

Microorganismos



Capítulo

Microbiota

Gilson Paulo Manfio¹

INTRODUÇÃO

O estado do conhecimento sobre a diversidade de microrganismos no Brasil, enfocando grupos microbianos diversos, incluindo arqueas, bactéria, fungos filamentosos e leveduras, protozoários e vírus, e grupos de pesquisa atuantes no tema biodiversidade microbiana, foi objeto de um extenso levantamento realizado em escala nacional, integrando uma das tarefas do Projeto "Estratégia Nacional da Diversidade Biológica" (BRA97G31-MMA/GEF/PNUD), do "Programa Nacional de Diversidade Biológica" (PRONABIO), Ministério do Meio Ambiente - MMA (Secretaria de Biodiversidade e Florestas – SBF, Diretoria de Conservação da Biodiversidade – DCBio).

Fontes de dados para o levantamento incluíram questionários enviados para pesquisadores líderes-de-grupo e pesquisadores individuais nas áreas de bacteriologia, micologia, virologia, microbiologia de solos, microbiologia médica, microbiologia de alimentos, microbiologia industrial e de fermentações e genética molecular. Além de consultas a bases de dados de currículos, cadastros de grupos de pesquisa disponíveis em agências de fomento nacionais e publicações científicas de pesquisadores brasileiros em revistas científicas indexadas (busca retroativa de 10 anos).

Segundo dados do CNPq, existia no Brasil, em 1996, um total de 2.190 pesquisadores atuantes em Microbiologia, alocados em 137 instituições, concentradas principalmente na região Sudeste (104), seguido pelas regiões Sul (11), Nordeste (11), Norte (7) e Centro-Oeste (4). Das 957 linhas de pesquisa identificadas, a grande maioria correspondia a pesquisas nas áreas de Biotecnologia (464) e Saúde (451), seguidas de Ciências Ambientais (160), Produção Animal (74) e Vegetal (58), Nutrição e Alimentação (47) e Indústria Farmacêutica (44).

Uma análise detalhada das linhas de atuação e publicações dos diferentes grupos de trabalho identificados nos levou a concluir que a pesquisa em diversidade microbiana e, conseqüentemente, o conhecimento da diversidade de microrganismos no Brasil, é limitado a um número reduzido de pesquisadores, a poucos grupos taxonômicos e apresenta uma cobertura geográfica heterogênea. As pesquisas são, em sua maioria, voltadas para a caracterização taxonômica e identificação de grupos microbianos específicos, empregando metodologias clássicas, baseadas no cultivo e observação de propriedades morfológicas, metabolismo e fisiologia. O emprego de metodologias de caracterização molecular e métodos independentes-de-cultivo, para o estudo de comunidades microbianas complexas no meio ambiente, e para a caracterização da diversidade genética infra-específica, foram identificados em

¹ Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas / CPQBA, Divisão de Recursos Microbianos, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

apenas seis grupos de pesquisa no país, ainda em estágio de formação e consolidação de equipes.

Estima-se, em nível global, que a diversidade de microrganismos exceda em algumas ordens de magnitude a diversidade de plantas e animais. Levantamentos estimativos da década de 1990 propuseram que apenas 5% da diversidade de fungos é atualmente conhecida, com pelo menos 70.000 espécies descritas. Para procariotos, incluindo bactérias e arqueas, são conhecidas 4.314 espécies, alocadas em 849 gêneros, correspondendo entre 0,1 e 12% da diversidade do grupo. Protozoários e vírus apresentam cerca de 36.000 e 3.600 espécies descritas, correspondendo a 31% e 4% do número de espécies estimado, respectivamente.

A diversidade taxonômica de gêneros/espécies de microrganismos no Brasil é mais amplamente conhecida e melhor documentada para os fungos filamentosos, com uma literatura impressa diversificada, incluindo revisões taxonômicas e levantamentos de espécies em diferentes regiões geográficas e biomas. Estes levantamentos, contudo, tendem a se concentrar em um número reduzido de táxons.

A diversidade de arqueas, bactérias, leveduras, protozoários e vírus, principalmente de organismos isolados do ambiente, é ainda muito pouco conhecida. Publicações para estes grupos restringem-se principalmente à caracterização de microrganismos isolados, geralmente de interesse médico ou que representem riscos de doenças para plantas de importância agrícola, e a estudos de quantificação de grupos microbianos funcionais.

Na análise de dados do levantamento, pode-se perceber claramente que o conhecimento da diversidade de microrganismos no Brasil é ainda pouco expressivo. Existe um déficit de recursos humanos com formação em taxonomia e sistemática em todos os grupos de microrganismos citados. Conhecimentos em taxonomia polifásica, sistemática molecular e métodos independentes-de-cultivo, aplicáveis ao estudo de comunidades microbianas complexas no ambiente, são ainda pouco utilizados e restritos a grupos de pesquisa específicos.

Programas de fomento à pesquisa e de indução à formação de recursos humanos em áreas específicas, tais como o Programa Biota-FAPESP, o Programa Induzido de Microbiologia (PIM, CNPq) e chamadas específicas de programas de pesquisa científica e tecnológica na área de Biotecnologia (PADCT e MCT), foram identificados como contribuições importantes para o desenvolvimento de estudos de caracterização da diversidade, potencial biotecnológico e avanço da pesquisa em sistemática e taxonomia de microrganismos no Brasil.

Resultados de uma reavaliação do "estado da arte", baseada em um levantamento adicional de dados realizado em março de 2003 (Base de Currículos Lattes, CNPq/MCT), corroboraram as tendências gerais apontadas no levantamento realizado em 1995-96, ressaltando a predominância de profissionais na área médica (16,7%) e na microbiologia industrial e de fermentações (10,5%), e a concentração de pesquisadores nas regiões Sudeste (60%) e Sul (17%) do país.

MICRORGANISMOS: UM GRUPO HETEROGÊNEO, DIVERSIFICADO, COMPLEXO E AINDA POUCO CONHECIDO

O termo "microrganismo" é uma definição operacional, que congrega táxons variados de organismos unicelulares microscópicos, que vivem na natureza como células isoladas ou em agregados celulares. Esta definição abarca os grupos das bactérias, arqueas, fungos, protozoários e vírus. A diversidade microbiana, considerando-se os parâmetros de diversidade de espécies e diversidade genética, deve suplantar, em algumas ordens de magnitude, a diversidade existente em todos os demais grupos de seres vivos.

Os microrganismos foram os primeiros seres vivos a colonizar a Terra. Estima-se que os primeiros microrganismos surgiram há mais de 3,5 milhões de anos (Figura 1), em um período geológico em que a Terra passava por grandes transformações geológicas e químicas, e quando a atmosfera ainda não tinha oxigênio (Atlas & Bartha, 1998). A ação de processos metabólicos microbianos ao longo de milhões de anos resultou na formação de uma atmosfera rica em oxigênio, permitindo o surgimento e evolução de novas formas de vida aeróbias, organismos multicelulares complexos, plantas e animais superiores.

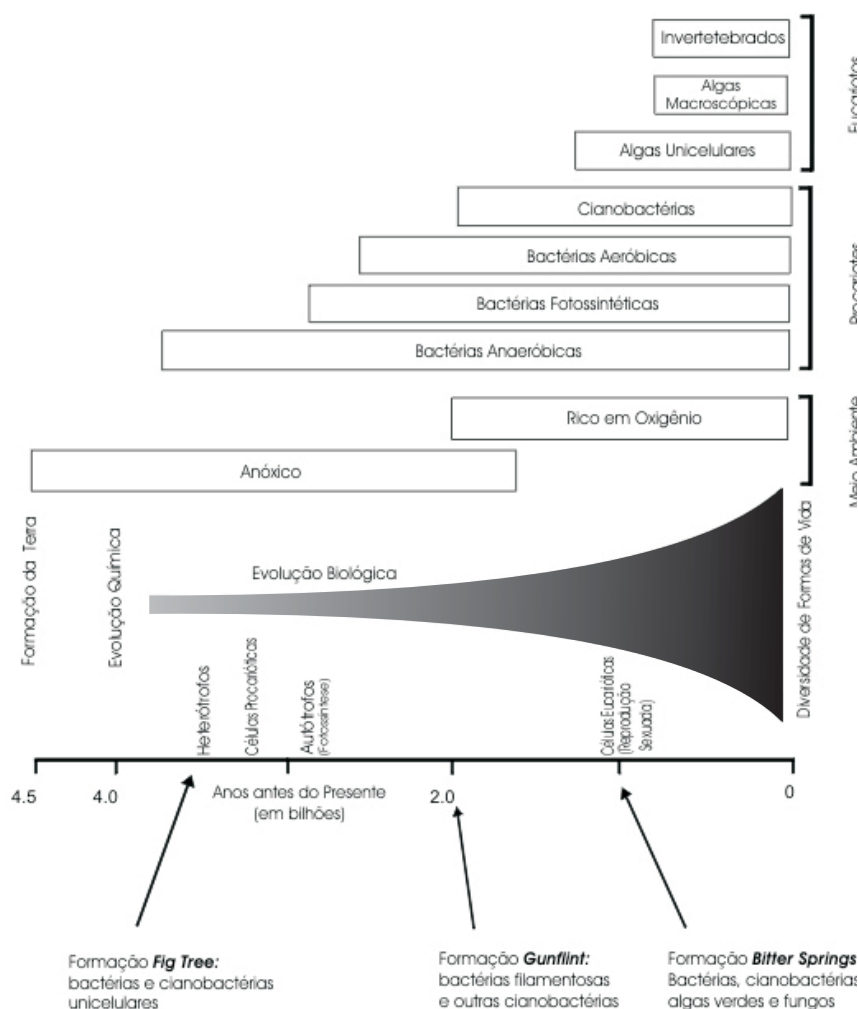


Figura 1. Esquema da evolução da vida na Terra e sua relação com a evolução dos microrganismos (Schopf, 1978; adaptado de Atlas & Bartha, 1998).

Hoje, microrganismos ocorrem em praticamente todos os ambientes do planeta, inclusive em locais cujas condições ambientais extrapolam os limites de tolerância de animais e plantas. Devido à sua relativa simplicidade morfológica e grande diversidade genética e metabólica, os microrganismos se adaptaram para viver em *habitats* e condições diversas no planeta, como em baixas concentrações de nutrientes e baixa atividade de água (*e.g.*, fungos xerófilos em ambientes desérticos), extremos de temperatura, salinidade, pH e pressão, como nas regiões polares (Ravenschlag *et al.*, 1999), em fontes geotermiais (Barns *et al.*, 1994), lagos alcalinos, ambientes abissais marinhos (Kato *et al.*, 1997), subsolo (Ghiorse & Wilson, 1988; Balkwill *et al.*, 1997; Chandler *et al.*, 1998), no interior de rochas subterrâneas (Pedersen *et al.*, 1996) e em depósitos de petróleo (Orphan *et al.*, 2000).

A existência e a diversidade de seres vivos no planeta estão intimamente ligadas à diversidade e à atividade metabólica de microrganismos na natureza (Lovelock, 1988; Stolz *et al.*, 1989; Trüper, 1992). O papel dos microrganismos na manutenção dos processos biológicos ainda é pouco conhecido. Sabe-se, contudo, que os microrganismos participam de processos ecológicos bastante importantes, tais como a fotossíntese oxigênica, ciclagem de matéria orgânica, ciclos biogeoquímicos, e manutenção da fertilidade e estrutura de solos (Stolz *et al.*, 1989; Trüper, 1992; Hawksworth, 1991a,b).

Apesar de sua grande importância ecológica, o número de táxons microbianos conhecidos e descritos (diversidade de espécies) representa apenas uma pequena fração da diversidade microbiana encontrada na natureza. Estudos baseados na análise direta da diversidade de bactérias no meio ambiente, por intermédio do emprego de métodos moleculares, têm revelado um cenário composto por uma rica diversidade de organismos ainda não cultivados e não estudados em laboratório (Ward *et al.*, 1990; Bornema & Triplett, 1997; Kuske *et al.*, 1997; Ludwig *et al.*, 1997; Pace, 1997; Hugenholtz *et al.*, 1998a, b).

Historicamente, o desenvolvimento da Microbiologia como ciência foi fortemente influenciado pela necessidade de conhecimento sobre os microrganismos causadores de doenças no homem e em outros animais (Atlas & Bartha, 1998). Durante várias décadas, pesquisadores concentraram esforços no desenvolvimento de métodos para detecção, isolamento e cultivo de microrganismos em condições de laboratório. Os protocolos de cultivo asséptico desenvolvidos por Koch (1883) influenciam de maneira decisiva o desenvolvimento da Microbiologia até os dias de hoje.

A definição informal do termo "microrganismo" acarreta problemas de natureza prática, pois congrega uma diversidade biológica muito ampla sob os auspícios da Microbiologia. Empregada para designar organismos não-visíveis a olho nu, que ocorrem na natureza como células unitárias ou em agregados de células, esta definição engloba organismos filogeneticamente distintos, incluindo tanto organismos procariotos, as arqueobactérias (Archaea) e bactérias, como eucariotos, as algas microscópicas (cianofíceas), fungos filamentosos, leveduras e protozoários, além da vasta diversidade de vírus.

Atualmente, a classificação filogenética de microrganismos, derivada da análise de seqüências do ácido ribonucléico ribossomal, ou RNAr (Woese *et al.*, 1990), e de outros genes conservados, aloca os diferentes grupos em três grandes Domínios (Figura 2): Bacteria, Archaea e Eucarya.

