintetizadas (Maithani *et al.*, 2022; Ruiz-Sanchez *et al.*, 2023).

Um desses compostos é a violaceína, um derivado natural de indol biossintetizado pela condensação de duas moléculas de triptofano que são codificadas pelo operon *vioABCDE* em resposta a sinais de *quorum sensing*. Além de ser um metabólito regulado por QS, apresenta uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo potencial antimicrobiano, antioxidante e citotóxico. Embora sua produção tenha sido inicialmente caracterizada em *Chromobacterium violaceum*, a cepa não patogênica *Chromobacterium subtsugae* vêm ganhando destaque como alternativa promissora para aplicações agrícolas e industriais, devido à baixa toxicidade e à presença de sistemas regulatórios únicos (Gómez-Gómez *et al.*, 2019; Durán *et al.*, 2016; Huang *et al.*, 2023; Deryabin *et al.*, 2025).

No entanto, o rendimento de produção da violaceína ainda é reduzido, o que impõe desafios para sua produção em escala. Essa produção pode ser modulada por condições ambientais e pela interação com outras espécies microbianas. Em modelos de cultura mista, o contato com outras bactérias pode induzir, reprimir ou ativar vias biossintéticas silenciosas, modulando a produção de MS (Cheng *et al.*, 2022; Netzker *et al.*, 2015; Yu *et al.*, 2024). Dentre os grupos bacterianos mais estudados estão espécies do gênero *Bacillus*, amplamente distribuídos na natureza e com notável potencial biotecnológico, e *Priestia*, recentemente reclassificado dentro deste gênero. Essas bactérias são reconhecidas pela capacidade de produzir uma ampla gama de compostos de interesse industrial, incluindo enzimas (celulases, amilases, proteases e lipases), antibióticos peptídicos, agentes surfactantes, biofertilizantes, biopolímeros, além de fármacos e nutracêuticos (Herrmann *et al.*, 2024; Liu *et al.*, 2024).

Devido à sua capacidade resistir a condições adversas e produzir uma grande diversidade de compostos, essas bactérias ocupam nichos ecológicos diversos e interagem constantemente com outras espécies microbianas, seja por competição, cooperação ou antagonismo. Tais interações são muito variáveis em relação ao tempo e o espaço, o que dificulta a identificação e compreensão com precisão de seus efeitos na função da comunidade (Polonca, 2020; Qian *et al.*, 2023; Xia *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2025).

Apesar do crescente interesse em interações microrganismo-microrganismo, o impacto e a dinâmica dessas interações interespecíes sobre a produção de MS como a violaceína por *C. subtsugae* ainda são pouco compreendidos. Neste contexto, o presente estudo visa investigar como diferentes estratégias de cocultivo entre *Chromobacterium subtsugae* ATCC-31532 e cepas de *Bacillus* e *Priestia* afetam a produção de violaceína. Além disso, busca-se compreender as relações entre esses grupos através da identificação de interações mistas que possam modular a expressão de metabólitos secundários de interesse biotecnológico.

5.2. Material e Métodos

5.2.1 Obtenção dos isolados

Os isolados bacterianos de *Chromobacterium subtsugae* ATCC-31532, dos *Bacillus* e *Priestia* (antigos pertencentes ao gênero *Bacillus*) foram obtidos do acervo pertencente à empresa Bioworld®, no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Sergipe. As culturas desses microrganismos estavam armazenadas em preservações de glicerol 20% e em água salina. Assim, os isolados foram cultivados em meio ágar nutriente (AN) como meio de trabalho ou em meio caldo nutriente (CN) por 24 h a 28-30 °C em BOD.

5.2.2 Avaliação da produção de violaceína sob diferentes condições de cultivo em meio líquido

5.2.2.1 Curva de crescimento

Para realizar a curva de crescimento, *C. subtsugae* foi inicialmente cultivada em placas de Petri contendo meio AN. Posteriormente, foi preparada uma pré-cultura em 2 mL de meio líquido NB sob agitação de 140 rpm por 24 horas a 30 °C. Após esse período, a cultura foi diluída em meio NB até atingir DO₆₀₀, variando de 0,01 a 0,1, correspondendo a entre 1 e 10% de inóculo. Foram realizadas mensurações a cada 12 horas em leitor de microplacas (Agilent Biotek Epoch) DO₆₀₀ até completar 48 horas de cultivo, a fim de se observar as fases do crescimento da cepa.

5.2.2.2 Preparação de pré-cultura

Inicialmente *C. subtsugae* foi cultivada em placas de Petri contendo meio ágar nutriente (NA) por 48 horas em BOD a 30°C, seguido pela inoculação em frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 100 mL de meio líquido NB. A pré-cultura foi incubada a 30°C sob agitação

constante (140 rpm) em incubadora tipo shake por 24 horas. Além disso, a cultura semente foi preparada por diluição a uma DO_{600} de 0,1 em novos Erlenmeyers de 250 mL.

5.2.2.3 Condições de cultivo em meio líquido

Chromobacterium subtsugae foi cultivada em meio líquido CN sob três diferentes condições: 1) condição estática em câmara tipo BOD; 2) com agitação de 140 rpm usando um agitador orbital e 3) com aeração forçada com o auxílio de mini compressor Boyu S-510 4 L. Para cada condição, foi utilizada uma cultura-semente que foi inoculada em 9 frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio, a 30 °C, por 48 h.

Após dois dias, a cultura de *C. subtsugae* crescida nos diferentes tratamentos foi semeada em placas de ágar nutriente e então as colônias foram visualizadas após 48 horas de incubação a 30°C.

5.2.2.4 Extração e quantificação da violaceína

Para a quantificação bruta de violaceína, 1 ml de caldo de cultura de cada tratamento foi coletado e então centrifugados a $9.660 \times g$ por 10 minuto. Então, foi adicionado 1 ml de etanol absoluto à mistura pellet-pigmento, seguido de mistura para extrair o pigmento para a fase de etanol (Sasidharan *et al.*, 2015) e centrifugação. Todos os extratos de etanol foram coletados e a absorbância foi medida em 585 nm, utilizando um leitor de microplacas (Agilent Biotek Epoch) para quantificar a violaceína.

Em seguida, os resultados obtidos foram aplicados à equação de Lambert-Beer, utilizando a absortividade molar padrão $0.05601 \text{ mL } \mu\text{g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Patel *et al.*, 2015) com o objetivo de determinar a concentração do então composto na amostra de *C. subtsugae*.

$$A = \epsilon cl \quad \text{Equação de Lambert-Beer}$$

5.2.3 Avaliação das interações entre *Chromobacterium subtsugae* e *Bacillus* e *Priestia*: ensaios de sinergismo, *quorum sensing* e cocultivo

5.2.3.1 Teste de sinergismo e atividade QS por difusão em disco

O teste de sinergismo e atividade QS foi realizado usando o método de difusão em disco, conforme descrito por Jorgensen & Ferraro (2009), com modificações. Para esse teste, 100 μL de suspensões bacterianas dos diversos *Bacillus* foram espalhadas uniformemente na superfície

das placas de ágar nutriente (AN) de 90 mm de diâmetro. Em seguida, quatro discos de papel filtro inoculados com 5 µL da suspensão de *C. subtsugae* (Cs) (1×10^8 ufc mL⁻¹), foram colocados na superfície do meio. Um total de dez espécies entre *Bacillus* e *Priestia* (Tabela 1) foram submetidos a esse teste. As placas foram incubadas a 30 °C por 24 h.

Tabela 1 - Cepas bacterianas utilizadas.

Microrganismo	Cepa comercial
<i>Bacillus subtilis</i> (Bs)	ATCC-6051
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (Ba)	ATCVC23350
<i>Priestia megaterium</i> (Pm)	ATCC-14581
<i>Bacillus pumilus</i> (Bp)	ATCC-14884
<i>Bacillus licheniformis</i> (Bl)	ATCC-14580
<i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt)	ATCC-10792
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> (Btk)	ATCC-23350
<i>Bacillus safensis</i> (Bsaf)	CCT4443
<i>Bacillus velezensis</i> (Bv)	CCT7891
<i>Priestia aryabhattai</i> (Pary)	CCT4005

Fonte: elaboração própria (2024).

Após incubação, foi medido o diâmetro do halo de inibição e a análise da atividade QS (presença ou ausência do pigmento) por meio da análise de imagens. As imagens de alta resolução foram obtidas com o auxílio do equipamento Groundeye® e analisadas no software ImageJ. A zona de inibição ao redor de cada disco de Cs foi medida até o milímetro mais próximo.

5.2.3.2 Compatibilidade entre *Chromobacterium subtsugae* e *Bacillus* em cocultivo líquido e seus efeitos na produção de violaceína.

Para avaliar a compatibilidade entre *Chromobacterium subtsugae* (Cs) e diferentes cepas de *Bacillus* e *Priestia*, foram realizados cocultivos em meio líquido caldo nutriente (CN). As culturas iniciais de *C. subtsugae* e de cada cepa de *Bacillus* foram previamente cultivadas individualmente por 24 horas em NB a 30 °C, sob agitação a 140 rpm. Após esse período, as culturas foram ajustadas para uma DO₆₀₀ de 0,1 em espectrofotômetro.

Os cocultivos foram montados em tubos de vidro contendo 10 mL de CN estéril, inoculados com *C. subtsugae* e os demais microrganismos (tabela 1) (uma por tratamento), ambos com DO₆₀₀ inicial de 0,1. Os frascos foram incubados por 48 horas a 30 °C. Após o período de incubação, foram realizadas coletas para avaliação da produção de violaceína seguindo o protocolo de extração citado anteriormente.

