

CLAUDEMIRA VIEIRA GUSMÃO LOPES

**EFEITO DO SULFATO DE COBRE E DE ZINCO NO CONTROLE
DA POPULAÇÃO DE FUNGOS E BACTÉRIAS DO SOLO
QUE CAUSAM INTEMPERISMO EM ARENITOS DE
PRÉDIOS HISTÓRICOS NA LAPA (PR)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Ciência do Solo, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Pereira de Campos Carvalho

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Nadia Krieger

CURITIBA

2002

Lopes, Claudemira Vieira Gusmão

Efeito dos sulfatos de cobre e zinco no controle da população de fungos e bactérias do solo que causam intemperismo em arenitos de prédios históricos na Lapa (PR) / Claudemira Vieira Gusmão Lopes ; Universidade Federal do Paraná. – 2002.

xii, 84 f.

Orientador: Francisco José Pereira de Campos Carvalho

Dissertação (mestrado) – Ciência do Solo / Curso de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal do Paraná.

1. Biologia do solo. 2. Microorganismos do solo. 3. Fungicidas.
4. Bactericidas. 5. Intemperismo. 6. Solos - Formação. I. Carvalho,
Francisco José Pereira de Campos. II. Universidade Federal do Paraná.
III. Título.

CDD 20. ed. 634.46



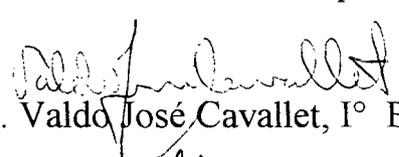
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE SOLOS E ENGENHARIA AGRÍCOLA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA: CIÊNCIA DO SOLO(MESTRADO) e
MONITORAMENTO, MODELAGEM E GESTÃO AMBIENTAL(DOUTORADO)
Rua dos Funcionários, 1540-Curitiba/PR-80035-050-Fone/Fax 41-350-5648
E-mail: pgcisolo@agrarias.ufpr.br

P A R E C E R

Os Membros da Comissão Examinadora, designados pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo", para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado, apresentada pela candidata **CLAUDEMIRA VIEIRA GUSMÃO LOPES**, com o título: **"Efeito do sulfato de cobre e de zinco no controle da população de fungos e bactérias do solo que causam intemperismo em arenitos de prédios históricos na Lapa (PR)"**, para obtenção do grau de Mestre em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo" do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, após haver analisado o referido trabalho e arguido a candidata, são de Parecer pela **"APROVAÇÃO"** da Dissertação, com o conceito **"A"**, completando assim, os requisitos necessários para receber o diploma de **Mestre em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo"**.

Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo", em Curitiba 28 de junho de 2002.


Prof. Dr. Francisco José Pereira de Campos Carvalho, Presidente.


Prof. Dr. Valdo José Cavallet, Iº Examinador.


Profª. Drª. Nadia Krieger, IIª Examinadora.



**Dedico à
Thaís, Izabella e Luíz**

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação só foi possível porque muitas pessoas contribuíram, discutindo, avaliando, colaborando, enviando “papers”. Infelizmente, não é possível nomear todas. Sou profundamente grata:

A Claudiné e Geralda, meus pais, que fizeram o possível e também o impossível para que todos os seus cinco filhos estudassem.

Às minhas irmãs, Claudia, Luciana, Lucelena e ao meu irmão, Ricardo pelo apoio do início ao fim deste mestrado.

Ao Professor Francisco, por ter assumido minha orientação, dando-me a oportunidade de elaboração deste estudo.

À Professora Nádia, que apesar de todos os seus compromissos, achou tempo para co-orientar esta dissertação.

À Sueli Dreischmayer, agradeço os três encontros e a todos os livros que me foram colocados à disposição.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Agronomia: Emerson, Kátia, Celso, David, Marco Aurélio, Masato, Gobi, Henrique, Valdo, Ghislaine, por terem me proporcionado valiosos momentos de discussões.

Ao Professor Valmiqui, pelos conselhos preciosos e pelas observações.

À Professora Maria Aparecida de Resende, da Universidade Federal de Minas Gerais, que por telefone, muito me ajudou, além das dezenas de “papers” que me enviou pelo correio.

Ao Professor Adair Evangelista, por ter enviado o relatório original do projeto IDEAS e pelas preciosas explicações dadas por telefone, sobre erosão alveolar e capilaridade.

À Matilde (CME) e à Regina (CME), pela ajuda no ponto crítico e na revelação e ampliação das fotomicrografias.

À Moema Ribas, por ter enviado lá do Espírito Santo, o livro de resumos do “International Seminar Deterioration of Concrete and Natural Stone of Historical Monuments”.

À Flavia Fazon pelas preciosas traduções dos “papers” franceses.

À Nídia Gemin pelas traduções em italiano.

Ao Helmuth Duck por ter se preocupado com a tradução dos textos em alemão.

Ao Cláudio Goslar e Nilson Dalabona da “POINT” informática pelas aulas de excel.

À Professora Daura Regina Eiras Stofella, do Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR (CME), que muito me ajudou na hora de montar o protocolo de análise para o MEV, além de ajudar nas fotomicrografias.

Ao Kenedy Fernandes Martins, que embora envolvido com sua defesa de mestrado, encontrou tempo para as explicações sobre NMP e excel.

À Dr.^a Blanca Rosales do “Corrosion Research Department por ter atendido meu e-mail enviando o “Fourth Latin American Biodeterioration and Biodegradation Symposium”.

Ao Professor Mário Mendonça, da Universidade Federal da Bahia, que me viu pela primeira vez em julho de 2001 em Salvador, e além de passar umas duas horas me explicando o processo de biodeterioração, colocou à minha disposição suas centenas de livros, possibilitando ampliar minha revisão bibliográfica.

À Chistine Gaylarde que entre um congresso e outro, encontrou tempo para enviar pela internet uma dezena de “papers”.

Ao Professor José Manoel dos Reis Neto, Luciane Mendes do Prado e Elisiane H. Pescini (LAMIR), pela valiosa contribuição nas análises químicas por fluorescência de RX e mineralógica por difração de RX.

Ao Instituto Oswaldo Cruz (Laboratório de Coleção de Culturas), especialmente às pesquisadoras Maria Ines Sarquis e Gisela de Lara da Costa, pela ajuda na identificação dos fungos.

Às minhas filhas Thaís e Izabella pela ajuda na digitação dos trabalhos e pôsters para os congressos.

Ao meu marido Luiz, que muitas vezes assumiu minhas tarefas.

Aos Professores Carlos Eduardo Vieira (Setor de Educação da UFPR), Euclides Fontoura S. Jr. e Erasto Villa-Branco Jr. do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, por terem dado minha carta de apresentação.

Aos colegas Professores e Diretores do Colégio Estadual São José pelo incentivo, especialmente à grande amiga Professora Olinda Sato pelo apoio nas horas difíceis.

Aos colegas Professores e Diretores da Escola Manoel Antônio da Cunha pelo apoio.

À Prefeitura Municipal da Lapa por ter apoiado esta pesquisa.

À EMATER pelo empréstimo de materiais.

Às técnicas do laboratório de Biologia do Solo da UFPR, D. Elda e Ana pelo carinho e pelas valiosas explicações.

Aos meus alunos, meus inspiradores.

Às colegas Valéria e Malu do Laboratório de Química, pelo apoio.

Aos colegas do mestrado, em especial ao Paulo Chamecki, pela ajuda com a bibliografia sobre capilaridade;

À Liliana Pizzolato, pela ajuda na elaboração final desta dissertação.

Finalmente, a Fritjof Capra, por ter escrito “A Teia da Vida”, me possibilitando vislumbrar outro paradigma.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELA	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVOS	3
1.1.1 Objetivo Geral.....	3
1.1.2 Objetivos Específicos.....	3
2 REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1 DEFINIÇÃO DOS TERMOS	5
2.2 O PROCESSO DE INTEMPERIZAÇÃO	7
2.3 CLIMA E POLUIÇÃO	8
2.4 AÇÃO DOS MICROORGANISMOS NO PROCESSO DE INTEMPERISMO.....	9
2.5 MICRORGANISMOS ENVOLVIDOS NO PROCESSO DE INTEMPERISMO	11
2.5.1 Algas e Cianobactérias.....	11
2.5.2 Bactérias.....	11
2.5.3 Fungos.....	12
2.6 MÉTODOS PARA CONTROLE DO INTEMPERISMO EM ROCHAS DE PRÉDIOS OU MONUMENTOS	14
2.6.1 O Controle de Microrganismos por Biocidas (fungicidas)	15
2.6.2 Modo de Ação dos Fungicidas Cúpricos	17
2.6.2.1 O uso das substâncias cúpricas para controle de microrganismos em prédios históricos	18
2.6.3 Procedimentos para o estudo da intemperização causada por microrganismos em monumentos históricos.....	18
2.6.3.1 Análises das bactérias, algas e fungos	20
2.6.3.1.1 As diluições.....	20
2.6.3.1.2 Os meios de cultura e a inoculação.....	21
2.6.3.1.3 Avaliação das populações microbianas.....	22
2.7 OS CASARIOS E PRÉDIOS DA LAPA	23
2.7.1 Arenitos.....	24
2.7.2 O Theatro São João.....	24
2.7.3 A Casa da Cultura (Biblioteca Pública), Atual Memorial Ney Braga	26
2.7.4 Aspectos Geográficos da Lapa.....	26
2.7.4.1 Clima.....	27