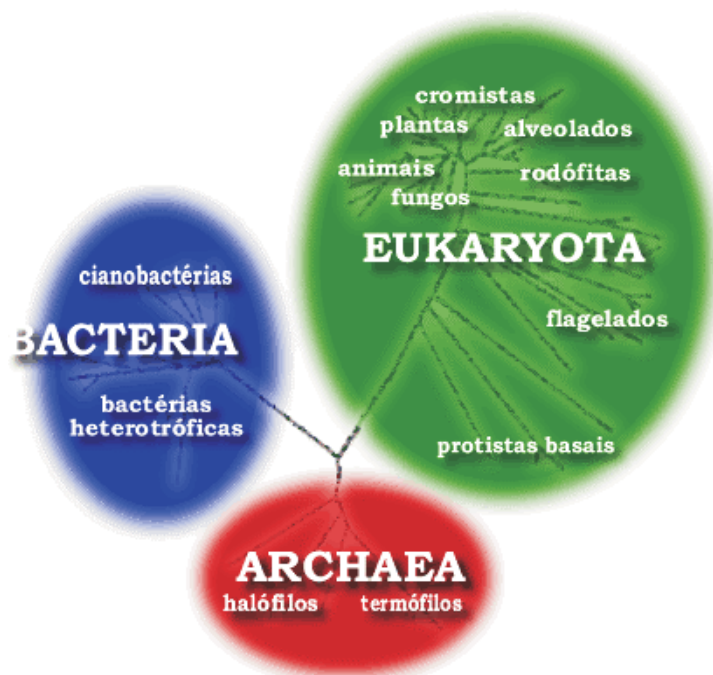


Figura 2. Microrganismos e sua distribuição nos Domínios Archaea, Bacteria e Eucarya.

Vírus, que são elementos genéticos não-celulares e não têm várias das estruturas e mecanismos básicos necessários à sua auto-replicação e manutenção, são também agregados ao escopo de estudo da Microbiologia. Vírus dependem para sua replicação e processos de síntese de proteínas e de componentes virais, de estar em interação dinâmica com uma célula hospedeira, sendo considerados, por alguns autores, como parasitas intracelulares obrigatórios.

Para cada um dos grupos citados acima, há esquemas de classificação e identificação distintos, que seguem diferentes códigos de nomenclatura biológica. Além disto, cada grupo é objeto de estudo de comunidades de pesquisadores independentes que, muitas vezes, partilham poucos interesses em comum. Em alguns casos, o mesmo grupo é estudado por mais de uma comunidade independentemente, como são as cianofíceas (botânica e microbiologia), ou protozoários (zoólogos, parasitologia, botânica). Em uma avaliação mais criteriosa, podemos afirmar que a Microbiologia engloba linhas de pesquisa independentes, e algumas vezes parcialmente sobrepostas, compreendidas por bacteriologistas (que incluem, ainda hoje, os especialistas em arqueas), botânicos², micologistas, protozoologistas e virologistas.

Fatores que têm contribuído para a falta de conhecimento sobre a diversidade microbiana em amostras ambientais são, em grande parte, relacionados às limitações dos métodos tradicionalmente utilizados para o isolamento e cultivo de microrganismos em laboratório (Palleroni, 1996), incluindo a utilização de meios e condições de cultivo incompatíveis com as condições encontradas no ambiente natural dos microrganismos.

Dados derivados de estudos comparativos indicam que apenas uma pequena fração dos microrganismos na natureza, entre <0.1 a 1%, dependendo do *habitat*, são cultivados por intermédio do emprego de métodos microbiológicos convencionais (Amann *et al.*, 1995).

²A taxonomia de bactérias fotossintéticas do grupo das cianofíceas, ou algas azuis, é também trabalhada independentemente pela comunidade de botânicos, segundo esquemas de classificação distintos do Código de Bacteriologia.

Um grande número de fatores pode ser responsável pela dificuldade no cultivo de microrganismos em condições de laboratório, incluindo o pouco conhecimento sobre os requisitos nutricionais e biologia de organismos presentes em amostras ambientais diversas. Além disso, a distribuição numérica desigual de táxons na natureza favorece a recuperação de grupos de organismos de crescimento rápido e mais bem adaptados às condições de cultivo utilizadas nos experimentos de isolamento. Frente a estes argumentos, é razoável afirmar que a descrição de comunidades microbianas não pode ser baseada apenas no uso de técnicas que envolvem isolamento e cultivo (Pace *et al.*, 1985; Ward *et al.*, 1990; Kuske *et al.*, 1997).

Diversos trabalhos evidenciaram de maneira clara a desproporção existente entre o conhecimento da diversidade de microrganismos em relação à diversidade de outros táxons relativamente melhor estudados, como animais superiores (exceto insetos e nematódeos) e plantas.

Embora as estimativas da diversidade de alguns grupos de microrganismos sejam baseadas em inferências a partir de um número relativamente reduzido de estudos, os números indicam a ordem de grandeza do problema taxonômico a ser enfrentado: estima-se que estejam descritos, atualmente, 5% do total de espécies existentes de fungos, 0,1% a 12% dos procariotos, 31% dos protozoários, e 4% dos vírus (Stork, 1988; Wilson, 1988; Hawksworth, 1991a; Bull *et al.*, 1992; World Conservation Monitoring Centre 1992).

Aliado ao pouco conhecimento disponível sobre a diversidade microbiana, existe, ainda, uma relativa escassez de material-referência para taxonomia disponível em coleções biológicas para estes grupos de seres vivos. Os dados apresentados na Tabela 1 ilustram a quantidade de material referência, preservado em coleções de culturas microbianas na forma de culturas viáveis de microrganismos, em relação ao número de espécies conhecidas e estimadas no planeta. Estes dados, apesar de parciais e incompletos, ilustram uma dificuldade prática que pesquisadores em taxonomia microbiana enfrentam para obtenção de material-referência para ensaios de caracterização em laboratório e revisão taxonômica de grupos microbianos.

Tabela 1. Número conhecido e estimado de espécies microbianas em relação a material depositado em coleções de culturas.^a

Grupo ^b	Número de espécies aproximado		Material disponível em coleções de culturas		
	Conhecido	Estimado	Total por grupo	% do número de espécies conhecidas	% do número estimado de espécies
Algas	37.700 - 42.900	400.000	1.600	3,7 - 4,2	0,4
Bactérias	4.300	1.000.000	2.300	53,5	0,2
Fungos	70.600 - 72.000	1.500.000	11.500	16,0 - 16,3	0,8
Vírus	3.600	400.000	2.200	61,1	5,5

^a Modificado a partir de Nisbet e Fox (1991), com as estimativas de totais mundiais de Prado & Lewinsohn (2005). ^b Nomes dos grupos refletem definições coloquiais e não são empregados no sentido taxonômico formal.

O conhecimento sobre a biogeografia de organismos é fundamental para se determinar a real extensão da diversidade microbiana, identificação de táxons ameaçados de extinção e de funções ecológicas de espécies nos ecossistemas (Staley & Gosink, 1999).

Para os propósitos de bioprospecção e biotecnologia, o conhecimento de biogeografia é importante para a definição de estratégias de busca e descoberta, ou seja, “onde procurar” por recursos biológicos potencialmente novos, e na definição de áreas de conservação de recursos biológicos e *pools* gênicos ricos em diversidade (Bull *et al.*, 2000).

A biogeografia microbiana é uma questão bastante controversa e existem debates acirrados entre pesquisadores da área sobre a aplicação deste conceito em microbiologia. Ecologistas microbianos e taxonomistas tenderam a ser relativamente pouco críticos em relação às colocações de Beijerinck e Baas-Becking (Staley & Gosink, 1999) de que bactérias (e por extensão todos os microrganismos) são cosmopolitas. A afirmação de que “*Tudo está em todo lugar... (Everything is everywhere...)*”, à qual Baas-Becking adicionou “... e o ambiente seleciona...”, prepondera ainda hoje em diversos meios da Microbiologia.

Contudo, enfoques contemporâneos de pesquisa contestam estas colocações tradicionais, e evidências experimentais de que a biogeografia pode ter um papel importante em microbiologia vêm se acumulando na literatura (Béjà *et al.*, 2002). Alguns autores argumentam que estudos de biogeografia microbiana devam ser conduzidos na escala de variação infra-específica, dada a forte inter-relação entre fatores ambientais e geográficos e a especiação de microrganismos. O termo “geovar” (Staley & Gosink, 1999) foi proposto para especificar a variedade de um dado microrganismo endêmico a uma área específica ou hospedeiro.

ESTRATÉGIA DO LEVANTAMENTO DE DADOS

A avaliação do estado do conhecimento sobre a diversidade de microrganismos no Brasil, enfocando grupos microbianos diversos, incluindo arqueas, bactéria, fungos filamentosos e leveduras, protozoários e vírus, além dos grupos de pesquisa atuantes no tema biodiversidade microbiana, foi parte integrante de um extenso levantamento coordenado por Thomas M. Lewinsohn, no Projeto “Estratégia Nacional da Diversidade Biológica” (BRA97G31-MMA/GEF/PNUD), do “Programa Nacional de Diversidade Biológica” (PRONABIO), Ministério do Meio Ambiente - MMA (Secretaria de Biodiversidade e Florestas - SBF, Diretoria de Conservação da Biodiversidade - DCBio). A apresentação no presente volume, e o capítulo de síntese fornecem os detalhes sobre o projeto como um todo.

Fontes de dados para o levantamento incluíram questionários enviados para pesquisadores líderes-de-grupo e pesquisadores individuais nas áreas de bacteriologia, micologia, virologia, microbiologia de solos, microbiologia médica, microbiologia de alimentos, microbiologia industrial e de fermentações e genética molecular, além de consultas a bases de dados de currículos, cadastros de grupos de pesquisa disponíveis em agências de fomento nacionais e publicações científicas de pesquisadores brasileiros em revistas científicas indexadas (com busca retroativa de 10 anos).

As particularidades dos microrganismos, conforme descrito anteriormente, aliados à vasta extensão territorial e riqueza de biomas brasileiros, tornaram este levantamento uma tarefa bastante complexa.

Em contraste com plantas e animais, excetuando-se, possivelmente, os insetos e nematóides, a diversidade da maioria dos grupos microbianos é ainda pouco conhecida. Em muitos casos, a caracterização das espécies também é

pobre em informação, devido, em parte, às dificuldades de cultivo e realização de ensaios de caracterização convencionais. Isso traz reflexos diretos sobre a sistemática de muitos grupos microbianos, seja na utilização de esquemas taxonômicos em estudos ambientais, seja na falta de conteúdo de informação das descrições de espécies publicadas, que não permite uma identificação adequada de muitos isolados. Estas deficiências tornam o processo de identificação de isolados ambientais uma tarefa árdua e imprecisa. Como conseqüência, muitos levantamentos de diversidade de microrganismos utilizam esquemas de triagem em que os isolados são, freqüentemente, identificados em nível de gênero, família ou superior.

Dependendo do foco dos estudos, é possível que a realização de levantamentos de diversidade seja feita com base na classificação de grandes grupos funcionais em uma dada comunidade microbiana ou ambiente como, por exemplo, o isolamento seletivo de fungos degradadores de celulose ou de bactérias heterotróficas mesofílicas aeróbias³.

Nestes tipos de levantamentos não se pode descartar a possibilidade de que parte dos isolados encontrados representará novas espécies ainda desconhecidas para a ciência, principalmente nos estudos realizados em regiões de megadiversidade biológica, como, por exemplo, a Mata Atlântica e a Amazônia.

Frente a este cenário de biodiversidade microbiana com dimensão e abrangência extraordinárias, a realização de um levantamento sobre o estado do conhecimento em nível nacional é uma tarefa bastante complexa. Cabe, então, uma nota de alerta ao leitor quanto à interpretação dos resultados desta pesquisa.

A estratégia de coleta de informações sobre profissionais atuantes em pesquisa, cujas linhas de atuação envolvessem o tema "diversidade microbiana", compreendeu duas abordagens:

- a) levantamento de profissionais e linhas de atuação por meio de consultas em bases de dados e publicações relevantes da área no período de 1989 a 1996;
- b) distribuição de questionários-padrão para coleta de dados entre os profissionais identificados como "líderes-de-grupo" de pesquisa atuantes no país, e entre pesquisadores individuais com formação em nível de mestrado ou acima.

As bases de dados consultadas para o levantamento de dados foram:

- "Quem é Quem em Biodiversidade"⁴
- "Cadastro Nacional de Competência em Ciência e Tecnologia", do CNCT (<http://reaact.cesar.org.br/cnct/novo-cnct/htmlEstatico/Welcome.html>),
- "Diretório dos Grupos de Pesquisa no Brasil", do CNPq, versão 2 (<http://www.cnpq.br/gpesq2/>) e versão 4 (<http://www.cnpq.br/gpesq3/dgp4/infgeral.html>)
- Base de Currículos Lattes, CNPq, versão mar/2003 (<http://lattes.cnpq.br/>).

³ Bactérias capazes de utilizar compostos de carbono e nitrogênio, que crescem em temperaturas entre 25 a 40° C, na presença de oxigênio.

⁴ O Ministério do Meio Ambiente assumiu a coordenação da "Rede de Informações em Biodiversidade" (BinBr; <http://www.binbr.org.br/quem>), que congrega a base de dados "Quem é Quem em Biodiversidade", originalmente sediada na Fundação André Tosello (<http://www.bdt.org.br/bdt/whobio/>).

Houve problemas devidos à inexistência de um cadastro único de informações na ocasião da amostragem⁵, classificações de “áreas de atuação” desatualizadas e imprecisas em algumas das bases consultadas, dificuldade de acesso à informação atualizada e dificuldades inerentes ao retorno de informações solicitadas por meio de questionários impressos. Contudo, a compilação dos dados levantados permitiu uma avaliação global do cenário nacional de pesquisa em diversidade microbiana. Dados básicos relativos à distribuição geográfica de profissionais na área de Microbiologia e respectivas linhas de pesquisa foram obtidos.

Por mais extenso e abrangente que este levantamento tenha sido, a análise do conhecimento efetivamente acumulado para os diferentes grupos microbianos e da representatividade de especialistas no país deve ser avaliada com cautela. Apesar do cruzamento de informações oriundas de diferentes fontes, é possível que pesquisadores e trabalhos de pesquisa, porventura não cadastrados nas bases de dados consultadas na ocasião da amostragem, não tenham sido representados na avaliação. Os resultados aqui apresentados representam, em última instância, um retrato do estado do conhecimento na ocasião da amostragem (final de 1996). Entretanto, as tendências gerais foram corroboradas pelos resultados de um levantamento de dados complementar, realizado na Base de Currículos Lattes em março de 2003, conforme discutido adiante.

