

BIOGEOGRAFIA DE MICRORGANISMOS: PADRÕES, DIFICULDADES E PERSPECTIVAS

Fernanda Dall'Ara Azevedo^{1*} & *Vinicius Fortes Farjalla*¹

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, Programa de Pós-Graduação em Ecologia (PPGE), Laboratório de Limnologia. Prédio CCS, Bloco A, Subsolo, Sala A0-008, Ilha do Fundão. Rio de Janeiro, RJ, Brasil. CEP 21941-590.
E-mails: fdallara.azevedo@gmail.com, farjalla@biologia.ufrj.br

RESUMO

Com o avanço das ferramentas moleculares, a ecologia e a diversidade dos micro-organismos têm recebido cada vez mais atenção pela comunidade científica. Estas novas ferramentas, tanto as fundamentadas na técnica da Reação em Cadeia da Polimerase, quanto as mais recentes, como as técnicas metagenômicas, permitem o estudo de organismos que não são cultiváveis em laboratório. Como a escolha do método molecular tem implicações no nível de resolução do estudo, os padrões de distribuição da diversidade de microrganismos (biogeográficos) surgem apenas quando são utilizadas técnicas que permitem uma resolução mais refinada. De maneira geral, os principais fatores responsáveis pelo surgimento de padrões biogeográficos são a especiação, a extinção e a dispersão, processos os quais ocasionam expansão ou contração da área de distribuição dos taxa. Desta forma, fatores como o tamanho, a abundância e as taxas de especiação de micro-organismos devem ser considerados. Por ser uma área relativamente nova, ainda há um intenso debate e questionamento sobre se micro-organismos são, de fato, estruturados da mesma forma que organismos multicelulares. Esta revisão tem como objetivo apresentar os limites conceituais e metodológicos nos estudos referentes à biogeografia de procariontos e da ecologia microbiana em geral, discutindo os processos que podem gerar padrões biogeográficos. Objetivamos também apresentar de forma sucinta as duas principais correntes existentes no estudo da biogeografia de microrganismos: 1) micro-organismos são amplamente distribuídos, apresentando uma alta riqueza local, entretanto uma baixa riqueza global, e 2) micro-organismos apresentam padrões biogeográficos semelhantes aos padrões observados para macro-organismos.

Palavras-chave: Ecologia microbiana; biogeografia microbiana; ferramentas moleculares.

ABSTRACT

MICROORGANISMS BIOGEOGRAPHY: PATTERNS, DIFFICULTIES AND FUTURE DIRECTIONS. The ecology and diversity of microorganisms, have received increasing attention with the advancement of molecular tools. The molecular tools, like those based on the Polymerase Chain Reaction technique (PCR) and metagenomics, allows the study of organisms that are not cultivable. The choice of the molecular method could have implications for the level of resolution taxonomy of the study, in this way; patterns of distribution of the diversity of microorganisms can arise when using techniques that allow a more refined resolution. The main factors responsible for explaining the emergence of these patterns are the biogeography speciation, the extinction and dispersal, procedures for which there is an expansion or a contraction in the distribution of taxa. The size and abundance, along with the speciation of these organisms are important factors to be considered for an area is still relatively new in the light of the ecology of multicellular organisms and there is an intense debate about the distribution of these bodies. Thus there is a concern is whether microorganisms are structured the same way as multicellular organisms. This review aims to present

the conceptual and methodological limitations in the study of biogeography of prokaryotes and microbial ecology. To discuss briefly the processes that can generate biogeography patterns. And finally submit the two main currents exist for biogeography of microorganisms, the first is that microorganisms are widely distributed, presenting a high local wealth, but a low overall wealth. The second stream argues that the microorganisms present biogeography patterns as well as macroorganisms.

Keywords: Microbial ecology; microbial biogeography; molecular tools.

RESUMEN

BIOGRAFÍA DE MICROORGANISMOS: PATRONES, DIFICULTADES Y PERSPECTIVAS. Con el avance de las herramientas moleculares, la ecología y la diversidad de los micro-organismos ha recibido cada vez más atención por parte de la comunidad científica. Estas nuevas herramientas, tanto las basadas en la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa, como las técnicas metagenómicas, permiten el estudio de organismos que no son cultivables en laboratorio. Como la escogencia del método molecular tiene implicaciones en el nivel de resolución del estudio, los patrones de distribución de la diversidad de microorganismos (biogeográficos) surgen solo cuando son utilizadas técnicas que permiten una resolución más refinada. De manera general, los principales factores responsables por el surgimiento de patrones biogeográficos son la especiación, la extinción y la dispersión, procesos que ocasionan expansión o contracción del área de distribución de los taxa. De esta forma, factores como el tamaño, la abundancia y las tasas de especiación de microorganismos deben ser considerados. Por ser un área relativamente nueva, aun existe un intenso debate que cuestiona si microorganismos son, de hecho, estructurados de la misma forma que organismos multicelulares. Esta revisión tiene como objetivo presentar los límites conceptuales y metodológicos en los estudios referentes a la biogeografía de prokaryotes y de la ecología microbiana en general, discutiendo los procesos que pueden generar patrones biogeográficos. Pretendemos también presentar de forma sucinta las dos principales corrientes existentes en el estudio de la biogeografía de microorganismos: 1) los microorganismos están ampliamente distribuidos, presentando una alta riqueza local, y una baja riqueza global, e 2) Los microorganismos presentan patrones biogeográficos semejantes a los patrones observados para macro-organismos.

Palabras clave: Ecología microbiana; biogeografía microbiana; herramientas moleculares.

INTRODUÇÃO

Linnaeus e seus contemporâneos por volta da segunda metade do séc. XVIII iniciaram de maneira crítica e organizada a análise da distribuição e da diversidade de espécies de organismos multicelulares pela Terra. A partir desta época biólogos têm investigado a distribuição de animais e plantas, sendo este um dos principais objetivos da ecologia (Martiny *et al.* 2006). Dentro da ecologia, a biogeografia é a ciência que tem como meta estudar e entender os padrões espaciais e temporais da diversidade biológica em escalas locais (onde há interação entre os organismos) e regionais (onde há interação entre populações) (Ramette & Tiedje 2007, Green *et al.* 2008). Já em uma visão mais moderna, a biogeografia buscaria não somente entender a distribuição da diversidade, como também os mecanismos

responsáveis pelo seu surgimento e manutenção, tais como especiação, extinção, dispersão e interação entre as espécies (Martiny *et al.* 2006). Quase todas as espécies de animais e plantas possuem uma distribuição limitada no planeta, não só porque requerem um habitat específico, mas também devido a fatores históricos, os quais formaram barreiras impedindo a migração destes organismos (Fenchel & Finlay 2003, 2005). A teoria de biogeografia foi toda elaborada a partir da diversidade e distribuição de macro-organismos e, neste contexto, este grupo é melhor estudado do que os micro-organismos. Recentemente, ecólogos microbianos buscaram entender se os processos que geram e mantêm a diversidade de micro-organismos são semelhantes àqueles seguidos por organismos maiores. Neste sentido, Dolan (2005) argumenta que a biogeografia microbiana difere da biogeografia convencional

porque em micro-organismos os fatores históricos são bem menos importantes (frequentemente não são importantes) do que os fatores biológicos e físicos.

