



Microbiologia ambiental
Perspetiva histórica

Paula Bacelar Nicolau

2014



Conteúdo

1. INTRODUÇÃO	3
2. PERSPETIVA HISTÓRICA DA MICROBIOLOGIA AMBIENTAL	5
PERÍODO DE OBSERVAÇÃO	5
PERÍODO DA CULTURA PURA	10
PERÍODO DA MICROBIOLOGIA MOLECULAR	13
DESENVOLVIMENTO DAS PRINCIPAIS SUBDISCIPLINAS DA MICROBIOLOGIA	16
3. MICROBIOLOGIA AMBIENTAL ATUAL E INTER-RELAÇÕES COM OUTRAS ÁREAS DA MICROBIOLOGIA	19
BIBLIOGRAFIA	21

1. Introdução

O crescimento tecnológico e económico sem precedentes que se seguiu ao fim da segunda Guerra Mundial – que foi acompanhado de uma sensação de poder ilimitado sobre a exploração da Terra – gradualmente deu lugar, na década de 1960, a um sentimento de alarme ao tornarmo-nos conscientes da explosão demográfica, da deterioração ambiental, do desaparecimento e depleção dos recursos naturais não-renováveis, e da nossa incapacidade de os gerir de um modo sustentável.

Esta consciencialização levou, a partir dessa década de 1960, ao trabalho conjunto de cientistas e economistas que previram cenários “negros de desastre eminente” e propuseram soluções que passavam pelo controlo populacional, limites ao crescimento tecnológico e económico e ao aumento da utilização de reservas naturais renováveis como fonte de energia e matérias primárias. Estes movimentos foram reunidos e apresentados na forma de livros – dirigidos a largos segmentos da população – ação que teve um conseqüente e notável efeito na mudança de atitudes sociais e em ações legislativas (ex. poluição de ar, água, paragem de funcionamento de minas a céu aberto).

A **ecologia** tornou-se, assim, uma área de interesse e um termo comum do dia-a-dia. A ecologia (*oikos*, lar + *logos*, lei, ciência), um termo introduzido pelo biólogo alemão Ernst Haeckel, em 1866, pode ser definida como a ciência que estuda as inter-relações entre os organismos e entre os organismos e o seu meio envolvente – biótico e abiótico. A **ecologia microbiana**, definida como a ciência que estuda as inter-relações entre os microrganismos e entre os microrganismos e o seu meio envolvente – biótico e abiótico – tornou-se também, assim, um termo de uso frequente na década de 1960. O seu rápido desenvolvimento desde então deve-se ao reconhecimento geral de que os microrganismos ocupam uma posição chave no fluxo de materiais e de energia no ecossistema global, através das suas diversas atividades metabólicas. É reconhecido atualmente que uma série de problemas ambientais como, por exemplo, a persistência no ambiente de materiais plásticos e de químicos sintéticos, a eutrofização, os problemas associados a águas ácidas de minas, a bioacumulação e biomagnificação de poluentes e uma série de outros problemas ambientais são o reflexo de uma ação

desfavorável das atividades humanas com a componente microbiana no ecossistema global. A importância e interesse da ecologia microbiana e da microbiologia ambiental deve-se ao facto de os microrganismos serem fatores essenciais para a resolução de diversos problemas ambientais e económicos como o tratamento de resíduos líquidos e sólidos, controlo biológico de doenças, a sua ação como agentes nitrificantes de solos pobres, biodegradação de poluentes ou produção de alimentos e de rações.

A microbiologia ambiental, com origem na ecologia microbiana, apareceu como uma área distinta da ciência microbiológica na década de 1970. A principal diferença entre estes dois campos da microbiologia é que a microbiologia ambiental é uma área da microbiologia aplicada cuja questão orientadora é *Como podemos usar o nosso conhecimento sobre microrganismos no seu meio ambiente em benefício da sociedade?* Estes dois campos da ciência microbiológica embora relacionados, não são sinónimos.

Microbiologia ambiental é geralmente definida como *o estudo dos efeitos dos microrganismos aplicados ao ambiente, às atividades humanas, saúde e bem-estar.* Estes efeitos podem ter um impacto direto no ser humano, como por exemplo no caso das doenças de origem microbiana ou indiretamente através das suas ações em animais, plantas ou na saúde do ecossistema. As suas ações podem ser benéficas como é o caso de fixação de azoto molecular (N_2) por *Rhizobium* spp. ou nocivas como na transmissão de agentes patogénicos virais ou bacterianos.

2. Perspetiva histórica da microbiologia ambiental

Apesar de o termo microbiologia ambiental ser de origem relativamente recente, a investigação microbiológica orientada para a ecologia e para a aplicação dos conhecimentos da microbiologia existiu desde o início desta área científica, tendo muita dessa investigação sido identificada como microbiologia aquática, microbiologia do solo, ou sob o chapéu largo da ciência microbiológica. Naturalmente, no entanto, que algumas abordagens “fundamentais” ao estudo dos microrganismos, como o isolamento de culturas puras e seu cultivo em meios sintéticos não conduzem a observações de cariz ecológico.

O desenvolvimento da microbiologia esteve sempre ligada a aperfeiçoamentos da microscopia e ao desenvolvimento de técnicas analíticas e laboratoriais. Podemos considerar 3 períodos históricos na ciência microbiológica:

