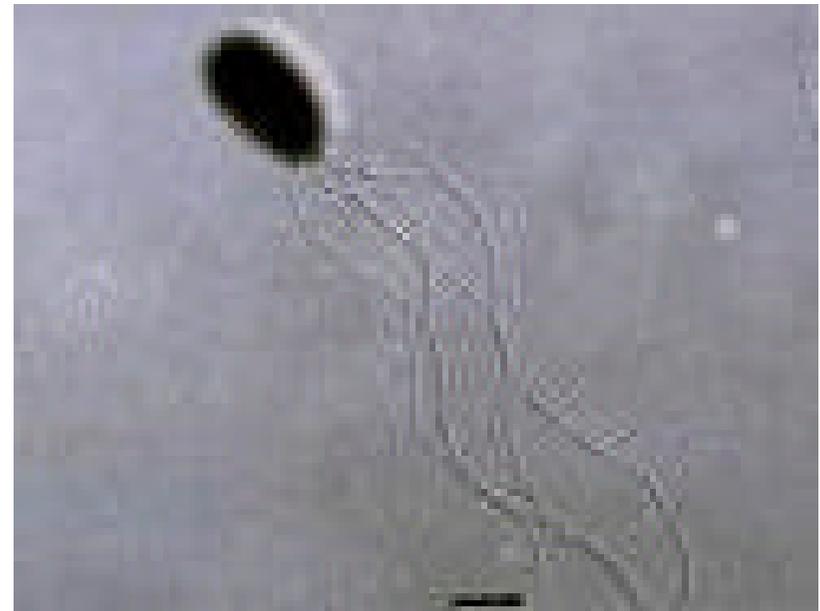


O Gênero Burkholderia: um Importante Componente da Comunidade Microbiana



Burkholderia cepacea

WEBER, O. B.; CORREIA, D.; ROCHA, M. W.; ALVEZ, G. C.; OLIVEIRA, E. M.; SÁ, E. G. Resposta de plantas micropropagadas de abacaxizeiro à inoculação de bactérias diazotróficas em casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, p. 1419-1426, 2003.

YABUUCHI, E.; KOSAKO, Y.; OYAIZU, H.; YANO, I.; HOTTA, H.; NISHIUCHI, Y. Transfer of 2 *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov. proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1986) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v. 39, p. 897-904, 1995.

YABUUCHI, E.; KOSAKO, Y.; OYAIZU, H.; YANO, I.; HOTTA, H.; HASHIMOTO, Y.; EZAKI, T.; ARAKAWA, M. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of 7 species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v. 36, p. 1251-1275, 1992.

YOUNG, J. P. W. Phylogeny and taxonomy of rhizobia. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 186, p. 45-52, 1996.

ZHANG, H.; HANADA, S.; SHIGEMATSU, T.; SHIBUYA, K.; KAMAGATA, Y.; KANAGAWA, T.; KURANE, R. *Burkholderia kururiensis* sp. nov., a trichloroethylene (TCE)-degrading bacterium isolated from aquifer polluted with TCE. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 50, p. 743-749, 2000.

ZHAO, N.; QU, C.; WANG, E., CHEN, W. Phylogenetic evidence for the transfer of *Pseudomonas cocovenerans* (Vandamme et al., 1960) to the genus *Burkholderia* as *Burkholderia cocovenerans* (Vandamme et al., 1960) comb. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 45, p. 600-603, 1995.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ISSN 1517-8498

Novembro/2006

Documentos 219

O Gênero *Burkholderia*: Um Importante Componente da Comunidade Microbiana

Liamara Perin
Jean Luiz Simões Araújo
Verônica Massena Reis

Seropédica – RJ
2006

Exemplares desta publicação podem ser adquiridas na:

Embrapa Agrobiologia

BR465 – km 7

Caixa Postal 74505

23851-970 – Seropédica/RJ, Brasil

Telefone: (0xx21) 2682-1500

Fax: (0xx21) 2682-1230

Home page: www.cnpab.embrapa.br

e-mail: sac@cnpab.embrapa.br

Comitê Local de Publicações: Eduardo F. C. Campello (Presidente)
José Guilherme Marinho Guerra
Maria Cristina Prata Neves
Verônica Massena Reis
Robert Michael Boddey
Maria Elizabeth Fernandes Correia
Dorimar dos Santos Felix (Bibliotecária)

Expediente:

Revisores e/ou ad hoc: Jean Luiz Simões Araújo e Gustavo Ribeiro Xavier

Normalização Bibliográfica: Dorimar dos Santos Félix

Editoração eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia

1ª impressão (2006): 50 exemplares

P445g Perin, Liamara

O gênero *Burkholderia*; um importante componente da comunidade microbiana / Jean Luiz Simões-Araújo, Verônica Massena Reis. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2006. 32 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 219).

ISSN 1517-8498

1. Microbiologia. 2. Bactéria diazotrófica. 3. Controle biológico. 4. Doença de planta. I. Simões-Araújo, J. L., colab. II. Reis, V. M., colab. III. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (Seropédica, RJ). IV. Título. V. Série.

CDD 579.3

© Embrapa 2006

VAN OEVELEN, S.; DE WACHTER, R.; VANDAMME, P.; ROBBRECHT, E.; PRINSEN, E. Candidatus *Burkholderia calva* and 'Candidatus *Burkholderia nigropunctata*' as leaf gall endosymbionts of African *Psychotria*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, p. 2237-2239, 2004.

VERMA, S. C.; CHOWDHURY, S. P.; TRIPATHI, A. K. Phylogeny based on 16S rDNA and *nifH* sequences of *Ralstonia taiwanensis* strains isolated from nitrogen-fixing nodules of *Mimosa pudica*, in India. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, p. 313-322, 2004.

VERMIS, K.; BRACHKOVA, M.; VANDAMME, P.; NELIS, H. Isolation of *Burkholderia cepacea* complex genomovars from waters. **Systematic and Applied Microbiology**, Jena, v. 26, p. 595-600, 2003.

VIALLARD, V.; POIRIER, I.; COURNOYER, B.; HAURAT, J.; WIEBKIN, S.; OPHEL, K.; BALANDREAU, J. *Burkholderia graminis* sp. nov., a rhizosferic *Burkholderia* species, and reassessment of [*Pseudomonas*] *phenazinium*, [*Pseudomonas*] *pyrrocinia* and [*Pseudomonas*] *glathei* as *Burkholderia*. **International Journal of Systematic and Microbiology**, Reading, v. 48, p. 549-563, 1998.

WANG, J. Y.; HUANG, X. J.; KAO, J. C. M.; STABNIKOVA, O. Removal of heavy metals from kaolin using an upward electrokinetic soil remedial (UESR) technology. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 136, p. 532-541, 2006.

WEBER, O. B.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Bactérias diazotróficas em mudas de bananeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, p. 2277-2285, 2000.

WEBER, O. B.; BALDANI, V. L. D.; TEIXEIRA, K. R. dos S.; KIRCHHOF, G.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Isolation and characterization of diazotrophic bacteria from banana and pineapple plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 210, p. 103-113, 1999.

TRAN VAN, V.; BERGE, O.; KE, S. N.; BALANDREAU, J.; HEULIN, T. Repeated beneficial effects of rice inoculation with a strain of *Burkholderia vietnamiensis* on early and late yield components in low fertility sulphate acid soils of Vietnã. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 218, p. 273-284, 2000.

VAN BERKUM, P.; EARDLY, B. D. Molecular evolutionary systematics of the Rhizobiaceae. In: SPAINK, H. P.; KONDOROSI, A.; HOOYKAAS, P. J. J. (ed.). **The rhizobiaceae: molecular biology of model plant-associated bacteria**. Dordrecht: Kluwer, 1998. p. 1-24.