O interesse pelos padrões espaciais dos micro-organismos surgiu no início do século XX, inicialmente com Beijerinck, que observou que diferentes organismos podiam ser cultivados a partir de ambientes naturais distintos, e mais tarde com Baas Becking em 1934, o qual foi responsável por formular uma das principais correntes existentes para a biogeografia de micro-organismos. Baseando-se no pequeno tamanho e grande abundância dos micro-organismos, ele propôs que estes estariam amplamente distribuídos pelo mundo, mas o ambiente seria o responsável pela seleção. O debate ficou adormecido por várias décadas até o surgimento das técnicas moleculares, importadas de outras áreas da microbiologia, como

por exemplo, da microbiologia médica. Essas técnicas permitiram um avanço em todas as áreas da ecologia microbiana, e como conseqüência houve uma reavaliação da biodiversidade de micro-organismos. Por exemplo, constatou-se que a diversidade de micro-organismos é muito maior do que aquelas obtidas anteriormente com as técnicas convencionais da microbiologia (técnicas dependentes do cultivo e plaqueamento), pois a maioria dos micro-organismos (aproximadamente 99% de toda a diversidade microbiana) não pode ser cultivada (Muyzer 1999, Casamayor *et al.* 2000). Sendo assim, os avanços metodológicos e os primeiros resultados obtidos reascenderam o debate quanto à existência de padrões biogeográficos para micro-organismos, culminando em um grande aumento do número de trabalhos sobre este tema na literatura internacional (Figura 1).

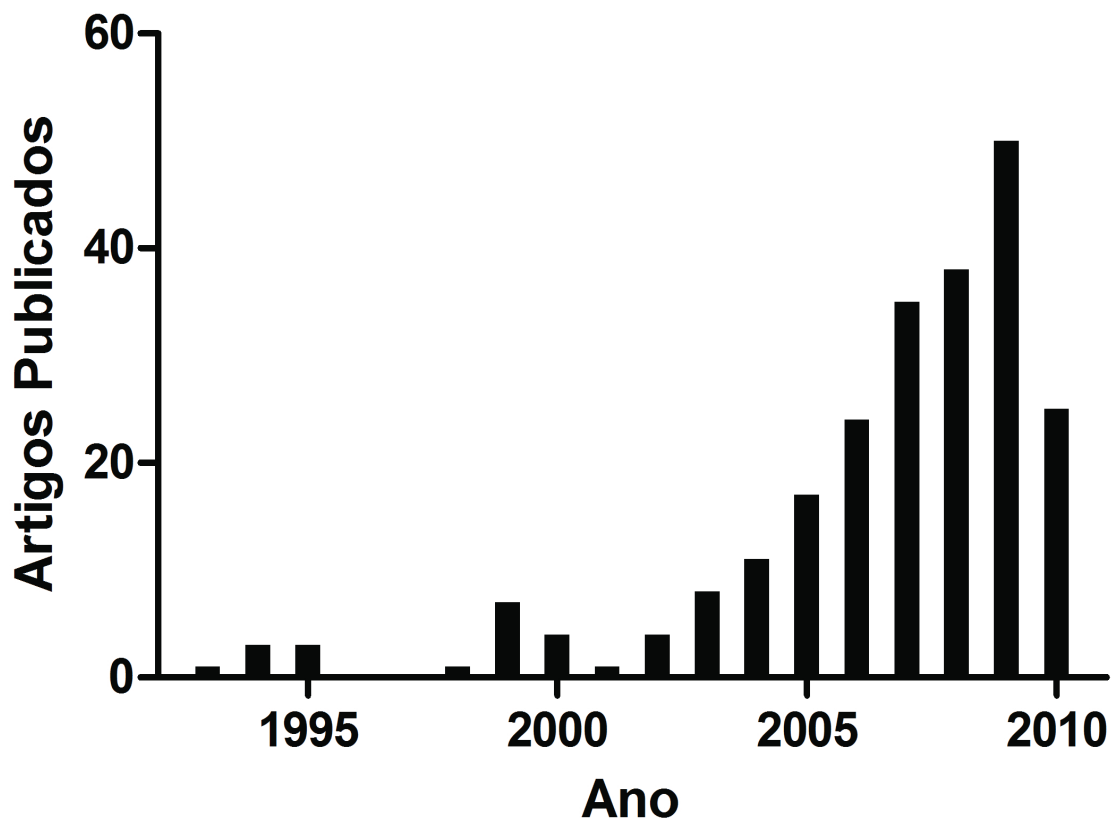


Figura 1. Número de artigos publicados por ano sobre o tema *Biogeografia de Micro-organismos* na base *Web of Science*. Para esta pesquisa, realizada no dia 30 de julho de 2010, foram utilizadas as palavras-chave *biogeography* e *microbial*.

Figure 1. Number of articles published per year with *biogeography** and *microbial** in their titles on the *Web of Science*. This research was realized on July 30, 2010.

Atualmente, o debate é baseado em duas principais correntes. A primeira corrente foi aquela proposta por Baas Becking, e estabelece que os micro-organismos são amplamente distribuídos, mas o ambiente é responsável pela seleção de espécies (*i.e.* fatores locais, como condições ambientais e interação entre espécies, são mais importantes que fatores regionais, como a distância entre ecossistemas) (Quispel 1998). Devido à ampla distribuição haveria uma alta diversidade local, porém uma diversidade regional relativamente baixa (Fenchel *et al.* 1997, Fenchel 2003, Fenchel & Finlay 2004). A segunda grande corrente propõe que micro e macro-organismos seguem os mesmos padrões e leis ecológicas, porém em diferentes escalas espaciais e temporais, e desta forma, os micro-organismos, assim como os macro-organismos, apresentariam padrões biogeográficos (*i.e.* fatores regionais são tão importantes em estruturar a distribuição espacial como fatores locais) (Azovsky 2002, Foissner 2008).

Esta revisão tem como objetivo apresentar, de forma geral, os limites metodológicos e conceituais no estudo da ecologia microbiana, principalmente no que se refere ao estudo da biogeografia destes organismos. Também discutiremos, de forma sucinta, os processos que podem gerar estes padrões como, especiação, extinção e dispersão, e apresentaremos alguns padrões de distribuição dos micro-organismos encontrados na literatura relacionados à biogeografia desses organismos.

LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS E CONCEITUAIS

O estudo da biogeografia microbiana tem se deparado com várias limitações metodológicas e conceituais inerentes a estudos microbiológicos. Assim, muitas das questões discutidas aqui não são limitações específicas da biogeografia de micro-organismos, e sim de toda a ecologia microbiana.

AVANÇOS E LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS

O aumento do número de ferramentas, principalmente moleculares, utilizadas no estudo da diversidade dos micro-organismos tem provido um acesso cada vez maior à informação genética sobre as comunidades e populações microbianas, o que

tem ajudado a reascender os estudos de biogeografia destes organismos.

A maioria dos métodos moleculares se utiliza do produto da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Estas técnicas empregam métodos baseados na amplificação e/ou avaliação de seqüência de ácidos nucleicos para estudos da diversidade procariota, possibilitando a análise da comunidade microbiana sem o uso dos seletivos meios de cultura e técnicas de plaqueamento (Casamayor *et al.* 2000). Dentre os principais métodos destacam-se os métodos de “Fingerprint” ou “Impressão Digital”, como o DGGE (Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante), o TGGE (Eletroforese em Gel de Gradiente de Temperatura) e o t-RFLP (Análise de Restrição de Fragmentos Polimórficos Terminais). Tais métodos têm como base a formação de perfis moleculares da comunidade microbiana, o que possibilita a análise simultânea de várias amostras ambientais, sendo bastante úteis para o monitoramento e compreensão de variações temporais e espaciais das comunidades microbianas.