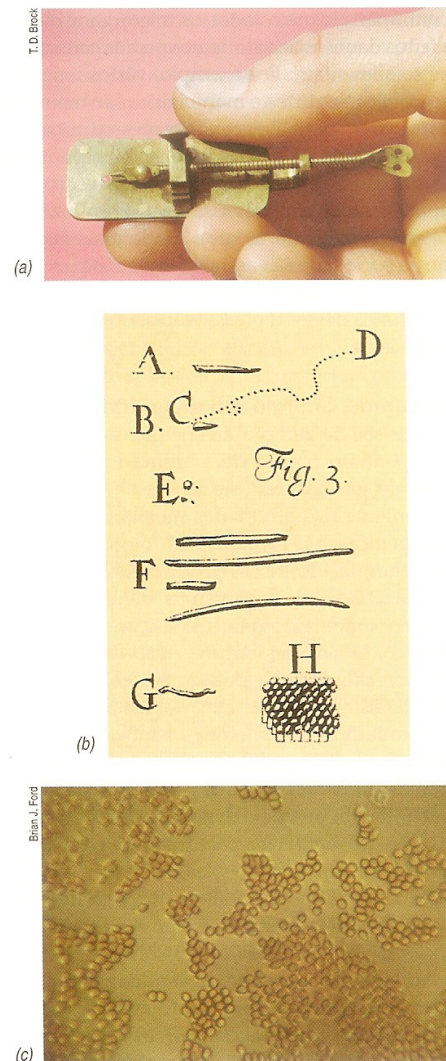
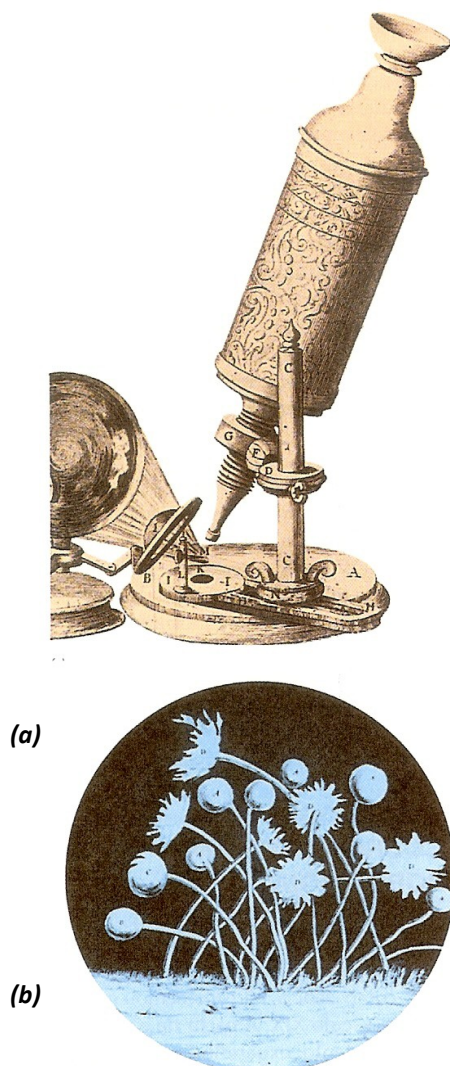
- período da observação;
- período das culturas puras;
- período da microbiologia molecular.

Cada uma destas épocas foi marcada por uma sequência de eventos que se apresentam indicados na Tabela 1 e dos quais os principais marcos são resumidos em seguida.

Período de observação

Apesar de os microrganismos serem provavelmente os organismos vivos mais antigos na Terra, foi apenas em meados do século XVII que o aparecimento do microscópio permitiu a sua visualização. [Robert Hooke](#) (1635-1703), filósofo experimentalista inglês, e autor do termo “célula”, que utilizou para descrever a unidade básica da vida (no caso, as células mortas no tecido da cortiça), fez as primeiras descrições de observações de fungos e de protozoários em 1665 (Fig. 1). Na década de 1680, [Antonie van Leeuwenhoek](#) (1632-1723), um comerciante de tecidos, e também fabricante de microscópios e cientista amador, em Delft, na Holanda, desenvolveu um microscópio que lhe permitiu fazer inúmeras observações de microrganismos presentes numa diversidade de ambientes (Fig. 2). O resultado das suas observações de microrganismos, os quais designou por “animálculos”, foi comunicado por carta, entre 1674 e 1723, à *Royal Society of London* que posteriormente as publicou na sua revista

científica *Philosophical Transactions* (sem que, no entanto, estes fossem devidamente entendidas ou reconhecido o seu valor). Entre estas observações contam-se, por exemplo, a descrição dos microrganismos existentes na água da chuva ou o efeito da pimenta sobre microrganismos. As anotações de Leeuwenhoek consistiram, assim, nas primeiras descrições de microrganismos e simultaneamente nos primeiros estudos de ecologia microbiana. Leeuwenhoek é frequentemente apelidado de pai da



Microbiologia.

No fim século XVIII a microbiologia voltou a ter um novo desenvolvimento de relevo quando, durante o debate relativo à [geração espontânea](#)¹, o naturalista italiano [Lazzaro Spallanzani](#) (1729-1799) demonstrou experimentalmente que a putrefação de materiais orgânicos era causada por organismos microscópicos que não se originavam por geração espontânea, mas que se multiplicavam por divisão de células pré-existentes (ca. 1768). Spallanzani mostrou também que (i) estes organismos desapareciam por ação de aquecimento (i.e. fervura de infusões contendo materiais orgânicos) e que (ii) o aquecimento dessas infusões até à fervura, em recipientes previamente selados e em vácuo parcial (para evitar a sua quebra durante a fervura), impedia a decomposição das infusões (Fig. 3). No entanto, os seus resultados não eram consistentes. Sabemos hoje que as inconsistências obtidas nas suas experiências se deviam à formação (e conseqüente germinação) de [endósporos](#) bacterianos resistentes ao calor. Os defensores da teoria da geração espontânea contrapuseram os resultados de Spallanzani, explicando que estes se deveriam à remoção parcial do ar ou à destruição de elementos essenciais à origem da vida, nele contidos, durante o tratamento por aquecimento.

Conhecimentos práticos que levaram ao desenvolvimento de processos de esterilização por calor.

Conhecimentos práticos que levaram ao desenvolvimento de processos de esterilização por calor com frascos selados.

Resultados que levaram ao conhecimento da existência de formas latentes de bactérias (esporos).

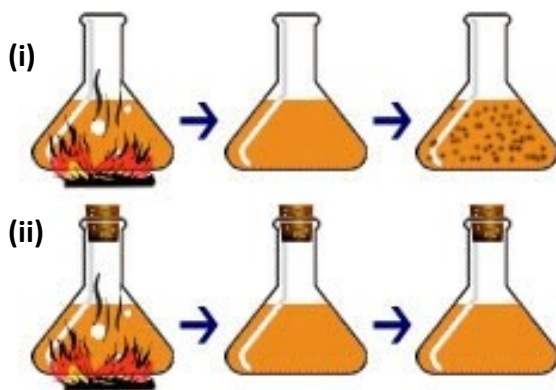


Fig.3 Experiências de Lazzaro Spallanzani. O aquecimento, por fervura, de infusões contendo materiais orgânicos fazia desaparecer os organismos presentes: (i) os organismos voltavam a ser observados, passado algum tempo, nos frascos abertos que tinham tido o tratamento de calor; (ii) no entanto, os organismos não eram observados em frascos selados (em vácuo parcial) que tinham tido o mesmo tratamento de calor.

Os naturalistas Franz Schulze (1815-1873) e Theodor Schwann (1810-1882) introduziram alterações ao procedimento experimental de Spallanzani que permitiam

¹ A teoria da geração espontânea defendia que havia formação espontânea de vida a partir de matéria orgânica morta em decomposição (conceito de abiogénese), enquanto os opositores desta teoria defendiam que todos os seres provinham de outros – seus progenitores -iguais a si próprios (conceito de biogénese).

a entrada de ar no recipiente selado, após o ciclo de aquecimento, e depois de previamente passado por um ácido ou por um tubo de vidro aquecido ao rubro (desta forma respondendo às questões colocadas pelos defensores da teoria da geração espontânea). Em ambas as situações o conteúdo do recipiente não se decompunha pelo fato de os tratamentos (ácido ou passagem em tubo aquecido ao rubro) causarem a morte dos microrganismos presentes no ar. No entanto, mais uma vez, os opositores da biogénese defendiam que os tratamentos alteravam a qualidade do ar – essencial para o aparecimento da vida.