A distribuição geográfica de pesquisadores em Microbiologia (Tabela 2) evidencia claramente uma distribuição desigual no país, diretamente relacionada ao número de instituições atuantes nas diferentes regiões. A maioria dos profissionais está localizada em instituições na região Sudeste (MG, SP e RJ) e Sul do país (PR, SC e RS), com ocorrência reduzida nas demais regiões: Norte (TO), Nordeste (BA e PE) e Centro-Oeste (DF e GO).

Vários fatores, incluindo aspectos históricos da localização das instituições, infra-estrutura e disponibilidade de recursos para pesquisa, certamente contribuem para a distribuição observada. Contudo, cabe salientar que as regiões Norte/Nordeste e Centro-Oeste englobam algumas das áreas de maior diversidade biológica no mundo, incluindo as formações da Floresta Amazônica, Cerrado, Pantanal e algumas áreas remanescentes da Mata Atlântica. A escassez de profissionais atuantes nestas regiões certamente representa uma limitação expressiva ao desenvolvimento de estudos da diversidade de microrganismos nestes.

Tabela 2. Distribuição geográfica de profissionais e instituições ligadas à pesquisa em diversidade microbiana no Brasil no ano de 1996.

Macro-regiões	Instituições	Pesquisadores
Norte/Nordeste	4	5
Centro-Oeste	4	9
Sudeste	22	62
Sul	6	15
Total	36	91

⁵A Base de Currículos Lattes do CNPq/MCT representa, hoje, um sistema unificado nacional de informações, congregando mais de 270 mil registros (março/2003) de pesquisadores em diferentes áreas do conhecimento.

Em levantamento de dados realizado em março de 2003 (Tabela 3) na base de dados do sistema Lattes (<http://lattes.cnpq.br>), não verificamos um incremento no número de pesquisadores enquadrados em Microbiologia na área temática de Ciências Biológicas (grupo 2120) e Ciências Agrícolas (5010), comparado com os dados de 1996. Novamente, a maior distribuição das instituições de atuação destes pesquisadores (Figura 3) foi nas regiões Sudeste (59%) e Sul (17%).

Tabela 3. Número de pesquisadores classificados nas áreas de Microbiologia (2120) e Ciências Agrícolas (5010) no sistema Lattes do CNPq/MCT em (19/mar/2003).

Classificação CNPq	Área do conhecimento	Total por área principal ^a	%	Total com redundância ^b	%
21200009	Microbiologia	394	18,0	1018	18,4
21201005	Biologia e Fisiologia dos Microorganismos	109	5,0	443	8,0
21201013	Virologia	176	8,0	327	5,9
21201021	Bacterologia	250	11,4	536	9,7
21201030	Micologia	160	7,3	354	6,4
21202001	Microbiologia Aplicada	226	10,3	826	15,0
21202010	Microbiologia Médica	366	16,7	753	13,6
21202028	Microbiologia Industrial e de Fermentação	229	10,5	594	10,8
50101048	Microbiologia e Bioquímica do Solo	242	11,1	468	8,5
50102044	Microbiologia Agrícola	37	1,7	205	3,7
TOTAL		2.189		5.524	

^aPesquisadores que selecionaram a área de conhecimento como sua área principal no sistema.

^bPesquisadores que selecionaram a área como uma das suas áreas de atuação.

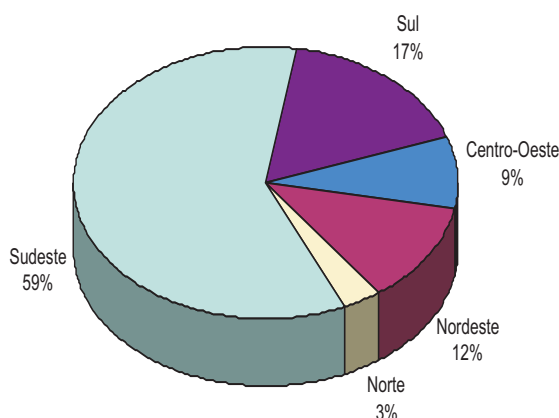


Figura 3. Distribuição geográfica das instituições dos pesquisadores classificados como áreas principais Microbiologia (2120) e Ciências Agrícolas (5010) no sistema Lattes do CNPq/MCT (em 19/mar/2003).

LINHAS DE PESQUISA EM DIVERSIDADE MICROBIANA

Basicamente, duas linhas principais de formação em Microbiologia podem ser apontadas no Brasil:

- formação em microbiologia determinativa, praticada nas áreas de microbiologia clínica e de alimentos, em que a detecção e identificação

de organismos são baseadas em esquemas padronizados para os principais grupos de microrganismos com risco potencial para a saúde pública;

- microbiologia sistemática *sensu lato*, de prática restrita a poucos grupos de trabalho, relacionados à caracterização e estudos taxonômicos de microrganismos isolados do meio ambiente.

A microbiologia clínica teve, historicamente, um maior avanço que a microbiologia ambiental devido à sua importância para a saúde pública no Brasil. Diversos grupos com tradição de muitas décadas em pesquisa de nível internacional em protozoários e vírus associados a doenças tropicais continuam atuantes, em instituições de pesquisa tais como a Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), o Instituto Evandro Chagas e a Universidade de São Paulo (USP). Além de grupos de pesquisa consolidados em bacteriologia, como as equipes do Instituto Adolfo Lutz (IAL), Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo (IMT/USP) e Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), e em micologia, como o grupo da DPUA, Universidade do Amazonas e IMT/USP.

A pesquisa em microbiologia ambiental vem ganhando força ao longo dos últimos anos, com a emergência de grupos de trabalho cujos estudos enfocam a região Amazônica (Universidade do Amazonas), Cerrado Central (Universidade de Goiás) e Mata Atlântica (Coleção de Culturas Tropical, CCT/Fundação André Tosello⁶, Universidade Federal de Pernambuco, Universidade Federal do Rio de Janeiro e Universidade de São Paulo).

Além destes grupos, equipes especializadas em organismos de importância agrícola, ambiental, industrial e microbiologia de alimentos são encontradas em diversos centros da EMBRAPA, IBSBF/Instituto Biológico, CNEN/PC-SP, SEMIA/IPAGRO (Piracicaba, SP), DTPE/CETESB (SP), INCQS/FIOCRUZ, Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT, SP) Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL, SP), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Universidade de Brasília (UnB) e Universidade de São Paulo (USP).

Contudo, a capacitação de pessoal e infra-estrutura de pesquisa para a realização de estudos envolvendo a caracterização da diversidade microbiana ainda são embrionários no país. Metodologias de microbiologia sistemática, principalmente a aplicação de taxonomia polifásica, sistemática molecular e métodos independentes-de-cultivo, necessários à realização de estudos de diversidade microbiana em comunidades complexas, demandam uma infra-estrutura e treinamento específicos, ainda limitados aos grandes centros nacionais de pesquisa.

A formação clássica em taxonomia determinativa e metodologias de análise fenotípica, praticadas em microbiologia clínica e de alimentos, não são adequadas para a detecção, isolamento e identificação de organismos na natureza.

Microrganismos na natureza podem apresentar maior diversidade fisiológica e fenotípica, condições ainda não definidas para seu cultivo em laboratório e uma diversidade taxonômica ampla, englobando organismos ainda não descritos na literatura.

A abordagem praticada em estudos de diversidade microbiana em nível internacional é baseada em uma combinação de métodos clássicos de isolamento e caracterização taxonômica, complementados por metodologias moleculares

⁶A equipe da Coleção de Culturas Tropical ligada à pesquisa em sistemática microbiana foi transferida em 2002 para a Divisão de Recursos Microbianos do CPQBA/Unicamp (<http://www.cpqba.unicamp.br>).

de análise direta da diversidade de microrganismos na amostra. Esta última abordagem visa superar a dificuldade de isolamento e cultivo de certos grupos de microrganismos, e contempla a possibilidade de se encontrar novos táxons ainda não descritos na literatura. A realização destes estudos requer profissionais com conhecimento amplo de sistemática microbiana, além do conhecimento prático de técnicas e metodologias de caracterização taxonômica e identificação de microrganismos, e acesso a uma infra-estrutura laboratorial moderna e complexa.

As metodologias de caracterização direta de populações em amostras ambientais e de grupos funcionais de microrganismos são praticadas, com grandes limitações, em um número reduzido de centros de pesquisa no Brasil, restritos principalmente àqueles que mantêm um intercâmbio científico ativo com grupos de pesquisa no exterior. Dentre os grupos identificados neste levantamento podemos salientar os grupos de pesquisa liderados por Dr^a. Leda Hagler (UFRJ), Dr^a. Lucy Seldin (UFRJ), Dr^a. Vivian Pellizari (ICB/USP), Dr. Carlos Moreira A. Filho (ICB/USP) e Dr. Gilson P. Manfio (CPQBA/UNICAMP).

A formação de recursos humanos é recorrentemente apontada como uma das questões chave para o desenvolvimento da Microbiologia no país.

No Workshop "Biodiversity: Perspectives and Technological Opportunities" (1995), financiado pelo PADCT/Finep (<http://www.bdt.fat.org.br/publicacoes/padct/bio>), o tema "Diversidade Microbiana e Desenvolvimento Sustentável" teve importância secundária frente aos demais temas discutidos, refletindo a falta de massa crítica da comunidade científica nesta área. Dentre as recomendações do grupo de trabalho, destacaram-se:

- a necessidade de interação com o programa do Comitê de Microbiologia (CNPq) com o objetivo de induzir a capacitação na área de Microbiologia;
- inclusão de Microbiologia como disciplina obrigatória no currículo-mínimo dos cursos de graduação em Biologia (Freire & Gambale, 1996);
- propostas de cursos de Pós-graduação em nível de atualização ou aperfeiçoamento, com o objetivo de formar microbiologistas com formação em taxonomia e sistemática.

Coleções-de-referência de microrganismos têm sido apontadas como recursos essenciais para o desenvolvimento de pesquisas em biodiversidade e sistemática (Hawksworth, 1996). As coleções podem atuar como centros de disseminação de conhecimento, congregando especialistas em taxonomia e sistemática de grupos microbianos diversos, realizando treinamento específico, tal como para metodologias de isolamento e cultivo, metodologias moleculares de tipagem e detecção de grupos específicos, e também como apoio de infra-estrutura, atuando na preservação de germoplasma microbiano e manutenção de coleções de microrganismos-referência para aplicações específicas.

Com o desenvolvimento acelerado da Biotecnologia nos últimos anos, novos desafios vêm sendo apresentados aos profissionais atuantes nesta área (Canhos & Manfio, 2001), demandando das coleções de serviço uma evolução rápida no sentido de se adequar às novas demandas⁷, incluindo conhecimentos em genômica e metagenômica, sistemas de armazenamento em larga escala e informatização de acervos.

⁷Vide resultados de um estudo específico sobre o tema, realizado pela Coordenação Geral de Biotecnologia do Ministério de Ciência e Tecnologia (MCT), site http://www.mct.gov.br/Temas/biotec/estudos_biotec.htm.

Um ponto crítico citado como limitante ao desenvolvimento da microbiologia ambiental no Brasil é a falta de apoio às coleções-de-referência de microrganismos no país. Coleções científicas importantes, incluindo acervos de microalgas, protozoários, bactérias, fungos filamentosos, leveduras e linhagens celulares, são predominantemente localizadas nas regiões Sudeste e Sul, em centros de pesquisa e universidades, sendo que regiões consideradas ricas em diversidade, como o Norte e Centro-Oeste do país, apresentam um número pequeno de coleções.

Quanto à abrangência dos acervos, segundo levantamento realizado entre 1982 e 1989 (Canhos *et al.*, 1989), dentre 36 coleções catalogadas, 7 apresentavam acervos de algas, 18 continham acervos de bactérias, 18 armazenavam fungos filamentosos e leveduras, 4 mantinham acervos de protozoários, 1 mantinha linhagens de vírus e 1 de culturas celulares animais.

Existe, contudo, uma grande lacuna de informação quanto ao estado de conservação, documentação e informatização dos acervos, capacitação de profissionais e, sobretudo, quanto ao perfil de utilização e desenvolvimento de pesquisas ligadas ao material do acervo. Atendendo a esta necessidade específica, o Ministério de Ciência e Tecnologia lançou o "Sistema de Informação de Coleções de Interesse Biotecnológico", SICol, que tem por objetivo disseminar informações sobre os centros de recursos biológicos brasileiros e servir de elemento integrador às diversas coleções de interesse biotecnológico, econômico e de aplicações industriais no país. Por intermédio de um sistema de base de dados centralizado, buscas nos acervos de diversas coleções microbianas brasileiras podem ser realizadas com grande facilidade (<http://sicol.cria.org.br/>).

Para facilitar a apresentação e discussão, os resultados da pesquisa serão considerados nos contextos dos diferentes grupos de microrganismos, conforme descrito a seguir.

DIVERSIDADE DE ARCHAEA

O Domínio Archaea, anteriormente denominadas de arqueobactérias (Staley & Holt, 1989), são microrganismos procarióticos evolutivamente distintos dos procariotos alocados no Domínio Bacteria. As Archaea são encontradas em uma grande diversidade de *habitats*, incluindo desde solos e *habitats* aquáticos (DeLong, 1992; 1998) até ambientes extremos, com elevada temperatura, salinidade (Figura 4) e pH (Barns *et al.*, 1994). Este grupo de microrganismos também se distingue pela organização do genoma, pelos mecanismos de expressão e regulação gênica, e pelas diversidades metabólica e fisiológica (Madigan *et al.*, 1997; <http://www.prenhall.com/~brock>).