Os perfis gerados pelas técnicas de “Fingerprint” para procariotos são baseados em regiões específicas da molécula de RNA ribossômico 16S (rRNA 16S). Cada espécie possui quantidades e seqüências de bases nitrogenadas (citosina, guanina, adenina e timina) diferentes na subunidade menor do rRNA 16S, o que permite um perfil de banda característico para cada comunidade (Foissner *et al.* 2008). No entanto, estes métodos podem gerar erros como a formação de quimeras (moléculas criadas artificialmente e que não são provenientes de nenhuma célula), heteroduplex (quando ocorre o anelamento de fragmentos inespecíficos), presença de diferentes seqüências de rRNA de um mesmo organismo e co-migração de seqüências de organismos diferentes (Muyzer *et al.* 1993, Muyzer 1999). Contudo, a padronização dos parâmetros ligados ao processamento das amostras permite o monitoramento e a comparação destes perfis tornando-os bem representativos destas comunidades (Muyzer *et al.* 1993, Casamayor *et al.* 2000, Loisel *et al.* 2006).

Outra limitação dos métodos de “Fingerprint” é que eles permitem apenas o estudo daquelas espécies que são mais comuns, ou seja, numericamente mais abundantes (Muyzer *et al.* 1993). O limite de detecção são populações de micro-organismos com

densidade superior a 1% do total de indivíduos na amostra (Pedrós-Alió 2006). Se os mesmos taxa são os mais abundantes em duas amostras, porém estas se diferenciam principalmente em relação aos taxa menos abundantes, a diversidade das amostras parecerá ser a mesma (Curtis *et al.* 2006). Sendo assim, a mudança no padrão dos perfis gerados pelos métodos de “Fingerprint” ocorre somente quando as espécies mais abundantes são afetadas (Loisel *et al.* 2006). Neste sentido, se faz necessário lançar mão de novas metodologias para o refinamento dos estudos relativos às comunidades bacterianas, já que o número de espécies raras representa uma grande fração (79%) da comunidade (Loisel *et al.* 2006).

O nível de refinamento de cada uma das diversas técnicas que permitem a avaliação das comunidades bacterianas pode gerar padrões diferentes da composição de uma comunidade. Técnicas como ARDRA, 16S e 23S rDNA e rep-PCR com BOX primers podem apresentar padrões de banda muito similares, pois utilizam regiões do RNA muito conservadas, sendo assim consideradas técnicas que apresentam um nível de resolução mais grosseiro. Um maior refinamento pode ser encontrado quando seqüências menos conservadas são utilizadas, como, por exemplo, através da técnica de ITS-RFLP (Cho & Tiedje 2000). Outra maneira de aumentar o nível de resolução dos padrões observados é a utilização de iniciadores específicos (seqüências responsáveis por dar início à reação de amplificação do PCR), que conseguem amplificar grupos bacterianos específicos, que não podem ser observados quando são utilizados os iniciadores chamados universais (seqüências do gene que codifica a subunidade 16S do RNA ribossomal que são amplificadas na maioria das espécies bacterianas) (Pedrós-Álio 2006). Atualmente, técnicas como bibliotecas de clones, sequenciamento e pirosequenciamento são as mais efetivas na detecção de organismos raros (Forney *et al.* 2004). Assim, resoluções mais grosseiras geralmente não permitem a observação de padrões na distribuição da diversidade. Entretanto, quando se aplica uma técnica de maior resolução e mais refinada, estes padrões biogeográficos podem se tornar aparentes (Rauch & Bar-Yam 2004).

CONCEITO DE ESPÉCIE

A unidade alvo em pesquisas que visam os padrões de distribuição dos organismos é a espécie, talvez

influenciada pelos estudos de biogeografia de animais e plantas. Entretanto, para procariotos o conceito de espécie não está claramente definido, principalmente devido às dificuldades metodológicas (Roselló-Mora & Amann 2001, Fenchel & Finlay 2006, Wards 2006). O conceito clássico de espécie taxonômica é baseado na observação de características fenotípicas particulares que, em combinação e/ou correlacionadas, ocorrem em um número finito de unidades discretas, não excluindo a possibilidade de alguma população conter alguma característica especial adaptativa (Fenchel & Finlay 2006). Esta definição é de pouca valia para micro-organismos, pois existe uma enorme dificuldade de diferenciação fenotípica das células microbianas. Para bactérias, a definição mais utilizada é aquela onde micro-organismos da mesma espécie apresentam, no mínimo, 70% de homologia DNA-DNA, mais de 97% de similaridade nas seqüências do gene que codifica o 16S rRNA, e possuem caracterização metabólica semelhante quando isolados em meio de cultura (Cohan 2002, Logue & Lindström 2008).

Dentro desta perspectiva, os ecólogos microbianos utilizam marcadores moleculares como base dos estudos filogenéticos microbianos, sendo os marcadores mais utilizados, atualmente, os genes que codificam moléculas de RNA ribossomal (rRNA). Estas moléculas são consideradas boas marcadoras moleculares, pois apresentam distribuição universal (estão presentes na maioria dos organismos), são funcionalmente constantes, suficientemente conservados (são menos vulneráveis à transferência horizontal de genes do que outras partes do DNA microbiano), e possuem um número de bases nitrogenadas, suficientemente, alto para prover uma estrutura filogenética robusta (Schloss & Handelsman 2007). Além disso, as técnicas baseadas na molécula do rRNA são razoavelmente simples, práticas e encontram-se muito difundidas entre os ecólogos microbianos. Assim, a espécie microbiana é ainda a unidade fundamental dos estudos em microbiologia, sendo esta geralmente expressada em Unidades Taxonômicas Operacionais (UTO), e obtidas através da similaridade da seqüência do gene 16S rRNA (Ramette & Tiedje 2007). Porém, apesar das aparentes vantagens, a definição de espécie microbiana baseada nesta técnica tem sido muito criticada, pois, mesmo em regiões conservadas da molécula de rRNAs, a troca de genes entre micro-organismos por transferência horizontal de genes é possível, além

de uma mesma espécie poder apresentar diferentes seqüências do gene 16S rRNA (microdiversidade), o que impossibilitaria uma classificação filogenética microbiana precisa (Weinbauer & Rassoulzadegan 2007). Outras técnicas moleculares, como a clonagem seguida do seqüenciamento genético e, principalmente, o piroseqüenciamento vêm sendo desenvolvidas e aprimoradas, e apresentam-se como alternativas mais robustas às tradicionais técnicas e podem auxiliar na definição do conceito de espécie microbiana.

Neste contexto, ainda existe um grande questionamento se distâncias genéticas, as quais são utilizadas para diferenciar espécies em biologia molecular, representam organismos que são morfologicamente indistinguíveis, mas com propriedades fisiológicas distintas. Atualmente, sabe-se que populações de células bacterianas que são geneticamente únicas, são adaptadas ao seu ambiente local, em resposta a condições ambientais (i.e. ecotipos). Assim, bactérias que ocupam nichos discretos e que sofrem seleção periódica, permitem que haja variações genéticas dentro de cada nicho. Havendo pouca ou nenhuma recombinação irão surgir espécies geneticamente e ecologicamente distintas. Este conceito parte do princípio que a diversidade genética está diretamente relacionada à diversidade ecológica, e desta forma os padrões evolutivos que são revelados pelos marcadores moleculares, como o 16S rRNA, representariam populações ecologicamente distintas e portanto, teorias ecológicas que partem de tal conceito podem ser aplicadas às bactérias (Cohan 2002, Wards 2006).