A controvérsia em torno da geração espontânea terminou com as experiências do químico francês Louis Pasteur² (1822-1895). Louis Pasteur demonstrou experimentalmente que a decomposição de infusões orgânicas, *i.e.* aparecimento de microrganismos, dependia da pré-existência de outros – seus progenitores – nas poeiras do ar. Pasteur (1860-1862) utilizou frascos com bocal em forma de pescoço de cisne, onde colocou infusões com compostos orgânicos (“meios de cultura líquidos”; Fig. 4). Estas infusões eram aquecidas até à fervura - com a saída de vapor pelo bocal do frasco em forma de pescoço de cisne – e os frascos eram mantidos abertos durante o ciclo de aquecimento (respondendo, assim, à principal crítica dos defensores da geração espontânea). Os frascos eram mantidos abertos após o ciclo de aquecimento e, não obstante, não se observava decomposição das infusões ou seja as infusões mantinham-se *esterilizadas*³: a poeira e microrganismos presentes no ar ficavam retidos nas curvaturas do bocal. Os frascos das experiências de Pasteur foram posteriormente selados e ainda hoje podem ser vistos no Instituto Pasteur em Paris.

Conhecimentos
práticos que levaram
ao desenvolvimento
de meios de cultura
líquidos

Processo de
esterilização

² Louis Pasteur (1822-1895), químico francês, é principalmente conhecido pelos seus estudos sobre a causa e prevenção de doenças. Os seus trabalhos apoiaram a teoria da transmissão de doença por microrganismos. Pasteur criou a primeira vacina contra a raiva e desenvolveu ainda um método de impedir que o leite e o vinho se acidificassem, método actualmente conhecido por *pasteurização*.

³ *Esterilização*, em termos microbiológicos, refere-se a qualquer processo através do qual se mata ou elimina efectivamente os microrganismos (ex. fungos, bactérias, vírus, esporos, etc.) presentes numa superfície, equipamento, alimento, medicamento ou meio de cultura biológico. A esterilização não remove príões. Os processos de esterilização utilizados em microbiologia incluem a aplicação de calor, compostos químicos, radiação, pressão elevada ou filtração.

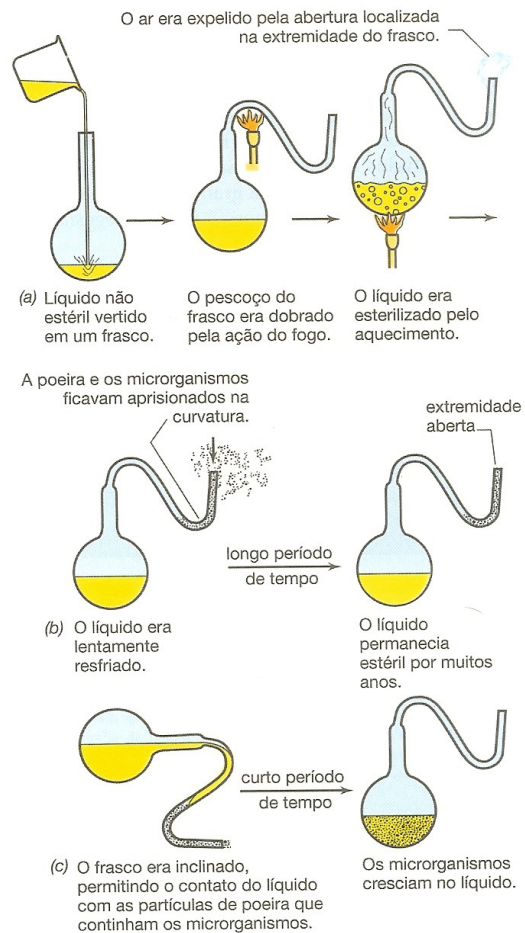


Fig. 4 Experiências de Louis Pasteur com os frascos de pescoço em forma de cisne. (a) O conteúdo do frasco era esterilizado. (b) Se o frasco permanecesse na posição vertical não havia crescimento microbiano no líquido. (c) Se os microrganismos aprisionados no pescoço atingissem o líquido estéril, havia crescimento microbiano (de Madigan et al. 2004).

A frequente comunicação existente à data entre Louis Pasteur e o físico inglês John Tyndall (1820-1993) levou a que este último desenvolvesse um processo de obter ar “ópticamente puro”, sem partículas, e portanto sem microrganismos, que não causava a contaminação de infusões e meios estéreis. As suas experiências explicaram alguns dos resultados iniciais, inconsistentes, de outros cientistas, como Lazzaro Spallanzani, pela formação de endósporos bacterianos resistentes ao calor que germinavam depois dos ciclos de aquecimento. Para além disso, Tyndall desenvolveu um processo de eliminar os endósporos resistentes ao calor, com ciclos descontínuos de aquecimento (1877), hoje utilizado corriqueiramente, e que se designa por *tindalização*⁴.

⁴ A tindalização consiste de uma sequência de 2 ou 3 ciclos de aquecimento a 100 °C, entre os quais se permite a germinação dos endósporos existentes ou entretanto formados, e a sua destruição no ciclo de aquecimento seguinte.

Um ano antes do desenvolvimento da tinalização, os endósporos de *Bacillus subtilis* tinham sido descritos pela primeira vez, bem como as suas características de resistência ao calor, por [Ferdinand Cohn](#) (1828-1898), professor na Universidade de Breslau, na Alemanha. Cohn foi o primeiro, ao contrário de muitos investigadores seus contemporâneos, a reconhecer que os microrganismos têm morfologias características (cocos, bacilos, bastonetes, espirilos⁵) e fazer os primeiros esforços para o estabelecimento da taxonomia de bactérias. A Cohn também se atribui a participação no desenvolvimento de métodos simples e eficientes para impedir a contaminação de meios de cultura estéreis, como o uso de “buchas” de algodão para fecho de frascos de cultura. Cohn foi um dos grandes defensores das técnicas e pesquisas de Robert Koch, seu contemporâneo, e um dos pioneiros da microbiologia médica.

Período da cultura pura

Os principais desenvolvimentos da microbiologia desde 1880 até meados do século XX foram quase integralmente influenciados pelas figuras e trabalho de **Louis Pasteur** e do físico alemão [Robert Koch](#) (1843-1910).

Grande parte dos estudos de Pasteur e de Koch foram orientados para a resolução de problemas práticos, aplicados, da época em que viveram. Pasteur, químico de formação, iniciou os seus estudos de microbiologia para solucionar os problemas dos produtores de vinho, de vinagre, das cervejeiras e das destilarias. Os seus trabalhos entre 1857 e 1876 estabeleceram claramente que os microrganismos eram os agentes causadores dos diversos processos de fermentação. Para além disso, muito do trabalho de Pasteur e de Koch foi dirigido para o estudo do papel dos microrganismos como agentes causadores de doença, bem como para a prevenção das doenças através de medidas de imunização e sanitárias. Muito deste trabalho dependia – e passou - pelo desenvolvimento de técnicas como os procedimentos de isolamento e manutenção de culturas puras em meio sólido (com gelatina e agar; Quadro I). Muitos destes são ainda hoje utilizados sem grande alteração, passado mais de um século.