O Domínio Archaea compreende três divisões filogenéticas: Crenarchaeota, incluindo as Archaea redutoras de enxofre hipertermófilas; Euryarchaeota, que engloba uma grande diversidade de organismos, incluindo as espécies metanogênicas e halófilas extremas; e Korarchaeota, uma divisão descrita recentemente, que engloba organismos hipertermófilos pouco conhecidos, ainda não cultivados em laboratório. Uma descrição dos diversos grupos de arqueas pode ser encontrada na revisão de Vazoller *et al.* (1999).

O conhecimento científico sobre Archaea vem crescendo rapidamente nos últimos anos, com a aplicação de metodologias moleculares adequadas ao estudo de organismos ainda não cultivados em laboratório e em *habitats* naturais. A amplificação e análise filogenética de genes ribossomais (DNAr ou RNAr 16S) é a ferramenta mais utilizada nestes estudos. São conhecidas 108 espécies de

Archaea com descrição válida na literatura internacional (<http://www.dsmz.de/bactnom/bactname.htm>).

No Brasil, existem poucos relatos de isolamento e identificação de espécies de Archaea, sendo estes principalmente relacionados a estudos em processos de tratamento de efluentes, produção de metano em reatores experimentais e campos alagados de arroz, e microrganismos halofílicos isolados de salinas (Figura 4).

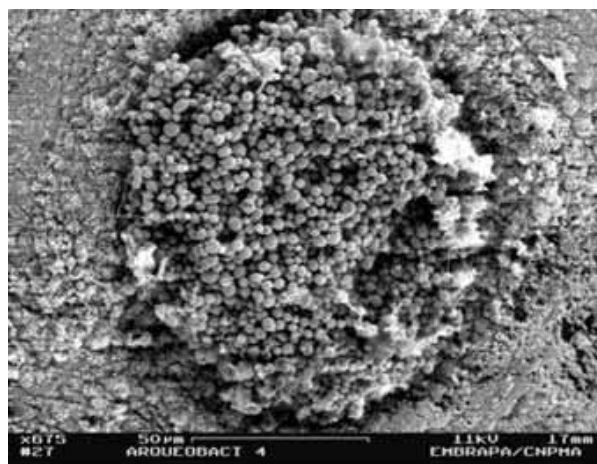


Figura 4. Arqueas halofílicas ao microscópio eletrônico de varredura. Isoladas de salinas abandonadas em Icapui (CE), são capazes de crescer em meio de cultura contendo 10% NaCl. (Créditos: Francisco Eduardo de Carvalho Costa, Brigida Pimentel Vilar de Queiroz e Sávio Torres de Farias, CNPMA/EMBRAPA).

Grupos de pesquisa em diversidade de Archaea no Brasil

Apesar da grande utilização de sistemas de digestão anaeróbia para tratamento de efluentes e resíduos no Brasil, a realização de estudos relacionados à diversidade e sistemática de Archaea é ainda incipiente. Após um intenso levantamento, destacamos apenas as pesquisas do grupo do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, voltadas para caracterização taxonômica de Archaea em lodos (Vazoller, 1989; 1995; 1997; Vazoller *et al.*, 1988; Badra, 1993) e trabalhos de pesquisa em ecologia molecular em andamento, em colaboração com equipes do CPQBA/UNICAMP e FIOCRUZ. Existe, ainda, uma iniciativa de projeto de pesquisa de arqueas metanogênicas em campos de plantio de arroz irrigado na região Sul do país (EMBRAPA).

A falta de massa crítica de pesquisadores atuantes neste grupo de microrganismos no país foi identificada como uma séria limitação ao desenvolvimento científico e à exploração dos potenciais tecnológico (metanogênese) e biotecnológico destes microrganismos no Brasil.

DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS

De modo geral, a descrição de comunidades microbianas requer o emprego de técnicas que não envolvam o cultivo em laboratório, uma vez que apenas uma pequena fração dos organismos na natureza (<1%) é cultivável por meio de técnicas microbiológicas de rotina (Amann *et al.*, 1995).

Estudos baseados na análise direta da diversidade bacteriana em amostras ambientais por meio de métodos moleculares indicam que alguns grupos do Domínio Bacteria apresentam distribuição cosmopolita (Ludwig *et al.*, 1997),

ao passo que outros parecem estar restritos a ambientes particulares (Schlegel & Jannasch, 1992).

Alguns dos grupos filogenéticos de distribuição cosmopolita são bem conhecidos a partir de estudos de isolamento e cultivo, tal como os actinomicetos (Actinobacteria), bacilos Gram-positivos, enterobactérias (Proteobacteria) e Cytophagales. Ao passo que outros são ainda pouco conhecidos/estudados ou não foram ainda detectados por intermédio de cultivo (e.g., Divisões *Acidobacterium*, bactérias verdes não-sulfurosas e *Verrucomicrobia*) e, conseqüentemente, pouco se sabe sobre a sua biologia (Hedlund *et al.*, 1997; Hugenholtz *et al.*, 1998a).

Nas últimas décadas, a taxonomia de bactérias sofreu grandes avanços com base em informações derivadas de novas metodologias analíticas (e.g., quimiotaxonomia, composição de bases de DNA, hibridização DNA-DNA, ribotipagem, *etc.*), que possibilitaram a caracterização e diferenciação de organismos antes alocados em grupos heterogêneos através do uso integrado de características fenotípicas e genotípicas, denominado *taxonomia polifásica*.

A filogenia é atualmente uma ferramenta importante na classificação de bactérias. Segundo Hugenholtz *et al.* (1998a, b), o Domínio Bacteria compreende pelo menos 36 divisões (Figura 5). Este número inclui as 12 divisões compiladas no trabalho de Woese, em 1987, baseadas, principalmente, na análise de seqüências de rRNA 16S de organismos cultivados, 12 novas divisões descritas em uma única investigação envolvendo a análise de seqüências de rDNA 16S isoladas diretamente do meio ambiente (Hugenholtz *et al.*, 1998a) e 12 linhas de descendência adicionais, descritas em estudos diversos (Maidak *et al.*, 1997). O termo "divisão" é definido como um grupo filogenético contendo duas ou mais seqüências de rDNA 16S, monofiléticas e não afiliadas com os outros grupos filogenéticos que integram o Domínio Bacteria (Hugenholtz *et al.*, 1998a,b).

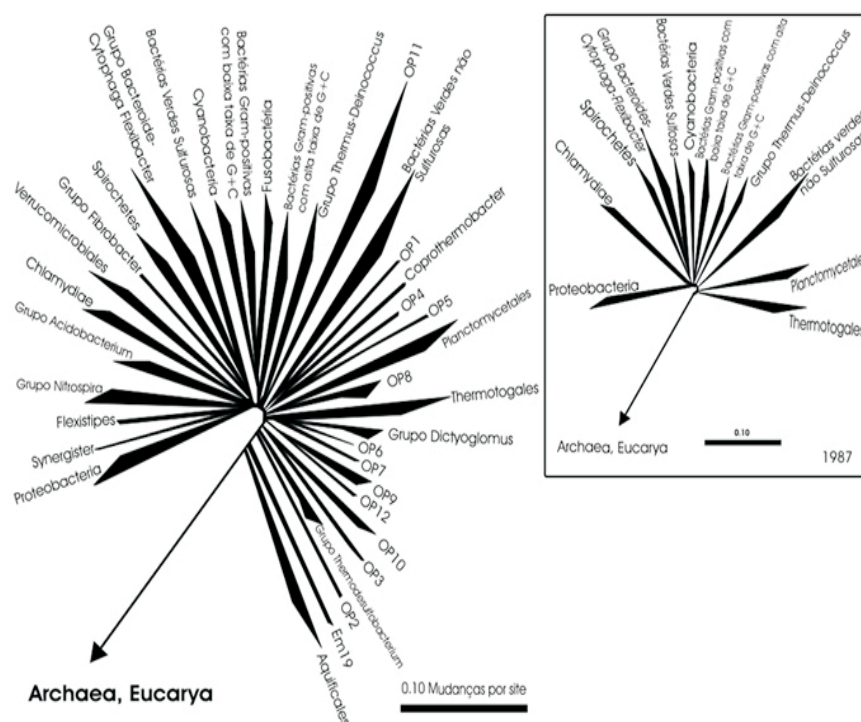


Figura 5. Representação radial dos grupos filogenéticos de Bacteria conhecidos em 1987 (Woese) em comparação com dados de estudos recentes (Hugenholtz *et al.*, 1998a). Os setores em cunha indicam a ocorrência de duas ou mais seqüências representativas naquele nível de radiação (Figura reproduzida com permissão da ASM). Grupos denominados por OP são novos grupos sem denominação formal.

Revisões taxonômicas e descrições de novos grupos das bactérias apresentaram um crescimento vertiginoso nos últimos anos. Alterações na nomenclatura e inclusão de novos nomes são controladas pelo "Código de Nomenclatura de Bactérias" (Lapage *et al.*, 1975) e divulgadas em "Validation Lists", publicadas trimestralmente no *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (IJSEM, <http://www.socgenmicrobiol.org.uk/ijsemmain.htm>), que compila novos nomes descritos em trabalhos científicos publicados em periódicos científicos diversos. A divulgação simultânea por meio de um veículo impresso e eletrônico *on-line* (<http://ijs.sgmjournals.org/>) de circulação internacional e nas bases de dados de nomenclatura disponíveis na Internet (vide <http://www.dsmz.de/bactnom/bactname.htm> e links para outras bases citadas naquele *site*) são fatores que permitem a atualização rápida de pesquisadores em diferentes áreas de pesquisa em bacteriologia.

Segundo dados da época de realização deste levantamento, bactérias e arqueas compreendem um total de 4.314 espécies com descrição taxonômica válida, distribuídas em 849 gêneros (<http://www.dsmz.de/bactnom/bactname.htm>). A classificação hierárquica dos táxons no Domínio Bacteria pode ser encontrada no *site* do NCBI Taxonomy Homepage (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/tax.html>). Uma descrição dos diversos grupos de bactérias pode ser encontrada na revisão de Canhos *et al.* (1999).

Estudos de diversidade de bactérias em ecossistemas brasileiros ainda são escassos e principalmente direcionados ao emprego de metodologias de isolamento e cultivo.

Grupos de pesquisa em diversidade de bactérias no Brasil

O número de grupos de pesquisa e pesquisadores atuantes em estudos de sistemática e diversidade de bactérias no Brasil é bastante restrito. Os grupos com registro de publicações nos últimos 5-10 anos estão localizados principalmente na região Sudeste do país.

Durante o levantamento, foram detectados diversos grupos com publicações recentes, dos quais alguns apresentaram linhas de pesquisa emergentes na área de ecologia molecular microbiana (Rosado *et al.*, 1997; Coutinho *et al.*, 1999). Contudo, os grupos taxonômicos estudados no país são bastante limitados. Muitas vezes os organismos são caracterizados taxonomicamente em nível de gênero ou apenas quanto a propriedades tecnológicas de interesse. Dentre os principais temas de pesquisa e publicações encontradas nas buscas bibliográficas, podemos ressaltar as seguintes:

- diversidade e aplicação de bactérias em biorremediação ambiental de áreas poluídas (Pellizari *et al.*, 1996);
- bactérias degradadoras de resíduos de pesticidas (Esposito *et al.*, 1998);
- biodigestão de compostos recalcitrantes em efluentes industriais (Souza *et al.*, 1991; Vazoller, 1995; 1997);
- prospecção (*screening*) de microrganismos para produção e(ou) biotransformação de compostos de diferentes classes químicas (Salva *et al.*, 1997; Cagnon *et al.*, 1998);
- estudo sistemático de bactérias fitopatogênicas de importância agrícola (Robbs, 1981; Jabuonsky *et al.*, 1986; Malavolta-Júnior, 1996; Beretta *et al.*, 1997; Machado *et al.*, 1997; Rosato *et al.*, 1998);
- diversidade de bactérias de origem ambiental, contaminantes de processos de produção industrial de sucos (Figura 6) e outros tipos de alimentos (Jobin *et al.*, 1997; Pinhati *et al.*, 1997; Alfenas, 1999);

- diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio endofíticas, simbiontes ou de vida livre (Rumjanek *et al.*, 1993; Neves & Rumjanek, 1997; Rosado *et al.*, 1997; 1998; Seldin *et al.*, 1998; Coutinho *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 1999; Reinhardt *et al.*, 1999);
- diversidade de bactérias patogênicas de importância veterinária (Lange *et al.*, 1999);
- diversidade de bactérias associadas a doenças humanas e riscos para saúde pública (Sanchez, 1986; Matté, 1993; 1995; Rivera *et al.*, 1995; Rivera & Martins, 1996; Higuti *et al.*, 1998; Tomasz *et al.*, 1998; Santos *et al.*, 1999).



Figura 6. Bactérias acidofílicas-termofílicas esporuladas do gênero *Alicyclobacillus* isoladas de sucos de laranja termoprocessados, capazes de crescer em pH 3,5 e temperatura ótima ao redor de 60°C (CBMAI 0114, coloração de Gram; Créditos: Patrícia Mariana Zachello, CPQBA/UNICAMP).

DIVERSIDADE DE FUNGOS FILAMENTOSOS E LEVEDURAS

Os fungos constituem um grupo microbiano cosmopolita extremamente diverso, com uma ampla variedade de morfologias, metabolismos e *habitats*. Levantamentos estimativos da década de 1990 (Hawksworth, 1991a,b) propuseram que apenas 5% da diversidade de fungos seria conhecida, com aproximadamente 72.000 espécies descritas na literatura. Se esta estimativa for correta, os fungos representam um dos grupos microbianos com o maior número de espécies na natureza, aproximando-se da casa dos 1,5 milhões de espécies estimadas (Hawksworth, 2001).