MECANISMOS QUE GERAM PADRÕES BIOGEOGRÁFICOS

Os principais fatores responsáveis pelo surgimento dos padrões biogeográficos são a especiação, a extinção e a dispersão, processos pelos quais ocorre uma expansão ou uma contração na área de distribuição dos taxa. Devido ao pequeno tamanho dos micro-organismos, a utilização do paradigma da alometria pode nos oferecer uma estrutura útil para discutir processos que geram os padrões biogeográficos, já que as equações alométricas são modelos que visam prever como o tamanho dos organismos pode influenciar em atributos biológicos

tais como, densidade populacional, taxas metabólicas e tempo de vida de um organismo. Ou seja, de acordo com as equações alométricas, organismos pequenos, como os procariotos, apresentariam altas densidades populacionais, altas taxas metabólicas e curto tempo de geração.

ESPECIAÇÃO

A entrada de novas espécies em uma determinada área é o resultado de dois processos, especiação local e dispersão. Existem evidências, baseadas principalmente em fósseis, que levam a crer que os processos de especiação são semelhantes tanto em micro-organismos quanto em plantas e animais, sendo este um processo inerente a todas as espécies. Micro-organismos apresentam, geralmente, curto tempo de geração, altas densidades e, principalmente, elevadas taxas de mutação, que são características importantes para a especiação microbiana (Foissner 2008). Estas taxas de mutação elevadas produzem uma significativa variação genética, que em conjunto com a ampla diversidade fisiológica e o tamanho dos organismos proporcionam uma alta diversificação (Horner-Devine *et al.* 2004a). Por outro lado, a alta densidade pode ser considerada como um fator homogeneizador, fazendo com que micro-organismos apresentem um menor grau de isolamento genético do que animais e plantas. Outra característica importante é a troca genética entre indivíduos da mesma espécie, que em animais e plantas é essencial para promover a variabilidade genética, característica importante para promover a especiação nestes organismos. Já em procariotos, a troca genética, além de ser baixa, não é um processo essencial para especiação. Por exemplo, se as taxas de recombinação genética forem relativamente baixas em relação às taxas de mutação, e se esta última estiver associada a um papel ecológico, como, a utilização de outro substrato para o crescimento celular, a especiação pode ocorrer (Cohan 2002). Outro importante processo para o surgimento de novas espécies, em bactérias, é a seleção periódica de características específicas de ecotipos diferentes, que aliada à transferência horizontal de genes, pode acelerar a especiação bacteriana. Este processo pode ser fonte de características ecológicas importantes entre grupos filogeneticamente distantes como, por exemplo, a transferência horizontal de genes

relativos à resistência ao mercúrio (Bogdanova *et al.* 1998, Lawrence 2002). É importante observar, no entanto, que apesar de processos como a transferência horizontal de genes serem importantes para a adaptação a novos ambientes, geralmente eles conferem uma característica temporária aos organismos, sendo muitas vezes perdido quando a pressão do ambiente diminui. Logo, acredita-se que o processo de especiação microbiana seja decorrente de mutação e seleção periódica de genes, e não da obtenção de novos genes por transferência horizontal (Spratt *et al.* 2006).

EXTINÇÃO

O número de espécies em uma comunidade depende do balanço entre a extinção de populações locais, a especiação e a imigração de espécies. Desta forma, organismos que apresentam altas taxas de dispersão, como os micro-organismos, teriam menores chances de sofrer extinção do que aqueles com taxas de dispersão mais baixas, uma vez que a chegada de imigrantes ao ambiente alvo seria mais frequente (Fenchel & Finlay 2005). Outro importante fator é o tamanho da área de distribuição dessas populações, pois populações com uma pequena distribuição geográfica têm uma maior probabilidade de extinção do que populações amplamente distribuídas (Martiny *et al.* 2006). As altas abundâncias, o curto tempo de geração e a existência de estágios de dormência dos micro-organismos permitem que eles resistam a condições ambientais mais severas, sugerindo assim, que o processo de extinção dificilmente ocorra (Ramette & Tiedje 2007). Fatores adicionais a estes, tais como, a plasticidade metabólica, podem levar ao aparecimento de fenótipos, que aumentam a capacidade de disseminação dos organismos e uma maior resistência ao estresse ambiental. Estudos que utilizam modelos genealógicos mostram que a diversidade pode ser concentrada em pequenas subpopulações, sobre as quais a extinção pode levar a flutuações na diversidade, mesmo na ausência de perturbações extrínsecas (Rauch & Bar-Yam 2004). Outro fator ainda pouco conhecido é em que extensão a extinção é um efeito estocástico, ou seja, independente de outras espécies presentes no ambiente, e devido a fatores aleatórios como, por exemplo, a ocorrência de distúrbios ambientais. Ou

determinístico, onde as espécies são extintas devido a aspectos como, por exemplo, a qualidade dos recursos ambientais ou a presença de um melhor competidor (Ramette & Tiedje 2007).

Em ambientes naturais, a extinção de micro-organismos é dificilmente observada. As ferramentas utilizadas hoje em dia para o monitoramento das comunidades microbianas não apresentam o nível de resolução necessário para se afirmar que uma população foi extinta da comunidade analisada. Além disso, as populações que são detectáveis são aquelas mais abundantes e assim uma mudança no padrão de UTO pode ser reflexo de uma mudança nas densidades populacionais microbianas presentes no ambiente (Muyzer *et al.* 1993, Muyzer 1999, Loisel *et al.* 2006, Pedrós-Alió 2006) (ver limitações metodológicas). Como existem poucos dados na literatura que avaliam o processo de extinção em micro-organismos, este tema continua ainda muito questionável.

DISPERSÃO

A dispersão é o movimento de populações para pontos distantes dos locais de origem. Compreende não só o transporte físico de uma região para outra, mas também o estabelecimento e a colonização de novas regiões geográficas por populações emigrantes (Ramette & Tiedje 2007). Desta forma, deve-se considerar a capacidade dos emigrantes de resistirem às condições ambientais durante o trajeto que realizam até a chegada ao novo ambiente (Martiny *et al.* 2006). Existem duas formas pelas quais os organismos podem se dispersar. A primeira é aquela que o indivíduo se dispersa de forma ativa, locomovendo-se através da propulsão do propágulo. Procariotos, em geral, não conseguem atingir grandes distâncias, ou transpor barreiras geográficas apenas com este tipo de dispersão. Uma segunda maneira de dispersar é aquela em que o transporte dos emigrantes ocorre de forma passiva, ou seja, são carregados para outros ambientes através de correntes oceânicas, aderidos a animais ou pelos ventos, sendo esta a principal forma de dispersão entre os micro-organismos (Jenkins *et al.* 2007).

Outro fator que influencia a dispersão é o tamanho populacional, ou seja, quanto mais densa a população de uma dada espécie, maior será sua probabilidade atingir locais mais distantes. Neste caso, uma relação

positiva entre abundância e dispersão é observada. São essas altas abundâncias que, em conjunto com o pequeno tamanho, agem como condutor da dispersão aleatória em micro-organismos (Finlay 2002, Finlay & Esteban 2007). Assim, o transporte sobre longas distâncias, por exemplo, entre continentes, pode ser possível através da combinação de diversos fatores, como condições climáticas favoráveis, vetores disseminantes e formas de resistências, que irão aumentar as chances de alcançar estas grandes distâncias (Jenkins *et al.* 2007). A hipótese de que a diversidade dos micro-organismos é prioritariamente determinada pelas condições ambientais, sugere que a taxa de dispersão e a colonização de novos lugares é tão alta que preveniria a diferenciação espacial. Estas altas taxas de dispersão diminuiriam a diferenciação das comunidades pelo aumento do fluxo gênico, seja pela reprodução sexual ou pela transferência horizontal de genes, e impediriam qualquer tendência à diferenciação pela mutação, seleção ou deriva gênica (Martiny *et al.* 2006).