2.7.4.2 Relevô	27
2.7.4.3 Solos	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA EM ESTUDO	29
3.2 LOCAIS DE REALIZAÇÃO DA PARTE EXPERIMENTAL	29
3.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	30
3.3.1 Análise Química e Físico-química da Rocha	30
3.3.1.1 Fluorescência de raios-X	30
3.3.1.2 Difração de raios-X	30
3.3.1.3 Controle visual do efeito dos tratamentos	31
3.3.1.3.1 Controle visual no Theatro São João	31
3.3.1.3.2 Controle visual no muro da Casa da Cultura	32
3.3.2 Implementação do Experimento: tratamento da rocha com os biocidas	32
3.3.3 Análise do Efeito dos Tratamentos	35
3.3.4 Identificação dos Fungos	39
3.3.4.1 Procedimentos utilizados na identificação dos fungos pelo Instituto Oswaldo Cruz	39
3.3.4.2 Investigação em microscópio eletrônico de varredura	40
3.3.4.3 Preparação das amostras	40
3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS	41
3.4.1 Fluorescência de Raios-X	41
3.4.2 Difração de Raios-X	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ROCHA	43
4.1.1 Fluorescência de Raios-X	43
4.1.2 Difração de Raios-X	44
4.2 IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS	45
4.2.1 Fungos Isolados no Theatro São João	45
4.2.1.1 Efeito dos tratamentos sobre a população de bactérias	45
4.2.2 Fungos Isolados do Muro da Casa da Cultura	45
4.2.2.1 Descrição da colônia	47
4.3 RESULTADOS DO CONTROLE VISUAL	47
4.3.1 Avaliação Visual Realizada na Parede do Theatro São João	47
4.3.2 Avaliação Visual Realizada no Muro da Casa da Cultura	48
4.4 EFEITO DOS TRATAMENTOS NA POPULAÇÃO DE FUNGOS E BACTÉRIAS	50
4.4.1 No Theatro São João	50
4.4.1.1 Efeito dos tratamentos sobre a população	50

4.4.1.2 Efeito dos tratamentos sobre a população de fungos	53
4.4.2 No Muro da Casa da Cultura	56
4.4.2.1 Efeito dos tratamentos sobre a população de bactérias.....	56
4.4.2.2 Efeito sobre a população de fungos	58
4.5 RESULTADOS OBTIDOS COM A INVESTIGAÇÃO EM MICROSCOPIA DE VARREDURA NO THEATRO SÃO JOÃO E NO MURO DA CASA DA CULTURA	61
4.5.1 No Theatro São João.....	61
4.5.2 No muro da Casa da Cultura.....	64
5 CONCLUSÕES.....	66
6 PERSPECTIVAS FUTURAS	68
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
REFERÊNCIAS.....	70
APÊNDICES	74
ANEXOS.....	81

LISTA DE TABELAS

TABELA 1A - RESULTADOS DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X	42
TABELA 1B - RESULTADOS DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X	43
TABELA 2 - RESULTADO DO CONTROLE VISUAL REALIZADO NO THEATRO SÃO JOÃO	48
TABELA 3 - RESULTADO DO CONTROLE VISUAL REALIZADO NO MURO DA CASA DA CULTURA	49
TABELA 4 - RESULTADOS OBTIDOS NO CONTROLE DA POPULAÇÃO DE BACTÉRIAS, APÓS A APLICAÇÃO DOS SEIS TRATAMENTOS NO THEATRO SÃO JOÃO, EM FUNÇÃO DO TEMPO EM DIAS...	50
TABELA 5 - EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A POPULAÇÃO DE BACTÉRIAS QUATORZE DIAS APÓS A APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS	51
TABELA 6 - RESULTADOS OBTIDOS NO CONTROLE DA POPULAÇÃO DE FUNGOS, APÓS A APLICAÇÃO DOS SEIS TRATAMENOS NO THEATRO SÃO JOÃO.....	54
TABELA 7 - EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A POPULAÇÃO DE FUNGOS	55
TABELA 8 - RESULTADOS OBTIDOS NO CONTROLE DA POPULAÇÃO DE BACTÉRIAS, APÓS A APLICAÇÃO DOS SETE TRATAMENTOS NO MURO DA CASA DA CULTURA	56
TABELA 9 - EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A POPULAÇÃO DE BACTÉRIAS	57
TABELA 10 - RESULTADOS OBTIDOS NO CONTROLE DA POPULAÇÃO DE FUNGOS, APÓS A APLICAÇÃO DOS SETE TRATAMENTOS NO MURO DA CASA DA CULTURA	59
TABELA 11 - EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A POPULAÇÃO DE FUNGOS	60

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - VISTA FRONTAL DO THEATRO SÃO JOÃO DA CIDADE DA LAPA (PR)	24
FIGURA 2 - VISTA FORNTAL E LATERAL DA CASA DA CULTURA (BIBLIOTECA PÚBLICA DA CIDADE DA LAPA(PR)	26
FIGURA 3 - BLOCO DE ARENITO LOCALIZADO NO THEATRO SÃO JOÃO, ANTES DE RECEBER O TRATAMENTO COM OS BIOCIDAS	31
FIGURA 4 - ROCHA EM ARENITO DA PAREDE DO THEATRO SÃO JOÃO, APÓS RECEBER OS SEIS TRATAMENTOS	33
FIGURA 5 - MURO DA CASA DA CULTURA EM ARENITO, RECEBENDO TRATAMENTO COM BIOCIDAS	34
FIGURA 6 - FUNGOS ISOLADOS E REPICADOS EM MEIO DE MARTIN	44
FIGURA 7 - FUNGOS ISOLADOS DAS AMOSTRAS COLETADAS APÓS OS TRATAMENTOS COM BIOCIDAS, SETE DIAS APÓS O PLAQUEAMENTO EM MEIO DE MARTIN	46
FIGURA 8 - COLÔNIA DE ALTERNARIA ALTERNATA ISOLADA DO MURO DA CASA DA CULTURA	46
FIGURA 9 - COLÔNIAS DE <i>ASPERGILLUS FUMIGATUS</i> ISOLADAS DA TESTEMUNHA DO MURO DA CASA DA CULTURA	47
FIGURA 10 - FUNGOS E BACTÉRIAS CONOLONIZANDO ARENITO NO THEATRO SÃO JOÃO	62
FIGURA 11 - FUNGOS NA SUPERFÍCIE DO ARENITO	63
FIGURA 12 - FUNGOS DESTRUINDO O ARENITO.....	64
FIGURA 13 - FUNGOS E OUTROS MICRORGANISMOS COLONIZANDO A ROCHA	65

RESUMO

Estuda o efeito dos sulfatos de cobre e de zinco no controle da população de fungos e bactérias que causam intemperismo em arenitos de prédios históricos em Lapa (PR). Os objetivos específicos propostos foram identificar nos monumentos zonas de intemperismo; caracterizar a rocha por métodos físicos; identificar por métodos microbiológicos e por fotomicrografias os fungos e as bactérias heterotúpicos na rocha que potencialmente podem contribuir com o intemperismo; levantar as características climáticas e edáficas da região, a partir de dados da literatura, para estabelecer relações entre o clima e o intemperismo dos monumentos. Este trabalho partindo das bases científicas destina-se a contribuir com os profissionais que atuam na área da preservação de patrimônios históricos. O experimento foi conduzido na parede lateral do Theatro São João e no muro da Casa da Cultura, ambos construídos em arenito nu. Catorze dias após a aplicação dos tratamentos à base sulfatos de cobre e de zinco em diferentes concentrações, procedeu-se à coleta de amostras as quais foram inoculadas em meio de Martin líquido. Sete dias após a incubação, procedeu-se à contagem dos microrganismos utilizando a técnica do número mais provável (NMP). Os microrganismos que nasceram foram repicados em placas contendo meio de Martin sólido. As colônias foram isoladas e repicadas em tubos inclinados contendo o meio de cultura Potato Dextrose Agar (PDA). Posteriormente foram enviadas ao Laboratório de Coleção de Culturas de Fungos do Instituto Oswaldo Cruz (RJ) para identificação. Amostras coletadas na área em estudo foram preparadas para análise em microscopia eletrônica de varredura. Os resultados das determinações das populações de microrganismos indicaram que o tratamento intitulado sulfato de cobre 2,5% mais sulfato de zinco 2,5% foi o mais eficiente para controlar as populações de fungos, tanto nas paredes do Theatro São João como no muro da Casa da Cultura. O melhor resultado para o controle da população de bactérias no Theatro São João foi obtido com o tratamento sulfato de zinco 5%. O tratamento mais eficiente para controlar a densidade populacional das bactérias no muro da Casa da Cultura foi o sulfato de cobre 0,75% mais sulfato de zinco 2,5%. As cepas oriundas do Theatro São João foram identificadas como *Aspergillus fumigatus* e as isoladas do muro da Casa da Cultura foram identificadas com *Alternaria alternata*. Os resultados obtidos com as análises em microscopia eletrônica de varredura permitiram concluir que as superfícies das rochas que fazem parte da parede do Theatro São João e do muro da Casa da Cultura, estão colonizadas por bactérias e fungos e que estes microrganismos estão causando danos.