Estes organismos podem ser alocados, de acordo com aspectos morfológicos, reprodutivos e filogenéticos, em diferentes grupos taxonômicos: Ascomycota, Zigomycota/Trichomycota, Glomeromycota, Deuteromycota, Chytridiomycota e Stramenopila (Hyphochytridiomycota, Labyrinthulomycota e Oomycota). Uma ilustração das relações evolutivas entre os grupos é apresentada na Figura 7. A diversidade de espécies nestes grupos e a estimativa de espécies conhecidas no Brasil, baseado em diversos autores, são apresentadas na Tabela 4.

Devido à extensa literatura acumulada a partir de levantamentos realizados há mais de um século no país, os fungos podem ser considerados como um dos grupos de microrganismos comparativamente mais estudados no Brasil.

Apesar do volume de informações disponível na literatura ser extenso, este grupo de microrganismos apresenta uma grande diversidade de espécies e genética ainda por serem estudadas.

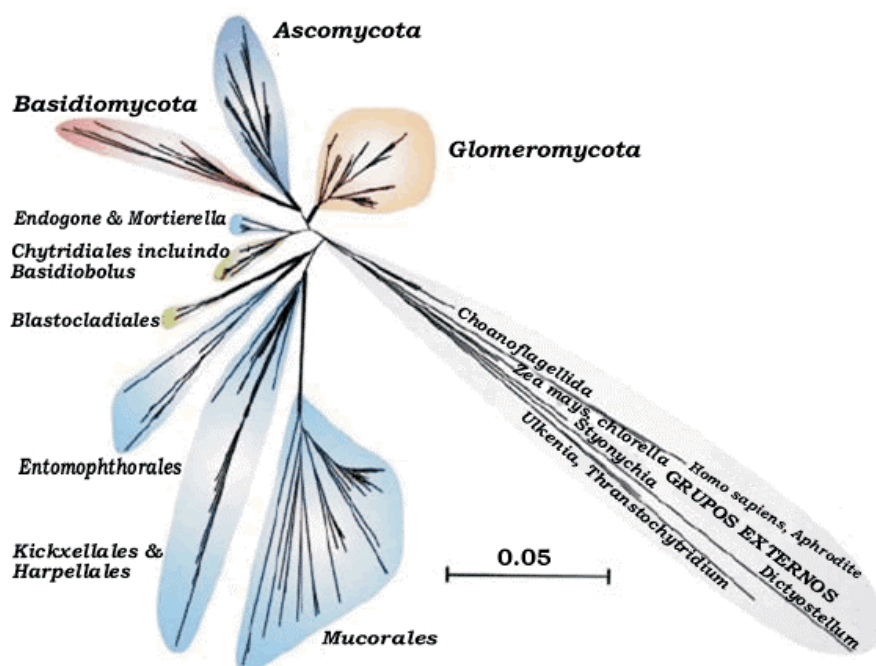


Figura 7. Filogenia de fungos baseada na análise de seqüências de rDNA 16S. Zygomycota e Chytridiomycota não formam grupos monofiléticos e são apresentados na árvore por táxons representativos dos grupos (Fonte: Schüssler *et al.*, 2001).

Tabela 4. Diversidade de espécies de fungos no Brasil e no mundo^a.

Grupo taxonômico	Nº. de espécies conhecidas no mundo	Nº. de espécies conhecidas no Brasil
Reino Fungi		
Filo Ascomycota		
Classe Ascomycetes (46 ordens)	32.267	N.d. ^b
Filo Zygomycota		
Classe Zygomycetes (7 ordens, 125 gêneros)	867	165
Classe Trichomycetes (4 ordens, 48 gêneros)	189	N.d.
Filo Deuteromycota		
Classes Hyphomycetes, Coelomycetes e Agonomycetes (2.600 gêneros)	15.000	N.d.
Filo Chytridiomycota	793	93
Reino Stramenopila		
Filo Hyphochytridiomycota	24	4
Filo Labyrinthulomycota	42	4
Filo Oomycota	694	133

^a Baseado em Grandi (1999), Milanez (1999a, b), Rodrigues-Heerklotz & Pfenning (1999), e Trufem (1999). ^bN.d. = não determinado. Compreende as estimativas de espécies dos fungos micorrízicos arbusculares, recentemente reclassificados em um novo filo, Glomeromycota (Schüssler *et al.*, 2001).

Uma revisão extensa sobre a diversidade e ocorrência de fungos pode ser encontrada na compilação de Canhos e Vazoller (1999). Neste levantamento é ressaltada a existência de uma extensa bibliografia sobre fungos brasileiros, resultante de pesquisas realizadas no final do século 19 e nas décadas de 1970 e 1980, principalmente por cientistas estrangeiros, e estudos recentes na década de 1990 por pesquisadores brasileiros, voltados para levantamentos de diversidade de espécies em diversas regiões brasileiras. (Vide revisões em Grandi, 1999; Trufem, 1999; Rodrigues-Heerklotz & Pfenning, 1999). Alguns estudos enfocam biomas únicos do Brasil, como o Cerrado (Dianese *et al.*, 1997), região Amazônica e região Nordeste (da Silva & Minter, 1995).

Estudos aplicados têm sido também direcionados para áreas de reflorestamento para extrativismo de madeira, enfocando interações entre fungos micorrízicos e plantas (Giachini, 1995; Giachini & Oliveira, 1966), e para associações entre fungos e animais (Rosa *et al.*, 1999), sendo estas últimas ainda pouco estudadas em regiões tropicais.

Grupos de pesquisa em diversidade de fungos no Brasil

No levantamento realizado recebemos respostas de apenas um grupo de pesquisa atuante em Micologia, e complementamos os dados com levantamentos realizados nas bases de dados anteriormente indicadas.

No tocante a recursos humanos, o Brasil tem tradição de pesquisa e formação de micologistas em diversas universidades e institutos de pesquisa. Durante o levantamento, foram identificados alguns grupos de pesquisa, salientando-se:

- CNPMA/EMBRAPA, Dr. Itamar Soares de Mello: fungos entomopatogênicos, endofíticos e utilizados em controle biológico (Figura 8);
- Instituto Biológico de São Paulo, Laboratório de Micologia Fitopatológica (SP): caracterização e taxonomia de fungos fitopatogênicos e ferrugens (Figura 9);
- Instituto de Botânica (São Paulo, SP), Dr. Adauto Ivo Milanez e Dr^a. Rosely Ana Piccolo Grandi: taxonomia e diversidade de fungos aquáticos zoospóricos e não-zoospóricos em ambientes lóticos e lênticos, diversidade de fungos terrestres, micorrízicos e decompositores;
- Instituto de Medicina Tropical (IMT, São Paulo, SP): Dr. Carlos da Silva Lacaz e Dr^a. Natalina Takahashi de Melo: identificação de fungos patogênicos ao homem e outros animais;

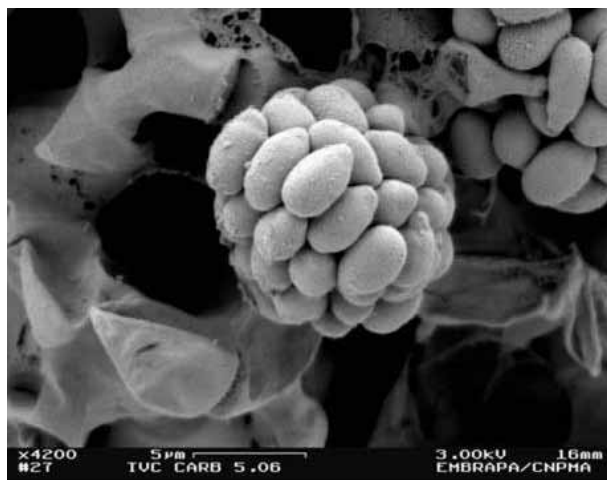


Figura 8. Esporos do fungo filamentoso *Trichoderma stromaticum* visualizado ao microscópio eletrônico de varredura (Créditos: Itamar Soares de Mello, CNPMA/EMBRAPA).



Figura 9. Ferrugem *Hemileia vastatrix* visualizada ao microscópio eletrônico de varredura (Créditos: Itamar Soares de Mello, CNPMA/EMBRAPA).

- Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, Departamento de Micologia, Rio de Janeiro, RJ), Dr^a. Katia Ferreira Rodrigues: taxonomia de fungos filamentosos de regiões tropicais;
- Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Rio Claro (SP): Dr^a. Sâmia Maria Tauk-Tornisielo: diversidade de fungos filamentosos em solo e folheto de áreas de mata (Reserva Ecológica Juréia-Itatins); Dr. Fernando Carlos Pagnocca: taxonomia de leveduras associadas a formigas;
- Universidade do Amazonas (Manaus, AM), Dr^a. Maria Francisca Simas Teixeira: diversidade de fungos biodeteriogênicos;
- Universidade de Brasília (DF): Dr. José Carmine Dianese: diversidade de fungos do Cerrado;
- Universidade de Viçosa (MG), Dr. Arnaldo Chaer Borges e Dr^a. Maria Catarina Megumi Kasuya: fungos micorrízicos em espécies de *Pinus* e *Eucalyptus*;
- Universidade de São Paulo, ESALQ (Piracicaba, SP), Dr. Tasso Leo Krugne: fungos fitopatogênicos;
- Universidade Federal de Minas Gerais (Belo Horizonte, MG), Dr. Carlos Augusto Rosa: taxonomia de leveduras ascomicéticas;
- Universidade Federal de Pernambuco (Recife, PE), Dr^a. Leonor Costa Maia: diversidade de fungos de solo e folheto, micorrizas arbusculares (Gomales); Dr^a. Neiva Tinti de Oliveira: diversidade de fungos fitopatogênicos; Dr^a. Laise de Holanda Cavalcanti: diversidade de Myxomycetes;
- Universidade Federal do Rio de Janeiro (Rio de Janeiro, RJ): Dr. Allen Norton Hagler: taxonomia de leveduras ascomicéticas (Figura 10);
- Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis, SC), Dr^a. Veturia Lopes de Oliveira: taxonomia de Holobasidiomycetes associados a espécies de *Pinus* e *Eucalyptus*.

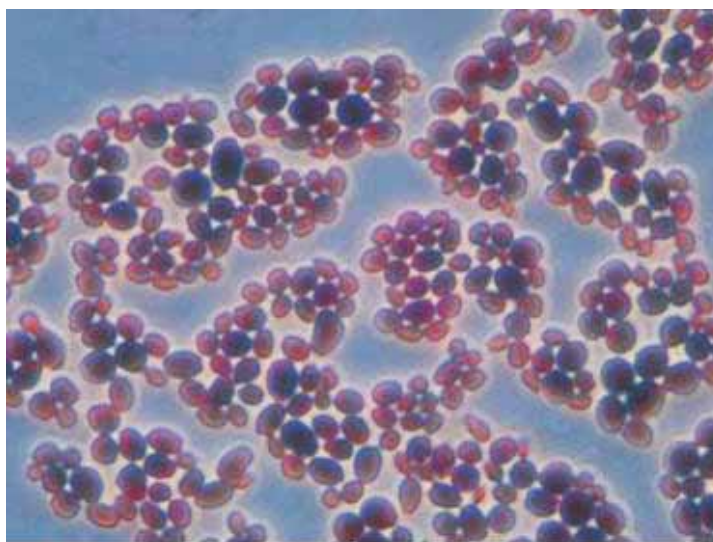


Figura 10. Aspecto morfológico de células da levedura *Saccharomyces cerevisiae* observadas no microscópio óptico (CBMAI 0194; Créditos: Patrícia Mariana Zachello, CPQBA/UNICAMP).

Podem ser destacadas algumas coleções de referência de fungos no país, como a Coleção de Culturas do Instituto de Botânica (São Paulo, SP), Coleção de Culturas DPUA (Universidade do Amazonas), Coleção de Culturas de Fungos Ectomicorrízicos do Departamento de Microbiologia (Universidade Federal de Santa Catarina), Coleção do Departamento de Micologia da FIOCRUZ (Rio de Janeiro, RJ), Micoteca da Universidade Federal de Pernambuco e Micoteca do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (IMT).

Infelizmente, a infra-estrutura e *know-how* taxonômico de coleções especializadas de microrganismos no país ainda não têm capacidade para absorver e identificar a diversidade de material derivado de estudos de biodiversidade de fungos no país. Assim, grande parte do material coletado e linhagens-referência associadas a descrições taxonômicas acaba sendo depositada em coleções de cultura e herbários no exterior.

DIVERSIDADE DE PROTOZOA

Os protozoários (Protozoa) representam um grupo polifilético de organismos eucarióticos (Eucarya) resultante de radiações filogeneticamente distintas (Maidak *et al.*, 1997). Estes organismos são agrupados em um mesmo grupo taxonômico por meio de critérios, primariamente, de morfologia, porém apresentam considerável diversidade morfológica e fisiológica, sendo alguns grupos estudados como fungos (mixomicetos) e outros como protozoários *sensu strictu* (Sub-reino Protozoa).

Protozoários são comumente encontrados em ambientes aquáticos marinhos e de água doce; podem também ocorrer em associações com animais e plantas. A diversidade de espécies destes organismos é apresentada na Tabela 5.

Tabela 5. Diversidade de espécies de Protozoa no Brasil e no mundo^a.

Grupo taxonômico	Nº. de espécies conhecidas no mundo	Nº. de espécies conhecidas no Brasil
Reino Protista		
Filo Acrasiomycota (4 gêneros)	12	N.d. ^b
Filo Dictyosteliomycota (4 gêneros)	46	N.d.
Filo Myxomycota ^c	720	175
Filo Plasmodiophoromycota (10 gêneros)	29	4
Sub-reino Protozoa		
Filos Actinopoda, Ciliophora, Eumycetozoa, Foraminifera, Kinetoplastida, Microsporidia, Myxozoa, Polymastigata, Rhizopoda, Sarcocystidophora e Sporozoa	36.000	>69

^a Baseado em Milanez (1999c) e Godinho & Regali-Seleghim (1999). ^bN.d. = não determinado. ^cOs mixomicetos são ainda comumente enquadrados como fungos.