5.2.4 Interação entre *C. subtsugae* e *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*

5.2.4.1 Teste de Interação em Placa

A compatibilidade de crescimento entre *Chromobacterium subtsugae* (Cs) e *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) foi observada em meio sólido (AN). Inicialmente, Cs e Btk foram cultivados separadamente a 30 °C, por 24 horas.

Em seguida, foram estabelecidas duas condições de cocultivo, variando a ordem de inoculação. Na primeira condição, a suspensão de *C. subtsugae* foi inoculada uniformemente sobre a superfície do meio AN e incubada por 24 horas a 30 °C. Após esse período, a suspensão de Btk foi inoculada em locais pontuais na mesma placa e a cultura foi mantida sob as mesmas condições por mais 24 horas. Na segunda condição, o ensaio foi realizado de forma inversa, com inoculação inicial de Btk, seguida da inoculação de Cs após 24 horas de incubação.

Após as 24 h, as regiões de contato das culturas de Btk e Cs foram obtidas para experimentos de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os estudos morfológicos foram realizados por um microscópio eletrônico de varredura (MEV) da marca TESCAN, modelo VEGA 3 LMS. As amostras foram colocadas em porta amostra de cobre sobre fita de carbono e metalizadas com uma camada de ouro.

5.2.4.2 Experimento cocultura com diferentes estratégias de inoculação

Para as monoculturas, 250 µL de uma suspensão bacteriana contendo 1×10^8 UFC/mL de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) ou *C. subtsugae* (Cs) foram inoculados separadamente em 250 mL de caldo nutriente (CN) e fermentados a 30 °C por cinco dias em condições estáveis. Os fermentados obtidos foram denominados culturas B (Btk) e C (Cs) (Li *et al.*, 2024).

Para o cocultivo, foram testadas três condições distintas: na primeira, ocorreu a inoculação simultânea de Btk e Cs; na segunda, houve a inoculação sequencial com *C. subtsugae* 24 horas antes de *B. thuringiensis* e, por fim, foi realizada a inoculação sequencial com *B. thuringiensis* 24 horas antes de *C. subtsugae*. Em todos os casos, 250 µL de cada suspensão bacteriana (1×10^8 UFC/mL) foram inoculados em 250 mL de CN. As culturas cocultivadas foram incubadas a 30 °C por cinco dias sob as mesmas condições das monoculturas. Após esse período foi realizada a quantificação da violaceína de cada tratamento, como descrito no item 5.2.2.4.

5.2.5 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando os softwares Excel, RStudio v4.3.0 e Orange Data Mining v3.35. Inicialmente, os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e ao teste de homogeneidade de variâncias de Bartlett. Para variáveis com distribuição normal e variâncias homogêneas, aplicou-se ANOVA, seguida do teste de comparações múltiplas de LSD ($p < 0,05$). Para dados não paramétricos, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Para análises exploratórias e de agrupamento hierárquico, utilizou-se a distância euclidiana e método de ligação de Ward. Todos os experimentos foram realizados em triplicada em três tempos independentes, com três repetições em um delineamento experimental inteiramente casualizado.

5.3. Resultados

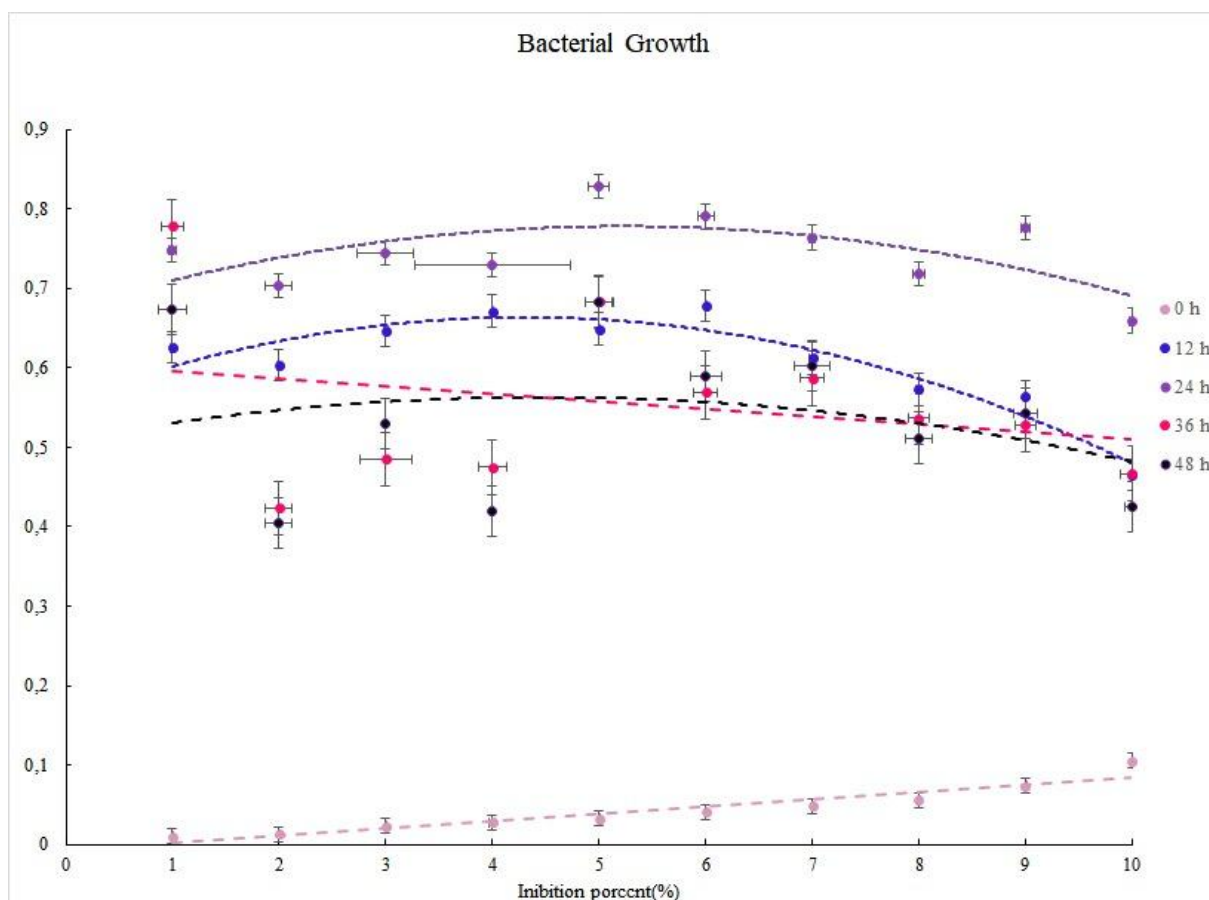
5.3.1 Avaliação da produção de violaceína sob diferentes condições de cultivo em meio líquido

5.3.1.1 Curva de crescimento

O crescimento de *C. subtsugae* ATCC-31532 foi acompanhado por 48h em meio CN. Foram utilizadas diferentes porcentagens de inoculação a fim de compreender o padrão de crescimento da cepa para os experimentos posteriores.

Os efeitos das diferentes porcentagens do inóculo inicial (1 a 10%) ao longo do tempo de crescimento de *C. subtsugae* ATCC-31532 foram analisados. Observou-se que os dados não apresentaram distribuição normal ($p < 0,05$), o que inviabilizou a aplicação de modelos de regressão paramétricos para explicar a relação entre a porcentagem de inoculação e o crescimento bacteriano. Os resultados demonstraram que, embora as diferentes porcentagens não tenham afetado significativamente a curva, ao longo do tempo é possível observar o perfil de crescimento da cepa bacteriana. Os tempos de 24 h e 36 h diferiram significativamente dos demais, sendo os períodos em que o crescimento foi mais acentuado. Entre 36 h e 48 h, não foi observada diferença significativa e uma redução na DO, indicando estabilização do crescimento (Figura 1).

Figura 1 - Curva de crescimento de *Chromobacterium subtsugae* em função da dose de inoculação e tempo de incubação.



Fonte: elaboração própria (2025).

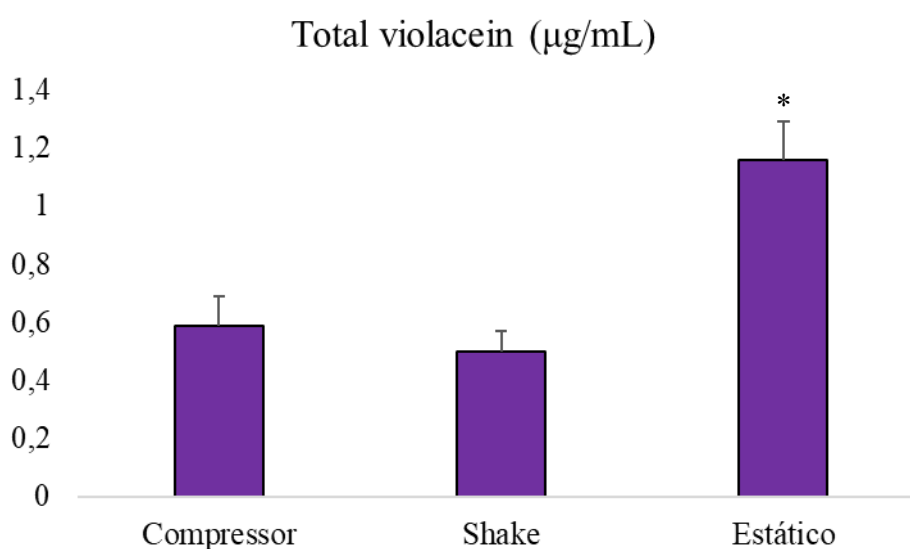
Esses resultados estão de acordo com os encontrados na literatura para o crescimento bacteriano. Nas primeiras 12 horas, observou-se um baixo crescimento em todas as situações testadas, comportamento esse comum entre cepas bacterianas devido à fase lag, ou seja, adaptação ao meio e às condições. A partir das 24 horas, a densidade óptica revelou um pico de crescimento, representando a fase de crescimento exponencial, que é a fase em que a reprodução celular é mais ativa. Já nos períodos de 36 a 48 horas, foi observada uma certa estabilização e declínio desse crescimento, respectivamente, indicando a fase estacionária e, posteriormente, o fim do ciclo celular. Nessa etapa, os nutrientes do meio começam a se esgotar, ocorre o aumento da taxa de morte celular e o acúmulo de resíduos tóxicos provenientes das atividades metabólicas das células (Tortora, 2012). Esses resultados são muito importantes para o planejamento experimental, pois representam as fases ideais para testes de densidade bacteriana e produção de metabólitos secundários, como a violaceína, uma vez que a produção desse pigmento começa durante a fase estacionária de crescimento e atinge seu máximo durante a fase inicial de morte (Pantanella *et al.*, 2006). A produção de violaceína é regulada por meio de