ABSTRACT

This work studies the use of copper sulfate and zinc sulfate as preservative agents in controlling the populations of fungi and bacteria that contribute to the weathering of historical buildings in Lapa, Paraná. The objectives were to identify zones of weathering on these buildings; to characterize the stone through physical methods; to identify heterotrophic bacteria and fungi, which were isolated from the stone and may potentially contribute to the weathering, through microbiological and microscopic methods; and to characterize the climate through literature data, in order to determine the relationship between climate and weathering. The results of this work will contribute to the preservation of these historical buildings. Samples were collected, before and after the 14 days of treatment with various concentrations of the preservative agents, from the outside walls of the “São João” Theatre and the “Casa da Cultura”, both of which are built of sandstone. Samples were incubated for 7 days in Martin’s liquid medium and populations were estimated using the most probable number (MPN) technique. In both buildings, a treatment consisting of 2.5% copper sulfate mixed with 2.5% zinc sulfate was most efficient in controlling fungal populations. Bacterial populations in the São João Theatre were controlled best with 2.5% zinc sulfate while those in the “Casa da Cultura” were controlled best with a mixture of 0.75% copper sulfate and 2.5% zinc sulfate. The MPN cultures were used to inoculate petri dishes containing Martin’s solid medium. Colonies that appeared were inoculated onto slopes of potato dextrose agar (PDA) and sent to the fungal culture collection of the Oswaldo Cruz Institute for identification. Isolates obtained from the São João Theatre were identified as *Aspergillus fumigatus* whereas those from the “Casa da Cultura” were identified as *Alternaria alternata* and *Aspergillus fumigatus*. Samples collected from the buildings were also observed directly by scanning electron microscopy, which showed colonization by both bacteria and fungi.

1 INTRODUÇÃO

A preservação, conservação e restauração de monumentos históricos têm sido uma preocupação em países desenvolvidos. O conceito monumento refere-se a toda obra criada pela genialidade humana que exprime valores especiais, históricos, religiosos, estéticos (AIRES-BARROS, 1991). Pode ser um prédio, um mausoléu, uma escultura, uma casa antiga. Os monumentos fazem parte do patrimônio cultural que a História nos legou. A cultura é reconhecida como uma atividade específica da humanidade, ligada à criação de objetos que são a expressão desse fenômeno. A humanidade empregou toda a sorte de materiais na construção de seus monumentos, a pedra, o metal, a cerâmica, o vidro, a madeira, o cimento, entre outros. Todos esses materiais foram usados de acordo com técnicas específicas. Dito isto, pode-se ter uma pequena noção da complexidade do estudo da conservação, restauração e preservação do patrimônio histórico e cultural.

Os efeitos dos sais de cobre e de zinco no controle da população de fungos e bactérias do solo que causam intemperismo em arenitos de prédios históricos na Lapa (PR) são objeto deste estudo. O controle desses microrganismos é fundamental para a preservação, conservação e restauração dos monumentos.

O termo restauração é empregado com o significado de reconstituir à medida do possível, as partes de um monumento destruídas ou danificadas. O restauro pressupõe um bloqueamento na atividade degradativa do monumento, além de sua reconstituição no tempo. Conservação pressupõe uma estagnação da destruição do monumento. Já a preservação busca interromper os processos degradativos antes que o monumento esteja muito danificado. Há uma idade a partir da qual se desencadeia a conservação. Atuar antes do monumento atingir essa idade é preservar. O trabalho desenvolvido para restaurar, preservar ou conservar um monumento é multidisciplinar. Normalmente, os pesquisadores trabalham em equipes, são: biólogos, arquitetos, geólogos, químicos, bioquímicos, historiadores, engenheiros, entre outros, que se reúnem para solucionar os problemas que surgem durante a ação de preservar.

O desgaste sofrido por rochas e minerais dos monumentos é causado por diversos fatores: físicos, químicos, biológicos e também a associação dos três. Entre os agentes biológicos que participam do desgaste (intemperismo) das pedras estão as bactérias, as cianobactérias, algas, líquens e os musgos. O processo que acontece durante o desgaste da rocha é similar ao que acontece durante o intemperismo das rochas que origina os solos.

A Ciência do Solo há décadas vem acumulando conhecimentos sobre o processo de formação dos solos, além de vasta metodologia que poderá ser adaptada e empregada para auxiliar os profissionais da área da preservação dos monumentos.

A Biologia do Solo é uma linha de pesquisa da Ciência do Solo que estuda a participação dos organismos vivos no desgaste das rochas e conseqüente formação dos Solos e os processos de sua fertilização. A Microbiologia dentro da Biologia Solo, estuda os microrganismos e suas atividades, forma, reprodução, fisiologia, metabolismo e a identificação dos seres microscópicos. Preocupa-se com sua distribuição natural, suas relações com outros seres vivos, principalmente com as alterações físicas e químicas que provocam no meio ambiente. Para estudar os microrganismos a Microbiologia acumulou durante muito tempo técnicas de identificação, quantificação e caracterização que hoje estão à disposição de geneticistas, ecologistas, químicos e outros pesquisadores que quiserem colaborar na resolução de problemas na área ambiental, incluindo a preservação de monumentos. Trata-se de adaptar metodologias usadas para determinação de populações, respiração, biomassa, entre outros, que normalmente são usadas para estudar os agroecossistemas para auxiliar no controle das populações de microrganismos.

No Brasil e na América Latina, as pesquisas desenvolvidas na área da preservação ainda são muito incipientes. Há necessidade de muitos recursos financeiros e de pesquisa.

Este trabalho usou os conhecimentos adquiridos em Ciência do Solo para estudar o processo de intemperismo sofrido por prédios históricos na cidade da Lapa

(PR). Esta cidade possui um belíssimo patrimônio histórico, tombado pelo governo federal e estadual, que vem sofrendo com o ataque de microrganismos. Estudou-se o efeito dos sais de cobre e de zinco no controle de fungos e bactérias, causadores do intemperismo sofrido pelas rochas que fazem parte da estrutura de prédios históricos da cidade. A idéia de se usar o cobre e seus derivados no controle de microrganismos, surgiu porque é um produto largamente empregado para controle de microrganismos na agricultura, para inibir crescimento de algas e fungos em piscinas e em reservatórios de água. Alguns pesquisadores observaram que em monumentos onde havia pedaços de latão e bronze incrustados na parede, estes sofriam lixiviação e escorriam sobre a parede. Por onde o cobre passava não havia o desenvolvimento de microrganismos embora ao redor tivesse infestado.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo que norteou este trabalho foi o de estudar o efeito dos sulfatos de zinco e de cobre no controle da população de fungos e bactérias do solo que causam intemperismo em arenito de prédios históricos na Lapa (PR).

1.1.2 Objetivos Específicos

Para alcançar este objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram propostos:

- a) identificar nos monumentos zonas de intemperismo;
- b) caracterizar a rocha por métodos físicos;
- c) identificar por métodos microbiológicos e por fotomicrografias os fungos e as bactérias heterotróficas na rocha que potencialmente podem contribuir com o intemperismo;

d) levantar as características climáticas e edáficas da região, a partir de dados da literatura, para estabelecer relações entre o clima e o intemperismo dos monumentos;

Este trabalho partindo das bases científicas destina-se a contribuir com os profissionais que atuam na área da preservação de patrimônios históricos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DEFINIÇÃO DOS TERMOS

A definição dos termos empregados nos processos de intemperismo físico, químico e biológico em rochas, bem como no seu tratamento, são apresentados a seguir.

Bactericida: agente que mata bactérias (PELCZAR; REID; CHAN, 1980).

Bacteriostase: condição na qual se previne o crescimento de bactérias (adjetivo é bacteriostático). De maneira semelhante, fungistático descreve o agente que inibe o desenvolvimento de fungos (PELCZAR; REID; CHAN, 1980).

Biocidas: substâncias também conhecidas como, bactericidas, fungicidas, algicidas (KRUMBEIN, 1988). O termo fungicida significa, literalmente, matador de fungo. Deriva das palavras latinas *fungus* (fungo) e *caedo* (matador). Assim, todo agente físico, químico ou biológico, prejudicial aos fungos seria fungicida. Entretanto, por ser muito usado no controle de doenças de plantas, o termo se restringiu às substâncias químicas normalmente aplicadas em plantas cultivadas, com o intuito de matar fungos parasitas ou prevenir o desenvolvimento de doenças fúngicas. Serão consideradas fungicidas todas as substâncias que, sem serem letais, inibirem a germinação de esporos e o crescimento micelial (substâncias fungistáticas) e aquelas que, permitindo o crescimento micelial, inibirem a reprodução por esporulação (substâncias antiesporulantes). Bactericidas e antibióticos com ação fungicida estão implicitamente, incluídos no conceito (KIMATI, 1995).

Biodegradação: é definida com a propriedade que os microrganismos, utilizados pelo homem, têm de transformar um material em uma forma mais útil ou aceitável. Biodegradação se refere somente a materiais que geralmente são de valor baixo ou mesmo negativo, como os dejetos orgânicos (casca de arroz, bagaço de cana, farelo de trigo, por exemplo) e se distingue do processo de deterioração, porque este

último se aplica a materiais já processados. Além do mais, o processo de biodegradação é considerado positivo, quando comparado com o de biodeterioração (RESENDE, 1997).

Biodeterioração: é definida como qualquer troca indesejável nas propriedades de um material, causada por atividade vital de um organismo. O termo também se aplica para a deterioração de materiais de importância econômica pelos microrganismos. Deterioração implica uma perda de material e, de certa maneira, do ponto de vista humano, é uma ação negativa (RESENDE, 1997).

Decomposição: em geologia o termo é sinônimo de intemperização química, enquanto em Biologia é usado para descrever o processo de formação de minerais provenientes de compostos orgânicos por via respiratória ou fermentativa. (RESENDE, 1997).

Germicida: também é conhecido por microbiocida. É um agente que mata as formas vegetativas, mas mata as formas esporuladas dos microrganismos (PELCZAR; REID; CHAN, 1980).