VAN BORM, S.; BUSCHINGER, A.; BOOMSMA, J. J.; BILLEN, J. Tetraponera ants have gut symbionts related to nitrogen-fixing root-nodule bacteria. **Proceedings of the Royal Society of London**, Series B-Biological Sciences, London, v. 269, p. 2023-2027, 2002.

VANDAMME, P.; COENYE, T. Taxonomy of the genus *Cupriavidus*: a tale of lost and found. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, p. 2285-2289, 2004.

VANDAMME, P.; GORIS, J.; CHEN, W. M.; VOS, DE P.; WILLEMS, A. *Burkholderia tuberum* sp. nov. and *Burkholderia phymatum* sp. nov., nodulate the roots of tropical legumes. **Systematic and Applied Microbiology**, Jena, v. 25, p. 507-512, 2002a.

VANDAMME, P.; HENRY, D.; CONYE, T.; NZULA, S.; VANCANNEYT, M.; LI PUMA, J. J. *Burkholderia anthina* sp. nov. and *Burkholderia pyrrocinia*, two additional *Burkholderia cepacea* complex bacteria, may confound test results of new molecular diagnostic tools. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 33, p. 143-149, 2002b.

VAN OEVELEN, S.; DE WACHTER, R.; VANDAMME, P.; ROBBRECHT, E.; PRINSEN, E. Identification of the bacterial endosymbionts in leaf galls of *Psychotria* (Rubiaceae, angiosperms) and proposal of 'Candidatus *Burkholderia kirkii*' sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 52, p. 2023-2027, 2002.

Autores

Liamara Perin

Doutoranda em Agronomia - Ciência do Solo, UFRRJ.
BR 465, km 7, Caixa Postal 74505, Cep 23851-970,
Seropédica/RJ
e-mail: liaperin@yahoo.com.br

Jean Luiz Simões Araújo

Eng^a Agrônomo, PhD em Genética de Plantas, Pesquisador da Embrapa Agrobiologia
BR 465, km 7, Caixa Postal 74505, Cep 23851-970,
Seropédica/RJ
e-mail: jean@cnpab.embrapa.br

Verônica Massena Reis

Eng^a. Agrônoma, PhD em Ciência do Solo, Pesquisadora da Embrapa Agrobiologia.
BR 465, km 7 – Caixa Postal 74505, Cep 23851-970,
Seropédica/RJ
e-mail: veronica@cnpab.embrapa.br

RIBEIRO, J. D.; RIBEIRO, M. A. G. de O.; RIBEIRO, A. F. controvérsias na fibrose cística-do pediatra ao especialista. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 78, p. 171-186, 2002.

RIVAS, R.; VELAZQUEZ, E.; WILLEMS, A.; VIZCAINO, N.; SUBBARAO, N. S.; MATEOS, P. F.; GILLIS, M.; DAZZO, F. B.; MARTNEZ-MOLINA, E. A new species of *Devosia* that forms a unique nitrogen-fixing root-nodule symbiosis with the aquatic legume *Neptunia natans*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, p. 5217-5222, 2002.

RODRIGUES, L. da S. **Estudo da diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas associadas a cultivares de arroz inundado**. 2003. 94 f. Tese (Doutorado em Agronomia-Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

SESSITSCH, A.; COENYE, T.; SALLES, J. F.; VAN ELSAS, J. D.; STURZ, A. V.; VANDAMME, P.; AIT BARKA, E.; FAURE, D.; REITER, B.; GLICK, B. R.; WANG-PRUSKI, G.; NOWAK, J. *Burkholderia phytofirmans* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with plant beneficial properties. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 55, p. 1187-1192, 2005.

SY, A.; GIRAUD, E.; JOURAND, P.; GARCIA, N.; WILLEMS, A.; LAJUDIE, P. de; PRIN, Y.; NEYRA, M.; GILLIS, M.; BOIVIN-MASSON, C.; DREYFUS, B. *Methylotrophic methylobacterium* nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 183, p. 214-220, 2001.

TABACCHIONI, S.; BEVIVINO, A.; CHIARINI, L.; VISCA, P.; DEL GALLO, M. Characteristics of two rhizosphere isolates of *Pseudomonas cepacea* and their potential plant-growth-promoting activity. **Microbiology**, New York, v. 2, p. 161-168, 1993.

TIEDJE, J. M.; ASUMING BREMPONG, S.; NUSSLEIM, K.; MARSH, T. L.; FLYNN, S. J. Opening the black box of soil microbial diversity. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 13, p. 109-122, 1999.

OLIVERIA, S. M. de; MENDES DE SOUZA, M. F.; PERIN, L.; PITARD, R. M.; REIS, V. M.; FARIA, S. M. de; STRALIOTTO, R. Eficiência simbiótica de isolados de beta-proteobactérias do gênero *Burkholderia* spp. em associação com feijão e siratro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 23., 2005, Santos. **Resumos...** Santos: SBM, 2005. p. 280.

PALLERONI, N. J.; KUNISAWA, R.; CONTOPOULOU, R.; DOUDORON, M. Nucleic acid homologies in the genus *Pseudomonas*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 23, p. 333-339, 1973.

PEIX, A.; MATEOS, P. F.; RODRIGUEZ-BARRUECO, C.; MARTINEZ-MOLINA, E.; VELASQUEZ, E. Growth promotion of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a strain of *Burkholderia cepacea* under growth chamber conditions. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 1927-1935, 2001.

PERIN, L.; MARTINEZ-AGUILAR, L.; CASTRO-GONZÁLEZ, R.; ESTRADA DE LOS SANTOS, P.; CABELLOS-AVELAR, T.; GUEDES, H. V.; REIS, V. M.; CABALLERO-MELLADO, J. Diazotrophic *Burkholderia* species associated with field-grown maize and sugarcane. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, p. 3103-3110, 2006.

PERIN, L.; MARTINEZ-AGUILAR, L.; PAREDES-VALDEZ, G.; BALDANI, J. I.; ESTRADA DE LOS SANTOS, P.; REIS, V. M.; CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia silvatlantica* sp. nov., a novel diazotrophic bacterium associated with sugarcane and maize. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 56, p. 1931-1937, 2006.

REIS, V. M.; ESTRADA DE LOS SANTOS, P.; TENORIO-SALGADO, S.; VOLGEL, J.; STROFFELS, M.; GUYON, S.; MAVINGUI, P.; BALDANI, V. L. D.; SCHMID, M.; BALDANI, J. I.; BALANDREAU, J.; HARTMANN A.; CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, p. 2155-2162, 2004.

Apresentação

A preocupação crescente da sociedade com a preservação e a conservação ambiental tem resultado na busca pelo setor produtivo de tecnologias para a implantação de sistemas de produção agrícola com enfoques ecológicos, rentáveis e socialmente justos. O enfoque agroecológico do empreendimento agrícola se orienta para o uso responsável dos recursos naturais (solo, água, fauna, flora, energia e minerais).

Dentro desse cenário, a Embrapa Agrobiologia orienta sua programação de P&D para o avanço de conhecimento e desenvolvimento de soluções tecnológicas para uma agricultura sustentável.

O Documento 219/06 aborda o gênero *Burkholderia* que constitui-se num importante componente da comunidade microbiana. O documento traz de forma resumida a descrição do gênero, sua distribuição no ambiente e a diversidade de espécies que constituem o gênero *Burkholderia*. Os autores discutem a questão das espécies que são patogênicas em seres humanos e animais, assim como aquelas que são patogênicas em plantas. O documento aborda com riqueza de detalhes as espécies diazotróficas que colonizam as plantas não leguminosas e também aquelas que nodulam as plantas leguminosas. Por fim, documento apresenta resultados de aplicação prática do uso de espécies do gênero *Burkholderia* na promoção de crescimento das plantas, no controle biológico de doenças e na biorremediação.