um sistema de sinalização baseado na molécula acil homosserina lactona (AHL) (Batista *et al.*, 2020). Sendo ativada em altas densidades celulares e em condições de redução de nutrientes, pode sinalizar a célula a ajustar seu metabolismo, favorecendo a síntese do pigmento e podendo estar associada à adaptação e competição no ambiente (Blosser e Gray, 2000; Clark e Broderick, 2024; Loo *et al.*, 2023).

5.3.1.2 Condições de cultivo em meio líquido

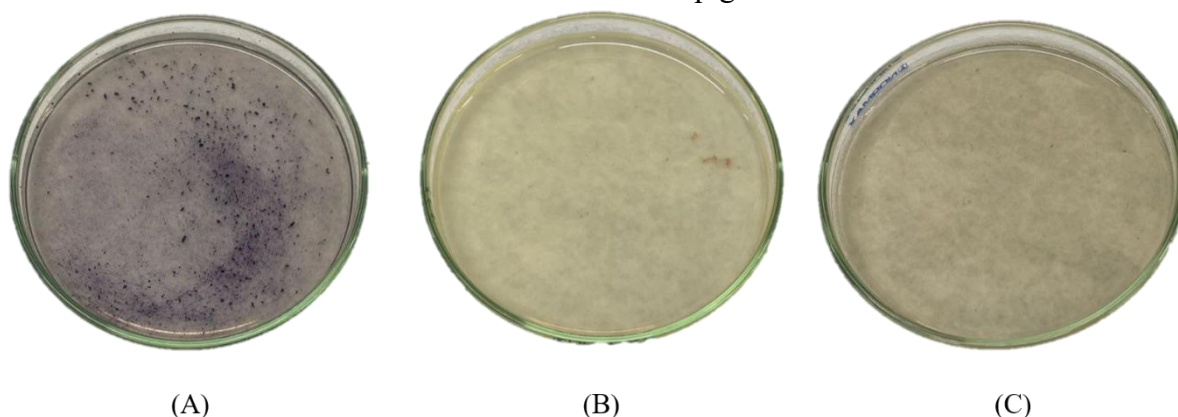
A análise revelou que a produção de violaceína foi significativamente maior na condição estática em comparação com as condições compressor e shake ($p < 0,05$), enquanto não houve diferença significativa entre compressor e shake. Além disso, a coloração das culturas variou visivelmente de acordo com a condição de cultivo (Figura 2 e 3). Cultivos sob condição estática apresentaram maior teor de violaceína e coloração roxa intensa, enquanto os tratamentos com maior aeração (shake e compressor) resultaram em coloração amarelada e menor pigmentação. Tais resultados sugerem que a produção de violaceína por *C. subtsugae* é favorecida por condições de baixa oxigenação, possivelmente associadas à formação de agregados celulares. Também foi observada a retomada da pigmentação ao transferir culturas de cor amarelada para meio sólido nutritivo.

Figura 8 - Produção de violaceína por *Chromobacterium subtsugae* após 48 horas de cultivo sob diferentes condições de aeração: compressor, shaker e estático. Foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). Os dados representam a média de três repetições independentes $\pm$ desvio padrão.



Fonte: elaboração própria (2025).

Figura 3 - Cultivos de *Chromobacterium subtsugae* ATCC 31532 em diferentes condições de oxigenação, após 24 horas em caldo nutriente. (A) Condição estática, com coloração roxa intensa; (B) Agitação shake, com coloração amarelada; (C) Aeração forçada com compressor, com ausência visível de pigmento.



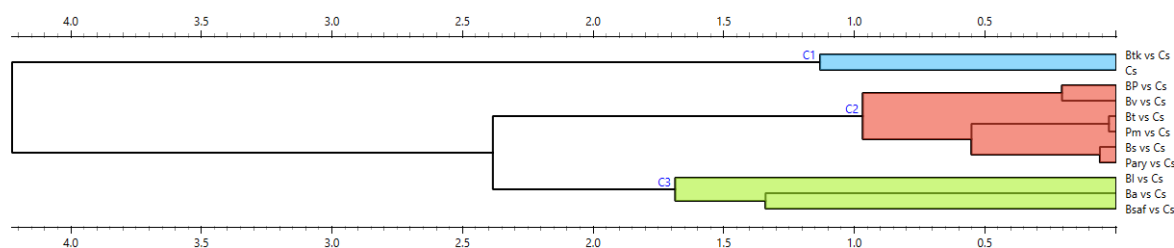
Fonte: elaboração própria (2025).

Diferentes respostas quanto à produção de violaceína em *C. subtsugae* foram observadas em todos os tratamentos, sendo a condição estável a que apresentou o melhor resultado quanto à variável analisada. Esse comportamento é semelhante ao observado por Yang *et al.* (2007) em *Pseudoalteromonas luteoviolaceo* e Frediansyah *et al.* (2022) em cepas de *Janthinobacterium*, quando a produção do pigmento foi reduzida em altas velocidades de agitação. As culturas submetidas às elevadas velocidades de agitação obtiveram colorações amareladas, enquanto as em condições estáveis foram arroxeadas, resultados esses semelhantes ao que observamos. Esse comportamento foi atribuído à quebra da agregação bacteriana que é essencial para produção da violaceína. Além disso, o estresse causado pela força de cisalhamento (Silva-Santisteban e Filho, 2005) e o aumento da oxigenação do meio também têm efeito negativo na produção de metabólitos (Heinemann, Howard e Palocz, 1970).

5.3.2 Avaliação das interações entre *Chromobacterium subtsugae* e *Bacillus*: ensaios de sinergismo, *quorum sensing* e cocultivo

A fim de avaliar a interação entre *Chromobacterium subtsugae* e diferentes cepas de *Bacillus* e *Priestia*, foram realizados ensaios de difusão em disco e cocultivo, visando detectar possíveis efeitos sinérgicos ou antagonistas sobre o crescimento bacteriano e a produção de violaceína. Através da análise de agrupamento hierárquico das variáveis “área do halo de inibição” e “área de pigmentação”, obtivemos três grupos distintos (Figura 4).

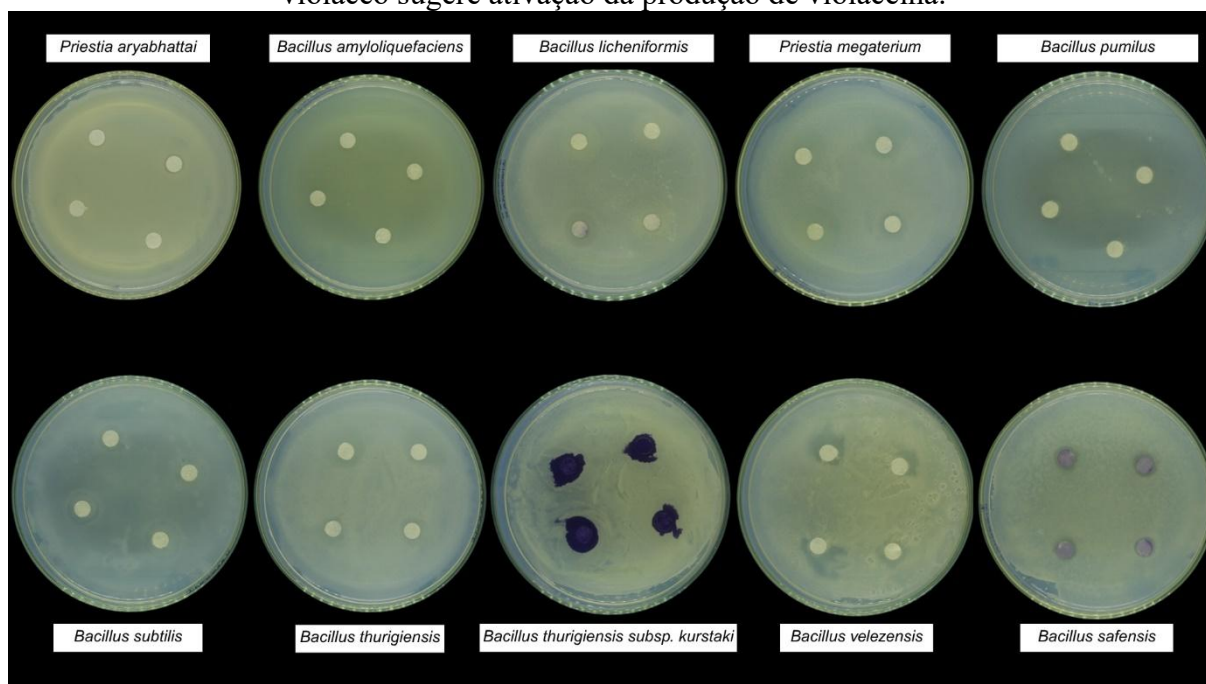
Figura 4 - Dendrograma da análise de agrupamento hierárquico dos tratamentos com *Chromobacterium subtsugae*, baseado nas médias da área do halo de inibição e pigmentação. A análise foi realizada pelo método de Ward com distância euclidiana, resultando na formação de três grupos distintos C1, C2 e C3, indicando diferentes padrões de interação interespecífica.