Robert Koch tornou-se conhecido pelo isolamento do *Bacillus anthracis*, agente causador do carbúnculo (doença do gado que ocasionalmente infecta os seres

⁵ Embora nos seja hoje estranho, à época muitos cientistas – observando as numerosas e variadas formas existentes em culturas impuras – acreditavam que estas eram formas de um mesmo organismo.

Reconhecimento de morfologias características das células bacterianas

Procedimento de culturas em meio líquido estéreis - com uso de “buchas” de algodão

Métodos de: Cultura em meio sólido,

Cultura em meio líquido,

Procedimento de isolamento de microrganismos.

humanos), do *Mycobacterium tuberculosis*, agente causador da tuberculose, e pelo desenvolvimento dos critérios que hoje designamos por postulados de Koch. R. Koch recebeu o prémio Nobel da Fisiologia ou Medicina, pelos seus estudos sobre a tuberculose, em 1905.

Os **postulados de Koch** estabelecem que para um organismo ser o agente causador de uma doença tem de ser (i) detetado em todos os indivíduos doentes examinados; (ii) isolado e mantido em cultura pura; (iii) capaz de produzir a infeção original, depois de várias gerações em cultura pura, e após ser inoculado num indivíduo são; (iv) retirado desse indivíduo inoculado (anteriormente são) e cultivado de novo, em cultura pura, apresentando as mesmas características (Fig. 5).

A abordagem da microbiologia com o estabelecimento das técnicas para culturas puras de microrganismos, embora sendo uma fase fundamental para o desenvolvimento da microbiologia como ciência (transformou a microbiologia de uma arte-do-acaso numa ciência exata), proporcionou poucas oportunidades para as observações de interações entre microrganismos e o seu meio biótico e abiótico, e trouxe portanto poucos desenvolvimentos no campo da microbiologia ambiental. O desenvolvimento da ecologia microbiana e da microbiologia ambiental dependem do desenvolvimento de métodos que permitem estudar as interações bióticas e abióticas dos microrganismos.

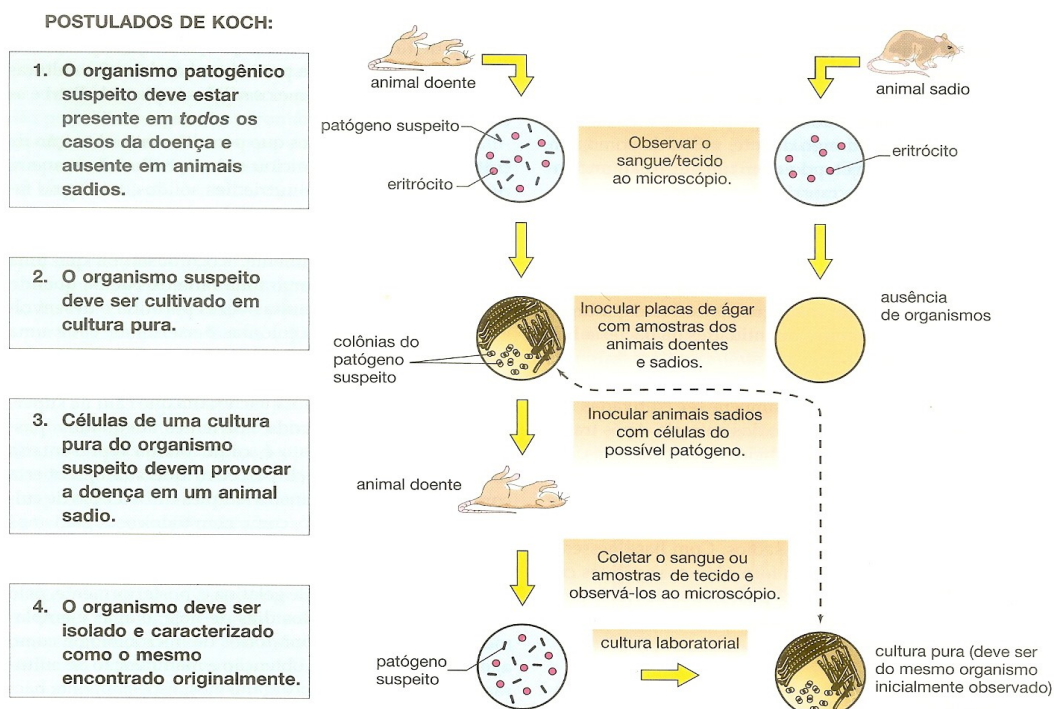


Fig. 5 Postulados de Koch para provar que um microrganismo específico causa uma doença específica. Observe como é essencial que, após o isolamento do patógeno suspeito em cultura pura, a cultura laboratorial deve ser capaz tanto de iniciar a doença *como* ser recuperada do animal doente. É fundamental o estabelecimento das condições corretas para o crescimento do patógeno, pois do contrário este se perderá. (de Madigan et al. 2004).

Quadro I – Os meios sólidos, a placa de Petri e as culturas puras

(de Madigan et al. 2004)

Aprendendo com o passado

Os meios sólidos, a placa de Petri e as culturas puras

Robert Koch foi o primeiro a cultivar bactérias em meios de cultura sólidos. Inicialmente, Koch utilizou gelatina como agente solidificante dos vários fluidos nutrientes empregados no cultivo de bactérias patogênicas. Também desenvolveu uma técnica de preparo de “fatias” horizontais de meio sólido, que eram mantidas livres da contaminação e cobertas por uma redoma ou colocadas em uma caixa de vidro

A gelatina nutriente mostrou ser um excelente meio de cultura para o isolamento e estudo de várias bactérias, mas ao mesmo tempo apresentava uma série de limitações — a principal era o fato de esta se liquefazer à temperatura corpórea (37°C), temperatura ótima para o crescimento da maioria dos patógenos humanos. Assim, era necessária a utilização de um agente solidificante mais versátil, que acabou sendo o ágar.