José Ivo Baldani
Chefe Geral da Embrapa Agrobiologia

SUMÁRIO

1. Introdução	7
2. Descrição do gênero Burkholderia	8
3. Distribuição e diversidade.....	9
3.1. Patógenos em seres humanos e animais	10
3.2. Patógenos em plantas.....	12
3.3. Espécies diazotróficas em plantas não leguminosas	12
3.4. Espécies diazotróficas em plantas leguminosas	14
3.5. Promoção de crescimento em plantas	17
3.6. Controle biológico de doenças em plantas.....	18
3.7. Biorremediação	19
4. Considerações finais	19
5. Referências bibliográficas.....	20

MEYER, J. M.; TRANVAN, V.; STINZI, A.; STEPHAN, H.; BERGE, O.; WINKELMANN, G. Ornibactin production and transport properties in strains of *Burkholderia vietnamiensis* e *B. cepacea* (Formerly *Pseudomonas cepacea*). **Biometales**, Dordrecht, v. 8, p. 309-317, 1995.

MIRALLES, I. S.; MACIEL, M. do C.; ALVES, A.; FERREIRA, M. R. *Burkholderia pseudomallei*: a case report of a human infection in Ceará, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo**, v. 46, p. 51-54, 2004.

MOULIN, L.; CHEN, W. M.; BENA, G.; DREYFUS, B.; BOIVIN-MASSON, C. Rhizobia: the family is expanding. In: FINAN, T.; O'BRIAN, M.; LAYZELL, D.; VESSEY, K.; NEWTON, W. (Ed.). **Nitrogen fixation: global perspectives**. New York: CAB International, 2002. p. 1-65.

MOULIN, L.; MUNIVE, A.; DREYFUS, B.; BOIVIN MANSSON, C. Nodulation of legumes by members of the beta-subclass of proteobacteria. **Nature**, London, v. 411, 948-950, 2001.

NCBI-NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Disponível em: <www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=taxonomy>. Acesso em: 20 jan. 2006.

NIJHUIS, E. H.; MAAT, M. J.; ZEEGERS, I. W. E.; WAALWIJK, C.; VAN VEEN, J. A. Selection of bacteria suitable for introduction into rhizosphere of grass. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 885-895, 1993.

NOVAK, J. Benefits of in vitro "biotization" of plant tissue cultures with microbial inoculants. In **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, Oxon, v. 34, p. 122-130, 1998.

OLIVEIRA, E. **Estudo da associação entre bactérias diazotróficas e arroz**. 1992. 96 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

GUIMARÃES, S. L. **Seleção de estirpes de bactérias diazotróficas endofíticas para inoculação em três cultivares de arroz inundado.** 2001. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

HEBBAR, K. P.; MARTEL, M. H.; HEULIN, T. Suppression of pre- and post- emergence damping- off in corn by *Burkholderia cepacia*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 104, p. 29-36, 1998.

HEYDARI, A.; MISAGHI, I. J. Biocontrol activity of *Burkholderia cepacia* against *Rhizoctonia solani* in herbicide-treated soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 202, p. 109-116, 1998.

JACKSON, M. B. Ethylene in root growth and development. In: MATTO, A. K.; SUTTLE, J. C. (Ed.). **The plant hormone ethylene.** Boca Raton: CRC, 1991. p. 159-181.

JIMENEZ, L. Molecular diagnosis of microbial contamination in cosmetic and pharmaceutical products: a review. **Journal of AOAC International**, Gaithersburg, 2001. p. 671-675.

JONES, A. M.; DODD, M. E.; WEBB, A. K. *Burkholderia cepacea*: current clinical issues, environmental controversies and ethical dilemmas. **European Respiratory Journal**, Sheffield, v. 17, p. 295-301, 2001.

LI, W.; ROBERTS, D. P.; DERY, P. D.; MEYER, S. L. F.; LOHRKE, S.; LUMSDEN, R. D.; HEBBAR, K. P. Broad spectrum antibiotic activity and disease suppression by the potential biocontrol agent *Burkholderia ambifaria* BC-F. **Crop Protection**, Oxford, v. 21, p. 129-135, 2002.

MACK, K.; TITBALL, R. W. The detection of insertion sequences within the human pathogen *Burkholderia pseudomallei* which have been identified previously in *Burkholderia cepacia*. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 162, p. 69-74, 1998.

O Gênero *Burkholderia*: Um Importante Componente da Comunidade Microbiana

Liamara Perin
Jean Luiz Simões-Araújo
Verônica Massena Reis

1. Introdução

Este documento tem como objetivo abordar parâmetros relacionados com a ecologia e diversidade do gênero *Burkholderia*, um gênero com alto potencial agrícola e biotecnológico. Criado em 1992, este gênero conta atualmente com 29 espécies descritas, 4 espécies candidatus, e mais 5 espécies sendo propostas. Colonizam diversos nichos ecológicos, desde plantas, solos contaminados e seres humanos, sendo um importante componente da comunidade microbiana destes habitats. *B. cepacea* foi a primeira espécie descrita, causadora de podridão em casca de cebola. Outras espécies provocam doenças em animais e são encontradas em pacientes com Fibrose Cística, porém a maioria delas não são patógenas e podem promover o crescimento em plantas pela fixação biológica de nitrogênio e produção de fitormônios. Muitas espécies são utilizadas em trabalhos de biorremediação, controle biológico e na indústria pela produção de biopolímeros. Das espécies descritas atualmente, 7 são diazotróficas, 3 estão sendo propostas como diazotróficas e estudos mostraram que isolados de mais 3 espécies fixam nitrogênio atmosférico. Sendo o único gênero que forma nódulos em leguminosas e também se associa à rizosfera e tecidos internos de gramíneas, e os dados disponíveis até o momento, mostram que as bactérias que nodulam leguminosas e aquelas que se associam à gramíneas são diferentes. A diversidade de funções e nichos ocupados pelos membros deste gênero indicam que as interações entre esta bactéria e o ambiente é complexo, diverso e muitas vezes contraditória.

2. Descrição do gênero *Burkholderia*

Diversos estudos filogenéticos mostraram que o gênero *Pseudomonas* apresentava organismos muito distintos. Estes foram separados em 5 grupos, que não se relacionavam muito bem e abrigavam espécies de outros gêneros (PALLERONI et al., 1973, GILLIS et al., 1995). O grupo I foi o único aceito como autêntico do gênero *Pseudomonas* e novos gêneros foram descritos com os outros grupos. O grupo II incluiu as espécies *P. solanacearum*, *P. cepacea*, *P. gladioli*, *P. caryophylli*, *P. mallei*, *P. pseudomallei* e *P. pickettii*, e foram propostos como gênero *Burkholderia*.

O gênero *Burkholderia* foi criado por YABUUCHI et al. (1992), sendo a espécie *B. cepacea*, escolhida como espécie tipo do gênero. As espécies *P. andropogonis*, *P. glumae*, *P. plantarii* e *P. syzyngii* foram introduzidas ao novo gênero. Mais tarde, estudos de taxonomia polifásica revelaram que *B. cepacea* não era uma única espécie. Constituiu o que se chamou de “complexo”, composto de inúmeras novas espécies similares fenotipicamente, chamados de genomovares (VANDAMME et al., 2002b). Atualmente, o complexo *B. cepacea* compreende 9 genomovares. Genomovar I: *B. cepacea*; genomovar II: *B. multivorans*; genomovar III: *B. cenocepacia*; genomovar IV: *B. stabilis*; genomovar V: *B. vietnamiensis*; genomovar VI: *B. dolosa*; genomovar VII: *B. ambifaria*; genomovar VIII: *B. anthina* e genomovar IX: *B. pyrrocinia* (COENYE et al., 1999).