Fonte: elaboração própria (2025).

O grupo 1, composto por *C. subtsugae* (controle) e *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, não apresentou halo de inibição, mas exibiu aumento na produção de pigmento, sugerindo um possível efeito sinérgico ou estímulo do sistema de *quorum sensing* (QS). O grupo 2 apresentou halos de inibição moderados, com redução ou ausência de pigmento, o que pode indicar uma possível atividade antimicrobiana associada à interferência no QS, compatível com o mecanismo de *quorum quenching* (QQ). Já o grupo 3 incluiu espécies que, apesar de apresentarem algum grau de inibição por *C. subtsugae*, também resultaram em produção de pigmento, refletindo um perfil fenotípico mais variável, possivelmente relacionado às diferentes interações competitivas entre espécies (Figura 5).

Figura 5 - Ensaios de difusão em disco demonstrando a interação entre *Chromobacterium subtsugae* e diferentes cepas de microrganismos. A presença de halos claros ao redor dos discos indica inibição do crescimento de *C. subtsugae*, enquanto a formação de pigmento violáceo sugere ativação da produção de violaceína.



Fonte: elaboração própria (2025).

Na literatura, resultados semelhantes já foram observados, nos quais a produção de violaceína por *Chromobacterium* sp. em cocultivo é influenciada pela espécie com a qual interage. Shiau e Lin (2011) demonstraram que *C. violaceum* em interação com *Chryseobacterium indologenes* estimulou a produção do pigmento, enquanto outras bactérias, como *Serratia marcescens* ou *Pantoea agglomerans*, reduzem sua síntese, possivelmente por mecanismos de degradação da violaceína ou por bloqueio da sinalização por *quorum sensing*.

A produção de violaceína não está necessariamente correlacionada ao crescimento celular, uma vez que agentes antibacterianos podem inibir a expressão da violaceína (regulada pelo sistema QS Cvir/Cvil) sem causar a morte celular, indicando um potencial de *quorum quenching* (QQ) (Ayyappan e Bhaskaran, 2022). Estes resultados são semelhantes aos observados no grupo 2, em que cepas como *B. amyloliquefacien* e *B. pumilus* inibiram a produção de violaceína por *C. subtsugae* sem impactar visivelmente seu crescimento.

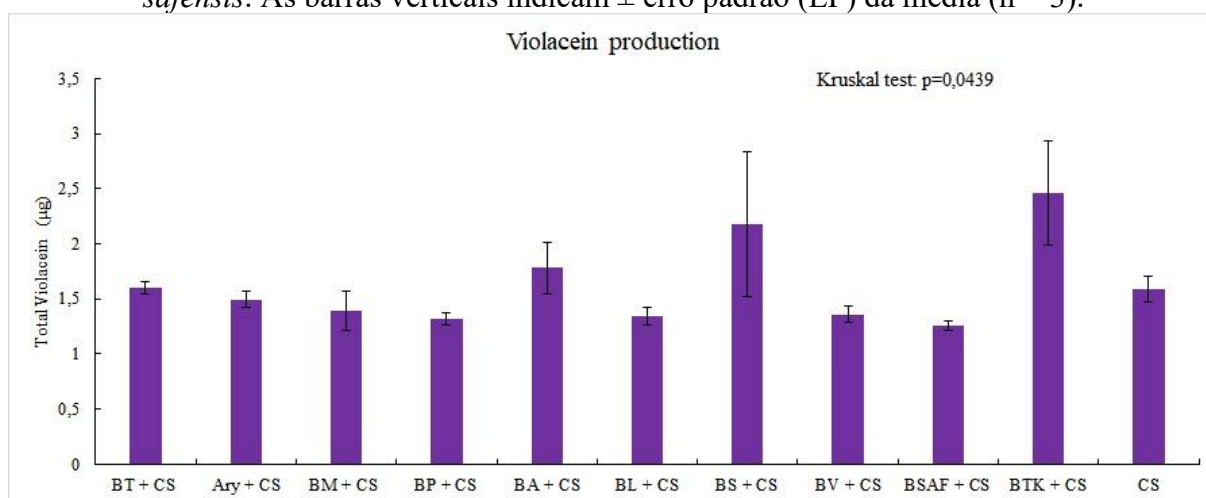
Além disso, *Chromobacterium subtsugae* apresentou atividade antimicrobiana significativa contra algumas espécies, evidenciada pela formação de halos de inibição em *Priestia megaterium*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus velezensis* e *Bacillus licheniformis*. A produção desses efeitos pode estar relacionada à regulação de metabólitos antimicrobianos, como o cianeto de hidrogênio e a violaceína, mediados por QS com atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, sendo a interferência e ruptura da

membrana citoplasmática os principais mecanismos associados a esta atividade (Monnerat *et al.*, 2020; Choi *et al.*, 2020; Rijavec e Lapanje, 2016; Cauz *et al.*, 2019).

Após a análise fenotípica em meio sólido, aprofundou-se a avaliação das interações entre *C. subtsugae* e as demais cepas em cocultivo. Para isso, os microrganismos foram cultivados simultaneamente em meio líquido CN, com o objetivo de quantificar a produção de violaceína nas diferentes situações.

Os resultados mostraram diferenças significativas na produção de violaceína entre os tratamentos (Figura 6). As maiores concentrações de violaceína foram observadas nos tratamentos BTK e BS, seguidos por Ba e pelo controle Cs, sugerindo que essas interações não inibiram a produção do pigmento. Por outro lado, os cocultivos com BSAF, BV e BL apresentaram as menores quantidades de pigmento, indicando possível atividade de QQ ou repressão competitiva.

Figura 6 - Produção de violaceína (μg) por *Chromobacterium subtsugae* (CS) em monocultivo e cocultivo com diferentes cepas do gênero *Bacillus* e *Priestia*. Os dados representam a média e o desvio padrão da produção total de pigmento. Observa-se variação significativa entre os tratamentos (teste de Kruskal-Wallis, $p = 0,0439$). Siglas: BT – *B. thuringiensis*, Ary – *P. aryabhattai*, BM – *P. megaterium*, BP – *B. pumilus*, BA – *B. amyloliquefaciens*, BL – *B. licheniformis*, BS – *B. subtilis*, BV – *B. velezensis*, BSAF – *B. safensis*. As barras verticais indicam $\pm$ erro padrão (EP) da média ($n = 3$).



Fonte: elaboração própria (2025).

As cepas que apresentaram os maiores halos de inibição em contato com *C. subtsugae*, como *B. safensis*, *B. licheniformis* e *P. megaterium*, foram também aquelas associadas à menor produção de violaceína no cocultivo.

Os mecanismos envolvidos na repressão desse pigmento podem estar associados à degradação de Acil Homoserina Lactonas (AHL), moléculas autoindutoras que mediam o sistema QS. Esse processo ocorre através da hidrólise do anel de lactona das AHLs, catalisada por enzimas lactonases (Ayyappan e Bhaskaran, 2022; Tang *et al.*, 2015). Essas enzimas foram

identificadas em uma ampla gama de bactérias, principalmente no gênero *Bacillus*. Elas inativam o anel de lactona presente nas AHLs, assim a molécula não consegue mais ativar o receptor de *quorum sensing*, ou seja, a comunicação bacteriana é interrompida (Liu *et al.*, 2019; Mion *et al.*, 2021).

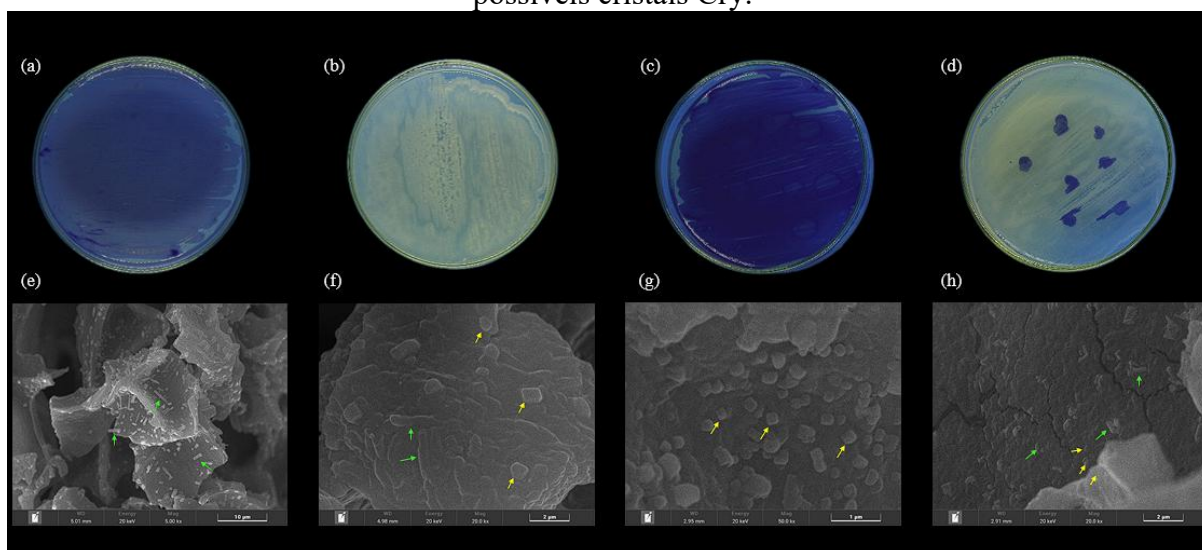
Embora *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* produza lactonases do tipo AiiABTK que causam a supressão do QS em *C. violaceum* (Slamti *et al.*, 2016; Thomas *et al.*, 2005), observou-se aumento na produção de violaceína durante cocultivo com *C. subtsugae*. Esse comportamento pode ser compreendido por meio das interações metabólicas que ocorrem em consórcios microbianos, nos quais diferentes espécies compartilham o ambiente e podem beneficiar-se mutuamente ou unilateralmente para aumentar a produtividade, consumir eficientemente certos nutrientes ou manter a estabilidade do consórcio contra estresses ambientais. Essas interações de alimentação cruzada ou competição por pares permitem que o metabolismo de uma espécie favoreça o crescimento ou a atividade de outra, mesmo na ausência de sinalização direta (Bernstein e Carlson, 2012; Pacheco e Segrè, 2019; Silva-Andrade *et al.*, 2024). Além disso, a baixa competição metabólica pode ter ocasionado o acúmulo de AHLs por *C. subtsugae*, favorecendo a ativação do sistema CviR/CviI e, conseqüentemente, a expressão do operon vioA-E, resultando na produção da violaceína (Abinaya *et al.*, 2023).