Como o tamanho dos organismos e a abundância são inversamente correlacionados, organismos menores, como bactérias, têm maior probabilidade de apresentar uma distribuição ubíqua do que organismos maiores, como peixes. Desta forma a dispersão exercerá um papel diferente na estruturação das comunidades, dependendo, portanto, do tamanho dos organismos. Organismos maiores, que possuem uma maior limitação pela dispersão, como crustáceos, zooplâncton e peixes, teriam suas comunidades estruturadas tanto pela dispersão quanto pelo ambiente. Já micro-organismos, como bactérias e fitoplâncton, por geralmente não apresentarem limitação pela dispersão, o ambiente exerceria um papel mais importante em estruturar as comunidades do que a dispersão (Beisner *et al.* 2006, Mazaris *et al.* 2010).

RELAÇÃO ESPÉCIE-ÁREA

A relação espécie-área, proposta pela primeira vez por Arrhenius (1921), a qual prediz que o número de espécies aumenta com o aumento da área, tem sido demonstrada para diversos grupos de animais e plantas (Bennett 1997, Harcourt 1999, Lawton 1999), entretanto, ainda existe um intenso debate quanto a

sua validade para micro-organismos. Essa relação pode ser modelada da seguinte forma:

$$S = cA^Z \quad (1)$$

onde S é o número de espécies, c é um parâmetro que depende do táxon, região biogeográfica e unidade de área, A é a área estudada e o expoente Z é uma constante que representa a inclinação da curva, ou seja, indica qual é o ganho de novas espécies com o aumento da área (Peters 1993, Azovsky 2002). Esta relação entre o aumento da riqueza de espécies com o aumento da área provavelmente é um fenômeno universal, porém difícil de observar em bactérias, pois esses micro-organismos apresentam características, como alta taxa de dispersão e alto grau de redundância ecológica, que impediriam a observação de tais padrões (Figura 2 - Fenchel 2005, Fenchel & Finlay 2005, Woodcock *et al.* 2006). Além disso, as metodologias mais empregadas para detectar estes padrões apresentam limitações na detecção dos organismos raros (DGGE, t-RFLP). Devido a estas

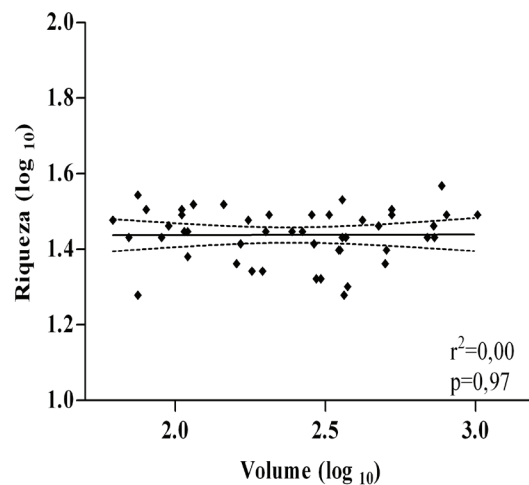


Figura 2. Regressão linear simples (Relação Espécie-Área) entre a riqueza (número de Unidades Taxonômicas Operacionais - UTO) e o volume total de água acumulada em bromélias-tanque do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba. Os dados de riqueza foram obtidos utilizando-se a técnica de DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis). Para mais informações, veja Azevedo (2009).

Figure 2. Simple linear regression (species-area relationship) between species richness (number of operational taxonomic units - UTO) and the total volume of water accumulated in tank bromeliads of the National Park of Restinga Jurubatiba. The richness data were obtained using the technique of DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis). For more information, see Azevedo (2009).

limitações metodológicas, padrões como estes para micro-organismos serão detectáveis pelos métodos moleculares apenas se forças ambientais, evolutivas e demográficas afetarem os organismos mais abundantes (Loisel *et al.* 2006).

Apesar da difícil observação, atualmente a relação espécie-área tem sido evidenciada para micro-organismos (Horner-Devine *et al.* 2004b, Bell *et al.* 2003, 2005). A alta disponibilidade de nichos é vista como sendo a explicação mais plausível para os micro-organismos, pois estes organismos conseguem perceber o ambiente em escalas muito menores que organismos maiores (Reche *et al.* 2005, 2007). No entanto, em geral, os valores encontrados para o parâmetro Z são menores do que aqueles encontrados para macro-organismos e semelhantes aos encontrados para outros organismos do plâncton. Ou seja, os organismos apresentam uma relação positiva entre o número de taxa e a área amostrada seguindo uma relação alométrica; porém o grau de inclinação da curva estaria relacionada ao tamanho dos mesmos (Azovsky 2002, Green *et al.* 2004, Reche *et al.* 2005). Organismos menores apresentam maiores taxas de dispersão, e os baixos valores de Z encontrados para micro-organismos podem ser explicados pela improbabilidade das bactérias estarem limitadas pela dispersão. Outra possível explicação é o nível de resolução taxonômica aplicada. Assim como ocorre em organismos maiores, o ganho de novas espécies com o aumento da área amostrada depende da resolução taxonômica aplicada, ou seja, quanto menor a resolução taxonômica menor o valor de Z (Harcourt 1999, Horner-Devine *et al.* 2004b). Para bactérias esta resolução é muito mais ampla do que a unidade de espécie utilizada para macro-organismos. Logo, se fosse possível definir UTO como equivalente ecológico de unidade de espécie para organismos maiores, talvez fosse possível encontrar relações espécie-área, com valores do expoente Z semelhantes para macro e micro-organismos (Horner-Devine *et al.* 2004b).

MICRO-ORGANISMOS COSMOPOLITAS E MICRO-ORGANISMOS ENDÊMICOS

Desde o início do século XX tem sido proposto que os micro-organismos possuem uma distribuição ubíqua. Esta hipótese sugere que os micro-organismos

se dispersam facilmente e, como conseqüência, não existe o isolamento geográfico entre populações, impedindo, portanto que ocorra a especiação alopátrica. O alto potencial para a dispersão dos micro-organismos explicaria uma alta riqueza local, mas uma riqueza moderada em nível regional (Finlay & Clarke 1999). Neste sentido, a presença de um determinado microorganismo em um ambiente estaria relacionada a fatores locais, tais como pH, temperatura, salinidade e nutrientes entre outros. Essa ampla distribuição já foi demonstrada em diversos ambientes, tanto em oceanos (Abell & Bowman 2005), quanto em ambientes de água doce (Glöckner *et al.* 2000, Pearce *et al.* 2007, Zwart *et al.* 2002). A ausência de correlação entre a similaridade da composição da comunidade bacteriana e a distância entre ambientes, adicionado ao forte controle ambiental, corrobora com a idéia proposta por Baas Becking e defendida por Finlay (Fierer *et al.* 2007).