Desde 1992, a lista de espécies do gênero *Burkholderia* mudou inúmeras vezes. Muitas espécies foram removidas do gênero (YABUUCHI et al., 1995), muitas foram mais tarde adicionadas (GILLIS et al., 1995; VIALLARD et al., 1998) e inúmeras espécies foram descritas. Atualmente, em adição aos 9 genomovares do complexo *B. cepacea*, 28 outras espécies constituem o gênero. São elas: *B. andropogonis* (englobou *P. woodsii*), *B. caledonica*, *B. caribensis*, *B. caryophylli*, *B. fungorum*, *B. gladioli* patovares *cocovenenans* e *agaricicola*, *B. glathei*, *B. glumae*, *B. graminis*, *B. hospita*, *B. kururiensis*, *B. mallei*, *B. phenazinium*, *B. phenoliruptrix*,

FARIA, S. M. de; LIMA, H. C. de; OLIVARES, F. L.; MELO, R. B.; XAVIER, R. P. Nodulação em espécies florestais, especificidade hospedeira e implicações na sistemática de leguminosas. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. (Ed.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa: SBCS; Lavras: UFLA/DCS, 1999. p. 667-686.

GILLIS, M.; VANVAN, T.; BARDIN, R.; GOOR, M.; HEBBAR, P.; WILLEMS, A.; SEGERS, P.; KERSTENS, K.; HEULIN, T.; FERNANDEZ, M. P. Polyphasic taxonomy in the genus *Burkholderia* leading to an emended description of the genus and proposition of *Burkholderia-vietnamiensis* sp-nov for N-2-fixing isolates from rice in Vietnam. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Jena, v. 45, p. 274-289, 1995.

GOMEZ, J. G. C.; RODRIGUES, M. F. A.; ALLI, R. C. P.; TORRES, B. B.; BUENO NETTO, C. L.; OLIVEIRA, M. S.; SILVA, L. F. Evaluation of soil gram-negative bacteria yielding polyhydroxyalkanoic acids from carbohydrates and propionic acid. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 45, p. 785-791, 1996.

GORIS, J.; DEJONGHE, W.; FALSEN, E.; CLERK, E. D. E.; GEERAERTS, B.; WILLEMS, A.; TOP, E. M.; VANDAMME, P.; DE VOS, P. Diversity of transconjugants that acquired plasmid pJP4 or pEMT1 after inoculation of a donor strain in the A- and B- horizon of an agricultural soil and description of *Burkholderia hospita* sp. nov. and *Burkholderia terricola* sp. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, Jena, v. 25, p. 340-352, 2002.

GORIS, J.; VOS, P.; CABALLERO-MELLADO, J.; PARK, J.; FALSEN, E.; QUENSEN, J. F.; TIEDJE, J. M.; VANDAMME, P. Classification of the PCB- and biphenyl-degrading strain LB400 and relatives as *Burkholderia xenovorans* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, p. 1677-1681, 2004.

COENYE, T.; LAEVENS, S.; WILLEMS, A.; OHLEN, M.; HANNANT, W.; GOVAN, J. R. W.; GILLIS, M.; FALSEN, E.; VANDAMME, P. *Burkholderia fungorum* sp. nov., and *Burkholderia caledonica* sp. nov., two new species isolated from the environment, animals and human clinical samples. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 51, p. 1099-1107, 2001a.

COENYE, T.; MAHENTHIRALINGAM, E.; HENRY, D.; LIPUMA, J. J.; LAEVENS, S.; GILLIS, M.; SPEERT, D. P.; VANDAMME, P. *Burkholderia ambifaria* sp. nov., a novel member of the *Burkholderia cepacea* complex including biocontrol and cystic fibrosis-related isolates. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 51, p. 1481-1490, 2001b.

COENYE, T.; VANDAMME, P. Diversity and significance of *Burkholderia* species occupying diverse ecological niches. **Environmental Microbiology**, Washington, v. 5, p. 719-729, 2003.

CRUZ, L. M.; SOUZA, E. M.; WEBER, O. B.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F. O. 16S ribosomal DNA characterization of nitrogen-fixing bacterial isolated from banana (*Musa* spp.) e abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill). **Applied and Environmental Microbiology**, Wisconsin, v. 67, p. 2375-2379, 2001.

DI CELLO, F.; BEVIVIVNO, A.; CHIARINI, L.; FANI, R.; PAFFETTI, D.; TABACCHIONI, S.; DALMASTRI, C. Biodiversity of a *Burkholderia cepacia* population isolated from the maize rhizosphere at different plant growth stages. **Applied and Environmental Microbiology**, Wisconsin, v. 63, p. 4485-4493, 1997.

EL BANNA, N.; WINKELMANN, G. Pyrrolnitrin from *Burkholderia cepacia*: antibiotic activity against fungi and novel activities against streptomycetes. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 85, p. 69-78, 1998.

ESTRADA DE LOS SANTOS, P.; BUSTILLOS-CRISTALES, R.; CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia* a genus rich in plant-associated nitrogen fixers with wide environmental and geographic distribution. **Applied and Environmental Microbiology**, Wisconsin, v. 67, p. 2790-2798, 2001.

B. phymatum, *B. phytofirmans*, *B. plantarii*, *B. pseudomallei*, *B. sacchari*, *B. sordidicola*, *B. terricola*, *B. thailandensis*, *B. tropica*, *B. tuberum*, *B. ubonensis*, *B. unamae*, *B. xenovorans* e *B. terrae*. E mais 5, *B. brasiliensis*, *B. singaporensis*, *B. koreensis*, *B. silvatlantica* e *B. mimosae*, foram propostas como novas espécies e estão em processo de descrição. As bactérias “*Candidatus B. kirkii*, *nigropunctata*, *calva* e *verschuerenii*” (nome ainda não validado), constituem grupo à parte por não serem capazes de crescer em meio de cultura, conseqüentemente sua publicação não é validada e não podem ser designadas nova espécie (NCBI, 2006).

3. Distribuição e diversidade

Espécies de *Burkholderia* tem ampla distribuição, ocorrendo comumente no solo, água, plantas, fungos, animais e humanos. Com exceção das espécies *B. mallei* e *B. pseudomallei*, causadoras das doenças mormo em animais e melioidosis em humanos, e as espécies do complexo *B. cepacea* em pacientes com Fibrose Cística, a maioria das espécies aparentemente não são patogênicas.

Algumas espécies foram originalmente isoladas de amostras de solo de áreas agrícolas, como *B. glathei*, *phenazinium*, *hospita*, *terricola*, *caribensis* e *sacchari* (BRAMER et al., 2001; GORIS et al., 2002; VIALARD et al., 1998, ACHOUAK, et al., 1999). *Burkholderia sacchari*, isolada de solo de canal brasileiro (GOMES et al., 1996), tem grande potencial para a indústria. Produz e acumula polihidroxicanoatos (PHAs), polímeros com importantes propriedades plásticas (BRAMER et al., 2001). Pesquisadores do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT), consideram que a diferença dessa bactéria em relação a outras utilizadas na obtenção industrial do PHA, é a sua capacidade de produzir o polímero a partir da sacarose, um açúcar de baixo custo no Brasil, onde há grandes áreas de canaviais. E para cada 3 quilos de açúcar utilizado para alimentar as bactérias é possível obter 1 quilo de plástico (www.ipt.br/atividades/inovacao/exemplos/plastico/).