5.3.3 Interação entre *C. subtsugae* e *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*

5.3.3.1 Teste de Interação em Placa

As análises de imagens geradas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) nos monocultivos e cocultivos foram realizadas com o objetivo de avaliar o impacto da interação interespecífica na morfologia de *Chromobacterium subtsugae* e *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) (Figura 7).

Figura 7 - (A) Monocultura de Cs, (B) Monocultura de Btk, (C) Cocultura de Cs + Btk, (D) Cocultura de Btk + Cs, (E) MEV da monocultura de Cs, (F) MEV da monocultura de Btk, (G) MEV da cocultura de Cs + Btk, (H) MEV da cocultura Btk + Cs. MEV, microscopia eletrônica de varredura. Setas verdes indicam bastonetes bacterianos; setas amarelas indicam possíveis cristais Cry.



Fonte: elaboração própria (2025).

Observou-se que ambas as espécies puderam crescer em conjunto em placas de AN sem a presença de halos de inibição (Fig. 6 A-D). O monocultivo de Cs apresentou coloração roxa intensa, característica da produção de violaceína, enquanto o de Btk exibiu coloração esbranquiçada. No cocultivo, nas regiões de contato, foi possível observar pigmento, indicando a produção de violaceína.

A análise dos monocultivos no MEV revelou bastonetes típicos da morfologia de Cs (E). No monocultivo de Btk (F), além das estruturas bastonetes, observou-se a presença de estruturas compatíveis com cristais Cry, geralmente associados ao processo de esporulação dessa espécie (Martin *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2023).

No cocultivo entre Cs + Btk (G), verificou-se aumento na densidade de estruturas cristalinas em comparação ao monocultivo, sugerindo uma possível relação antagonista. A produção de cristais Cry por Btk em cocultivo pode estar associada a mecanismos competitivos. Já no cocultivo entre Btk + Cs (H), foram observadas estruturas semelhantes, mas em menor quantidade, o que pode indicar que a ordem de exposição pode influenciar na resposta competitiva.

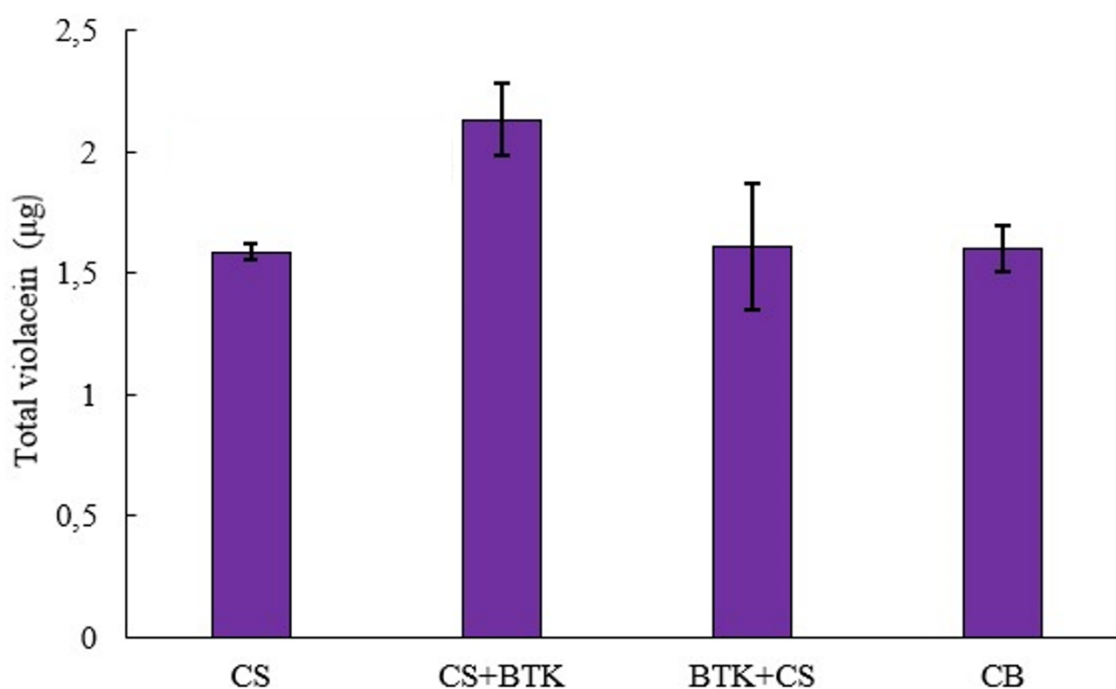
Esses resultados sugerem uma possível interação competitiva, potencialmente mediada por mecanismos de competição por espaço e nutrientes. A presença de cristais Cry em maior quantidade nos cocultivos reforça a ideia de ativação de vias de defesa e esporulação por parte de Btk em resposta ao estresse microbiano devido à presença de *C. subtsugae*. Tais interações podem estar impactando diretamente a produção de violaceína por Cs. Resultados semelhantes

foram observados por Yara *et al.* (1997), em que avaliaram a capacidade competitiva e de crescimento de *Bacillus thuringiensis* ao ser inoculado ao mesmo tempo com bactérias nativas de solo em solo estéril. Nessa situação, a cepa de *Bacillus thuringiensis*, quando em contato com outras bactérias, esporulou de forma imediata e não apresentou crescimento, sugerindo uma baixa capacidade competitiva, priorizando o gasto de sua energia com a produção de esporos como mecanismo de sobrevivência.

5.3.3.2 Experimento cocultura com diferentes estratégias de inoculação

Para determinar se a produção de violaceína por *C. subtsugae* em cocultivo era dependente da ordem de exposição ao *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, foram realizados experimentos com diferentes sequências de inoculação (Figura 8).

Figura 8 - Produção de violaceína por *Chromobacterium subtsugae* ($\mu\text{g/mL}$) em diferentes estratégias de cocultivo com *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (BTK): CS (monocultivo), CS+BTK (inoculação de *C. subtsugae* 24 h antes), BTK+CS (inoculação de BTK 24 h antes) e CB (inoculação simultânea). No entanto, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). As barras verticais indicam $\pm$ erro padrão (EP) da média ($n = 3$).



Fonte: elaboração própria (2025).

Em monocultivo, *C. subtsugae* apresentou uma produção média de violaceína de 1,6 $\mu\text{g/mL}$. No entanto, no tratamento CS+BTK, em que Cs foi inoculado inicialmente, seguido pela introdução de BTK (CS+BTK), foi observado um aumento na concentração do pigmento,

atingindo valores superiores a 2,0 µg/mL. Já nos tratamentos BTK+CS e CB, os teores de violaceína foram mais próximos em relação ao controle.

Esses dados indicam que CS responde de diferentes maneiras conforme a ordem temporal da interação com BTK. Quando inoculada inicialmente (CS+BTK), a maior produção de violaceína pode ter sido desencadeada como uma resposta ao estresse competitivo, uma vez que Cs já estava estabelecida no meio em alta densidade e a chegada de um competidor tardio poderia ativar as vias reguladas por QS. Essa interação pode ocasionar a expressão de genes da *vioA-E*, diretamente relacionada à biossíntese do pigmento. Além disso, a produção de metabólitos ou antibiose por parte de BTK pode induzir mecanismos de resistência adaptativa em Cs, até então desconhecidos (Bertrand *et al.*, 2014; Lozano *et al.*, 2020).

No tratamento BTK+CS, é possível que a presença prévia de BTK tenha favorecido mecanismos QQ relacionados às enzimas lactonases capazes de degradar as AHLs, causando assim a diminuição ou retardo da expressão de genes relacionados a síntese da violaceína (Aichar *et al.*, 2022).

Por fim, o tratamento CB, em que ambas as espécies foram inoculadas simultaneamente, reflete uma competição direta desde o início do cultivo, havendo uma competição mais intensa por limitação de nutrientes ou secreção de compostos antimicrobianos. Esse tipo de relação culmina na seleção da bactéria que prevalece na cultura mista. A interferência dual pode ter limitado tanto a comunicação por AHLs, quanto a ativação de vias biossintéticas secundárias, como observado em outros modelos de cocultivo (Cornforth e Foster, 2013; Netzker *et al.*, 2015).