Intemperismo e intemperização: intemperismo é usado em Geologia para descrever o processo de desintegração e decomposição das rochas e dos minerais, por agentes atmosféricos ou biológicos (DICIONÁRIO Enciclopédico Brasileiro, 1983). Intemperização é comumente empregado como sinônimo de intemperismo (BIGARELLA; BECKER; PASSOS, 1996).

Intemperismo biológico: em Pedologia representa uma combinação dos efeitos conjugados de processos químicos, físicos e biológicos, atuando sobre o substrato, dando origem aos solos. Neste trabalho o termo intemperismo biológico será usado como sinônimo de biodeterioração (BIGARELLA; BECKER; PASSOS, 1996).

Lixiviação e biolixiviação: é um termo derivado da mineração e processamento de material. Esse processo pode ser efetuado por ação de ácidos ou bases ou métodos eletroquímico, levando à perda de íons metálicos e resulta conseqüentemente, em um enfraquecimento da estrutura cristalina da rocha. No caso

da biolixiviação, o processo ocorre pela ação de ácidos, como por exemplo, o sulfúrico, por ação de quelantes ou ainda por contato direto da rocha com a superfície de microrganismos, tais como, fungos, cianobactérias e bactérias quimiorganotróficas (RESENDE, 1997). Uma outra definição seria, processo por meio do qual se extraem compostos salinos de uma mistura (DICIONÁRIO Enciclopédico Brasileiro, 1983).

Monumentos: obra ou construção feita com o fim de transmitir à posteridade, a memória de fato ou pessoa notável; edifício notável, memória recordação (DICIONÁRIO Enciclopédico Brasileiro, 1983). Neste trabalho será empregado o termo prédio histórico com significado de monumento histórico ou edifício histórico.

2.2 O PROCESSO DE INTEMPERIZAÇÃO

Rochas e minerais sofrem processo natural de desgaste por condições ambientais que levam à formação dos solos. Esse desgaste chamado de intemperização pode ser causado por fatores físicos, como chuvas e ventos e químicos, como poluição atmosférica, e por fatores biológicos. Também pode acontecer a associação dos três tipos acima citados (BIGARELLA; BLASI; BREPOHL, 1997). Não só as rochas naturais sofrem intemperização. As chamadas **pedras artificiais**, como ladrilho e argamassa, também podem sofrer alterações por ação desses fatores. Dentre os agentes biológicos que participam da intemperização das rochas estão as bactérias quimiolitautotróficas e quimiorganotróficas, cianobactérias, líquens, actinomicetos e os fungos (AIRES-BARROS, 1991). São vários os mecanismos de intemperização; dentre eles podemos citar a excreção de ácidos inorgânicos, como o ácido nítrico e o ácido sulfúrico, produzidos pelas bactérias quimiolitautotróficas e os ácidos orgânicos, liberados pelas bactérias quimiorganotróficas e pelos fungos, nas superfícies das rochas. Os filmes microbianos ou biofilmes, constituídos de algas, líquens, fungos e bactérias, que estão presentes em praticamente todas as rochas e “pedras artificiais” expostas a condições atmosféricas variadas, também podem

modificar a composição química e mineralógica da rocha original. A pressão causada pela formação de sais ou cristais de gelo e liquefação nas camadas superficiais das rochas, sendo este último um fenômeno típico de países temperados, está incluída entre os fatores físico-químicos que provocam danos nas rochas e construções de pedras.

2.3 CLIMA E POLUIÇÃO

O clima e as condições de poluição atmosférica também interferem nos processos biológicos de degradação das rochas (RESENDE, 1997). Os fatores ambientais aliados à poluição têm um importante papel na intemperização das rochas. As rochas numa área deserta têm uma velocidade de decomposição de 10 mm a cada 100 anos e nas cidades o fenômeno apresenta velocidade quatro vezes maior (KRUMBEIN, 1988).

A atmosfera poluída pelos seres humanos tem acelerado o processo de decomposição das rochas nos últimos cem anos, principalmente, devido ao uso de combustíveis fósseis, pelos quais milhares de toneladas de gases poluentes são liberados na atmosfera (SO_2 , NO e NO_2). O dióxido de enxofre (SO_2), sozinho ou combinado com água, ataca e dissolve a superfície das rochas. O monóxido de nitrogênio (NO) e o dióxido de nitrogênio (NO_2) são gases originados principalmente da emissão de gases de automóveis (60%). O NO_2 reage com a água e forma ácido nítrico e ácido nítrico (RESENDE, 1997).

O aumento de biofilmes nas rochas pode aumentar a sua degradação, como no caso da amônia ou matéria orgânica fornecida pelo vento e chuva nas áreas de indústrias e de agricultura intensiva. A amônia também pode ser originada de fertilizantes secos ou úmidos (pó de amônia ou adubo líquido). O limo bacteriano se comporta como adesivo e suporte para deposição de partículas de carvão e fuligem na superfície das rochas (KRUMBEIN, 1988).

2.4 AÇÃO DOS MICRORGANISMOS NO PROCESSO DE INTEMPERISMO

A alteração das rochas e dos minerais é grandemente controlada pelas plantas, animais e microrganismos. O papel desempenhado pelas bactérias no intemperismo é considerável (BIGARELLA; BECKER; PASSOS, 1996). Os organismos atuam através de seus metabólitos, principalmente do CO₂, junto com compostos de nitrogênio e enxofre, além da contribuição de ácidos orgânicos complexos que apresentam forte poder de ataque. Para BIGARELLA, BLASI e BREPOHL (1997), os principais colonizadores dos afloramentos de rochas nuas são as bactérias e fungos, seguidos de algas unicelulares, líquens, musgos, entre outros, capazes de retirar seus nutrientes diretamente do substrato rochoso, contribuindo para a sua decomposição. Entre os primeiros colonizadores das rochas expostas encontram-se as algas filamentosas ou unicelulares com clorofila. Utilizam CO₂, N₂ (alga azul-verde fixadora de nitrogênio) e pequenas quantidades de nutrientes minerais disponíveis na matéria mineral (OLLIER, 1975).

Segundo OLLIER (1975), os fungos, comuns nos solos podem exercer um efeito físico, fragmentando a rocha por expansão. A hifa do fungo, quando passa nos finos poros da rocha e do solo auxilia o efeito químico pela produção de CO₂ e de secreções ácidas. WEBLEY, HENDRESON e TAYLOR (1963), encontraram um número crescente de microrganismos com o progressivo desenvolvimento dos líquens. Os actinomicetos e os fungos foram encontrados nos poros das rochas alteradas.

RESENDE (1997), acredita que o mecanismo de deterioração e a inter-relação entre organismos e pedras, precisam ser melhor explicados. É sabido que a colonização e a contaminação das rochas são basicamente controladas por impactos ambientais, tais como condições climáticas e fatores edáficos¹. Poluentes antropogênicos orgânicos e inorgânicos do ar, especialmente hidrocarbonetos

¹ Fatores edáficos são fatores influenciados pelas condições do solo (DICIONÁRIO Enciclopédico Brasileiro, 1983).

alifáticos e aromáticos, aceleram os processos quimiorganotróficos de biodeterioração (intemperismo) em rochas expostas de prédios históricos. Os microrganismos ao interagirem com a poluição do ar aumentam sua população influenciando diretamente o processo de biodeterioração. Resumindo, o fenômeno biológico é fator chave no processo de intemperização das rochas e, portanto, das pedras usadas nas construções dos prédios ou monumentos históricos.

Qualquer organismo ou produto gerado por seres vivos é capaz de acelerar a destruição de material mineral e exemplos dessas atividades são numerosos.

O processo microbiano de degradação das rochas foi dividido por BERTHELIN e TOUTAIN (1979), em dois mecanismos: solubilização e insolubilização. A solubilização inclui os processos de acidólise, complexólise e alcalinólise, assim como os outros enzimáticos e não enzimáticos. A acidólise é o processo de ação do próton de complexação fraca de ácidos com metais das rochas, como por exemplo, os ácidos carbônicos, nítricos, acéticos, entre outros. Já a complexólise leva à constituição de complexos organo-metálicos ou quelatos. Cátions monovalentes são extraídos por prótons (H^+) dos ácidos biogênicos. Assim, são facilmente lavados. Idem para os cátions di e trivalentes, que após processo de redução podem ser incorporados em complexos-quelatos e são também lavados em água (CANEVA; NUGARI; SALVADORI, 1991).

BIGARELLA, BECKER e PASSOS (1996), acrescentam que a quelação é a principal e mais importante ação dos compostos orgânicos no intemperismo. Os compostos orgânicos quelantes, particularmente o ácido cítrico, o ácido oxálico, os aminoácidos, fenóis e polifenóis são produzidos pela lixiviação da matéria vegetal, ou são sintetizados por microrganismos, como fungos, algas, líquens e bactérias. Os complexos organominerais possuem certa capacidade de migração, desativando-se em contato com eletrólitos adjacentes. Os agentes complexantes orgânicos desempenham grande papel na dissolução dos minerais formadores das rochas. Os ácidos carboxílicos, sendo mais fortes do que o ácido silícico passam a substituir a sílica

adsorvida, aumentando, em consequência, a sua solubilidade. Na alcalinólise, grande número de microrganismos toma parte na degradação de compostos nitrogenados. O produto dessas reações (amônia) aumenta o pH e induz a solubilização da sílica (BIGARELLA; BECKER; PASSOS, 1996).

A insolubilização ou imobilização ocorre quando os microrganismos absorvem elementos minerais, precipitando-os fora de suas células ou incorporando-os em seu interior. Portanto, agem como sequestradores de íons, imobilizando-os (RESENDE, 1997).