Em interações não patogênicas com plantas, *B. graminis* tem sido descrita associada ao rizoplane de milho e trigo na Austrália e

França (VIALARD et al., 1998), enquanto *B. caledonica* foi isolada da rizosfera de plantas na Escócia (COENYE et al., 2001a) e espécies pertencentes ao complexo *B. cepacia* são freqüentemente encontrada em associação com grama (NIJHUIS et al., 1993) e raízes de milho (DI CELLO et al., 1997). A recente espécie descrita *B. phytofirmans*, foi originalmente isolada de superfície desinfestada de raízes de alho e também coloniza rizosfera e tecidos de batata, tomate e uva (SESSITSCH et al., 2005). Isolados identificados como *B. cenocepaea* foram obtidos de tecidos de trigo, milho e tremoço no Sul da Austrália e França (BALANDREAU et al., 2001), e as espécies “*Candidatus B. calva*, *B. nigropunctata* e *B. kirkii*” foram isoladas de folhas de *Psychotria* (VAN OEVELEN et al., 2002, 2004).

As espécies *B. cepacea*, *B. multivorans*, *B. cenocepaea*, *B. vietnamiensis* e *B. anthina*, foram isoladas de 2 rios da Europa, (VERMIS et al., 2003) e *B. kururiensis* foi isolada de um sítio aquífero poluído com tricloroetileno, no Japão (ZHANG et al., 2000).

Algumas espécies foram encontradas em associação com fungos. *B. fungorum* foi isolada do fungo *Phanerochaete chrysosporium*, e foi sugerido que há relação simbiótica entre a bactéria e o fungo (COENYE et al., 2001b). A espécie *B. sordidicola* foi isolada do fungo *Phanerochaete sordicola* e também encontrada na microflora de formigas Tetraponera, (VAN BORM et al., 2002). Não foi possível cultivar estes organismos e não se sabe a sua posição taxonômica exata, porém são filogeneticamente próximos de *B. fungorum* e *B. caledonica*.

3.1. Patógenos em seres humanos e animais

Algumas espécies do gênero são consideradas patógenos. O patovar cocovenerans, de *B. gladioli*, produz uma flavotoxina, que causa infecção em humanos pelo consumo de farinha de trigo ou milho contaminadas (ZHAO et al., 1995). Bactérias do complexo *B. cepacea* são contaminantes de cosméticos, soluções farmacêuticas (JIMENEZ, 2001, citado por CONYE et al., 2003) e causa infecções em seres humanos, sendo os pacientes com Fibrose Cística (FC) como os mais suscetíveis.

CHEN, W. M.; DE FARIA, S. M.; STRALIOTTO, R.; PITARD, R. M.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L.; CHOU, YI-JU; CHOU, J-H.; BARRIOS, E.; PRESCOTT, A. R.; ELLIOTT, G. N.; SPRENT, J. I.; YOUNG, J. P. W.; JAMES, E. K. Proof that *Burkholderia* forms effective symbioses with legumes: a study of novel *Mimosa*-nodulating strains from South America. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, p. 7461-7471, 2005a.

CHEN, W. M.; JAMES, E. K.; CHOU, J. H.; SHEU, S. Y.; YANG, S. Z.; SPRENT, J. I. beta-*Rhizobium* from *Mimosa pigra*, a newly discovered invasive plant in Taiwan. **New Phytologist**, Oxford, v. 168, p. 661-675, 2005b.

CHEN, W. M., JAMES, E. K.; PRESCOTT, A. R.; KIERANS, M.; SPRENT, J. I. Nodulation of *Mimosa* spp. by the β -proteobacterium *Ralstonia taiwanensis*. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, St Paul, v. 16,p. 1051-1061, 2003a.

CHEN, W. M., JAMES, E. K.; COENYE, T.; CHOU, J. H.; BARRIOS, E.; FARIA, S. M. de; ELLIOTT, G. N.; SHEU, S. Y.; SPRENT, J. I.; VANDAME, P. *Burkholderia mimosarum* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* spp. from Taiwan and South America. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 56, p. 1847-1851, 2006.

CHEN, W. M., LAEVENS, S.; LEE, T. M.; COENYE, T.; VOS, P. de; MERGEAY, M.; VANDAMME, P. *Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* species and sputum of a cystic fibrosis patient. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 51, p. 1729-1735, 2001.

CHEN, W. M.; MOULIN, L.; BONTEMPS, C.; VANDAMME, C.; BÉNA, G.; BOIVIN-MASSON, C. Legume symbiotic nitrogen fixation by β -Proteobacteria is widespread in nature. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 185, p. 7266-7272, 2003b.

COENYE, T.; HOLMES, B.; KERSTERS, K.; GOVAN, J. R. W.; VANDAMME, P. *Burkholderia cocovenerans* and *Burkholderia vandii* are junior synonyms of *Burkholderia gladioli* and *Burkholderia plantarii*, respectively. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 49, p. 37-42, 1999.

BEVIVINO, A.; TABACCHIONI, S.; CHIARINI, L.; CARUSI, M. V.; DEL GALLO, M.; VISCA, P. Phenotypic comparison between rhizosphere and clinical isolates of *Burkholderia cepacea*. **Microbiology**, New York, v. 140, p. 1069-1077, 1994.

BODDEY, L. H. **Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas do gênero *Burkholderia*, isoladas de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.) cultivadas na Austrália e no Brasil.** 2003. 109 f. Tese (Doutorado em Agronomia-Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

BRAMER, C. O.; VANDAMME, P.; SILVA, L. F.; GOMEZ, J. G. C.; STEINBUHEL, A. *Burkholderia sacchari* sp. nov., a polyhydroxyalkanoate-accumulating bacterium isolated from soil of sugar-cane plantation in Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 51, p. 1709-1713, 2001.

BRASIL, M. da S. **Ocorrência e diversidade genética de bactérias diazotróficas endofíticas em diferentes variedades de arroz.** 2005. 137 f. Tese (Doutorado em Agronomia-Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

BURKHOLDER, W. H.. Sour skin, a bacterial rot of onion bulbs. **Phytopathology**, St Paul, v. 40, p. 115-117, 1950.

CABALLERO-MELLADO, J.; MARTINEZ-AGUILAR, L.; PAREDES-VALDEZ, G.; ESTRADA DE LOS SANTOS, P. *Burkholderia unamae* sp. nov., in N₂-fixing rhizospheric and endophyte species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, p. 1165-1172, 2004.

CAIN, C. C.; HENRY, A. T.; WALDO, R. H.; CASIDA, L. J.; FALKINHAM, J. O. Identification and characteristics of a novel *Burkholderia* strain with broad-spectrum antimicrobial activity. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, p. 4139-4141, 2000.

A FC é uma importante doença hereditária, autossômica recessiva, com maior incidência na raça branca. Pode atingir vários órgãos, porém manifestações digestivas e pulmonares são mais frequentes. O gene da FC, codifica uma proteína transmembrana, essencial para o transporte de íons através da membrana celular, regulando o fluxo de cloro, sódio e água. Inúmeras mutações foram detectadas neste gene, a mais frequente provocando a perda do aminoácido fenilalanina que impede seu funcionamento adequado. Causando redução da excreção do cloro e conseqüente aumento da entrada de água para o interior da célula para regulação osmótica. Resultando em desidratação das secreções mucosas e aumento de sua viscosidade.

A retenção das secreções mucosas favorece colonização e infecção respiratória por bactérias, que aparecem na seguinte ordem: *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosae* e complexo *B. cepacea* (RIBEIRO et al., 2002). A colonização por bactérias do complexo *B. cepacea* ocorre em menor número de pacientes (ALVAREZ et al., 2004), porém sua presença é considerada preocupante, pois acelera a deterioração dos pulmões, podendo diminuir a sobrevivência dos pacientes em até uma década, se comparada a *P. aeruginosa* (JONES et al., 2001).