Os dados sugerem que a dinâmica de inoculação influencia o comportamento metabólico de *C. subtsugae* em competição. Essas observações reforçam a necessidade de investigações futuras sobre os mecanismos moleculares envolvidos na modulação do *quorum sensing*, incluindo a expressão de genes associados às AHLs, à biossíntese do pigmento violáceo e à ativação de clusters gênicos silenciosos, que podem ser expressos apenas sob condições específicas de cocultivo. Além disso, análises comparativas dos metabólitos podem oferecer evidências mais robustas sobre os efeitos da interação microbiana na intensificação da produção de toxinas conhecidas ou na ativação de vias para novos compostos bioativos.

5.4. Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a interação competitiva entre *Chromobacterium subtsugae* e *Bacillus* sp. influencia de maneira significativa a produção de violaceína. O cocultivo sequencial, com a introdução de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*

após 24 horas do cultivo inicial de *C. subtsugae*, promoveu o maior incremento na biossíntese do pigmento, sugerindo que fatores temporais são determinantes na modulação do sistema de *quorum sensing*.

Este estudo fornece subsídios relevantes para o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas, visando à otimização da produção de violaceína e outros compostos bioativos. Ademais, destaca a importância de considerar os aspectos ecológicos e moleculares das interações bacterianas em sistemas de cocultivo voltados à indústria farmacêutica, agrícola e ambiental. Os dados também sugerem que a interação entre *C. subtsugae* e *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* pode ser explorada em estudos futuros voltados ao desenvolvimento de formulações microbianas sinérgicas, com aplicação potencial no controle biológico de insetos.

5.5. Referências Bibliográficas

ABINAYA, K.; GOPINATH, S. C. B.; KUMAREVEL, T.; RAMAN, P. Anti-quorum sensing activity of selected cationic amino acids against *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Process Biochemistry**, v. 133, p. 75-84, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.08.004>

AYYAPPAN, S. V.; BHASKARAN, K. Extracellular lactonase-mediated quorum quenching by a novel *Bacillus velezensis*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 369, n. 1, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnac095>

AZIMI, S.; KLEMENTIEV, A. D.; WHITELEY, M.; DIGGLE, S. P. Bacterial quorum sensing during infection. **Annual Review of Microbiology**, v. 74, n. 1, p. 201-219, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-032020-093845>

BATISTA, J. H.; LEAL, F. C.; FUKUDA, T. T. H.; ALCOFORADO DINIZ, J.; ALMEIDA, F.; PUPO, M. T.; DA SILVA NETO, J. F. Interplay between two quorum sensing-regulated pathways, violacein biosynthesis and VacJ/Yrb, dictates outer membrane vesicle biogenesis in *Chromobacterium violaceum*. **Environmental Microbiology**, v. 22, n. 6, p. 2432-2442, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15033>

BERNSTEIN, H. C.; CARLSON, R. P. Microbial consortia engineering for cellular factories: in vitro to in silico systems. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 3, n. 4, p. e201210017, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5936/csbj.201210017>

BERTRAND, S.; BOHNI, N.; SCHNEE, S.; SCHUMPP, O.; GINDRO, K.; WOLFENDER, J.-L. Metabolite induction via microorganism co-culture: A potential way to enhance chemical diversity for drug discovery. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 6, p. 1180-1204, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.03.001>

BLOSSER, R. S.; GRAY, K. M. Extraction of violacein from *Chromobacterium violaceum* provides a new quantitative bioassay for N-acyl homoserine lactone autoinducers. **Journal of Microbiological Methods**, v. 40, n. 1, p. 47-55, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(99\)00136-0](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(99)00136-0)

CAUZ, A. C. G.; CARRETERO, G. P. B.; SARAIVA, G. K. V.; PARK, P.; MORTARA, L.; CUCCOVIA, I. M.; BROCCHI, M.; GUEIROS-FILHO, F. J. Violacein Targets the cytoplasmic membrane of bacteria. **ACS Infectious Diseases**, v. 5, n. 4, p. 539-549, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.8b00245>

CHENG, K. C.; HSIAO, H. C.; HOU, Y. C.; HSIEH, C. W.; HSU, H. Y.; CHEN, H. Y.; LIN, S. P. Improvement in violacein production by utilizing formic acid to induce quorum sensing in *Chromobacterium violaceum*. **Antioxidants**, v. 11, n. 5, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox11050849>

CHODKOWSKI, J. L.; SHADE, A. Bioactive exometabolites drive maintenance competition in simple bacterial communities. **mSystems**, v. 9, n. 4, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/msystems.00064-24>

CHOI, S. Y.; LIM, S.; CHO, G.; KWON, J.; MUN, W.; IM, H.; MITCHELL, R. J. *Chromobacterium violaceum* delivers violacein, a hydrophobic antibiotic, to other microbes in membrane vesicles. **Environmental Microbiology**, v. 22, n. 2, p. 705-713, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14888>

CLARK, M. M.; BRODERICK, N. A. Whole-genome sequencing of *Chromobacterium subtsugae* strains exhibiting toxicity to *Drosophila melanogaster*. **Microbiology Resource Announcements**, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mra.00127-24>

CORNFORTH, D. M.; FOSTER, K. R. Competition sensing: the social side of bacterial stress responses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 4, p. 285-293, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2977>

DERYABIN, D. G.; INCHAGOVA, K. S.; NIKONOROVA, E. R.; KARIMOV, I. F.; DUSKAEV, G. K. Quorum Sensing in *Chromobacterium subtsugae* ATCC 31532 (Formerly *Chromobacterium violaceum* ATCC 31532): Transcriptomic and Genomic Analyses. **Microorganisms**, v. 13, n. 5, p. 1021, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13051021>

DURÁN, N.; JUSTO, G. Z.; DURÁN, M.; BROCCHI, M.; CORDI, L.; TASIC, L.; CASTRO, G. R.; NAKAZATO, G. Advances in *Chromobacterium violaceum* and properties of violacein- Its main secondary metabolite: A review. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 5, p. 1030-1045, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.06.003>

EL AICHAR, F.; MURAS, A.; PARGA, A.; OTERO, A.; NATECHE, F. Quorum quenching and anti-biofilm activities of halotolerant *Bacillus* strains isolated in different environments in Algeria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 132, n. 3, p. 1825-1839, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jam.15355>

FREDIANSYAH, A.; MANUHARA, Y. S. W.; KRISTANTI, A. N.; LUQMAN, A.; WIBOWO, A. T. Fermentation in minimal media and fungal elicitation enhance violacein and deoxyviolacein production in two *Janthinobacterium* strains. **Fermentation**, v. 8, n. 12, p. 714, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/fermentation8120714>

GÓMEZ-GÓMEZ, B.; ARREGUI, L.; SERRANO, S.; SANTOS, A.; PÉREZ-CORONA, T.; MADRID, Y. Selenium and tellurium-based nanoparticles as interfering factors in quorum sensing-regulated processes: violacein production and bacterial biofilm formation.

Metalomics, v. 11, n. 6, p. 1104-1114, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c9mt00044e>

HEINEMANN, B.; HOWARD, A. J.; PALOCZ, H. J. Influence of dissolved oxygen levels on production of L-asparaginase and prodigiosin by *Serratia marcescens*. **Applied Microbiology**, v. 19, n. 5, p. 800-804, 1970. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/am.19.5.800-804.1970>

HERRMANN, L. W.; LETTI, L. A. J.; PENHA, R. de O.; SOCCOL, V. T.; RODRIGUES, C.; SOCCOL, C. R. *Bacillus* genus industrial applications and innovation: First steps towards a circular bioeconomy. **Biotechnology Advances**, v. 70, p. 108300, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108300>

HUANG, C.; CHU, X.; HUI, W.; XIE, C.; XU, X. Study on extraction and characterization of new antibiotics violacein from engineered *Escherichia coli* VioABCDE-SD. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 70, n. 5, p. 1582-1596, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bab.2454>

JORGENSEN, J. H.; FERRARO, M. J. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 11, p. 1749-1755, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/647952>

LECHÓN-ALONSO, P.; CLEGG, T.; COOK, J.; SMITH, T. P.; PAWAR, S. The role of competition versus cooperation in microbial community coalescence. **PLOS Computational Biology**, v. 17, n. 11, p. e1009584, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009584>

LI, Q.; LIN, W.; ZHANG, X.; WANG, M.; ZHENG, Y.; WANG, X.; GAO, G.; LI, Y.; ZHAO, D.; ZHANG, C. Transcriptomics integrated with metabolomics reveal the competitive relationship between co-cultured *Trichoderma asperellum* HG1 and *Bacillus subtilis* Tpb55. **Microbiological Research**, v. 280, p. 127598, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127598>

LIU, P.; CHEN, Y.; SHAO, Z.; CHEN, J.; WU, J.; GUO, Q.; SHI, J.; WANG, H.; CHU, X. AhlX, an N-acylhomoserine lactonase with unique properties. **Marine Drugs**, v. 17, n. 7, p. 387, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md17070387>

LIU, S.; ZHAO, L.; LI, M.; ZHU, Y.; LIANG, D.; MA, Y.; SUN, L.; ZHAO, G.; TU, Q. Probiotic *Bacillus* as fermentation agents: Status, potential insights, and future perspectives. **Food Chemistry: X**, v. 22, p. 101465, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101465>

LIU, Y.; JIA, B.; REN, Y.; XUN, W.; STEFANIC, P.; YANG, T.; MIAO, Y.; ZHANG, N.; YAO, Y.; ZHANG, R.; XU, Z.; SHEN, Q.; MANDIC-MULEC, I. Bacterial social interactions in synthetic *Bacillus* consortia enhance plant growth. **iMeta**, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/imt2.70053>