2.5 MICRORGANISMOS ENVOLVIDOS NO PROCESSO DE INTEMPERISMO

2.5.1 Algas e Cianobactérias

São os fotolitotróficos, microrganismos que utilizam a luz do sol como fonte de energia, para crescerem. O gás carbônico (CO_2), que necessitam é retirado da atmosfera. As algas podem ser unicelulares ou apresentar estrutura filamentosa. São encontradas em rochas expostas, onde houver luz e umidade. Podem causar dano mecânico devido à dilatação das rachaduras na rocha. Produzem ácidos, que dissolvem o carbonato de cálcio das rochas (RESENDE, 1997). Também podem secretar outras substâncias, aminoácidos, açúcares, antibióticos e outros estimuladores do crescimento, que criam condições de nutrição propícias ao crescimento de algumas bactérias quimiorganotróficas na superfície das rochas (CANEVA; NUGARI; SALVADORI, 1991).

2.5.2 Bactérias

São organismos classificados como procariotos, unicelulares e se multiplicam por fissão binária transversa ou cissiparidade (GALLI et al., 1978). Constitui a maior densidade de microrganismos nos solos, chegando a ser superior à densidade de todos os outros microrganismos juntos (ARAÚJO; HUNGRIA, 1994). Sua células são muito pequenas, medindo entre 1 e 10 μm de diâmetro.

A comunidade bacteriana é estimada em cerca de 10^8 a 10^9 por grama de solo, variando com a técnica de contagem e o tipo de solo. Entretanto, devido ao tamanho celular reduzido, as bactérias contribuem com menos da metade da biomassa microbiana total (ARAÚJO; HUNGRIA, 1994).

AIRES-BARROS (1991), distingue dois grandes tipos de bactérias: as quimiolitotróficas e as quimiorganotróficas. As bactérias quimiolitotróficas usam doadores inorgânicos de hidrogênio, tais como NH_4 , NO_2 , H_2S , tiosulfato ou enxofre elementar e são capazes de produzir energia a partir da oxidação destes compostos. Utilizam também o CO_2 como fonte de carbono, resultando na liberação de ácido nitroso (*Nitrosomonas*), ácido nítrico (*Nitrobacter*) ou ácido sulfúrico (*Thiobacillus*) (RESENDE, 1997). Esses microrganismos dissolvem os carbonatos por meio da produção de amônia, como consequência do processo de redução nítrica, levando à perda de material da rocha (AIRES-BARROS, 1991).

As bactérias quimiorganotróficas, assim como os fungos, são heterótrofos, obtendo energia através da oxidação de substratos orgânicos (doadores de hidrogênio). Em alguns casos essas bactérias são capazes de produzir energia, através da oxidação de cátions metálicos, tais como Fe^{2+} e Mn^{2+} . Esses microrganismos também participam do processo de intemperização e biodeterioração das rochas por processos muito similares aos das bactérias quimiolitotróficas (RESENDE, 1997).

2.5.3 Fungos

De acordo com BONONI (1999), as características presentes no Reino Fungi constituídos pelos filos Chytridiomycota, Zigomycota, Ascomycota e Basidiomycota referidos como fungos verdadeiros, são as seguintes:

- a) podem ser unicelulares, formar um pseudo-micélio ou ter hifas bem desenvolvidas, às vezes agrupadas e justapostas, porém nunca formando um tecido verdadeiro;
- b) todos são eucariontes e geralmente as hifas são multinucleadas;

- c) são heterotróficos, produzem enzimas que degradam os substratos onde se encontram e absorvem os compostos mais simples, pelo que são denominados osmotróficos;
- d) exibem reprodução sexuada e assexuada de diversas formas;
- e) são na maioria terrestres e anaeróbios e crescem rapidamente;
- f) as hifas ou qualquer outra estrutura somática são capazes de regenerar um novo indivíduo.

Os fungos ocorrem nos solos em densidades populacionais inferiores às bactérias e actinomicetos, variando de 10^4 a 10^6 /g de solo. Como possuem hifas compridas (10 - 100 m/g de solo) com elevado diâmetro (5 a 10 μ m), podem contribuir com 0,5 até 5,0 t/há de tecido vivo (BRANDÃO, 1992).

Conforme RESENDE (1997), os microrganismos que degradam rochas e monumentos de pedra têm sua origem na microbiota do solo e no ar. Sob condições favoráveis, esses microrganismos são capazes de crescer e influenciar fortemente o processo de biodeterioração das rochas. No entanto, baixa disponibilidade de água e oxigênio, bem como baixos suprimentos de compostos orgânicos limitam seu número. Em pedras de monumentos ou prédios fortemente intemperizados o número de fungos filamentosos pode alcançar o mesmo número encontrado em amostras de solo. A atividade dos fungos filamentosos é um dos fatores mais importantes na solubilização das rochas, minerais e silicatos, incluindo o quartzo. Dentre eles os gêneros como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Phoma*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Chaetomium*, *Botrys*, *Aureobasidium* e *Torula*, são os mais encontrados em rochas e afrescos.

Tanto PETERSEN et al. (1988), como KUROCZKIN, PETERSEN e KRUMBEIN (1988), afirmaram que fungos isolados da superfície de arenitos apresentam capacidade acidolítica. Demonstraram que 30% de amostras de fungos isoladas desse mesmo tipo de pedra eram capazes de produzir ácido a partir de glicose e alguns polissacarídeos como o amido.

2.6 MÉTODOS PARA CONTROLE DO INTEMPERISMO EM ROCHAS DE PRÉDIOS OU MONUMENTOS

Muitas vezes por falta de conhecimento técnico, ou por parecer mais barato, as pessoas responsáveis pela limpeza e conservação de monumentos históricos decidem usar métodos que, embora apresentem um resultado imediato, tempos depois aumentam a infecção. É o caso da máquina do tipo “vap”. No momento em que é usada, a parede infestada fica “limpíssima”. A melhora dura pouco e com o tempo o problema tende a se agravar. A causa é o aumento da umidade, fator que colabora com o aumento da densidade populacional dos microrganismos (RESENDE, 1997).

Como os monumentos históricos são muito importantes para preservar a história de uma sociedade, por representarem momentos políticos e sociais de uma época, muito cuidado deve ser tomado, antes do uso de qualquer que seja a técnica de controle dos processos intemperizadores. Uma série de observações deverá ser feita, antes de se chegar a uma conclusão sobre o método será usado. Uma análise microbiológica para cada lugar na rocha, onde houver diferentes pigmentos e presença de eflorescências, deverá ser providenciada. Hoje se pode contar com a ajuda do difractômetro de raios-X e a microscopia eletrônica de varredura para auxiliar no diagnóstico (RESENDE, 1997). Só depois de identificado a microflora total, passar-se-á à etapa seguinte, que é buscar um processo que faça o controle dos microrganismos, reduzindo-os a quantidades que os tornem inócuos ao material que se quer preservar. Tomadas estas providências, a literatura nacional e internacional sugere uma série de produtos que poderão ser utilizados. KRUMBEIN (1988) apresenta uma lista de substâncias normalmente empregadas na preservação de monumentos em pedra:

- a) antibióticos;
- b) enzimas;
- c) biocidas (bactericida, fungicidas, algacidas);
- d) tensoativos e sabões;
- e) taninos e fenóis (naturais e sintéticos);

- f) gases (exemplo, óxido de etileno);
- g) irradiação (exemplo, radiação uv).

Já existem métodos naturais para controle de microrganismos. Se a rocha a ser tratada for uma rocha carbonatada, um método muito usado é a carbonatogênese bacteriana. É uma proposta nova e utiliza capacidade natural que tem algumas bactérias não patogênicas de fabricar calcário. A utilização da carbonatogênese numa perspectiva industrial tem sido estudada desde os anos 80 por uma equipe de pesquisadores da Universidade Pierre e Marie Curie. O procedimento consiste em fabricar, por bactérias calcificantes, um cálcio protetor à superfície das rochas calcárias (ORIAL; MARIE-VICTORIE, 1997).

Na escolha do produto a ser usado, deve ser levar em conta os efeitos colaterais, como mudança de cor da pedra, corrosão ou cristalização interna, evitando os produtos que poderão danificar o material a ser protegido. De modo geral, antes de estabelecer o protocolo de limpeza, restauração e conservação de um monumento histórico, faz-se necessário um diagnóstico cuidadoso da deterioração sofrida pelo monumento que se quer preservar, levando em conta os fatores climáticos, fatores edáficos (fatores referentes ao solo, como por exemplo, capilaridade da água) e as condições da poluição atmosférica (RESENDE, 1997).

2.6.1 O Controle de Microrganismos por Biocidas (fungicidas)

O emprego de fungicidas para controlar a população de microrganismos envolve um ou mais princípios de controle, podendo variar com a época, a metodologia de aplicação e o tipo de microrganismo que se quer controlar. De acordo com o princípio em que se fundamenta a sua aplicação, os fungicidas podem ser:

- a) protetores ou residuais;
- b) erradicantes ou de contato;
- c) curativos ou terapêuticos.

Produtos químicos protetores ou residuais são aplicados nas partes suscetíveis do hospedeiro e formam uma camada superficial protetora antes da deposição do inóculo (KIMATI, 1995). Muitos pesquisadores têm usado fungicidas

protetores para controle de microrganismos em monumentos. É o caso do estudo desenvolvido em Minas Gerais no complexo do Caraça, da Igreja Bom Senhor Jesus de Matosinhos, Congonhas e da Catedral de Aachen na Alemanha, um trabalho desenvolvido por uma equipe de pesquisadores brasileiros e alemães do projeto IDEAS² (BECKER et al., 1994).