O ágar é um polissacarídeo derivado de algas vermelhas, amplamente utilizado no século XIX, especialmente em países tropicais, como agente gelificante. Walter Hesse foi o primeiro a utilizar o ágar como agente solidificante de meios de cultura bacterianos. A idéia de utilizar ágar em vez de gelatina foi de Fannie Hesse, esposa de Walter. Ela o usava na preparação de geléias de fruta, e, quando o ágar foi empregado como agente solidificante em meios de cultura bacterianos, suas qualidades superiores foram imediatamente evidenciadas. Hesse escreveu a Koch sobre sua descoberta e o segundo prontamente passou a adotar o ágar em seus estudos, incluindo aqueles envolvendo o iso-

lamento da bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, o agente etiológico da tuberculose

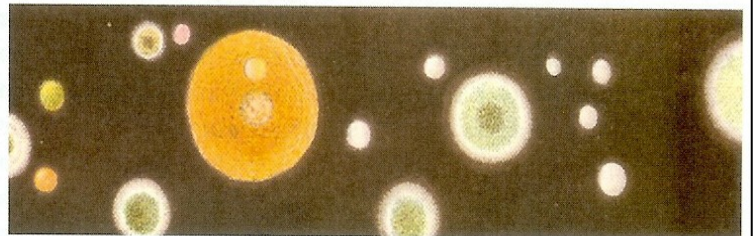
Em 1887, Richard Petri publicou um pequeno artigo descrevendo uma modificação da técnica de placa reta de Koch. A adaptação proposta por Petri, que acabou tornando-se extremamente útil, era o desenvolvimento de duas placas redondas que se encaixavam e passaram a receber seu nome. A vantagem das placas de Petri é óbvia: elas podem ser facilmente empilhadas e esterilizadas individualmente. Após tal processo, o meio fundido pode ser vertido na placa menor, enquanto a maior atua como uma tampa, impedindo a contaminação. Assim, as colônias que se formam na superfície de um meio acondicionado em uma placa de Petri permanecem em contato com o ar e podem ser facilmente manipuladas para estudos posteriores. A idéia original de Petri foi mantida até hoje. Essas placas confeccionadas em vidro reutilizável e esterilizadas pelo calor, ou de plástico descartável, esterilizadas por óxido de etileno (um gás esterilizante), são o principal suporte de um laboratório de microbiologia.

Finalmente, deve observar-se também que Koch estava atento às implicações que seus métodos visando à obtenção de culturas puras apresentavam no estudo da sistemática microbiana. Koch observou que as diferentes formas das colônias (diferindo na coloração, morfologia, tamanho etc.; ver Figura 1) desenvolviam-se em meios sólidos expostos a um objeto contaminado. Essas for-

mas coloniais multiplicavam-se e podiam ser distinguidas por suas características. Células de diferentes colônias diferiam microscopicamente e, com frequência, em relação às necessidades nutricionais ou térmicas. Koch percebeu que as diferenças entre os microrganismos preenchiam todos os requerimentos estabelecidos pelos taxonomistas quanto à classificação de organismos superiores, tais como espécies de plantas e animais. De acordo com Koch, “*todas as bactérias que mantêm as características que as diferenciam das demais, quando são cultivadas em um mesmo meio e nas mesmas condições, devem ser designadas como espécies, variedades, formas ou outra designação adequada*”. A partir do estudo de culturas puras, Koch também percebeu ser possível demonstrar que organismos específicos apresentam efeitos específicos. Tal observação foi significativa na aceitação relativamente rápida da microbiologia como uma ciência biológica independente.

A descoberta dos meios de cultura sólidos por Koch e sua ênfase na microbiologia de culturas puras levou-o além dos limites da bacteriologia médica; seus achados forneceram as ferramentas criticamente necessárias ao desenvolvimento dos campos da taxonomia, da genética bacteriana e de várias outras disciplinas relacionadas. Certamente, todas as áreas da microbiologia devem muita gratidão a Koch e seus colaboradores, por sua intuição em relação à importância das culturas puras e pelo desenvolvimento da maioria dos métodos básicos utilizados em microbiologia. ■

■ **Figura 1** Fotografia colorida à mão de colônias formadas na superfície do ágar, tirada por Walter Hesse — colaborador de Robert Koch. Dentre as colônias, há aquelas originadas por fungos (bolors) e bactérias, obtidas durante os estudos iniciados por Hesse, sobre o conteúdo microbiológico do ar em Berlim, Alemanha, em 1882. De Hesse, W. “Ueber quantitative Bestimmung der in der Luft enthaltenen Mikroorganismen”, em Struck (ed.), *Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte*, August Hirschwald, 1884.



Período da Microbiologia Molecular

A investigação microbiológica orientada pelos métodos de cultura pura, apesar de extremamente enriquecedora, contribuiu para o relativo esquecimento dos estudos de ecologia microbiana. Estes só vieram a ter um novo desenvolvimento após uma série de progressos metodológicos que ocorreram a partir da segunda metade do século XIX.

Diversos investigadores durante o século XIX começaram a desvendar o papel das atividades metabólicas microbianas nos processos ecológicos globais. Duas figuras da microbiologia contribuíram grandemente para o desenvolvimento da microbiologia nesta fase: o holandês **Martinus Beijerinck** e o russo **Sergei Winogradsky**. Estes dois cientistas estudaram em particular os *microrganismos do solo e da água* e são reconhecidos principalmente pelas suas contribuições na área da diversidade bacteriana e estudos de ecologia microbiana (numa altura em que ainda não era falada).

[Martinus Beijerinck](#) (1851-1931) da Universidade de Delft, na Holanda (Fig. 6a) abordou o estudo da microbiologia de um modo distinto da maioria dos outros investigadores do seu tempo. Meio século antes do aparecimento da área da ecologia microbiana, Beijerinck abordou a microbiologia como “o estudo da ecologia dos microrganismos”. Reconheceu a ubiquidade da maioria das formas microbianas no ambiente, e identificou claramente a influência seletiva do ambiente sobre os tipos de microrganismos que aí se desenvolviam. Baseando-se no princípio de que “os microrganismos estão por todo o lado, e o ambiente seleciona”, Beijerinck desenvolveu a técnica da **cultura de enriquecimento**. Assim, o ajuste das condições de cultura que favorecem o crescimento de microrganismos com determinadas características metabólicas geralmente resulta no rápido “enriquecimento” do meio de cultura com esse microrganismo (mesmo que em número reduzido na amostra natural em estudo) e resulta, conseqüentemente, no mais rápido isolamento desse microrganismo. Beijerinck isolou, deste modo, as primeiras culturas puras de microrganismos do solo e aquáticos, incluído bactérias aeróbias fixadoras de azoto,

bactérias redutoras de sulfato, bactérias oxidantes de sulfato, bactérias fixadoras de azoto dos nódulos radiculares, entre outros.

Numa época em que os vírus eram desconhecidos, Beijerinck demonstrou ainda, com os seus estudos sobre a doença do mosaico do tabaco (Fig. 6.b) que o agente patogénico, *não observável e não bacteriano*, era capaz de se incorporar nas células do hospedeiro, necessitando de plantas vivas para se reproduzir. Chamou *contagium fluidum vivum* (i.e. fluído vivo contagioso) ao agente infeccioso que se encontrava nos [extratos](#) de folhas de tabaco doentes e que infetava novas folhas sãs da planta do tabaco, quando estas entravam em contacto com o fluído. Descreveu, assim, os princípios básicos da virologia antes de esta ciência se ter desenvolvido.