Grupos de pesquisa em diversidade de protozoários no Brasil

Neste levantamento, foram recuperados poucos dados de pesquisas ou pesquisadores relacionados à diversidade de protozoários no Brasil. Uma compilação sobre a diversidade deste grupo de organismos, *habitats*, ocorrências relatadas no Brasil e grupos de pesquisas pode ser encontrada no capítulo de Biodiversidade em Água Doce (O. Rocha, Volume II desta obra) e na revisão de Godinho & Regali-Seleghim (1999). Nestes trabalhos, é salientada a ausência de especialistas em diversos grupos (*e.g.*, Acrasiomycota, Dictyosteliomycota e Plasmodiophoromycota) e de coleções representativas no Brasil.

As principais coleções de culturas brasileiras para mixomicetos estão localizadas na Universidade Federal de Pernambuco (Recife, PE), UNESP, Campus de Botucatu (SP), e Universidade de Santa Cruz do Sul (RS). Em relação a protozoários, poucas espécies são mantidas na coleção de pesquisa do Laboratório de Ecologia de Microorganismos Aquáticos (LEMA, Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Carlos).

Dentre os grupos de pesquisa em mixomicetos e protozoários levantados nas consultas realizadas, podem ser citados:

- Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu (SP), Dr^a. Rita Sindônia Cássia: taxonomia de mixomicetos;
- Instituto Evandro Chagas (PA), Dr. Ralph Lainson: taxonomia de protozoários parasitas;
- Laboratório de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos, Fundação Universidade do Rio Grande (Rio Grande, RS), Dr^a. Clarisse Odebrecht: taxonomia e ecologia de protozoários aquáticos;
- LEMA (UFSCar), com estudos de protozoários de água doce e diversas publicações na área em diferentes biomas brasileiros (Barbieri & Godinho-Orlandi, 1989; Hardoim & Heckman, 1996; Hardoim, 1997);
- Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ, Rio de Janeiro, RJ), Dr. Alexandre Ribeiro Bello; Dr. José Roberto Machado e Silva, e Dr. Octávio Fernandes da Silva Filho: taxonomia polifásica, filogenia e evolução de protozoários parasitas endêmicos e emergentes;
- Universidade Federal da Paraíba (UFPB, João Pessoa, PB), Dr. Roberto Sassi: sistemática de protozoários microzooplanctônicos marinhos;

- Universidade Federal do Mato Grosso, Dr^a. Edna Lopes Hardoim: taxonomia de tecamebas;
- Universidade Federal do Paraná (CEM - Centro de Estudos do Mar, Pontal do Sul, PR), Dr. Tarcisio Alves Cordeiro: taxonomia de protozoários planctônicos marinhos;
- Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ, Rio de Janeiro, RJ): taxonomia de protozoários bentônicos e planctônicos, protozoários comensais e simbiontes em ambientes aquáticos marinhos e de água doce; Dr. Inácio da Silva Neto: taxonomia de ciliados marinhos.

DIVERSIDADE DE VÍRUS

Os vírus representam um grupo diversos de parasitas celulares obrigatórios, comumente classificados como "microrganismos". A classificação destes organismos como seres vivos *sensu stricto* é controversa, uma vez que os vírus somente se reproduzem e desempenham funções biológicas nas células do hospedeiro, e podem ocorrer na natureza como fragmentos de ácido nucléico associados a cápsulas protéicas, destituídos de organelas e sem capacidade replicativa, ou ainda como viróides e príons.

A taxonomia e classificação dos vírus são regidas pelo International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTV/>). A definição de espécies é politética, baseada na análise de diversas propriedades, embora nenhuma delas seja considerada essencial ou necessária para inclusão de um organismo no grupo. As principais características consideradas na classificação de vírus são: tipo de ácido nucléico (RNA ou DNA), número de fitas, número de segmentos, tipo de replicação, sentido da fita (em vírus de RNA), forma da capa protéica e presença ou ausência de membrana envoltória (Murphy *et al.*, 1995; Rácz *et al.*, 1999).

Na época deste levantamento, eram descritas 71 famílias, 164 gêneros e mais de 3.600 espécies de vírus, listados no *Index Virum* (<http://life.anu.edu.au/viruses/indxvir2.htm>) e *Universal Virus Database* (ICTVdb; <http://life.anu.edu.au/viruses/ICTVdB/ictvdb.htm>). As principais características dos diferentes gêneros de vírus encontram-se descritas na Tabela 6.

Tabela 6. Principais características das famílias e gêneros sem classificação definida de vírus.^a

Família ou gênero	Morfologia	Envelope	Ácido nucléico	Configuração	Hospedeiro
<i>Adenoviridae</i>	Icosaédrica	-	dsDNA	1 linear	Vertebrados
<i>African swine fever-like virus</i>	Esférica	+	dsDNA	1 linear	Vertebrados
<i>Arenaviridae</i>	Esférica	+	ssRNA	2 - linear	Vertebrados
<i>Arterivirus</i>	Esférica	+	ssRNA	1 + linear	Vertebrados
<i>Astroviridae</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Vertebrados
<i>Baculoviridae</i>	Baciliforme	+	dsDNA	1 circular	Invertebrados
<i>Badnavirus</i>	Baciliforme	-	dsDNA	1 circular	Plantas
<i>Barnaviridae</i>	Baciliforme	-	ssRNA	1 + linear	Fungos
<i>Birnaviridae</i>	Icosaédrica	-	dsRNA	2 linear	Vertebrados e invertebrados
<i>Bromoviridae</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	3 + linear	Plantas
<i>Bunyaviridae</i>	Esférica	+	ssRNA	3 - linear	Vertebrados, invertebrados e plantas
<i>Caliciviridae</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Vertebrados

(continua)

Tabela 6 (continuação)

Família ou gênero	Morfologia	Envelope	Ácido nucléico	Configuração	Hospedeiro
<i>Capillovirus</i>	Bastonete	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Carlavirus</i>	Bastonete	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Caulimovirus</i>	Icosaédrica	-	dsDNA	1 circular	Plantas
<i>Circoviridae</i>	Icosaédrica	-	ssDNA	X circular	Vertebrados
<i>Closterovirus</i>	Bastonete	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Comoviridae</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	2 + linear	Plantas
<i>Coronaviridae</i>	Pleomórfica	+	ssRNA	1 + linear	Vertebrados
<i>Corticoviridae</i>	Icosaédrica	-	dsDNA	1 circular	Bactérias
<i>Cystoviridae</i>	Isométrica	+	dsRNA	3 linear	Bactérias
<i>Dianthovirus</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	2 + linear	Plantas
<i>Enamovirus</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	2 + linear	Plantas
<i>Filoviridae</i>	Baciliforme	+	ssRNA	1 - linear	Vertebrados
<i>Flaviviridae</i>	Esférica	+	ssRNA	1 + linear	Vertebrados e invertebrados
<i>Furovirus</i>	Bastonete	-	ssRNA	2 + linear	Plantas
<i>Fuselloviridae</i>	Formato de limão	+	dsDNA	1 circular	Bactérias
<i>Geminiviridae</i>	Isométrica	-	ssDNA	1, 2 circular	Plantas
<i>Hepadnaviridae</i>	Icosaédrica	-	ssDNA	1 circular	Vertebrados
<i>Herpesviridae</i>	Icosaédrica	+	dsDNA	1 linear	Vertebrados
<i>Hordeivirus</i>	Helical	-	ssRNA	3 + linear	Plantas
<i>Hypoviridae</i>	Pleomórfica	+	dsRNA	1 linear	Fungos
<i>Idaeovirus</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	2 + linear	Plantas
<i>Inoviridae</i>	Bastonete	-	ssDNA	1 circular	Bactérias e micoplasmas
<i>Iridoviridae</i>	Icosaédrica	+	dsDNA	1 linear	Vertebrados e invertebrados
<i>Leviviridae</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Bactérias
<i>Lipothrixviridae</i>	Bastonete	+	dsDNA	1 linear	Bactérias
<i>Luteovirus</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Machlomovirus</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Marafivirus</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Microviridae</i>	Icosaédrica	-	dsDNA	1 circular	Bactérias
<i>Myoviridae</i>	Fago com cauda	-	dsDNA	1 linear	Bactérias
<i>Necrovirus</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Nodaviridae</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	2 + linear	Invertebrados
<i>Orthomyxoviridae</i>	Esférica	+	ssRNA	8 - linear	Vertebrados
<i>Papovaviridae</i>	Icosaédrica	-	dsDNA	1 circular	Vertebrados
<i>Paramyxoviridae</i>	Helical	+	ssRNA	1 - linear	Vertebrados
<i>Partitiviridae</i>	Icosaédrica	-	dsRNA	2 linear	Fungos e plantas
<i>Parvoviridae</i>	Icosaédrica	-	ssDNA	1 - linear	Vertebrados e invertebrados
<i>Phycodnaviridae</i>	Icosaédrica	-	dsDNA	1 + linear	Algas
<i>Picornaviridae</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Vertebrados e invertebrados
<i>Plasmaviridae</i>	Pleomórfica	+	dsDNA	1 circular	Micoplasmas
<i>Podoviridae</i>	Fago com cauda	-	dsDNA	1 linear	Bactérias
<i>Polydnaviridae</i>	Bastonete fusiforme	+	dsDNA	X supercoiled	Invertebrados
<i>Potexvirus</i>	Bastonete	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Potyviridae</i>	Bastonete	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Poxviridae</i>	Ovóide	+	dsDNA	1 linear	Vertebrados e invertebrados

(continua)

Tabela 6 (continuação)

Família ou gênero	Morfologia	Envelope	Ácido nucléico	Configuração	Hospedeiro
<i>Reoviridae</i>	Icosaédrica	-	dsRNA	10 - 12 linear	Vertebrados, invertebrados e plantas
<i>Retroviridae</i>	Esférica	+	ssRNA	dímero 1 + linear	Vertebrados
<i>Rhabdoviridae</i>	Baciliforme	+	ssRNA	1 - linear	Vertebrados, invertebrados e plantas
<i>Rhizidiovirus</i>	Icosaédrica	-	dsDNA	1 linear	Fungos
<i>Sequiviridae</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Siphoviridae</i>	Fago com cauda	-	dsDNA	1 linear	Bactérias
<i>Sobemovirus</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Tectiviridae</i>	Icosaédrica	-	dsDNA	1 linear	Bactérias
<i>Tenuivirus</i>	Amorfa	N.d.	ssRNA	4-5 +/- linear	Plantas
<i>Tetraviridae</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1, 2 + linear	Invertebrados
<i>Tobamovirus</i>	Bastonete	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Tobravirus</i>	Bastonete	-	ssRNA	2 + linear	Plantas
<i>Togaviridae</i>	Esférica	+	ssRNA	1 + linear	Vertebrados e invertebrados
<i>Tombusviridae</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Totiviridae</i>	Icosaédrica	-	dsRNA	1 + linear	Fungos e protozoários
<i>Trichovirus</i>	Helical	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Tymovirus</i>	Icosaédrica	-	ssRNA	1 + linear	Plantas
<i>Umbravirus</i>	N.d.	N.d.	ssRNA	1 + linear	Plantas

^a Baseado em Murphy *et al.* (1995).

Grupos de pesquisa em diversidade de vírus no Brasil

Apesar de existirem no país diversos grupos de pesquisa atuantes em virologia clínica, vírus entomopatogênicos e fitopatologia, na pesquisa realizada foram recuperados poucos dados relacionados a pesquisas direcionadas para caracterização da diversidade viral, sua taxonomia e filogenia.

As publicações científicas recuperadas das buscas nas bases de dados apontam para um número reduzido de grupos de pesquisa com estudos na área de filogenia e diversidade de vírus no Brasil, entre eles:

- Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Departamento de Virologia (Rio de Janeiro, RJ): taxonomia e filogenia de vírus;
- Universidade de Brasília, Departamento de Fitopatologia (DF), Dr. Elliot Watanabe Kitajima (atualmente na ESALQ/Piracicaba) e Dr. Renato de Oliveira Resende: taxonomia de vírus de plantas;
- Universidade de São Paulo (USP/SP), Dr^a. Dolores Ursula Mehnert: diversidade de vírus entéricos animais;
- Universidade de São Paulo (USP/SP), Dr. Paolo Marinho de Andrade Zanotto: taxonomia e filogenia de vírus.

Após a finalização da pesquisa de dados, foi montada, em 2002, com apoio da FAPESP, a Rede de Diversidade Genética de Vírus (*Viral Genetic Diversity Network* – VGDN; <http://watson.fapesp.br/virus/menu.htm>), objetivando a integração de diversos grupos de pesquisadores no estado de São Paulo em projetos de caracterização da diversidade de vírus patogênicos de importância no país, incluindo HIV-1, HCV, RSV e hantavirus. Esta rede congrega laboratórios de seqüenciamento, análise filogenética e epidemiologia, constituindo uma iniciativa expressiva de pesquisa nesta área.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Por meio de análise de dados do levantamento realizado e da avaliação das publicações indexadas em bases de dados, pode se perceber que, com poucas exceções, a grande maioria dos estudos de caracterização da diversidade microbiana no país apresenta as seguintes características em comum:

- a. caracterização taxonômica primária do material de estudo, algumas vezes com enquadramento taxonômico apenas em nível de gênero;
- b. limitações na aplicação de metodologias de caracterização em nível de espécie para diversos grupos de microrganismos, devido à inexistência de especialistas no país;
- c. estudos de caracterização infra-específica, com aplicação de metodologias de caracterização de diversidade genética dos organismos, são limitados a alguns poucos trabalhos em ecologia molecular microbiana.

Uma preocupação constante nos diversos grupos de pesquisa analisados foi definida como a necessidade de "treinamento/aprimoramento em taxonomia e sistemática" nos grupos de microrganismos em estudo. Contudo, cabe ressaltar que a aplicação de metodologias clássicas de caracterização taxonômica apresenta grandes limitações para o estudo da maioria dos táxons de microrganismos de ocorrência ambiental.