Para que tenha um bom desempenho o produto deve ter uma série de características, tais como:

- a) ser quimicamente reativo, mas não deve se decompor facilmente pela ação das intempéries;
- b) ser capaz de reagir num meio aquoso, mas sem se hidrolisar sobre o hospedeiro, nem lixiviar pelo primeiro banho de chuva;
- c) ser capaz de se espalhar por toda a superfície a ser protegida, entre outros (KIMATI, 1995).

As características ideais de um produto puramente protetor são difíceis de conciliar na prática. Por isso, algumas empresas fabricantes do produto comercial, adicionam (ou recomendam ao usuário que adicione) aos fungicidas protetores, aditivos como, por exemplo, espalhantes adesivos que ajudam melhorar o produto, aumentando a tenacidade, por exemplo. Dentre os principais fungicidas protetores estão os cúpricos como a calda bordalesa³ e os cobres fixos. Os cobres fixos, também chamados neutros ou de baixa solubilidade, são muito usados como sucessores da calda bordalesa, porque, apesar da menor tenacidade e fungitoxidade inerente,

² O Projeto IDEAS (Investigations into Devices against Environmental Attack on Stones) - cooperação entre o Brasil e a Alemanha, é composto de quatro grupos de trabalho interdisciplinar. Geólogos, microbiólogos, químicos e outros cientistas investigaram e caracterizaram os materiais pétreos, as causas da deterioração e conjuntamente aos conservadores/restauradores buscaram os melhores métodos e técnicas para a preservação de monumentos em Minas Gerais e Aachen na Alemanha.

³ Calda preparada a partir de cal hidratada, sulfato de cobre e água. A cal é utilizada com a finalidade de neutralizar o pH e formar um complexo coloidal de natureza gelatinosa quando atinge pH 7,0. Isto indica que não há sulfato ou ácido e nem cal livres, mas que todos estão interagindo quimicamente. Este complexo coloidal alcalino aumenta tenacidade da calda, isto é sua capacidade de permanecer aderida à folhagem (PENTEADO, 2000).

apresentam maior facilidade de preparo e menor fitotoxicidade. Compreendem um grupo quimicamente heterogêneo, incluído hidróxido de cobre, oxiclreto de cobre, óxido cuproso e sulfato básico de cobre. Como a calda bordalesa, constituem um grupo de fungicidas com largo espectro de ação antifúngica e antibacteriana e baixa toxidez aos animais e ao homem. São amplamente utilizados na horticultura, fruticultura e cafeicultura. Um outro grupo de fungicidas protetores são os etilenobisditiocarbamatos, substitutos dos cúpricos, possuindo fungitoxicidade inerente maior contra alguns patógenos. Um exemplo é o zineb⁴, que contém zinco em sua formulação. A presença do zinco diminui a fitotoxicidade (KIMATI, 1995).

2.6.2 Modo de Ação dos Fungicidas Cúpricos

Por serem capazes de inibir inespecificamente muitos processos enzimáticos, podem atuar em qualquer parte da célula onde haja atividade metabólica. Há evidências de atuação tanto na membrana como no protoplasma celular, onde é maior o número de processos vitais. Para os fungicidas metálicos, como é o caso dos cúpricos, há evidências de que o acúmulo inicial e as muitas reações subsequentes ocorrem sobre ou fora da membrana celular. Os cúpricos podem reagir com grupos iônicos (sulfídricos, entre outros), situados na superfície celular, interferindo irreversivelmente na permeabilidade da membrana, e provocando extravasamento dos constituintes celulares. Tais produtos, entretanto, agem também fortemente na inibição enzimática do metabolismo de carboidratos, possibilitando interpretar mudanças de permeabilidade como efeitos secundários da atuação intracelular. As enzimas que os cúpricos inibem são: sacarase, catalase, arginase, asparaginase, betaglucosidase, entre outras (KIMATI, 1995).

⁴ Produto de coordenação iônica de etileno-dis-ditiocarbamato de zinco. Classe: fungicida, grupo químico: ditiocarbamato (COMPÊNDIO de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola. São Paulo: Andrei, 1993. 448 p.).

2.6.2.1 O uso das substâncias cúpricas para controle de microrganismos em prédios históricos

O cobre é muito usado por profissionais da área da preservação por ser uma substância extremamente tóxica para as células dos microrganismos, especialmente devido ao sinergismo com diferentes substâncias orgânicas (RESENDE, 1997). O cobre foi eficiente para inibir o crescimento de contaminações em estudos realizado no Complexo do Caraça em Minas Gerais. Trabalhando sulfato de cobre 0,01M, os pesquisadores conseguiram reduzir a população de algas em 75%. Para as áreas com forte incidência de fungos, usaram o sulfato de cobre 0,1M e a população destes microrganismos foi reduzida em 95% (BECKER et al., 1994). De acordo com LORENZI (1981), o cobre e seus compostos entre eles o fosfato de cupritetramina $(\text{NH}_3)_4\text{CuSO}_4$, têm apresentado ótimos resultados no controle de microrganismos, inclusive algas. Esses e outros biocidas são em gerais solúveis em água. Bastam concentrações de 1 a 3% para se obter uma desinfecção total das pedras. Os tratamentos podem ser repetidos quando necessário e são concluídos com abundantes lavagens com água para eliminar os resíduos dos biocidas.

2.6.3 Procedimentos para o estudo da intemperização causada por microrganismos em monumentos históricos

Segundo a literatura, os responsáveis pelas deteriorações devem ser separados em grupos: os que formam alterações visíveis como algas, fungos e líquens e aqueles que, embora não estando visíveis, provocam desagregação do material através de suas reações metabólicas como é o caso de algumas bactérias e de alguns fungos (ORIAL; MARIE-VICTORIE, 1997).

Diante de uma alteração supostamente de caráter biológico, o pesquisador deverá diagnosticar a alteração, observando e fotografando manchas, desagregações,

notando se existe diferença de cor entre os pigmentos na rocha e procurando sinais de eflorescências, entre outros. O próximo passo é situar o problema nas condições ambientais:

- a) temperatura;
- b) umidade;
- c) poluição atmosférica;
- d) restaurações anteriores;
- e) produtos e tratamentos utilizados, entre outros.

Terminada esta etapa, defini-se o protocolo de análise que permite identificar as causas do intemperismo. Este protocolo deve, na medida do possível, associar análises químicas e físico-químicas (espectrofotometria no infravermelho, fluorescência de raios-X, difratometria de raios-X, entre outros) e análises microbiológicas clássicas, com estabelecimento de um espectro microbiano, enumerando e identificando espécies, visualização dos microrganismos em microscopia eletrônica por varredura e escolha do biocida que será usado (ORIAL; MARIE-VICTORIE, 1997).

Uma amostra da pedra em estudo é necessária para que possa ser realizada a análise microbiológica. Alguns pesquisadores optam por retirar cubos de pedra de aproximadamente 10 x 10 x 2 mm com auxílio de uma serra elétrica ou de um bisturi (RESENDE, 1997). Outros preferem apenas raspar a área com um bisturi. As amostras deverão ser acondicionadas em placas de Petri (no caso de se coletar cubos de pedra) ou em tubos de ensaio (se a amostra for raspas de pedra) (ORIAL; MARIE-VICTORIE, 1997).

Embora a análise química da rocha não tenha sido objeto deste estudo, convém alertar que segundo ORIAL e MARIE-VICTORIE (1997) antes de escolher os meios de cultura que serão utilizados, é preciso conhecer a microflora da rocha. Os autores recomendam que seja realizada uma observação visual, seguida de uma análise química da rocha a qual poderá identificar a presença de sais provenientes de atividades biológicas. Geralmente, os principais sais provenientes de atividades

biológicas são os sulfatos e os nitratos. Se a rocha em estudo evidenciar a presença de sulfatos, sendo ele resultado da atividade dos microrganismos oxidantes do enxofre, uma avaliação desses e de outros microrganismos do ciclo deverá ser considerada. O procedimento será o mesmo se a rocha evidenciar a presença de nitratos. Assim, bactérias que intervêm no ciclo do nitrogênio deverão ser pesquisadas, por exemplo, as nitrosas e nítricas, amonizantes e fixadoras de nitrogênio molecular. Caso a análise química não mostrar presença de sais, o pesquisador poderá considerar uma pesquisa de bactérias e ou fungos fermentadores de componentes carbonados (açúcares) e produtores de ácidos orgânicos.

Depois de feita essa primeira observação o espectro microbiano que será analisado pode ser escolhido, bem como os diferentes meios para a inoculação. O procedimento que foi descrito é inerente para bactérias, algas e fungos. Porém, não se aplicará se a rocha a ser estudada estiver recoberta de líquens, pelo simples fato dos líquens não poderem ser cultivados em laboratório. Outros procedimentos devem ser adotados (ORIAL; MARIE-VICTORIE, 1997).

2.6.3.1 Análises das bactérias, algas e fungos

Para avaliar bactérias, algas e fungos são feitas análises microbiológicas. Os microrganismos devem ser inoculados em meios líquidos ou sólidos, conforme a técnica de contagem. Para a técnica do número mais provável (NMP) utiliza-se meios líquidos que são inoculados a partir de suspensões-diluições (ORIAL; MARIE-VICTORIE, 1997).