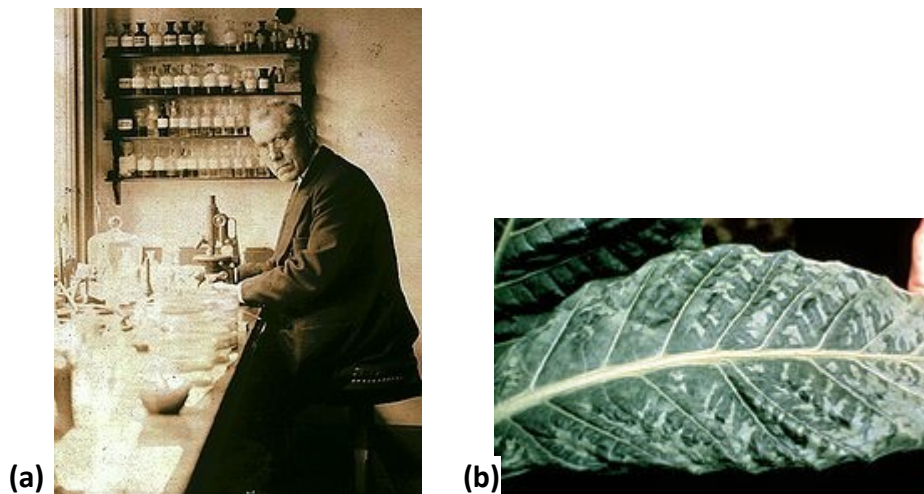


Fig. 6 (a) Foto de Martinus Beijerinck no laboratório. (b) Sintomas de doença do mosaico em folhas de planta do tabaco, causada pelo *vírus de mosaico do tabaco* (VMT).

[Sergei Winogradsky](#) (1856-1853) tinha interesses de investigação semelhantes aos de Beijerinck. Estudou em particular os *microrganismos do solo*, e de entre estes, aqueles envolvidos nas reações biogeoquímicas de compostos de azoto e de enxofre. Desenvolveu procedimentos laboratoriais, como a coluna (agora conhecida como) de Winogradsky (Fig. 7), que lhe permitiram estudar, em laboratório, os microrganismos do solo e os processos em que estavam envolvidos. Assim, Winogradsky isolou bactérias nitrificantes e demonstrou que o processo de nitrificação (oxidação do amónio a nitrato) era resultante da ação bacteriana; estudou também o processo de oxidação do sulfureto de hidrogénio pelas bactérias oxidantes de enxofre, como

Beggiatoa sp. (Fig. 8). Winogradsky é também conhecido pelo desenvolvimento dos conceitos de [quimiolitotrofia](#) (oxidação de compostos inorgânicos associada à libertação de energia) e de [autotrofia](#) (obtenção do carbono a partir do CO₂ atmosférico). Utilizando a metodologia da cultura de enriquecimento, Winogradsky isolou a primeira bactéria fixadora de azoto molecular, *Clostridium pasteurianum*, e assim desenvolveu o conceito de fixação de N₂ por bactérias. Pelas suas inúmeras descobertas em microrganismos do solo e seu papel nos processos biogeoquímicos, Winogradsky é considerado o fundador da microbiologia do solo.

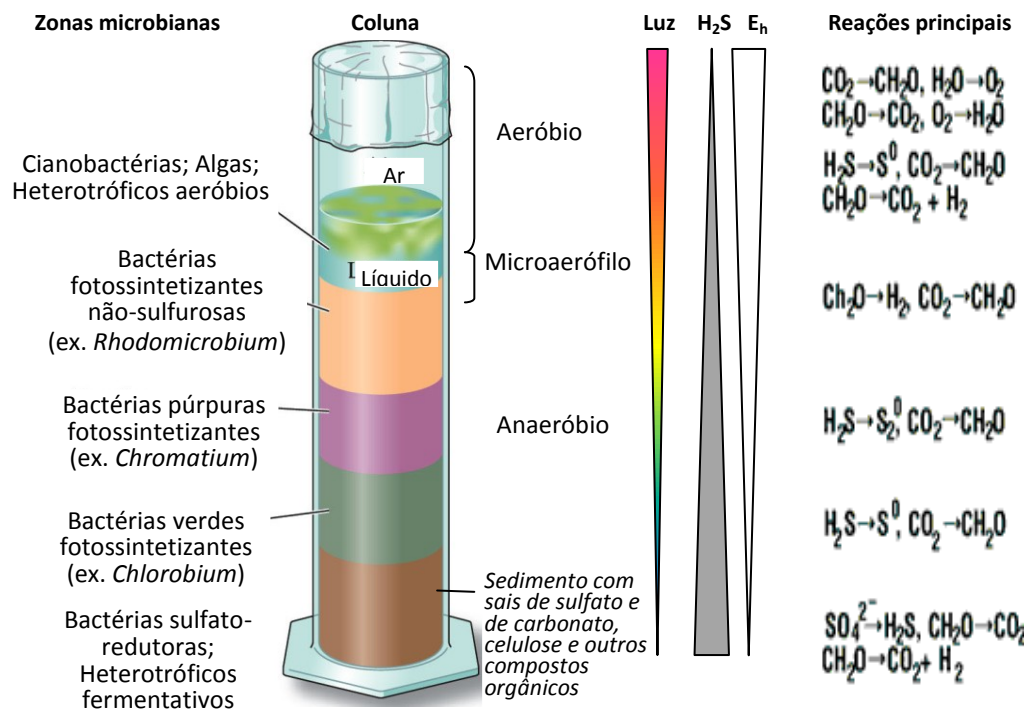


Fig. 7 Esquema de uma Coluna de Winogradsky ilustrando a distribuição relativa dos microrganismos, gradientes químicos e de redox, e principais reações.

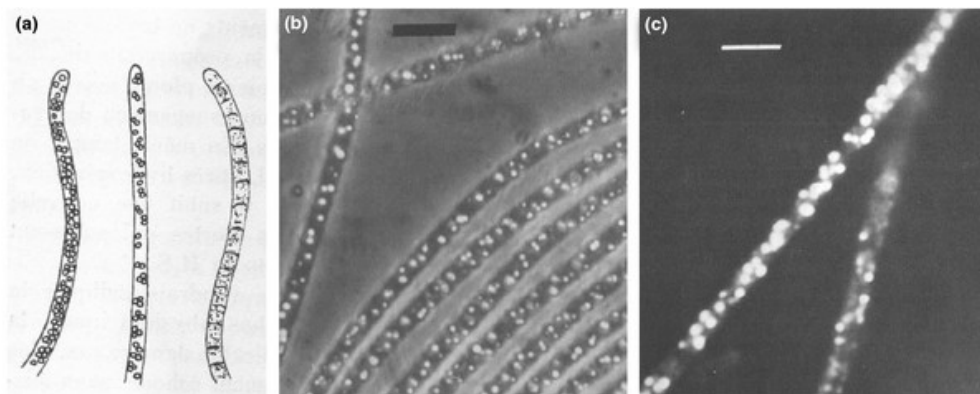


Fig. 8 (a) Desenho de Winogradsky dos grânulos de enxofre em *Beggiatoa*. (b) Filamentos de *Beggiatoa* com grânulos de enxofre, em microscopia de contraste de fase e (c) e de microscopia de campo escuro. Barras: 10 µm (in DOI: 10.1111/j.1574-6976.2011.00299.x).