A caracterização taxonômica convencional (morfológica e bioquímica) é de aplicação limitada aos grupos de microrganismos passíveis de isolamento e cultivo em condições de laboratório, porém não é adequada para estudo rotineiro de organismos fastidiosos ou ainda não cultivados. Esta abordagem apresenta limitações para o estudo de microrganismos isolados de amostras ambientais, devido à variabilidade fenotípica comumente verificada nos organismos oriundos de ambientes naturais, sujeitos à pressão de agentes seletivos e a grandes amplitudes de parâmetros que podem afetar o seu crescimento e sobrevivência.

O treinamento de pessoal e a implantação de infra-estrutura para realização de metodologias moleculares de caracterização taxonômica e aplicação de métodos de ecologia molecular em estudos de diversidade microbiana, a curto e médio prazo, são altamente desejáveis e necessárias para o aprimoramento do conhecimento da diversidade microbiana no país. A aplicação de métodos moleculares traria um impacto significativo no nível de resolução taxonômica, na qualidade científica da pesquisa e na produtividade dos grupos de pesquisa, tornando-os competitivos em nível internacional, além de possibilitar a solução de problemas taxonômicos relacionados à caracterização e definição de novos táxons em diversos grupos de microrganismos.

Divulgação, treinamento e implantação de métodos de ecologia molecular microbiana e análise filogenética são necessários para a maioria dos grupos de pesquisa analisados. Seqüenciamento e análise filogenética de rDNA 16S e outros semantídeos representam metodologias relativamente rápidas e adequadas para alocação de organismos ainda não descritos na literatura em grupos taxonômicos em nível de família e(ou) gênero, permitindo a seleção de organismos-referência para comparações e descrições taxonômicas. Esta metodologia é facilmente aplicável na caracterização de arqueas, bactérias, fungos filamentosos, leveduras e protozoários.

A estruturação e difusão de programas induzidos de treinamento e pesquisa em taxonomia e sistemática microbianas são fundamentais para o desenvolvimento desta área no país.

A exploração tecnológica dos recursos microbianos é uma alternativa ainda muito pouco explorada no Brasil, porém é um componente promissor para programas de desenvolvimento científico e tecnológico de médio e longo prazo.

Durante a realização do estudo, percebemos ainda a necessidade de atualização dos descritores das áreas de atuação profissional nas bases de conhecimento consultadas. O vocabulário de palavras-chave utilizado necessita ser modernizado e adequado às linhas de pesquisa atuais em Microbiologia, pois são, atualmente, muito limitados. Podemos citar, como exemplos, as áreas de sistemática e taxonomia, e mesmo microbiologia ambiental, que não constam como campos no subgrupo de Microbiologia. A atualização e introdução de novos descritores tornariam viáveis a realização de buscas estruturadas e representativas de profissionais atuantes em diversas áreas de microbiologia sistemática e biodiversidade microbiana, com grande eficiência e rapidez.

Agradecimentos

A Thomas Michael Lewinsohn, pela oportunidade oferecida e constante motivação na realização deste trabalho. A Manuela da Silva e Lyriam Lobo Rosa Marques, pela ajuda na organização e tabulação dos dados amostrados. A Charles Henrique de Araújo e Geraldo Sorte, do CNPq/MCT, pelo auxílio na realização das buscas no Sistema Lattes em 2003. Aos pesquisadores e colegas que forneceram imagens para ilustração do texto e auxiliaram na discussão dos resultados.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, R.D. Thermoresistance of acid producing psychrotrophic bacteria isolated from milk. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 49, n. 1, p. 72-75, 1999
- AMANN, R.I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K.H. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiological Reviews**, v. 59, p. 143-169, 1995.
- ATLAS, R.M.; BARTHA, R. **Microbial ecology: fundamentals and applications**. 4. ed. CA, USA: Redwood, Benjamin Cumins, 1998.
- BADRA, R.J. **Isolamento e caracterização de bactérias metanogênicas de um aterro experimental**. São Carlos, 1993. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos/USP.
- BALKWILL, D.L.; REEVES, R.H.; DRAKE, G.R.; REEVES, J.Y.; CROCKER, F.H.; KING, M.B.; BOONE, D.R. Phylogenetic characterization of bacteria in the subsurface microbial culture collection. **FEMS Microbiological Reviews**, v. 20, p. 201-216, 1997.
- BARBIERI, S.M.; GODINHO-ORLANDI, M.J.L. Planktonic protozoa in a tropical reservoir: temporal variations in abundance and composition. **Revue d'Hydrologie Tropicale**, v. 22, n. 4, p. 275-285, 1989.
- BARNS, S.M.; FUNDYGA, R.E.; JEFFRIES, M.W.; PACE, N.R. Remarkable archaeal diversity detected in a Yellowstone National Park hot spring environment. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 91, p. 1609-1613, 1994.
- BÉJÀ, O.; KOONIN, E.V.; ARAVIND, L.; TAYLOR, L.T.; SEITZ, H.; STEIN, J.L.; BENSON, D.C.; FELDMAN, R.A.; SWANSON, R.V.; DELONG, E.F. Comparative genomic analysis of archaeal genotypic variants in a single population and in two different oceanic provinces. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 1, p. 335-345, 2002.
- BERRETA, M.J.G.; BARTHE, G.A.; CECCARDI, T.L.; LEE, R.F.; DERRICK, K.S. A survey for strains of *Xylella fastidiosa* in Citrus affected by citrus variegated chlorosis and Citrus blight in Brazil. **Plant Disease**, v. 81, p. 1196-1198, 1997.

- BORNEMA, J.; TRIPLETT, E.W. Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 2647-2653, 1997.
- BULL, A.T.; GOODFELLOW, M.; SLATER, J.H. Biodiversity as a source of innovation in biotechnology. **Annual Review of Microbiology**, v. 46, p. 219-252, 1992.
- BULL, A.T.; WARD, A.C.; GOODFELLOW, M. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 3, p. 573-606, 2000.
- CAGNON, J.R.; PORTO, A.L.M.; MANFIO, G.P.; EGUCHI, S.Y.; MARSAIOLI, A.J. First evaluation of the Brazilian microorganisms biocatalytic potential. **Chemosphere**, v. 38, n. 10, p. 2237-2242, 1999.
- CANHOS, V.P.; MANFIO, G.P. **Recursos Microbiológicos para Biotecnologia**. 2001. Disponível em: <http://www.mct.gov.br/Temas/biotec/Tendencias%20Vanderlei%20Fina.pdf>.
- CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (Ed). Microorganismos e Vírus. JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org.). **Série: Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**. São Paulo: Fapesp, v. 1, 1999.
- CANHOS, V.P.; MANFIO, G.P.; VAZOLLER, R.F.; PELIZZARI, V.H. Domínio Bacteria. In: CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (Ed.). Microorganismos e Vírus. JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org.). **Série: Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**. São Paulo: Fapesp, v. 1, 1999.
- CANHOS, V.P.; SOUZA, S.; CANHOS, D.A.L. (Ed.). **Catálogo nacional de linhagens. Bactérias - volume I**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia André Tosello, 1989.
- CHANDLER, D.P.; BROCKMAN, F.J.; BAILEY, T.J.; FREDRICKSON, J.K. Phylogenetic diversity of archaea and bacteria in a deep subsurface paleosol. **Microbial Ecology**, v. 36, p. 37-50, 1998.
- COUTINHO, H.L.C.; OLIVEIRA, V.M.; LOVATO, A.; MAIA, A.H.N.; MANFIO, G.P. Evaluation of the diversity of rhizobia in Brazilian agricultural soils cultivated with soybeans. **Applied Soil Ecology**, v. 13, n. 2, p. 159-167, 1999.
- DA SILVA, M.; MINTER, D.W. Fungi from Brazil recorded by Batista and co-workers. **Mycological Papers**, v. 169, p. 1-585, 1995.
- DELONG, E.F. Archaea in coastal marine environments. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 89, p. 5685-5689, 1992.
- _____. Everything in moderation: archaea as 'non-extremophiles'. **Current Opinion in Genetics and Development**, v. 8, p. 649-654. 1998.
- DIANESE, J.C.; MEDEIROS, R.B.; SANTOS, L.T.P. **Biodiversity of microfungi found on native plants of the Brazilian Cerrado**. Diversity of tropical microfungi. University of Hong Kong Press., p. 367-409, 1997.
- ESPOSITO, E.; PAULILLO, S.M.; MANFIO, G.P. Biodegradation of the herbicide diuron in soil by indigenous actinomycetes. **Chemosphere**, v. 37, p. 541-548, 1998.
- FREIRE, J.R.J.; GAMBALE, W. Teaching of microbiology in Brazil: progress or stagnation? **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 12, n. 4, p. 307-310, 1996.
- GHIORSE, W.C.; WILSON, J.T. Microbial ecology of the terrestrial subsurface. **Advances in Applied Microbiology**, v. 33, p. 107-172, 1988.
- GIACHINI, A.J. **Levantamento de fungos ectomicorrízicos de plantações de Pinus e Eucalyptus em Santa Catarina**. Florianópolis, 1995. 69 p. Dissertação (Monografia de conclusão do Curso de Agronomia) – UFSC.
- GIACHINI, A.J.G.; OLIVEIRA, V.L. Ectomycorrhizal fungi in *Eucalyptus* and *Pinus* plantations in Santa Catarina (Southern Brazil). In: **Abstracts of the First International Conference on Mycorrhizas**. Berkeley, US, p. 52, 1996.

GODINHO, M.J.L.; REGALI-SELEGHIM, M.H. Diversidade no Reino Protista: protozoários de vida livre. In: CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (Ed.). Volume 1: Microrganismos e Vírus. In: JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**. São Paulo: Fapesp, p. 85-91, 1999.

GRANDI, R.A.P. Diversidade no Reino Fungi: Deuteromycota. In: CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (Ed.). Volume 1: Microrganismos e Vírus. In: JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**. São Paulo: Fapesp, p. 45-50, 1999.

HARDOIM, E.L.; HECKMAN, C.W. The seasonal succession of biotic communities in wetlands of the tropical wet-and-dry climatic zone .4. The free-living sarcodines and ciliates of the Pantanal of Mato Grosso, Brazil. **International Rvue der Gesamten Hydrobiologie**, v. 81, n. 3, p. 367-384, 1996.

HARDOIM, E.L. **Taxonomia e ecologia de testacea (Protozoa: Rhizopoda) do pantanal de Poconé** – rio Bento Gomes e vazante Birici, Mato Grosso, Brasil. São Paulo, 1997. 343 p. Tese (Doutorado) – PPG-ERN-UFScar.

HAWKSWORTH, D.L. (Ed.). **The biodiversity of microorganisms and invertebrates: its role in sustainable agriculture**. Wallingford: C.A.B. International, 1991(a).

_____. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. **Mycological Research**, v. 95, p. 641-55, 1991(b).

_____. Microbial collections as a tool in biodiversity and biosystematic research. In: SAMSON, R.A.; STALPERS, J.A.; Van der MEI, D. et al. (Ed.). **Culture Collections to Improve the Quality of Life**. Baarn The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, p. 26-35, 1996.

_____. The magnitude of fungal diversity: the 1±5 million species estimate revisited. **Mycological Research**, v. 105, n. 12, p. 1422-1432, 2001.

HEDLUND, B.P.; GOSINK, J.J.; STALEY, J.T. *Verrucomicrobia* div. nov., a new division of the Bacteria containing three new species of *Prostheco bacter*. **Antonie van Leeuwenhoek International Journal of Microbiology**, v. 72, p. 29-38, 1997.

HIGUTI, I.H.; MACENA, I.R.; MASUNARI, S.; BRANCO, M.D.; BLASKOWISKI, M.M.M.; DO NASCIMENTO, A.J. Occurrence of coliforms in water samples of the Pereque and Penedo rivers in Parana, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 41, n. 4, p. 417-421, 1998.

HILL, L.R. (Ed.). COWAN, S.T. **A dictionary of microbial taxonomy**. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1978.

HUGENHOLTZ, P.; GOEBEL, B.M.; PACE, N.R. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. **Journal of Bacteriology**, v. 180, p. 4765-4774, 1998(a).

HUGENHOLTZ, P.; PITULLE, K.L.; PACE, N.R. Novel division level bacterial diversity in a Yellowstone hot spring. **Journal of Bacteriology**, v. 180, p. 366-376, 1998(b)

JABUONSKY, R.E.; TAKATSU, A.; RETFSCHNEIDER, F.J.B. Levantamento e identificação de espécies de *Erwinia* de diferentes plantas hospedeiras e regiões do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p. 185-195, 1986.

JOBIN, C.C.; REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.D.; SCHOCKENITURRINO, R.P. Microorganisms in the high-moisture corn grain silage with different proportions of the cob. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 201-204, 1997.

KATO, C.; LI, L.; TAMAOKA, J.; HORIKOSHI, K. Molecular analyses of the sediment of the 11000-m deep Mariana Trench. **Extremophiles**, v. 1, p. 117-123, 1997.

KOCH, R. The new methods for studying the microcosm of soil, air and water. **Deutsches Arzblatt**, v. 137, p. 244-250, 1883.

KUSKE, C.R.; BARNES, S.M.; BUSCH, J.D. Diverse uncultivated bacterial groups from soils of the arid southwestern United States that are present in many geographic regions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 3614-362, 1997.

LANGE, C.; CARDOSO, M.; SENCZEK, D.; SCHWARZ, S. Molecular subtyping of *Staphylococcus aureus* isolates from cases of bovine mastitis in Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 67, n. 2, p. 127-141, 1999.

LAPAGE, S.P.; SNEATH, P.H.A.; LESSEL, E.F.; SKERMAN, V.B.D.; SEELIGER, H.P.R.; CLARK, W.A. **International code of nomenclature of bacteria**. Revision 1975. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1975.

LEWINSOHN, T.M.; PRADO, P.I. **Biodiversidade brasileira: síntese do estado atual do conhecimento**. São Paulo: Contexto, 2002.