2.6.3.1.1 As diluições

Geralmente, encontram-se quantidades elevadas demais de microrganismos em uma amostra o que dificulta a quantificação a partir da coleta de base. Uma preparação, chamada suspensão-diluição é necessária. Se amostra estiver na forma de

cubo de pedra, deve ser pulverizada para obter um pó fino. Esse pó é então introduzido em determinado volume de água estéril de maneira a realizar uma diluição decimal (por exemplo, 100 mg de pó de pedra para 10 mL de água), será considerada a diluição 10^{-1} . A partir desta diluição, toda uma gama de diluições poderão ser realizadas em cascata (por exemplo, 1mL da diluição 10^{-1} , diluída em 9 mL de água, dará a diluição 10^{-2} e assim sucessivamente).Essas preparações servirão de inóculos para os diferentes meios de cultura a serem utilizados (ORIAL; MARIE-VICTORIE, 1997). Outra alternativa encontrada na literatura, foi a pulverização das amostras das amostras em gral de porcelana e a adição de 1g do material a 10 mL de solução tween 80 em água destilada estéril a 0,001%. A suspensão de pedra, depois de agitada em agitador durante 1 hora, é inoculada nos meios adequados de cultura para contagem e isolamento dos microrganismos (RESENDE, 1997).

2.6.3.1.2 Os meios de cultura e a inoculação

Os microrganismos necessitam de meios bem específicos, que lhes tragam os elementos nutritivos apropriados. Os organismos heterótrofos ou quimiorganotróficos só poderão suprir suas necessidades em presença de compostos orgânicos. Os meios de cultura deverão conter esses elementos. As bactérias autótrofas utilizam os compostos minerais como fonte de energia para sobreviver. Elas só conseguem sobreviver em meios estritamente minerais. É o caso daquelas oxidantes de enxofre (*Thiobacillus*), que oxidam o enxofre a sulfatos (ORIAL; MARIE-VICTORIE, 1997). Outros autores também recomendam ágar Sabouraud e Czapek-Dox para fungos, de BUNT e ROVIRA (1955) para bactérias quimiorganotróficas. Outro meio de cultura muito utilizado pelos pesquisadores de solos para bactérias é o meio de THORTON (1922) e o meio de cultura de Martin (MENZIES, 1965), para os fungos.

Inoculação é a operação que consiste em introduzir uma parte da amostra a analisar, sob a forma de suspensão-diluição previamente preparada, em cada um dos meios de cultura, de modo a estimular especificamente a cultura de microrganismos

presentes na amostra de origem. A fração da diluição introduzida no meio chama-se inóculo. Para inocular em meios sólidos, pode-se espalhar 0,1 mL da suspensão diluída na superfície do meio de cultura já frio, na razão de três placas por diluição, para uma melhor reprodutibilidade dos resultados (ORIAL; MARIE-VICTORIE, 1997).

No caso dos meios líquidos, cada meio deve ser previamente repartido em tubos, à razão de 5 ou 10 mL de solução. Os tubos contendo os meios deverão ser esterilizados. Os tubos contendo os meios deverão ser levados à câmara de fluxo laminar para receberem 0,1 mL de cada uma das diluições, à razão de três ou cinco tubos por diluição (ALEXANDER, 1980).

2.6.3.1.3 Avaliações das populações microbianas

Conforme ALEXANDER (1980), as avaliações das populações microbianas podem ser efetuadas em meios de cultura, através de contagens das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) ou por técnicas de estimação do Número Mais Provável (NMP) com base na diluição à extinção, ou ainda por técnicas de contagem direta com o uso do microscópio. Na técnica do número mais provável, as amostras são submetidas a diluições sucessivas, sendo que de cada diluição são retiradas alíquotas para inoculação em meio de cultura apropriado, utilizando-se várias repetições. Os resultados são obtidos através da observação de tubos turvados (positivos) ou não turvados (negativos), para cada uma das diluições (ALEXANDER, 1980).

WELLINGTON et al. (1997) afirmam que a técnica do número mais provável apresenta uma grande vantagem sobre os métodos de observação direta como a microscopia, pois estima apenas as células vivas capazes de se desenvolver, evitando assim superestimar a população microbiana, fato comum nos métodos diretos. WOOPER (1994), coloca um aspecto importante da metodologia do número mais provável, que é a habilidade de estimar o tamanho da população de certos grupos de microrganismos baseando-se em atividades específicas destes grupos.

A estimativa da população através do número mais provável é muito útil para os microrganismos que não formam colônias em meios de cultura, sendo impossível quantificá-los em placas de Petri. Assim, realiza-se a diluição da amostra e inocula-se em meio líquido ou semi-sólido e analisa-se a formação ou o desaparecimento de um determinado produto. Este método tem sido utilizado para quantificar as bactérias nitrificantes (*Nitrosomonas* e *Nitrobacter*), através da presença de nitrito e nitrato, respectivamente (ANDRADE et al., 1994).

De acordo com CARTER (1993), a metodologia do número mais provável pode ser utilizada na estimativa da população total de microrganismos heterotróficos de amostras de solo, da mesma maneira que é usada para placas.

2.7 OS CASARIOS E PRÉDIOS DA LAPA

Os casarios e prédios da Lapa foram predominantemente construídos com arenitos. LA PASTINA FILHO e PARCHEN (1995) afirmam que as pedras usadas na construção dos casarios de Lapa foram retiradas da própria região.

A Lapa situa-se no segundo planalto paranaense (Planalto de Ponta Grossa), onde são típicas as várias formações areníticas, entre elas o Arenito Furnas, que se destaca na testa da escarpa da Serrinha e na Serra de São Luiz do Purunã, e em diversas furnas (pseudolinas) nos Campos Gerais. O Arenito Vila Velha com suas formas bizarras ocorre também ao leste e ao sul da Lapa (BIGARELLA; BLASI; BREPOHL, 1997).

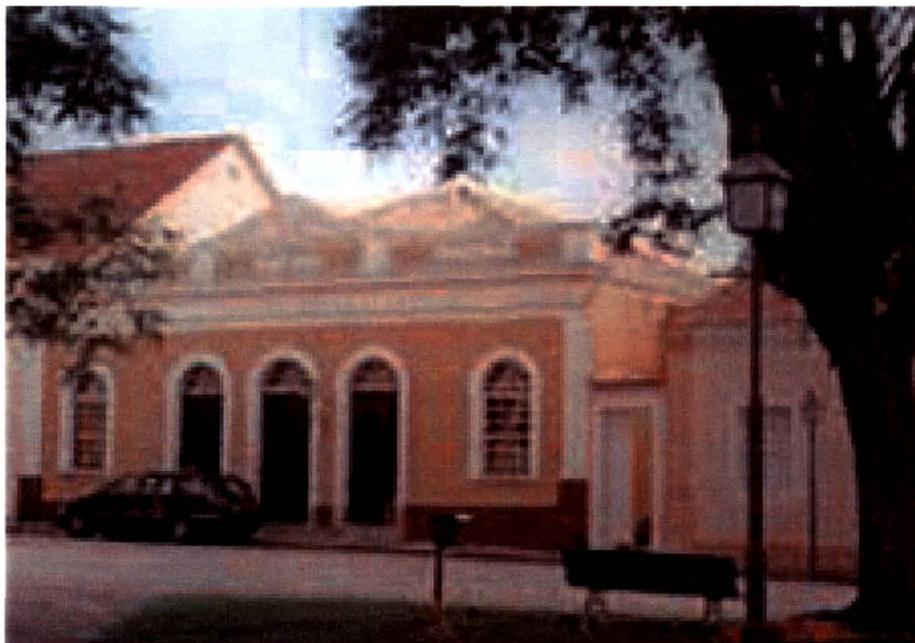
O arenito Vila Velha é uma formação arenítica depositada em ambiente periglacial durante o recuo das geleiras da glaciação Rio do Salto (Carbonífero Superior). Nota-se que a superfície do arenito é protegida por um enriquecimento em óxido hidratado de ferro, que torna a rocha mais resistente à erosão. O Arenito Vila Velha exhibe faixas paralelas imitando estratos que não correspondem à estratificação. São devidos à impregnação secundária com óxidos hidratados de ferro (BIGARELLA; LEPREVOST; BOLSANELLO, 1985).

2.7.1 Arenitos

POPP (1998) explica que arenitos (Psamitos) são os sedimentos mais abundantes na natureza. Podem ser definidos como toda a rocha cujos constituintes tenham tamanho entre 2 mm e 0,062 mm de diâmetro (segundo a escala de Wentworth). BIGARELLA, LEPREVOST e BOLSANELLO (1985) entendem que os arenitos formam-se em numerosos ambientes de sedimentação: marinho, lacustre, praias, estuarino, fluvial, eólico e periglacial. O quartzo é o componente predominante, por ser mais duro, resistente e estável quimicamente. Quando outros componentes entram na composição dos arenitos em quantidades apreciáveis, passam a denominar-se para-arenitos ou grauvacas, ou ainda, arenitos sujos (POPP, 1998). Embora o quartzo constitua o principal mineral, podem ocorrer, igualmente, feldspatos, mica e outros minerais. Os grãos podem estar cimentados por uma matriz argilosa, sílica, calcita ou óxido de ferro (BIGARELLA; LEPREVOST; BOLSANELLO, 1985).