Todos os genótipos do complexo *B. cepacea* foram identificadas em culturas de pacientes, e estão em média em 3% dos casos. Em muitos casos *B. cenocepaea* e *multivorans* prevalecem (CONYE et al., 2003). No Brasil, já foi detectado *B. cepacea*, *B. fungorum* e a estirpe padrão TVV75 de *B. vietnamiensis* foi encontrada sozinha em paciente em estado terminal de FC (Elizabeth de Andrade Marques¹/UERJ-RJ, comunicação pessoal)

B. mallei e *pseudomallei* são patógenos de seres humanos e animais. *B. mallei* causa mormo, que provoca inflamação das glândulas. Foi observada em cavalos, cabras, macacos e pode ser transmitida ao homem pelo contato direto. Melioidose, é uma doença infecciosa, causada por *B. pseudomallei*. Esta bactéria é

¹ UERJ, Departamento de Patologia e Laboratórios, Av. Vinte e Oito de Setembro, 87 fundos -3o andar, Vila Isabel, RJ, marbe@uerj.br

encontrada no solo e em águas geralmente paradas. Atinge humanos e animais com maior ocorrência em algumas regiões da Ásia e Oceania, porém um caso de morte provocada por esta bactéria foi relatado no estado do Ceará (MIRALLES et al., 2004).

3.2. Patógenos em plantas

Apenas 5 espécies são relatadas como patógenas de plantas. *B. cepacea* foi descrita como causadora de apodrecimento da casca de cebola nos Estados Unidos (BURKHOLDER, 1950, COENYE & VANDAMME, 2003). *B. caryophylli* é um patógeno em cravo e alho. *B. plantarii* e *B. glumae* são patógenos de arroz. Este último também causa apodrecimento de tubérculos de batata e foi considerado, por mais de duas décadas, a bactéria patogênica mais importante para a cultura do arroz no Japão, Coréia e Taiwan. *B. andropogonis* foi descrita como patógeno em sorgo, feijão e cravo (COENYE et al., 2003).

3.3. Espécies diazotróficas em plantas não leguminosas

No mesmo período em que o gênero *Burkholderia* foi criado, em isolamento de bactérias diazotróficas em plantas de arroz irrigado, cultivado em experimento com solo de Itaperuna-RJ, foram obtidos 24 isolados com características distintas dos demais em meio de cultura semi sólido sem nitrogênio NFb COG (NFb mais citrato, oxalato e glicose). E mais 3 isolados semelhantes aos anteriores foram obtidos de plantas de arroz irrigado da região de Pindamonhangaba-SP. Testes com fontes de carbono diferenciaram este grupo dos demais gêneros e espécies isolados e foram chamados de Bactéria E (OLIVEIRA, 1992).

Outras bactérias com características desse grupo também foram isoladas de plantas de mandioca, cultivadas em Santa Cruz e Itaguaí-RJ (BALOTA, 1994) e mais tarde, com o desenvolvimento do meio de cultura JMV, 37 isolados foram obtidos de raízes, colmos e folhas de arroz, 10 em associação com cana-de-açúcar e 6 com batata doce (BALDANI, 1996). Testes bioquímicos e moleculares foram usados para caracterizar e identificar os isolados. O uso de sondas para a região 23S rDNA, permitiu agrupar os isolados na

ALVAREZ, A. E.; RIBEIRO, A. F.; HESSEL, G.; BERTUZZO, C. S.; RIBEIRO, J. D. Fibrose cística em um centro de referência no Brasil: características clínicas e laboratoriais de 104 pacientes e sua associação com o genótipo e a gravidade da doença. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 80, n. 5, p. 1-9, 2004.

BALANDREAU, J.; VIALARD, V.; COURNOYER, B.; COENYE, T.; LAEVENS, S.; VANDAMME, P. *Burkholderia cepacea* genomovars III is a common plant-associated bacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, p. 982-985, 2001.

BALDANI, V. L. D. **Efeito da inoculação de *Herbaspirillum* spp. no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica.** 1996. 238 f. Tese (Doutorado em Agronomia-Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 30, p. 485-491, 2000.

BALOTA, E. L. **Interação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares na cultura da mandioca.** 1994. 302 f. Tese (Doutorado em Agronomia-Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

BALOTA, E. L.; LOPES, E. S.; HUNGRIA, M.; DÖBEREINER, J. Inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares na cultura da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 32, n. 6, p. 627-639, 1997.

BARRET, C. F.; PARKER, M. A. Prevalence of *Burkholderia* sp. nodule symbionts on four mimosoid legumes from Barro Colorado Island, Panama. **Systematic and Applied Microbiology**, Jena, v. 28, p. 57-65, 2005.

detectadas em *B. cepacea*, mostram uma possível transferência horizontal de material genético entre estas espécies (MACK & TITBALL, 1998).

Quatro isolados de *B. cepacea* foram avaliados, 2 de pacientes com Fibrose Cística e 2 isolados na rizosfera de arroz e milho. Foi verificado que a região 16S rDNA dos isolados clínicos é idêntica entre si e difere dos isolados da rizosfera. Estes resultados mostram que ocorreram divergências entre os isolados, mas são considerados insuficientes para afirmar com segurança que estas diferenças existem (TABACCHIONI et al., 1993).

Porém o melhor entendimento do metabolismo deste gênero poderá ser possível com o sequenciamento de seu genoma. Até o momento, foram sequenciados genomas do complexo *B. cepacea* e as espécies *B. glumae*, *B. glathei*, *B. gladioli* e *B. xenovorans*. Os resultados mostraram que possuem genoma complexo e muito variável. Possuem numerosas inserções e de um a quatro replicons, contrariando a literatura que afirma que todo organismo procarioto possui apenas um replicon. Outro dado interessante, foi o tamanho de seu genoma, espécies muito próximas possuem de 4,7 a mais de 9Mb.

Estas diferenças possivelmente permitem versatilidade nutricional e adaptabilidade, possibilitando que um mesmo organismo possa sobreviver em diferentes condições. Esta redundância de funções é ecologicamente importante para a sustentabilidade dos sistemas, porém a interferência humana na distribuição destes organismos ou sua introdução no ambiente deve ser cuidadosa, monitorada e realizada por pessoas capacitadas.

5. Referencias bibliográficas

ACHOUAK, W.; CHRISTEN, R.; BARAKAT, M.; MARTEL, M. H.; HEULIN H.. *Burkholderia caribensis* sp. nov., na exopolysaccharide-producing bacterium isolated from vertisol microaggregates in Martinique. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 49, p. 787-794, 1999.

subdivisão β das proteobactérias, e o sequenciamento parcial da região 16S rDNA indicou que os isolados pertenciam ao gênero *Burkholderia*. Estudos posteriores mostraram que estes isolados se dividiam em 2 grupos. Um grupo formado por 4 isolados obtidos de cana-de-açúcar e outro pelos demais isolados cana-de-açúcar, e os isolados de arroz, mandioca e batata doce. Este grande grupo foi proposto como uma nova espécie de nome *B. brasiliensis*. Porém mais tarde, a estirpe padrão desta espécie apresentou mesmo perfil de corte com enzimas de restrição e 99% de similaridade da região 16S rDNA, com a estirpe padrão KP23, de *B. kururiensis* (ESTRADA DE LOS SANTOS et al., 2001), sugerindo que sejam mesma espécie.