A alta densidade populacional destes organismos influencia de forma direta a dispersão, aumentando a chance dos organismos alcançarem novos ambientes. Além disso, a alta abundância faz com que a extinção de uma dada espécie seja um evento raro, simplesmente por estes eventos serem probabilísticos (*i.e.* maiores populações tem menor chance de serem extintas). Estas características, portanto, permitem que os mesmos grupos sejam encontrados em regiões distintas. Por exemplo, actinobactéria, Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides, além de β e α -proteobactérias, foram igualmente abundantes em lagos de regiões distintas como Áustria, Alemanha e Rússia (Glöckner *et al.* 2000). Outros trabalhos corroboram com essa ampla distribuição de grupos entre micro-organismos (ver Lindström & Leskinen 2002, Pearce *et al.* 2007). Teixeira *et al.* (2010) observou que apesar dos mesmo grupos serem encontrados em diferentes regiões, os filos e as classes apresentam diferenças na abundância dos organismos. Neste estudo, o filo e classe mais abundantes (Firmicutes e Clostridia, respectivamente) eram diferentes daqueles encontrados em solos de outras regiões do planeta. Esta diferença foi atribuída principalmente às características peculiares da região analisada como, por exemplo, a concentração de nutrientes, ou o tempo que estes solos ficam congelados, evidenciando a importância dos filtros locais na estruturação das comunidades. No entanto, existem dois aspectos que podem dificultar a

observação da ubiquidade entre micro-organismos: o curto tempo de geração, e o fato de que muitas espécies, em um determinado período, são raras ou se apresentam de forma críptica, em estágio de dormência ou em formas inativas (Finlay & Clarke 1999). Em ambientes aquáticos foi observado que aproximadamente 90% das UTO estão presentes em toda a área estudada, indicando que provavelmente fatores históricos não são responsáveis pelas diferenças regionais (Yanarell & Triplett 2005, Van Der Gucht *et al.* 2007). Entretanto, este nível de resolução destacada aqui pode não ser suficiente para observação de padrões biogeográficos.

Recentemente, tem aumentado o número de trabalhos que evidenciam que fatores espaciais são importantes em estruturar as comunidades bacterianas, ou seja, micro-organismos também exibiriam padrões biogeográficos, indicando que alguns aspectos podem ser comuns a todas as formas de vida. Padrões endêmicos em micro-organismos podem ser evidenciados por espécies patogênicas. A introdução de novas espécies de micro-organismos pode causar grandes danos quando inseridos em outros ambientes que não os de origem. Um exemplo característico são as doenças introduzidas na América pelos Europeus, sendo uma delas a febre tifóide, que é causada pela *Salmonella typhae*. Esses fatos sugerem que micro-organismos de vida livre também podem apresentar estes padrões biogeográficos (Hedlund & Staley 2004, Weinbauer & Rassoulzadegan 2007). Os estudos pioneiros que observaram uma distribuição não cosmopolita de procariontes de vida livre foram realizados com cianobactérias, do gênero *Synechococcus*, que habitavam fontes termais (Papke *et al.* 2003). Assim, a distribuição espacial dos ambientes poderia estruturar as comunidades bacterianas, apesar de sua alta capacidade de dispersão e alta abundância. Grupos do gênero *Synechococcus*, encontrados na América do Norte, não foram observados nas outras regiões do estudo (Nova Zelândia e Japão), evidenciando uma dispersão limitada, inviabilidade do transporte e isolamento geográfico. O mesmo padrão de isolamento geográfico e influência de fatores regionais puderam ser observados em bactérias hipertermófilas acidófilas, que mesmo com necessidades de recursos especializados, e ambientes com disponibilidade destes recursos, apresentaram uma limitação por

dispersão (Whitaker *et al.* 2003). Esses resultados evidenciam que níveis taxonômicos superiores, como proteobactérias, podem ser encontrados como cosmopolitas, entretanto grupos bacterianos específicos, como as do gênero *Synechococcus*, podem não estar distribuídos de forma uniforme na superfície da Terra.

Mesmo em ecossistemas onde as condições não são extremas, a distribuição espacial dos ambientes pode estruturar a comunidade bacteriana. Por exemplo, a composição bacteriana foi influenciada pela a distribuição espacial em lagos de altitude, evidenciando que a re-colonização por micro-organismos de lagos adjacentes, é mais freqüente do que entre lagos mais distante, levando a uma composição mais similar em lagos vizinhos (Reche *et al.* 2005). Outro exemplo pode ser encontrado na costa do mar Báltico, onde a distribuição espacial das poças analisadas foi responsável por 9% da variação na comunidade bacteriana em uma distância menor do que 500 m, demonstrando certo grau de provincialismo (Langenheder & Ragnarsson 2007). Apesar de existirem fortes evidências de que fatores locais, como produtividade e a disponibilidade de carbono orgânico dissolvido, atuam como fortes fatores responsáveis pela estruturação do bacterioplâncton, fatores regionais também podem ter um papel importante nas comunidades formadas por micro-organismos (Hillebrand *et al.* 2001, Yanarell & Triplett 2004). Em outros ambientes, como sedimento e solo, também foi observada a presença de populações endêmicas, sugerindo que as adaptações às condições locais e o isolamento geográfico podem ser fonte de diversificação bacteriana e gerador de populações endêmicas (Cho & Tiedje 2000, Oda *et al.* 2005). Assim, micro-organismos podem apresentar padrões biogeográficos mesmo contrariando fortes forças como a alta dispersão e o fluxo de genes (Weinbauer & Rassoulzadegan 2007).

CONCLUSÃO

Estudos sobre a ecologia microbiana e biogeografia de micro-organismos ainda são muito incipientes. Apesar dos primeiros pesquisadores terem realizado seus trabalhos já no início do século XX, foi com a importação das ferramentas moleculares de outras áreas da microbiologia que

avançou o debate sobre os padrões de distribuição e os mecanismos que podem gerar esses padrões biogeográficos. Portanto, as ferramentas moleculares têm sido essenciais para estudos com comunidades microbianas, permitindo a avaliação de organismos não cultiváveis. Entretanto, a escolha do método a ser utilizado tem grandes implicações nas interpretações dos resultados. Desta forma, os padrões biogeográficos podem se tornar aparentes apenas quando se utilizam técnicas que permitem uma resolução mais refinada da comunidade de micro-organismos (Rauch & Bar-Yam 2004).

Os mecanismos responsáveis pela formação de padrões biogeográficos ainda são muito debatidos para micro-organismos, mas têm sido considerados como importantes estruturadores de comunidades microbianas. Existem evidências de que micro-organismos são amplamente distribuídos, por outro lado, o espaço também pode ter um importante papel na estruturação das comunidades bacterianas, permitindo com que estes organismos também apresentem padrões biogeográficos.

Desta forma, os avanços na biogeografia de micro-organismos estão fortemente relacionados aos avanços de novos métodos, principalmente moleculares, que possam fornecer um nível de resolução mais refinado da comunidade, possibilitando a observação mais precisa de padrões de distribuição da diversidade de micro-organismos.

AGRADECIMENTOS: Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) pelas bolsas de Mestrado (FDA) e Produtividade em Pesquisa (VFF, Processo 307490/2008-4) durante o desenvolvimento do trabalho. Prof. Dr. Carlos Eduardo V. Grelle, Prof. Dr. Luiz P. Gonzaga e MSc. Ellen S. Fonte revisaram as primeiras versões do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELL, G.C.J & BOWMAN, J.P. 2005. Ecological and biogeographic relationships of class Flavobacteria in the Southern Ocean. *Federation of European Microbiological Societies (FEMS)*, 51: 265-277.