Desenvolvimento das principais subdisciplinas da microbiologia

No século XX, a microbiologia desenvolveu-se em duas direções distintas – a microbiologia fundamental (ou básica) e a microbiologia aplicada.

A investigação em microbiologia fundamental orienta-se para o aprofundar do conhecimento sobre os microrganismos, desde a caracterização de novas espécies de microrganismos, ao estudo das suas estruturas celulares, aos estudos dos seus processos bioquímicos, à reprodução e à genética. O desenvolvimento da investigação nestas áreas do saber deu origem a novos campos / subáreas da ciência biológica, com objetos de estudo e métodos próprios, como a *citologia*, a *fisiologia* e *bioquímica celular*, a *genética* ou a *taxonomia microbiana*. O desenvolvimento de novas técnicas e equipamentos de análise química e física e a utilização de métodos de análise matemática e estatística contribuíram grandemente para o desenvolvimento de todo o conhecimento no campo da microbiologia (assim como noutros campos do saber da biologia). A biologia molecular, a virologia e a biotecnologia são outras áreas científicas que evoluíram em associação com a investigação em microbiologia fundamental.

Na área da investigação aplicada, a microbiologia desenvolveu-se numa diversidade de subáreas de aplicação prática relativamente aos interesses e atividades humanas.

Os trabalhos iniciados por Koch levaram a um grande desenvolvimento, durante o século XX, da *microbiologia médica* e da *imunologia*.

Também na sequência dos trabalhos de Beijerinck e de Winogradsky, os desenvolvimentos nestas áreas levaram à definição da *microbiologia agrícola* e ao conhecimento sobre processos microbianos no solo, tanto benéficos como prejudiciais para a agricultura. Ainda no fim do séc. XX os estudos de microbiologia do solo conduziram também à descoberta de compostos sintetizados por microrganismos, como os antibióticos ou outros, importantes para a definição da *microbiologia industrial*.

Os estudos de microbiologia de solos e da água lançaram também as bases da *microbiologia aquática*, que visa o estudo dos processos microbianos em corpos de água, mas que acabou por também se aplicar a outras áreas como os processos de

tratamento de água de esgoto ou o do fornecimento de água potável para consumo humano.

O aumento do nosso saber sobre a diversidade microbiana e o contínuo aprofundar do conhecimento do papel dos microrganismos no ambiente levou a um crescente interesse e desenvolvimento da *ecologia microbiana*. Naturalmente que alguns processos aplicados da microbiologia podem ser estudados no âmbito de mais do que uma subárea da microbiologia – as quais não são mutuamente exclusivas.

No fim do séc. XX o grande desenvolvimento de diversas áreas científicas de biologia fundamental e aplicada, juntamente com os desenvolvimentos tecnológicos e metodológicos, permitiram ainda o definir da área de estudo da *biotecnologia*.

Tabela 1.1

Trezentos anos de microbiologia: algumas das publicações-chave em microbiologia, 1684-2000^a

Ano	Investigador(es)	Descoberta
1684	Antoni van Leeuwenhoek	Descoberta das bactérias
1798	Edward Jenner	Vacina contra a varíola
1857	Louis Pasteur	Microbiologia da fermentação do ácido láctico
1860	Louis Pasteur	Papel das leveduras na fermentação alcoólica
1864	Louis Pasteur	Fim da teoria da geração espontânea
1867	Robert Lister	Princípios de anti-sepsia nas cirurgias
1876	Ferdinand Cohn	Descoberta dos endósporos
1881	Robert Koch	Métodos para o estudo de bactérias em cultura pura
1882	Robert Koch	Descoberta da causa da tuberculose
1882	Élie Metchnikoff	Fagocitose
1884	Robert Koch	Postulados de Koch
1884	Christian Gram	Método de coloração de Gram
1885	Louis Pasteur	Vacina contra a raiva
1889	Sergei Winogradsky	Conceito de quimiolitotrofia
1889	Martinus Beijerinck	Conceito de vírus
1890	Emil von Behring e Shibasaburo Kitasato	Antitoxina diftérica
1890	Sergei Winogradsky	Crescimento autotrófico de quimiolitotróficos
1901	Martinus Beijerinck	Método da cultura de enriquecimento
1901	Karl Landsteiner	Grupos sanguíneos humanos
1908	Paul Ehrlich	Agentes quimioterápicos
1911	Francis Rous	Primeiro vírus oncogénico
1928	Frederick Griffith	Descoberta da transformação de pneumococos
1929	Alexander Fleming	Descoberta da penicilina
1931	Cornelius van Niel	H ₂ S (sulfeto) como aceptor de elétrons na fotossíntese anoxigénica
1935	Gerhard Domagk	Sulfas
1935	Wendall Stanley	Cristalização do vírus do mosaico do tabaco
1941	George Beadle e Edward Tatum	Hipótese de um gene-uma proteína
1943	Max Delbruck e Salvador Luria	Hereditariedade dos caracteres genéticos em bactérias
1944	Oswald Avery, Colin Macleod, Maclyn McCarty	Explicação do trabalho de Griffith — DNA é o material genético
1944	Selman Waksman e Albert Schatz	Descoberta da estreptomina
1946	Edward Tatum e Joshua Lederberg	Conjugação bacteriana
1951	Barbara McClintock	Descoberta dos elementos transponíveis
1952	Joshua Lederberg e Norton Zinder	Transdução bacteriana
1953	James Watson, Francis Crick, Rosalind Franklin	Estrutura do DNA
1959	Arthur Pardee, François Jacob, Jacques Monod	Regulação génica por uma proteína repressora
1959	Rodney Porter	Estrutura das imunoglobulinas
1959	F. Macfarlane Burnet	Teoria da seleção clonal
1960	François Jacob, David Perrin, Carmon Sanchez, Jacques Monod	Conceito de operon
1960	Rosalyn Yalow e Solomon Bernson	Desenvolvimento do radioimunoensaio (RIA)
1961	Sydney Brenner, François Jacob e Matthew Meselson	RNA mensageiro e ribossomos como sítios da síntese protéica
1966	Marshall Nirenberg e H. Gobind Khorana	Descoberta do código genético
1967	Thomas Brock	Descoberta de bactérias crescendo em fontes termais ferventes
1969	Howard Temin, David Baltimore, Renato Dulbecco	Descoberta dos retrovírus/transcriptase reversa
1969	Thomas Brock e Hudson Freeze	Isolamento de <i>Thermus aquaticus</i> , fonte de <i>Taq</i> (DNA polimerase)
1970	Hamilton Smith	Especificidade na ação das enzimas de restrição
1973	Stanley Cohen, Annie Chang, Robert Helling, Herbert Boyer	DNA recombinante
1975	Georges Kohler e Cesar Milstein	Anticorpos monoclonais
1976	Susumu Tonegawa	Rearranjo dos genes de imunoglobulinas
1977	Carl Woese e George Fox	Descoberta do domínio <i>Archaea</i>
1977	Fred Sanger, Steven Niklen, Alan Coulson	Métodos de seqüenciamento de DNA
1981	Stanley Prusiner	Caracterização de príons
1982	Karl Stetter	Isolamento do primeiro procaríoto com ótimo de temperatura > 100°C
1983	Luc Montagnier	Descoberta do HIV, agente causador da AIDS
1988	Kary Mullis	Descoberta da reação de polimerização em cadeia (PCR)
1995	Craig Venter e Hamilton Smith	Seqüenciamento completo de um genoma bacteriano
1999	Instituto de Pesquisa Genômica (TIGR) e outros	Mais de 100 genomas microbianos seqüenciados ou em andamento
2000	Edward Delong	Descoberta de <i>Archaea</i> marinha, proteorodopsina e outros aspectos das formas de vida procarióticas marinhas