LOO, C.; KOIRALA, P.; SMITH, N. C.; EVANS, K. C.; BENOMAR, S.; PARISI, I. R.; OLLER, A.; CHANDLER, J. R. Cross-species activation of hydrogen cyanide production by a promiscuous quorum-sensing receptor promotes *Chromobacterium subtsugae* competition in a dual-species model. **Microbiology (United Kingdom)**, v. 169, n. 2, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/mic.0.001294>

LOZANO, G. L.; GUAN, C.; CAO, Y.; BORLEE, B. R.; BRODERICK, N. A.; STABB, E. V.; HANDELSMAN, J. A Chemical counterpunch: *Chromobacterium violaceum* ATCC 31532 produces violacein in response to translation-inhibiting antibiotics. **mBio**, v. 11, n. 3, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mBio.00948-20>

MAITHANI, D.; SHARMA, A.; GANGOLA, S.; CHAUDHARY, P.; BHATT, P. Insights into applications and strategies for discovery of microbial bioactive metabolites. **Microbiological Research**, v. 261, p. 127053, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127053>

MARTIN, P. A. W.; GUNDERSEN-RINDAL, D.; BLACKBURN, M.; BUYER, J. *Chromobacterium subtsugae* sp. nov., a betaproteobacterium toxic to Colorado potato beetle and other insect pests. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 5, p. 993-999, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64611-0>

MION, S.; CARRIOT, N.; LOPEZ, J.; PLENER, L.; ORTALO-MAGNÉ, A.; CHABRIÈRE, E.; CULIOLI, G.; DAUDÉ, D. Disrupting quorum sensing alters social interactions in *Chromobacterium violaceum*. **npj Biofilms and Microbiomes**, v. 7, n. 1, p. 40, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41522-021-00211-w>

NETZKER, T.; FISCHER, J.; WEBER, J.; MATTERN, D. J.; KÖNIG, C. C.; VALIANTE, V.; SCHROECKH, V.; BRAKHAGE, A. A. Microbial communication leading to the activation of silent fungal secondary metabolite gene clusters. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00299>

PACHECO, A. R.; SEGRÈ, D. A multidimensional perspective on microbial interactions. **FEMS Microbiology Letters**, v. 366, n. 11, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz125>

PANTANELLA, F.; BERLUTTI, F.; PASSARIELLO, C.; SARLI, S.; MOREA, C.; SCHIPPA, S. Violacein and biofilm production in *Janthinobacterium lividum*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 0, n. 0, p. 061120055200056-???, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03155.x>

PATEL, K.; ALI, A. K.; NAIR, N.; KOTHARI, V. In vitro Antibacterial Activity of *Manilkara hexandra* (Sapotaceae) Seed Extracts and Violacein against Multidrug Resistant *Streptococcus* mutans. **Journal of Natural Remedies**, v. 15, n. 1, p. 1, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.18311/jnr/2015/466>

POLONCA, S. Environment Shapes the Intra-species Diversity of *Bacillus subtilis* Isolates. **Microbial Ecology**, v. 79, n. 4, p. 853-864, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01455-y>

QIAN, J.; WANG, Y.; HU, Z.; SHI, T.; WANG, Y.; YE, C.; HUANG, H. *Bacillus* sp. as a microbial cell factory: Advancements and future prospects. **Biotechnology Advances**, v. 69, p. 108278, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108278>

RIJAVEC, T.; LAPANJE, A. Hydrogen cyanide in the rhizosphere: not suppressing plant pathogens, but rather regulating availability of phosphate. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01785>

RUIZ-SANCHEZ, J. P.; VILLEGAS-MENDEZ, M. A.; MONTAÑEZ, J.; BENAVENTE-VALDÉS, J. R.; MORALES-OYERVIDES, L. Microbial production of bioactive compounds: recent advancements and trends. In: SONI, S.; SUYAL, D. C.; MORALES-OYERVIDES, L. (Eds.). **Microbial Bioactive Compounds**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2023. p. 1-20. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-031-40082-7_1

SASIDHARAN, A.; SASIDHARAN, N. K.; AMMA, D. B. N. S.; VASU, R. K.; NATARAJA, A. V.; BHASKARAN, K. Antifungal activity of violacein purified from a novel strain of *Chromobacterium* sp. NIIST (MTCC 5522). **Journal of Microbiology**, v. 53, n. 10, p. 694-701, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12275-015-5173-6>

SILVA-ANDRADE, C.; RODRIGUEZ-FERNÁNDEZ, M.; GARRIDO, D.; MARTIN, A. J. M. Using metabolic networks to predict cross-feeding and competition interactions between microorganisms. **Microbiology Spectrum**, v. 12, n. 5, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/spectrum.02287-23>

SILVA-SANTISTEBAN, B. O. Y.; FILHO, F. M. Agitation, aeration and shear stress as key factors in inulinase production by *Kluyveromyces marxianus*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 36, n. 5-6, p. 717-724, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.12.008>

SLAMTI, L.; LEMY, C.; HENRY, C.; GUILLOT, A.; HUILLET, E.; LERECLUS, D. CodY Regulates the activity of the virulence quorum sensor plcr by controlling the import of the signaling peptide papr in *Bacillus thuringiensis*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01501>

TANG, K.; SU, Y.; BRACKMAN, G.; CUI, F.; ZHANG, Y.; SHI, X.; COENYE, T.; ZHANG, X.-H. MomL, a Novel Marine-Derived *N*-Acyl Homoserine lactonase from *Muricauda olearia*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 2, p. 774-782, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.02805-14>

THOMAS, P. W.; STONE, E. M.; COSTELLO, A. L.; TIERNEY, D. L.; FAST, W. The Quorum-Quenching lactonase from *Bacillus thuringiensis* is a metalloprotein. **Biochemistry**, v. 44, n. 20, p. 7559-7569, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bi050050m>

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiology: An introduction**. 10th edition. Glenview: Pearson, 2012.

YANG, L. H.; XIONG, H.; LEE, O. O.; QI, S.-H.; QIAN, P.-Y. Effect of agitation on violacein production in *Pseudoalteromonas luteoviolacea* isolated from a marine sponge. **Letters in Applied Microbiology**, v. 44, n. 6, p. 625-630, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02125.x>

YARA, K.; KUNIMI, Y.; IWAHANA, H. Comparative Studies of Growth Characteristic and Competitive ability in *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* in Soil. **Applied Entomology and Zoology**, v. 32, n. 4, p. 625-634, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1303/aez.32.625>

YU, G.; GE, X.; LI, W.; JI, L.; YANG, S. Interspecific cross-talk: The catalyst driving microbial biosynthesis of secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 76, p. 108420, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108420>

ZHANG, R.; LUO, Y.; GANG, L.; XU, Y.; ZHANG, X.; PENG, Q.; SLAMTI, L.; LERECLUS, D.; WANG, G.; SONG, F. Key amino acids residues enhance the ability of CpcR to activate cry gene expression in *Bacillus thuringiensis*. **Research in Microbiology**, v. 174, n. 6, p. 104051, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104051>

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que as interações entre *Chromobacterium subtsugae* e espécies de *Bacillus* podem influenciar tanto positiva, quanto negativamente a produção de violaceína, dependendo do momento de inoculação entre as espécies. O cocultivo sequencial com *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* promoveu maior indução do pigmento, sugerindo que fatores temporais e competitivos modulam a atividade do sistema de quorum sensing.

Esses achados reforçam o potencial do uso de culturas mistas como estratégia para otimizar a produção de metabólitos bioativos com aplicações diversas, especialmente na agricultura, na indústria farmacêutica e em biotecnologia. Além disso, evidenciam a relevância de explorar interações microbianas como ferramenta para ativar vias metabólicas silenciosas ou pouco conhecidas.

Como perspectivas futuras, recomenda-se o aprofundamento das análises moleculares e metabolômicas dessas interações, bem como a aplicação de consórcios microbianos na sistemas industriais, farmacêuticos, agrícolas e outros contextos biotecnológicos, visando a produção de violaceína em escala e a avaliação da pureza e estabilidade do pigmento em formulações comerciais. Esses avanços poderão viabilizar o uso industrial da violaceína, consolidando-a como uma alternativa sustentável e de valor agregado com inúmeras aplicações.