A capacidade de alguns isolados de *B. cepacea* fixarem nitrogênio atmosférico foi relatada em 1994 (BEVIVINO et al., 1994). Porém a primeira espécie do gênero descrita como diazotrófica foi *B. vietnamiensis*, isolada de solos cultivados com arroz no Vietnã (GILLIS et al., 1995). Esta espécie mais tarde foi isolada da rizosfera, rizoplano e tecidos internos de raízes de milho e café, cultivados em diferentes regiões do México (ESTRADA DE LOS SANTOS et al., 2001).

Neste trabalho, a maioria dos isolados identificados como gênero *Burkholderia* não pertenceram a nenhuma espécie descrita. Estes resultados, segundo os autores, mostraram que o gênero *Burkholderia* é rico em bactérias diazotróficas e que essa capacidade é desconhecida porque não é rotineiramente avaliada quando uma nova espécie é descrita. Alguns isolados do trabalho acima, e um novo isolamento, levou a descrição da nova espécie diazotrófica. *B. unamae* (CABALLERO-MELLADO et al., 2004), descrita com 20 isolados obtidos de rizosfera e rizoplano de café e milho, raízes e colmos de milho e rizosfera, raízes e colmos de cana-de-açúcar de diferentes lugares do México. Estudos posteriores mostraram que esta espécie predomina em plantas de cana-de-açúcar (PERIN et al., 2006).

B. tropica (REIS et al., 2004) e *B. xenovorans* (GORIS et al., 2004) foram as últimas espécies diazotróficas descritas. A primeira foi isolada de plantas de cana-de-açúcar no Brasil e África do Sul, solo

nos EUA e rizosfera, rizoplano e raízes de milho no México. *B. xenovorans* foi descrita com apenas 3 isolados. A estirpe padrão, LB400, foi isolada de solo contaminado com policlorinado bifenil (PCB) nos EUA e os isolados CCUG 28445 e CAC-124, de sangue humano na Suécia e café no México, respectivamente. Estes 3 isolados são próximos fenotípica e genotipicamente, crescem com benzoato como única fonte de carbono, porém LB400 foi a única a degradar e crescer na presença de bifenil.

Inúmeros isolados diazotróficos de *Burkholderia* foram obtidos em associação com plantas. Inúmeros isolados foram obtidos em associação com bananeiras e abacaxizeiros no estado do RJ e BA. Destes, um isolado de bananeira e 2 de abacaxizeiros, cultivadas no estado do Rio de Janeiro, foram identificados como *B. brasilensis* e *B. tropica*, respectivamente, e a maioria dos isolados não foram identificados (WEBER et al., 1999; CRUZ et al., 2001). *B. vietnamiensis* e *B. kururiensis* ou a espécie proposta *B. brasilensis*, foram isoladas das cultivares de arroz inundado IR42, IAC4440 (RODRIGUES, 2003), e destas mais CNA 7553 (BRASIL, 2005). *B. tropica*, *B. kururiensis* e *B. caribensis* foram isoladas de amostras de cultivares de cana-de-açúcar brasileiras e australianas (BODDEY, 2003). Em cultivos comerciais de cana-de-açúcar nos estados do Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro e Pernambuco, no Brasil, os isolados foram muitos diferentes entre si e um grupo foi identificado como nova espécie e proposto nome de *B. silvatlantica* (PERIN et al., 2006). Isolados semelhantes foram encontrados em milho cultivado no Rio de Janeiro e abacaxizeiros na Bahia.

Estes resultados mostram que bactérias diazotróficas do gênero *Burkholderia* são comuns e abundantes em inúmeras plantas e o conhecimento de sua ecologia é importante para melhor exploração e manejo do sistema.

3.4. Espécies diazotróficas em plantas leguminosas

Até recentemente, leguminosas eram noduladas exclusivamente por membros da sub classe α -proteobactérias, família *Rhizobiaceae*, gêneros *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*,

Phenazine e Pyrrolnitrin, produzidos por *B. phenazinium*, *B. pyrrocinia*, *B. ambifaria*, *B. vietnamiensis* e *B. cepacea*-NB-1 (EL BANNA & WINKELMANN, 1998; TRAN VAN et al., 2000).

3.7. Biorremediação

Espécies de *Burkholderia* já foram usadas para biorremediação. Muitas estirpes, todas identificadas como *B. cepacea*, mostraram capacidade em degradar compostos xenobióticos. A estirpe LB400, da nova espécie descrita *B. xenovorans*, mostrou capacidade em degradar cianide e polychlorinated biphenyls (PCBs). E o herbicida 2,4-D teve sua concentração muito diminuída quando aplicado em solo com dominância do gênero *Burkholderia* na população microbiana (TIEDJE et al., 1999). A espécie proposta, *B. singaporensis*, foi isolada e usada para biorremediação de praias contaminadas com óleo (WANG et al., 2006).

4. Considerações finais

B. cepacea tem metabolismo muito versátil. Foi encontrada em pacientes com FC, causa doença em cebola, promove crescimento em plantas de feijão e trigo e fixa nitrogênio atmosférico em associação com milho, degrada compostos xenobióticos e atua no controle biológico de inúmeros fungos.

Benefícios ecológicos e econômicos pelo uso de *Burkholderia* são inúmeros. Apesar de seu potencial, o impacto provocado pela presença de estirpes de bactérias do complexo *B. cepacia* em pacientes com Fibrose Cística tem levado a um rigoroso sistema de segurança. Como resultado, muitas estirpes com potencial para biocontrole, que já tinham sido aprovados pelo United States Environmental Protection Agency, teve sua avaliação de risco modificada e seu uso restrito. No site desta agência na internet, está escrito que “o conhecimento atual de taxonomia e genética não permitem afirmar que isolados usados em controle biológico não causariam doença em pacientes com Fibrose Cística”.

A variabilidade de funções entre os organismos deste gênero pode ter sido adquirida via transferência lateral de genes. A detecção de seqüências de inserções em *B. pseudomallei* que já tinham sido

promoveu aumento da parte aérea e raízes em 50 e 105%, respectivamente, em relação à inoculação do fungo isoladamente, e também se destacou em relação a outras espécies de bactérias diazotróficas inoculadas (BALOTA et al., 1997). Em plantas de abacaxi, a inoculação de isolados de *B. cepacea*, reduziram o tempo de aclimatação das plantas micropropagadas e contribuíram com incremento de matéria seca de raízes e parte aérea (WEBER et al., 2003). Contribuição também foi observada com inoculação de *Burkholderia* spp. em plantas de bananeiras (WEBER et al., 2000).

O etileno é um importante hormônio para o crescimento e desenvolvimento de plantas. Porém, estresses como alta concentração de metais pesados, aumentam a concentração de etileno endógeno, resultando em inibição da germinação de semente e crescimento radicular (JACKSON, 1991). A enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilase (ACC) de aminase, comumente encontrada em bactérias, apresenta capacidade de promover crescimento em plantas por hidrolizar o precursor imediato de etileno. Esta enzima foi encontrada, apresentando alta atividade, na espécie descrita recentemente, *B. phytofirmans*. E plantas inoculadas com *B. phytofirmans* mostraram maior desenvolvimento do sistema radicular (NOWAK, 1998).

3.6. Controle biológico de doenças em plantas

Um grande número de espécies do gênero *Burkholderia* foram identificadas como agentes de controle de patógenos de inúmeras culturas. Podendo inibir o crescimento de muitos fungos, como *Phythium aphanidermatum*, *Phythium ultimum*, *Fusarium* sp., *Phytophthora capsici* e *Rhizoctonia solani* (CAIN et al., 2000; HEBBAR et al., 1998; HEYDARI & MISAGHI, 1998; LI et al., 2002), e uma estirpe identificada como *Burkholderia* spp., foi capaz de inibir o crescimento de bactérias, leveduras e protozoários (CAIN et al., 2000).