AZEVEDO, F.A. 2009. *Influência de fatores locais e regionais na estruturação das comunidades bacterianas em microcosmos naturais*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ecologia – Universidade Federal do Rio de Janeiro (PPGE/UFRJ), 50p.

AZOVSKY, A.I. 2002. Size-dependent species-area relationships in benthos: is the world more diverse for microbes? *Ecography*, 25: 273-282.

BEISNER, B.E; PERES-NETO, P.R; LINDSTRÖM, E.S.; BARNETT, A. & LONGH, M.L. 2006. The Role of Environmental and Spatial Processes in Structuring Lake Communities from Bacteria to Fish. *Ecology*, 87: 2985-2991.

BELL, T.; AGER, D; SONG, J; NEWMAN, J.A; THOMPSON, I.P.; LILLEY, A.K. & VAN DER GAST C.J. 2003. Larger Islands House More Bacterial Taxa. *Science*, 308: 1884.

BELL, T.; NEWMAN, J.A.; SILVERMAN, B.W.; TURNER, S.L. & LILLEY, A.K. 2005. The contribution of species richness and composition to bacterial services. *Nature Letters*, 436: 1157-1160.

BENNETT, J.P. 1997. Nested taxa area curves for eastern United States floras. *Rhodora*, 99: 241-251.

BOGDANOVA, E.S.; BASS, I.A.; MINAKHIN, L.S.; PETROVA, M.A.; MINDLIN, S.Z.; VOLODIN, A.A.; KALYAEVA, E.S.; TIEDJE, J.M; HOBMAN, J.L; BROWN, N.L & NIKIFOROV, V.G. 1998. Horizontal spread of mer operons among gram-positive bacteria in natural environments. *Microbiology*, 144:609-620.

CASAMAYOR, E.O; SCHÄFER, H.; BANERAS, L.; PEDRÓS-ALIÓ, C. & MUYZER, G. 2000. Identification of and Spatio-Temporal Differences between Microbial Assemblages from Two Neighboring Sulfurous Lakes: Comparison by Microscopy and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 66:499-508.

CHO, J.C. & TIEDJE, J.M. 2000. Biogeography and Degree of Endemicity of Fluorescent *Pseudomonas* Strains in Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 5448-5456

COHAN, F.M. 2002. What are Bacterial Species? *Annual Review of Microbiology*, 56: 457-487.

CURTIS, T.P.; HEAD, I.M.; LUNN, M.; WOODCOCK, S.; SCHLOSS, P.D. & SLOAN, W.T. 2006. What is the extent of prokaryotic diversity? *Philosophical Transaction Royal. Society B*, 361: 2023-2037.

DOLAN, J.R. 2005. An Introduction to the Biogeography of Aquatic Microbes. *Aquatic Microbial Ecology*, 41: 39-48.

FENCHEL, T.; ESTEBAN G.F & FINLAY B.J. 1997. Local versus Global Diversity of Microorganisms: Cryptic Diversity of Ciliated Protozoa. *Oikos*, 80: 220-225.

- FENCHEL, T. 2003. Biogeography for Bacteria. *Science*, 301: 925-926
- FENCHEL, T. & FINLAY, B.J. 2003. Microbial Diversity Fundamentally Different From Biodiversity Of Larger Animals And Plants? *European Journal. Protistology*, 39: 486-490
- FENCHEL, T. & FINLAY, B.J. 2004. The Ubiquity of Small Species: Patterns of Local and Global Diversity. *BioScience*, 54: 777-784
- FENCHEL, T. 2005. Where are all the species? *Environmental Microbiology*, 7:472-485.
- FENCHEL, T. & FINLAY, B.J. 2005. Bacteria and Island Biogeography. *Science*, 39:1997.
- FENCHEL, T. & FINLAY, B.J. 2006. The diversity of microbes: resurgence of the phenotype. *Philosophical Transaction Royal Society B.*, 361:1965-1973
- FENCHEL, T. & FINLAY, B.J. 2007. Bacteria and Island Biogeography. *Science Letters*, 309: 1997-1999
- FIERER, N.; MORSE, J.L.; BERTHRONG, S.T.; BERNHARDT, E.S & JACKSON, R.B. 2007. Environmental Controls On The Landscape-scale Biogeography of Stream Bacterial Communities. *Ecology*, 88: 2162-2173
- FINLAY, B.J. & CLARKE, K.J. 1999. Ubiquitous dispersal of microbial species. *Nature*. 400: 828.
- FINLAY, B.J. 2002. Global Dispersal of Free-Living Microbial Eukaryote Species. *Science*, 296: 1061-1063.
- FINLAY, B. J. & ESTEBAN, G.F. 2007. Body size and biogeography. Pp. 167-185. In: A Hildrew, D Raffaelli, R Edmonds-Brown (eds). Body size: the structure and function of aquatic ecosystems. Cambridge University Press. 343p.
- FOISSNER, W. 2008. Protist diversity and distribution: some basic considerations. *Biodiversity and Conservation*, 17: 235-242.
- FORNEY, L.J; ZHOU, X. & BROWN, C.J. 2004. Molecular microbial ecology: land of the one-eyed king. *Current Opinion in Microbiology*, 7: 210-220.
- GLÖCKNER, F.O.; ZAICHIKOV, E.; BELKOVA, N.; DENISSOVA, L.; PERNTHALER, J.; PERNTHALER, A. & AMANN, R. 2000. Comparative 16S rRNA Analysis of Lake Bacterioplankton Reveals Globally Distributed Phylogenetic Clusters Including an Abundant Group of Actinobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 5053-5065.
- GREEN, J.L.; HOLMES, A.J.; WESTOBY, M.; OLIVER, I.; BRISCOE, D.; DANGERFIELD, M.; GILLINGS, M. & BEATTIEA, J. 2004. Spatial scaling of microbial eukaryote diversity. *Nature*, 432: 747-750
- GREEN, J.L.; BOHANNAN, B.J.M. & WHITAKER, R.J. 2008. Microbial Biogeography: From Taxonomy to Traits. *Science*, 320: 1039-1043.
- HARCOURT, A.H. 1999. Biogeographic Relationships of Primates on South-East Asian Islands. *Global Ecology and Biogeography*, 8: 55-61.
- HEDLUND, B.P. & STALEY, J.T. 2004. Microbial diversity and bioprospecting. Pp. 225-231. In: A.T. Bull (Ed). Microbial diversity and bioprospecting. Washington DC. 496p
- HILLEBRAND, H.; WATERMANN, F.; KAREZ, R. & BERNINGER, U.G. 2001. Differences in species richness patterns between unicellular and multicellular organisms. *Oecologia*, 126: 114-124.
- HORNER-DEVINE, M.C.; CARNEY, K.M. & BOHANNAN, B.J.M. 2004a. An ecological perspective on bacterial biodiversity. *The Royal Society*, 271: 113-122.
- HORNER-DEVINE, M.C; LAGE, M.; HUGHES, J.B. & BOHANNAN, B.J.M. 2004b. A taxa-area relationship for bacteria. *Nature*, 432: 750-753.
- JENKINS, D.G.; BRESCACIN, C.R.; DUXBURY, C.V.; ELLIOTT, J.A.; EVANS, J.A.; GRABLOW, K.R.; HILLEGASS, M.; LYON, B.N.; METZGER, G. A.; OLANDESE, M.L.; PEPE, D.; SILVERS, G.A.; SURESCH, H.N.; THOMPSON, T.N.; TREXLER, C.M.; WILLIAMS, G.E.; WILLIAMS, N.C. & WILLIAMS, S.E. 2007. Does size matter for dispersal distance? *Global Ecology and Biogeography*, 16: 415-425.
- LANGENHEDER, S. & RAGNARSSON, H. 2007. The role of environmental and spatial factors for the composition of aquatic bacterial communities. *Ecology*, 88: 2154-2161.
- LAWRENCE, J.G. 2002. Gene transfer in bacteria: speciation without species? *Theoretical Population in Biology*, 61: 449-460.
- LAWTON, J.H.; 1999. Are There General Laws in Ecology? *Oikos*, 84: 177-192.
- LINDSTRÖM, E.S. & LESKINEN, E. 2002. Do neighboring lakes share a common taxa of bacterioplankton? Comparison of 16S rDNA fingerprints and sequences from three geographic regions. *Microbial Ecology*. 44: 1-9.