ANEXOS

FIGURA 1A. MEV monocultura de *Chromobacterium subtsugae*

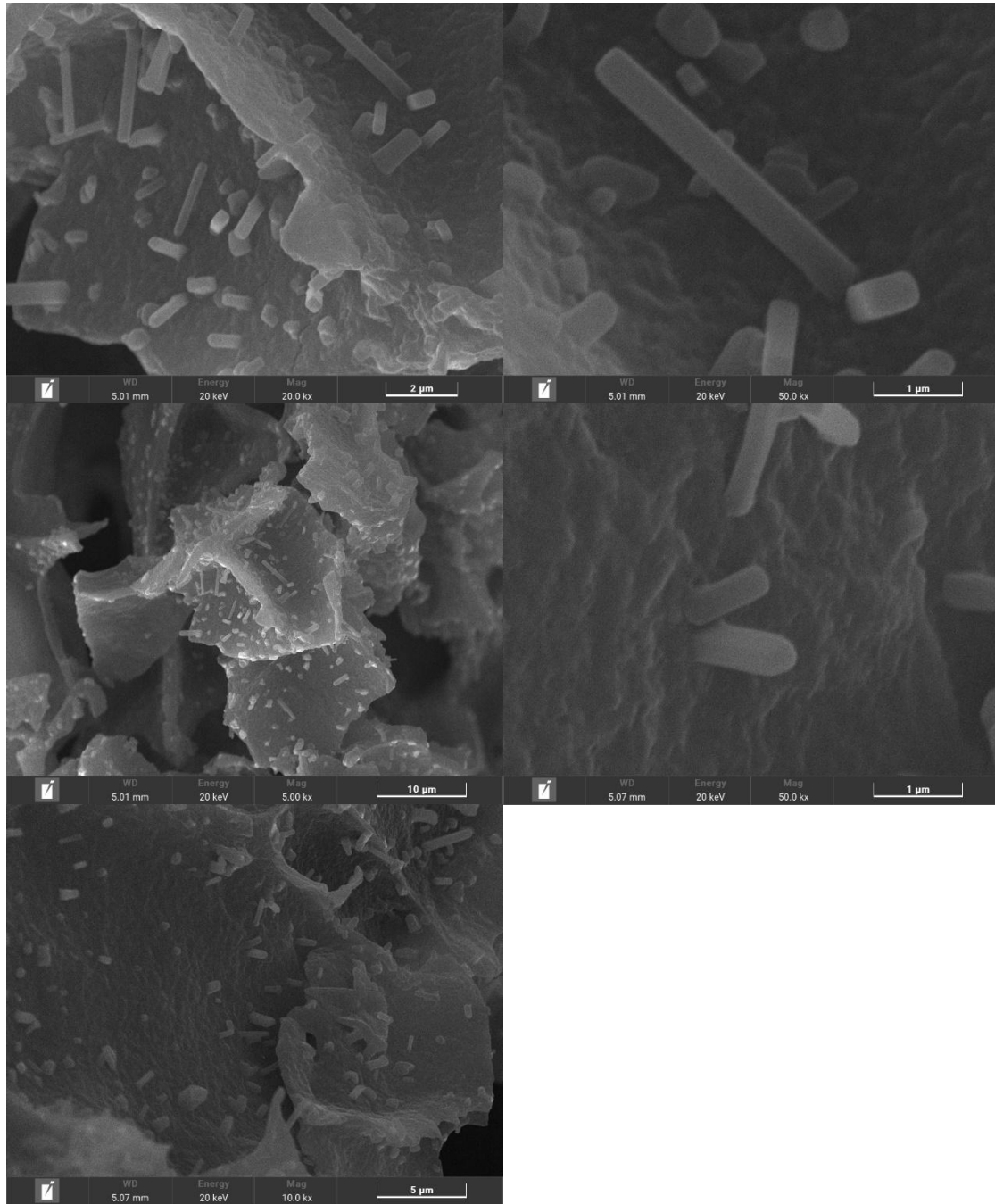


FIGURA 2A. Monocultura *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*

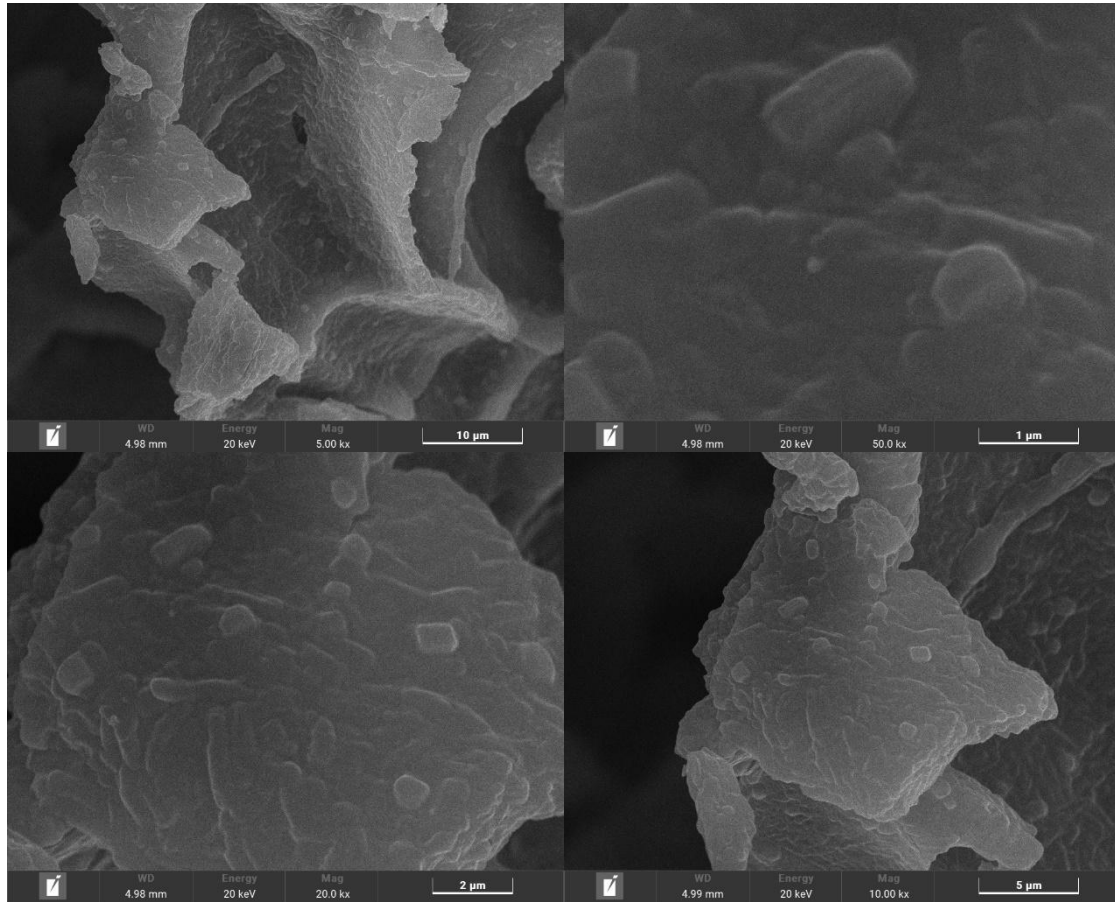


FIGURA 3A. Cocultura *Chromobacterium subtsugae* + *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*

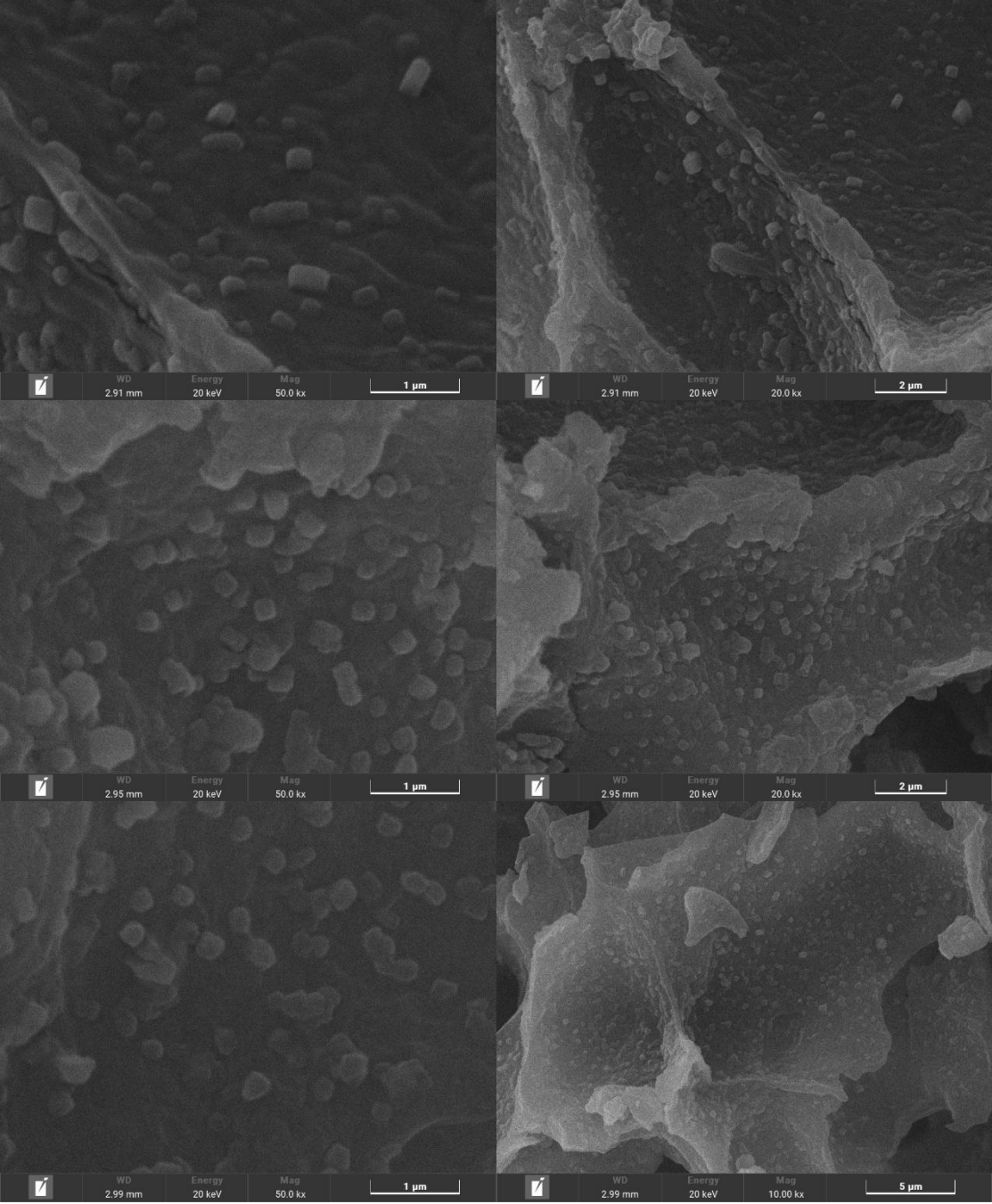


FIGURA 4A. Cocultura *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* + *Chromobacterium subtsugae*