Em muitos casos, o mecanismo envolvido na supressão da doença não é conhecido, mas provavelmente controlam populações patogênicas pela produção de sideróforos, verificado em *B. cepacea* e *B. vietamiensis* (MEYER et al., 1995) e compostos antibióticos como

Mesorhizobium, *Rhizobium* e *Sinorhizobium* (YOUNG, 1996; VAN BERKUM & EARDLY, 1998). Nos últimos anos, entretanto, a-proteobactérias foram mostradas como nodulantes de leguminosas (MOULIN et al., 2002) incluindo estirpes de *Methylobacterium* (SY et al., 2001); *Devosia* (RIVAS et al., 2002) e *Ralstonia taiwanensis*, reclassificada para *Cupriavidus taiwanensis* (VANDAMME & COENYE, 2004) em *Mimosas* de diferentes regiões de Taiwan (CHEN et al., 2001, 2003a) e Índia (VERMA et al., 2004).

Em 2001, bactérias isoladas de nódulos de *Aspalathus carnosa*, da África do Sul e *Machaerium lunatum*, da Guiana Francesa, foram caracterizadas como pertencentes ao gênero *Burkholderia* (MOULIN et al., 2001). Foi o primeiro relato de a-proteobactérias, do gênero *Burkholderia*, presentes em nódulos de leguminosas. Estes autores, sugeriram o uso dos termos α -rizóbio e β -rizóbio, para distinguir as proteobactérias nodulantes de leguminosas.

Duas novas espécies foram descritas com os isolados inicialmente identificados por MOULIN et al., (2001). Em isolamento de bactérias de nódulos de leguminosas tropicais, 5 isolados foram obtidos (VANDAMME et al., 2002a), destes, STM815 e STM678, de *Machaerium lunatum* e *Aspalathus carnosa*, foram descritas como *Burkholderia phymatum* e *tuberum*, respectivamente. O isolado STM678 foi inoculado em Siratro (*Macroptilium atropurpureum*) e 3 semanas depois, foi observado de 5 a 20 nódulos, porém eram ineficientes.

Neste mesmo trabalho, mais 3 isolados foram caracterizados. Um isolado de *Alysicarpus glumaceus*, do Senegal, foi identificado como *B. dolosa* e 2 isolados de *Mimosa pudica* e *diplotricha*, pertencem à espécie *B. caribensis*. Bactérias diazotróficas da espécie *B. caribensis*, foram novamente isoladas de *M. pudica* e *diplotricha* em Taiwan (CHEN et al., 2003b). Estes isolados foram inoculados em *M. pudica* e verificou-se, 60 dias depois, que formavam nódulos eficientes.

Novos isolados de *Burkholderia* foram obtidos em leguminosas de diferentes partes do mundo. No Brasil, 14 isolados de inúmeras espécies de *Mimosa* spp. foram obtidos a mais de 20 anos (CHEN et al., 2005a). Este mesmo trabalho relata mais 6 isolados de *M.*

pigra (sinônimo de *M. pellita*) da Venezuela, que juntamente com alguns isolados do trabalho anterior, estão sendo propostos como *B. mimosarum* (CHEN et al., 2006). Das leguminosas *M. pigra*, *M. casta*, *M. pudica*, *Abarema macradenia* e *Pithecellobium hymenaeifolium*, na Ilha de Barro Colorado, Panamá, 44 isolados dos 55 obtidos, pertenceram ao gênero *Burkholderia*. A seqüência do gene 16 e 23S rDNA, mostrou similaridade dos isolados com *B. tuberum* e *B. fungorum* (BARRET & PARKER, 2005).

O predomínio do gênero *Burkholderia* em nódulos foi novamente observado, desta vez em *M. pigra*, em Taiwan. Dos 191 isolados, 96% eram *Burkholderia* (CHEN et al., 2005b). Este trabalho confirma a capacidade de nodulação do gênero *Burkholderia*, pelo uso de proteínas fluorescente e microscopia eletrônica.

Acredita-se que a FBN é um processo muito antigo que foi perdido ao longo da evolução por muitas bactérias. Já a nodulação é um evento recente, que provavelmente apareceu na Terra junto com as leguminosas a 70 milhões de anos atrás. A presença, em a e β -rizóbio dos genes *nodABC*, suporta a hipótese de origem comum dos genes *nod* e que a e β -proteobactérias usam a mesma estratégia para o estabelecimento da simbiose, já que ao mutar *nodA* da estirpe STM678, esta não formou nódulos quando inoculada em Siratro (MOULIN et al., 2001).

Os genes requeridos para a nodulação, em *C. taiwanensis* e *B. phymatum*, estão localizados em plasmídeos, juntamente com *nifH*, e provavelmente foram adquiridos via transferência horizontal. Entretanto, acredita-se que inúmeros eventos de transferência horizontal tenham ocorrido. Os genes *nod* e *nif* de *Burkholderia* são similares a a-rizóbio, porém, a análise de agrupamento das seqüências dos genes *nodA* e *nifH* de isolados de *C. taiwanensis*, *B. caribensis* e 2 isolados de a-rizóbio, mostrou que estes se agrupam de maneira diferente, sugerindo que seus genes de nodulação e FBN tenham sido adquiridos em inúmeros eventos de transferência lateral (CHEN et al., 2003a).

Em experimentos de inoculação cruzada (FARIA et al., 1999), observaram que somente bactérias isoladas do mesmo gênero foram capazes de nodular espécies de Mimosas. Estes isolados,

mais tarde, foram identificados como pertencentes ao gênero *Burkholderia* (CHEN et al., 2005a) e quando inoculados em plantas dita promíscuas de feijão e siratro, de 15 isolados, apenas 5 nodularam siratro e 7 feijão, porém os nódulos eram ineficientes (OLIVEIRA et al., 2005). Fato semelhante ocorreu com a estirpe STM687 de *B. tuberum*, em siratro, nodulou, porém eram ineficientes (MOULIN et al., 2001). Estas evidências indicam que bactérias do gênero *Burkholderia* nodulam um número restrito de leguminosas da sub família mimosoidea, mostrando pouca ou nenhuma sobreposição de bactérias no mesmo nicho ecológico.

3.5. Promoção de crescimento em plantas

Bactérias promovem crescimento em plantas por vários fatores. A inoculação da estirpe SAOCV2, de *B. cepacea*, promoveu crescimento de plantas de feijão, segundo os autores, por vários mecanismos, incluindo solubilização de fosfatos, antagonismo contra *Fusarium* e indiretamente pelo aumento da nodulação (PEIX et al., 2001).

A capacidade de produzir hormônios vegetais, foi apenas verificado na estirpe padrão TVV75, de *B. vietnamiensis*, que produz ácido indolacético (AIA) (TABACCHIONI et al., 1993). Bactérias desta espécie, quando inoculadas em plantas de arroz em experimento de campo e casa de vegetação no Vietnã, aumentaram de 13 a 22% a produção de grãos (TRAN VAN et al., 2000), ainda assim, as plantas inoculadas florescem mais cedo do que as não inoculadas.

No Brasil, várias plantas foram beneficiadas quando inoculadas com *Burkholderia*. A inoculação da espécie proposta *B. brasilensis* em plantas de arroz contribuiu com 31% do total de nitrogênio da planta, tendo aumentado 69% da biomassa das plantas (BALDANI et al., 2000) e a cultivar de arroz IAC4440, teve sua produção de grãos aumentada em torno de 50% quando inoculada com a estirpe M209 e o acúmulo de N nos grãos, aumentado em 90% (GUIMARÃES, 2001).

Contribuições também foram observadas com a inoculação da espécie proposta *B. brasilensis* na cultura da mandioca. A inoculação desta espécie com fungos micorrízicos arbusculares,