- LOGUE J.B. & LINDSTRÖM E.S. 2008. Biogeography of Bacterioplankton in Inland waters. *Freshwater Reviews*, 1: 99-114.
- LOISEL, P.; HARMAND, J.; ZEMB, O.; LATRILLE, E.; LOBRY, C.; DELGENES, J.P.; GODON, J.J. 2006. Denaturing gradient electrophoresis (DGE) and single-strand conformation polymorphism (SSCP) molecular fingerprintings revisited by simulation and used as a tool to measure microbial diversity. *Environmental Microbiology*, 8: 720-731.
- MARTINY, J.B.H.; BOHANNAN, B.J.M.; BROWN, J.H.; COLWELL, R.K.; FUHRMAN, J.A.; GREEN, J. L.; HORNER-DEVINE, M.C.; KANE, M.; KRUMINS, J.A.; KUSKE, C.R.; MORIN, P.J.; NAEEM, S.; ØVREÅS, L.; REYSENBACH, A.; SMITH V. H. & STALEY, J.T. 2006. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews*, 4: 102-112.
- MAZARISA.D.; MOUSTAKA-GOUNI M.; MICHALOUDIE & BOBORI D. 2010. Biogeographical patterns of freshwater micro- and macroorganisms: a comparison between phytoplankton, zooplankton and fish in the Eastern Mediterranean. *Journal of Biogeography*, 37: 1341-1351.
- MUYZER, G.; WAAL, E.C. & UITIERLINDEN, A.G. 1993. Profiling of complex microbial populations by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis analysis of Polymerase Chain Reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 695-700.
- MUYZER, G. 1999. DGGE/TGGE A Method for identifying genes from natural ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 2: 317-322.
- ODA, Y.; STAR, B.; HUISMAN, L.A.; GOTTSCHAL, J.C. & FORNEY, L. J. 2005. Biogeography of the Purple Nonsulfur Bacterium *Rhodospseudomonas palustris*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 5186-5191.
- PAPKE, R.T.; RAMSING, N.B.; BATESON, M.M. & WARD, D.M. 2003. Geographical isolation in hot spring cyanobacteria. *Environmental Microbiology*, 5: 650-659.
- PEARCE, D.A.; COCKELL, C.S.; LINDSTRÖM, E.S. & TRANVIK, L.J. 2007. First Evidence for a Bipolar Distribution of Dominant Freshwater Lake Bacterioplankton. *Antarctic Science*, 19: 245-252.
- PEDRÓS-ALIÓ C. 2006. Marine microbial diversity: can it be determined? *TRENDS in Microbiology*, 14: 257-263.
- PETERS, R.H. 1993. *The Ecological Implications of Body Size*. Cambridge University Press, Cambridge. New York. 324p.
- QUISPEL, A. 1998. Lourens, G. M. Baas Becking (1895-1963), Inspirator for many (micro)biologists. *International Microbiology*, 1: 69-72.
- RAMETTE, A. & TIEDJE, J.M. 2007. Biogeography: an emerging cornerstone for understanding prokaryotic diversity ecology, and evolution. *Microbial Ecology*, 53: 197-207.
- RAUCH, E.M & BAR-YAM, Y. 2004. Theory predicts the uneven distribution of genetic diversity within species. *Letters to Nature*, 431: 449-452.
- RECHE, I.; PULIDO-VILLENA, E.; MORALES-BAQUERO, R. & CASAMAYOR, E.O. 2005. Does ecosystem size determine aquatic bacterial richness? *Ecology*, 86: 1715-1722.
- RECHE, I.; PULIDO-VILLENA, E.; MORALES-BAQUERO, R. & CASAMAYOR, E.O. 2007. Does ecosystem size determine aquatic bacterial richness? Reply. *Ecology*, 88: 253-255.
- ROSSELLÖ-MORA, R. & AMANN, R. 2001. The species concept for prokaryotes. *Federation of European Microbiological Societies Reviews*, 25: 39-67.
- SCHLOSS, P.D. & HANDELSMAN, J. 2007. The last word: books as a statistical metaphor for microbial communities. *Annual Review Microbiology*, 61: 23-34.
- SPRATT, B.G.; STALEY, J.T. & FISHER, M.C. 2006. Introduction: species and speciation in micro-organisms. *Philosophical Transaction Royal Society B*, 365: 1897-1898.
- TEIXEIRA, L.C.R.S.; PEIXOTO, R.S.; CURY, J.C.; SUL, W.J.; PELLIZARI, V.H.; TIEJE, J. & ROSADO, A.S. 2010. Bacterial diversity in rhizosphere soil from Antarctica vascular plants of Admiralty Bay, maritime Antarctica. *ISME Journal*, 4: 989-1001. DOI: ismej.2010.35.
- VAN DER GUCHT, K.; COTTENIE, K.; MUYLAERT, K.; VLOEMANS, N.; COUSIN, S.; DECLERCK, S.; JEPPESEN, E.; CONDE-PORCUNA, J.M.; SCHWENK, K.; ZWART, G.; DEGANS, H.; VYVERMAN, W. & MEESTER, L.D. 2007. The power of species sorting: Local factors drive bacterial community composition over a wide range of spatial scales. *Proceedings of the National Academy of Science*, 104: 20404-20409.
- WARDS, D.M. 2006. Microbial diversity in natural environments: focusing on fundamental questions. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 90: 309-324.
- WEINBAUER, M.G. & RASSOULZADEGAN F. 2007. Extinction of microbes: evidence and potential consequences. *Endangered Species Research*, 3: 205-215.

WHITAKER, R.J.; GROGAN, D.W. & TAYLOR, J.W. 2003. Geographic barriers isolate endemic populations of hyperthermophilic Archaea. *Science*, 301: 976-978.

WOODCOCK, S.; CURTIS, T.P.; HEAD, I.M.; LUNN, M. & SLOAN, W.T. 2006. Taxa-area relationships for microbes: the unsampled and the unseen. *Ecology Letters*, 9: 805-812.

YANNARELL, A.C. & TRIPLETT, E.W. 2004. Within-and between-lake variability in the composition of bacterioplankton communities: investigations using multiple spatial scales. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 214-223.

YANNARELL, A.C. & TRIPLETT, E.W. 2005. Geographic and environmental sources of variation in lake bacterial community composition. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 227-239.

ZWART, G.; CRUMP, B.C.; AGTERVELD, M.P.K.; HAGEN, F. & HAN, S. 2002. Typical freshwater bacteria: an analysis of available 16S rRNA gene sequences from plankton of lakes and rivers. *Aquatic Microbial Ecology*, 28:141-155.

Submetido em 04/08/2010

Aceito em 21/09/2010