_____. How many species are there in Brazil? **Conservation Biology**, 2005. No prelo.

LINCOLN, R.; BOXSHALL, G.; CLARK, P. **A dictionary of ecology, evolution and systematics**. 2. ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1998.

LOVELOCK, J.M. **The ages of Gaia**. Oxford: Oxford University Press, 1988.

LUDWIG, W.; BAUER, S.H.; BAUER, M.; HELD, I.; KIRCHHOF, G.; SCHULZE, R.; HUBER, I.; SPRING, S.; HARTMANN, A.; SCHLEIFER, K.H. Detection and *in situ* identification of representatives of a widely distributed new bacterial phylum. **FEMS Microbiology Letters**, v. 153, p. 181-190, 1997.

MACHADO, M.A.; TARGON, M.L.P.N.; BERETTA, M.J.G.; LARANJEIRA, F.F.; CARVALHO, A.S. Detecção de *Xylella fastidiosa* em espécies e variedades de citros sobre-enxertadas em laranja Pera com clorose variegada dos citros (CVC). **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, p. 30-33, 1997.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Brock biology of microorganisms**. 8. ed. New Jersey: Prentice-Hall, p. 606-768, 1997. Cap. 15, 16 e 17.

_____. **Brook biology of microorganisms**. 8. ed. Upper Saddle River, USA: Prentice Hall, 1999.

MAIDAK, B.L.; OLSEN, G.J.; LARSEN, N.; OVERBEEK, R.; McCAUGHEY, M.J.; WOESE, C.R. The RDP – Ribosomal Database Project. **Nucleic Acids Research**, v. 25, p. 109-110, 1997.

MALAVOLTA-JÚNIOR, V.A. **Contribuição ao conhecimento de bactérias do gênero *Xanthomonas* patogênicas a cereais de inverno**. Piracicaba, 1996. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP.

MATTÉ, G.R. **Isolamento de víbrios potencialmente patogênicos em moluscos bivalves**. São Paulo, 1993. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, USP.

MATTÉ, M.H. **Pesquisa de *Aeromonas* spp. potencialmente patogênicas em alguns pontos da Represa de Guarapiranga destinados à recreação e captação para abastecimento público**. São Paulo, 1995. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, USP.

MILANEZ, A.I. Diversidade no Reino Chytridiomycota. In: CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (Ed.). Volume 1: Microrganismos e Vírus. In: JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**. São Paulo: Fapesp, p. 51-55, 1999(a).

_____. Diversidade no Reino Stramenopila. In: CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (Ed.). Volume 1: Microrganismos e Vírus. In: JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**. São Paulo: Fapesp, p. 57-68, 1999(b).

_____. Diversidade no Reino Protista. In: CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (Ed.). Volume 1: Microrganismos e Vírus. In: JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**. São Paulo: Fapesp, p.69-81, 1999(c).

MURPHY, F.A.; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D.H.L; GHABRIAL, S.A.; JARVIS, A.W.; MARTELLI, G.P.; MAYO, M.A.; SUMMERS, M.D. **Virus Taxonomy: The Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Wien: Springer-Verlag, 1995.

- NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Diversity and adaptability of soybean and cowpea rhizobia in tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5/6, p. 889-895, 1997.
- NISBET, L.J.; FOX, F.M. The importance of microbial biodiversity to biotechnology. In: HAWKSWORTH, D.L. (Ed.). **The biodiversity of microorganisms and invertebrates: its role in sustainable agriculture**. Wallingford, UK: C.A.B. International, p. 229-244, 1991.
- OLIVEIRA, V.M.; COUTINHO, H.L.C.; SOBRAL, B.W.S.; GUIMARÃES, C.T.; van ELSAS, J.D.; MANFIO, G.P. Discrimination of *Rhizobium tropici* and *R. leguminosarum* strains by PCR-specific amplification of 16S-23S rDNA spacer region fragments and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). **Letters in Applied Microbiology**, v. 28, n. 2, p. 137-141, 1999.
- ORPHAN, V.J.; TAYLOR, L.T.; HAFENBRADL, D.; DELONG, E.F. Culture-dependent and culture-independent characterization of microbial assemblages associated with high-temperature petroleum reservoirs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 2, p. 700-711, 2000.
- PACE, N.R. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. **Science**, v. 276, p. 734-740, 1997.
- PACE, N.R.; STAHL, D.A.; LANE, D.J.; OLSEN, G.J. Analyzing natural microbial populations by rRNA sequences. **ASM News**, v. 51, p. 4-12, 1985.
- PALLERONI, N.J. Microbial diversity and the importance of culturing. In: SAMSON, R.A.; STALPERS, J.A.; van der Mei, D. et al. (Ed.). **Culture Collections to Improve the Quality of Life**. Baarn, The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, p. 111-114, 1996.
- PEDERSEN, K.; ARLINGER, J.; EKENDAHL, S.; HALLBECK, L. 16S rRNA gene diversity of attached and unattached bacteria in boreholes along the access tunnel to the Aspö hard rock laboratory, Sweden. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 19, p. 249-262, 1996.
- PELLIZARI, V.H.; BEZBORODNIKOV, S.; QUENSEN III, J.F.; TIEDJE, J.M. Evaluation of strains isolated by growth on naphthalene and biphenyl for hybridization of genes to dioxygenase probes and polychlorinated biphenyl-degrading ability. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, p. 2053-2058, 1996.
- PINHATI, M.E.M.C.; VARIANE, S.; EGUCHI, S.Y.; MANFIO, G.P. Detection of acidothermophilic bacilli in industrialized fruit juices. **Fruit Processing**, v. 7, p. 350-353, 1997.
- RÁCZ, M.L.; PINTO, A.A.; KITAJIMA, E.W. Vírus de seres humanos, animais, plantas e insetos. In: CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (Ed.). Volume 1: Microrganismos e Vírus. In: JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**. São Paulo: Fapesp, 1999.
- RAVENSCHLAG, K.; SAHM, K.; PERNTHALER, J.; AMANN, R. High bacterial diversity in permanently cold marine sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 9, p. 3982-3989, 1999.
- REINHARDT, E.L.; MANFIO, G.P.; PAVAN, C.; MOREIRA-FILHO, C.A. Molecular characterization of plant associated nitrogen-fixing bacteria. **Abstracts of the 12th International Congress on Nitrogen Fixation**, 12-17, September, Foz do Iguaçu, PR, Brasil, 1999.
- RIVERA, I.G.; MARTINS, M.T. Bactérias enteropatogênicas no ambiente aquático. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v. 17, p. 115-136, 1996.
- RIVERA, I.G.; CHOWDHURY, M.A.R.; SANCHEZ, P.S.; DATO, M.I.; HUQ, A.; COLWELL, R.R.; MARTINS, M.T. Detection of cholera (ctx) and *zonula occludens* (zot) toxin genes in *Vibrio cholerae* O1, O139 and non-O1 strains. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 11, p. 572-577, 1995.
- ROBBS, C.F. Taxonomia e bioecologia e principais representantes do gênero *Erwinia* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 304-309, 1981.

RODRIGUES-HEERKLOTZ, K.F.; PFENNING, L. Diversidade no Reino Fungi: Ascomycota. In: CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (Ed.). Volume 1: Microrganismos e Vírus. In: JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**. São Paulo: Fapesp, p. 27-31, 1999.

ROSA, C.A.; VIANA, E.M.; MARTINS, R.P.; ANTONINI, Y.; LACHANCE, M.A. *Candida batistae*, a new yeast species associated with solitary digger nesting bees in Brazil. **Mycologia**, v. 91, n. 3, p. 428-433, 1999.

ROSADO, A.S.; DUARTE, G.F.; SELDIN, L.; van ELSAS, J.D. Genetic diversity of *nif* genes sequences in *Paenibacillus azotofixans* strains and soil samples analysed by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 2770-2779, 1998.

_____. Molecular microbial ecology: a minireview. **Revista de Microbiologia**, v. 28, n. 3, p. 135-147, 1997.

ROSATO, Y.B.; NETO, J.R.; MIRANDA, V.S.; CARLOS, E.F.; MANFIO, G.P. Diversity of a *Xylella fastidiosa* population isolated from *Citrus sinensis* affected by *Citrus* variegated chlorosis in Brazil. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 21, p. 593-598, 1998.

RUMJANEK, N.G.; DOBERT, R.C.; VANBERKUM, P.; TRIPLETT, E.W. Common soybean inoculant strains in Brazil are members of *Bradyrhizobium elkanii*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 12, p. 4371-4373, 1993.

SALVA, T.D.G.; DE LIMA, V.B.; PAGAN, A.P. Screening of alkalophilic bacteria for cyclodextrin glycosyltransferase production. **Revista de Microbiologia**, v. 28, n. 3, p. 157-164, 1997.

SANCHEZ, P. Evaluation of the sanitary quality of marine recreational waters and sands from beaches of the São Paulo State, Brazil. **Water Science and Technology**, v. 18, p. 61-72, 1986.

SANTOS, K.R.N.; TEIXEIRA, L.M.; LEAL, G.S.; FONSECA, L.S.; GONTIJO, P.P. DNA typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: isolates and factors associated with nosocomial acquisition in two Brazilian university hospitals. **Journal of Medical Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 17-23, 1999.

SCHLEGEL, H.G.; JANNASCH, H.W. Prokaryotes and their habitats. In: BALLOWS, A.; TRUPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K.H. (Ed.). **The prokaryotes**. New York: Springer Verlag, v. 1, p. 75-125, 1992.

SCHOPF, J.W. The evolution of the earliest cells. **Scientific American**, v. 239, n. 3, p. 110-138, 1978.

SCHÜSSER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. **Mycological Research**, v. 105, n. 12, p. 1413-1421, 2001.

SELDIN, L.; ROSADO, A.S.; WILLIAM da CRUZ, D.; NOBREGA, A.; van ELSAS, J.D.; PAIVA, E. Comparison of *Paenibacillus azotofixans* strains isolated from rhizoplane, rhizosphere, and non-root-associated soil from maize planted in two different Brazilian soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 3860-3868, p. 1998.

SOUZA, M.E.; FUZARO, G.; POLEGATO, A.R. Thermophilic anaerobic digestion of vinasse in pilot plant UASB reactor. **Proceedings of Sixth International Symposium on Anaerobic Digestion**, São Paulo, Brazil, p. 191-200, 1991.

STALEY, J.T.; GOSINK, J.J. Poles apart: biodiversity and biogeography of sea ice bacteria. **Annual Review of Microbiology**, v. 53, p. 189-215, 1999.

STALEY, J.T.; HOLT, J.G. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Volume 3: Archaeobacteria, Cyanobacteria, and the remaining Gram-negatives. Baltimore: Williams & Wilkins, Co., 1989.

STOLZ, J.F.; BOTKIN, D.B.; DASTOOR, M.N. The integral biosphere. In: RAMBLER, M.B.; MARGULIS, L.; FESTER, R. (Ed.). **Global Ecology**. San Diego: Academic Press, p. 31-49, 1989.

STORK, N.E. Insect diversity: facts, fiction and speculation. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 35, p. 321-337, 1988.

TOMASZ, A.; CORSO, A.; SEVERINA, E.P.; ECHANIZ-AVILES, G.; BRANDILEONE, M.C.D.; CAMOU, T.; CASTANEDA, E.; FIGUEROA, O.; ROSSI, A.; DI FABIO, J.L. Molecular epidemiologic characterization of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* invasive pediatric isolates recovered in six Latin-American countries: An overview. Microbial Drug Resistance-Mechanisms. **Epidemiology and Disease**, v. 4, n. 3, p. 195-207, 1998.

TRUFEM, S.F.B. Diversidade no Reino Fungi: Zigomycota. In: CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (Ed.). Volume 1: Microrganismos e Vírus. In: JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**. São Paulo: Fapesp, p. 35-42, 1999.

TRÜPER, H.G. Prokaryotes: an overview with respect to biodiversity and environmental importance. **Biodiversity and Conservation**, v. 1, p. 227-36, 1992.

VAZOLLER, R.F. **Estudos sobre isolamento, caracterização e crescimento de culturas puras de bactérias metanogênicas provenientes de biodigestores de lodo de esgoto**. São Paulo, 1989. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas/USP.

_____. **Avaliação do ecossistema microbiano de um biodigestor anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com vinhaça sob condições termofílicas**. São Carlos, 1995. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos/USP.

_____. Microbial aspects of thermophilic anaerobic biodigestion of vinasse. **Proceedings of ISME 7 – Progress in Microbial Ecology**. Santos, p. 527-532, 1997.

VAZOLLER, R.F.; MANFIO, G.P.; CANHOS, V.P. Domínio Archaea. In: CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (Ed.). Volume 1: Microrganismos e Vírus. In: JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**. São Paulo: Fapesp, 1999.

VAZOLLER, R.F.; RECH, C.M.; FIGUEIREDO, M.G.; GIAJ-LEVRA, L.A. Bacterial identification of granular sludge from domestic sewage UASB-reactor. **Proceedings of the 5th International Symposium on Anaerobic Digestion**, Bologna, Itália, p. 61-64, 1988.

WARD, D.M.; WELLER, R.; BATESON, M.M. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. **Nature**, v. 345, p. 63-65, 1990.

WILSON, E.O. The current state of biological diversity. In: WILSON, E.O.; PETER, F.M. (Ed.). **Biodiversity**. Washington, DC: National Academic Press, p. 3-18, 1988.

WOESE, C.R. Bacterial evolution. **Microbiological Reviews**, v. 51, p. 221-271, 1987.

WOESE, C.R.; KANDLER, O.; WHEELIS, M.L. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains *Archaea*, *Bacteria*, and *Eucarya*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 87, p. 4576-4579, 1990.

WORLD CONSERVATION MONITORING CENTRE. (Ed.). **Global biodiversity: status of the Earth's living resources**. London: Chapman & Hall, 1992.