^a As principais fontes de referência incluem Brock, T. D. *Milestones in Microbiology*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1961; Brock, T. D. *The Emergence of Bacterial Genetics*, Cold Spring Harbor Press, NY, 1990. O ano especificado é o da publicação da descoberta.

3. Microbiologia ambiental atual e inter-relações com outras áreas da microbiologia

Como referido no início, a microbiologia ambiental tem a sua origem na ecologia microbiana, a partir da década de 1970, e pode ser definida como *o estudo dos efeitos dos microrganismos aplicados ao ambiente, às atividades humanas, saúde e bem-estar*.

Presentemente a microbiologia ambiental abrange uma série de áreas e questões de estudo, para além dos estudos iniciais de agentes patogénicos e da biorremediação, dos quais se destacam os seguintes:

1. *Agricultura e microbiologia do solo*: engloba questões como o controlo biológico (ex. uso de agentes microbianos no biocontrolo associado à redução de doenças), fixação de azoto (ex. inoculação de rizóbios), ciclos de nutrientes (ex. introdução de fungos micorrízicos) (ex. ver [Ferreira et al., 2000](#));
2. *Biogeoquímica*: engloba ciclos de carbono e de minerais; controlo de efluentes ácidos de minas; controlo da perda de azoto fixado;
3. *Aeromicrobiologia*: dedica-se à coleção e deteção de agentes patogénicos ou outros agentes microbianos em aerossóis e ao movimento de microrganismos em aerossóis;
4. *Qualidade alimentar*: inclui a deteção e eliminação de agentes patogénicos em alimentos;
5. *Qualidade de água*: inclui a remoção de contaminantes orgânicos e inorgânicos, deteção de agentes patogénicos e a sua eliminação;
6. *Tratamento de águas e efluentes residuais*: inclui a biodegradação de resíduos e a diminuição de nº de agentes patogénicos;
7. *Biorremediação*: tem como objetivo a biodegradação de contaminantes orgânicos; imobilização ou remoção de contaminantes inorgânicos presentes em solos e águas contaminados; e ainda a remediação de sítios contaminados com metais ou compostos orgânicos pelo uso de agentes de biorremediação, geralmente bacterianos;

8. *Biotecnologia*: inclui a deteção de agentes patogénicos ou outros microrganismos no meio ambiente, deteção de atividade microbiana no meio ambiente, e engenharia genética;

9. *Produção de recursos*: inclui a produção de álcool e proteínas celulares (“single-cell protein”; SCP) a partir de materiais de baixo custo ou de resíduos;

10. *Recuperação de recursos*: inclui a recuperação de óleo e de metais mediada pelo uso de microrganismos.

Dado o largo espetro de efeitos dos microrganismos sobre *o ambiente, sobre as atividades humanas, sua saúde e bem-estar*, a microbiologia ambiental tornou-se numa área científica central.

Naturalmente, a microbiologia ambiental (à semelhança da ecologia microbiana) não existe de forma isolada e faz a interface com um grande número de áreas científicas, tais como: microbiologia do solo, microbiologia aquática aeromicrobiologia, microbiologia industrial, segurança alimentar, qualidade da água, saúde ocupacional e controlo de doenças (Fig. 9).

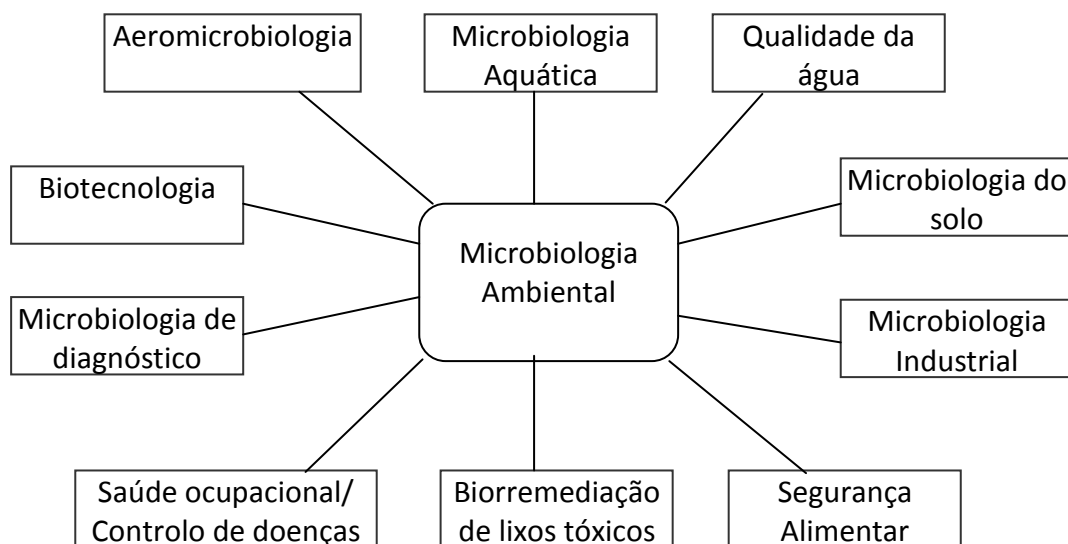


Fig. 9 Inter-relações da microbiologia ambiental com outros campos da microbiologia.

BIBLIOGRAFIA

Madigan, M.T., Martinko, J.M. e Parker, J. 2005. *Microbiologia de Brock* 10 edição, Prentice Hall.

Atlas, R.M. e Bartha, R. 1993. *Microbial Ecology, Fundamentals and Applications*, 3rd Ed., The Benjamin / Cummings Pub Co, Inc.