2.7.2 O Theatro São João

FIGURA 1 - VISTA FRONTAL DO THEATRO SÃO JOÃO DA CIDADE DA LAPA (PR)



O Theatro São João está situado à rua Coronel Francisco Cunha s/n (figura 1). É considerada uma das mais preciosas peças arquitetônicas do acervo edificado da Lapa. De estilo neo-clássico, tem sido, ao longo dos últimos anos, erroneamente classificado como de “estilo elisabetano”. A classificação tipológica de um espaço cênico, porém, é estabelecida em função das características de seu palco que, no caso deste teatro segue a tradição italiana (LA PASTINA FILHO, 2001⁵). É um monumento de grande importância para a cultura do Paraná, em 1969 foi tombado pelo governo estadual e em 1984 pelo governo federal (LACERDA, 1980). Sua arquitetura segue as técnicas empregadas na época, com ênfase para a construção de pedra. É um tipo de construção na qual se faz uso da pedra, seja ela de forma irregular ou trabalhada, podendo ser ajustada pelo uso da argamassa, onde a areia e a cal são os principais ingredientes usados nas construções que ficavam longe do litoral (BIGARELLA; BLASI; BREPOHL, 1997).

No caso do Theatro São João, suas paredes foram construídas em blocos de arenito, retirados por mãos de trabalhadores escravos das rochas areníticas da região da Serra do Monge, situada a 3,5 km do teatro.⁶

⁵ LA PASTINA-FILHO, J. **Theatro São João**. Lapa, 2001. Não publicado.

⁶ Segundo informações do Departamento de Obras e Urbanismo da Prefeitura Municipal de Lapa, o Theatro São João passou por quatro reformas: 1929, 1950, 1976 e 1997. Porém, em nenhuma delas recebeu qualquer tipo de tratamento para conter ao intemperismo das paredes em arenito nu.

2.7.3 A Casa da Cultura (Biblioteca Pública), atual Memorial Ney Braga

FIGURA 2 - VISTA FRONTAL E LATERAL DA CASA DA CULTURA (BIBLIOTECA PÚBLICA) DA CIDADE DE LAPA (PR)



A Casa da Cultura está situada no “calçadão” da Rua XV de Novembro, Centro Histórico s/n. Foi construída em 1880, em estilo luso-brasileiro. Suas paredes são em estuque (também conhecido por “taipa de pilão”), sistema de construção empregado desde tempos imemoriais, ainda hoje usado em edificações rurais. Consiste na colocação de terra úmida comprimida entre tábuas planas móveis, retiradas após o escoamento da porção líquida, para em seguida serem repostas, até a construção total da parede do edifício projetado (BIGARELLA; BLASI, BREPOHL, 1997). Os pilares são em pedras areníticas da região (PINTO, 2002).

2.7.4 Aspectos Geográficos da Lapa

Os aspectos geográficos da Lapa, como o clima, o relevo e os solos são tratados nas subseções seguintes.

2.7.4.1 Clima

De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima da região da Lapa é do tipo **Cfb**, onde **C** representa climas pluviais temperados, nos quais a temperatura do mês mais frio entre 18°C e -3°C. O **f** indica um clima superúmido, com chuva em todos os meses do ano; **b** refere que a temperatura do mês mais quente é inferior a 22°C, mas no mínimo com quatro meses com temperatura superior a 10°C (IAPAR, 2000).

Conforme BIGARELLA, BLASI e BREPOHL (1997), a Lapa não dispõe de dados meteorológicos formais. O Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) mantém desde 1989 um ponto meteorológico na Estação Experimental da Lapa, na altitude de 917 m.

A estação meteorológica mais próxima localiza-se na cidade de Rio Negro, na altitude de 847m, onde a temperatura média anual é de 16,4°C, sendo a média das máximas de 23,4°C (na Lapa 23°C), e a média das mínimas 12,0°C (na Lapa 13°C). As temperaturas máxima e mínima registradas em Rio Negro foram respectivamente: 33,8°C (fev. 1932) e -7°C (10.08.1936).

De acordo com as Cartas Climáticas do IAPAR (2000), a precipitação anual média para a Lapa situa-se entre 1400 e 1600 mm. É uma pluviosidade considerada média, uma vez que em outras regiões do Paraná, pode chegar a 3500 mm. Porém, se comparada com outras regiões onde chove bem menos, pode ser considerada como um fator importante para aumentar o desgaste das rochas.

2.7.4.2 Relevo

De acordo com BIGARELLA, BLASI e BREPOHL (1997), na porção oriental do município a morfologia do terreno compreende um conjunto de mesas estruturais areníticas orientadas aproximadamente no sentido norte-sul e designadas como serras do Monge, do Palmital e do Ouro. Na área limítrofe com os terrenos do embasamento cristalino pré-cambriano encontram-se pequenas mesas e escarpas esculpidas em rochas areníticas. Na porção ocidental, ou onde o terreno é formado por

rochas predominantemente areno-sítico-argilosas, o relevo é colinoso, suave e moderadamente ondulado, tornando-se mais acidentado onde ocorrem camadas de arenito de idade carbonífero superior.

2.7.4.3 Solos

Alguns autores e entre eles BIGARELLA, BLASI e BREPOHL (1997), concordam que os solos que ocorrem na maior parte da região ao Sul da Lapa são de baixa fertilidade natural, com elevados teores de alumínio trocável, são pouco profundos e suscetíveis à erosão. Fazem parte de uma associação que ocorre entre Cambissolo Álico e Solos Neossolos Álicos ou Cambissolo em terrenos ondulados. Desenvolveram-se de materiais derivados da decomposição de folhelhos, silfitos e arenitos do Subgrupo Itararé, numa paisagem com altitudes entre 700 e 1000 m.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA EM ESTUDO

O experimento foi conduzido na parede lateral do Theatro São João e na parede do muro da Casa da Cultura (Biblioteca Pública). O teatro e o muro do casario estão situados na cidade de Lapa (PR), a 70 quilômetros de Curitiba. Essas áreas foram escolhidas pela importância histórica e pela facilidade de acesso e condução do experimento.

Os monumentos usados na pesquisa foram: Theatro São João e a Casa da Cultura (onde funcionava na época a Biblioteca Pública da Lapa), atual Memorial Ney Braga.

A parede do teatro e a parede do muro do casario onde se implementou os experimentos foram construídas com blocos de arenito à vista sendo que apresentavam manchas escuras indicativas de fungos e sinais de intemperismo.

3.2 LOCAIS DE REALIZAÇÃO DA PARTE EXPERIMENTAL

As análises microbiológicas deste trabalho foram realizadas no Laboratório de Biologia do Solo do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

As análises químicas (fluorescência de raios-X) e difratométrica de raios-X foram realizadas no Laboratório de Análise de Minerais e Rochas (LAMIR) do Departamento de Geologia do Setor de Ciências da Terra da UFPR.

A identificação dos fungos foi realizada no Laboratório de Coleção de Culturas de Fungos, no Instituto Oswaldo Cruz.

As fotomicrografias de varredura foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica do Setor de Ciências Biológicas da UFPR.

3.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Antes da implementação do experimento com biocidas realizou-se uma avaliação para verificação da microflora presente na rocha em estudo. Constou de análise visual procurando por possíveis eflorescências que indicavam a presença de sais, bem como da retirada de amostras para análise química da rocha.

3.3.1 Análise Química e Físico-química da Rocha

Com o objetivo de conhecer a composição química e mineralógica da rocha foram realizadas análises de fluorescência de raio-X e difração de raios-X.

3.3.1.1 Fluorescência de raios-X

A preparação da amostra foi feita da seguinte maneira:

Retirou-se uma alíquota de 50g da rocha em estudo. A amostra foi britada, quarteada e pulverizada. Separou-se 10g da amostra que foi colocada para secar em estufa por 3 horas a 100°C. Em seguida, pesou-se 0,9g da amostra e 9g de tetraborato de lítio. Misturou-se bem, colocou-se o material na fusora CLAISSE no programa 3 (10 minutos). A pérola resultante foi analisada em fluorescência de raios-X.

3.3.1.2 Difração de raios-X

A preparação da amostra foi feita da seguinte maneira:

Foi utilizada uma lâmina para esfregação, com um pouco da amostra (o suficiente para completar o espaço da lâmina). Com uma lâmina de vidro comum, dessas usadas em microscopia ótica, foi nivelada a amostra na lâmina de esfregação. Depois de nivelada, a lâmina foi analisada em Difratorômetro de raios-X.

3.3.1.3 Controle visual do efeito dos tratamentos

3.3.1.3.1 Controle visual no Theatro São João

Além do controle microbiológico para análise do efeito dos tratamentos aplicados, foi realizada uma avaliação visual. Antes da aplicação dos tratamentos, o bloco de arenito em estudo, apresentava manchas escuras, provenientes da melanina (pigmentação produzida pelos fungos escuros), além de várias irregularidades indicando perda de material pétreo e muitas reentrâncias colonizadas por microrganismos (figura 3). O grau de alteração (intemperismo) foi avaliado em médio.

FIGURA 3 - BLOCO DE ARENITO LOCALIZADO NO THEATRO SÃO JOÃO, ANTES DE RECEBER O TRATAMENTO COM OS BIOCIDAS



3.3.1.3.2 Controle visual no muro da Casa da Cultura

O bloco de arenito apresentava um aspecto melhor, se comparado com o do teatro. A quantidade de manchas escuras era bem menor. Entretanto, as manchas apresentavam evidências de colonização por fungos. Apesar de se encontrar à mercê das intempéries, o estado da rocha tinha uma aparência melhor, comparando-a com a rocha estudada no teatro. Foi possível constatar a presença de muitas irregularidades e reentrâncias, repletas de uma crosta escura denotando presença de microrganismos.

3.3.2 Implementação do Experimento: tratamento da rocha com os biocidas

Para a implementação do experimento as rochas foram tratadas com biocidas, conforme a seguinte descrição:

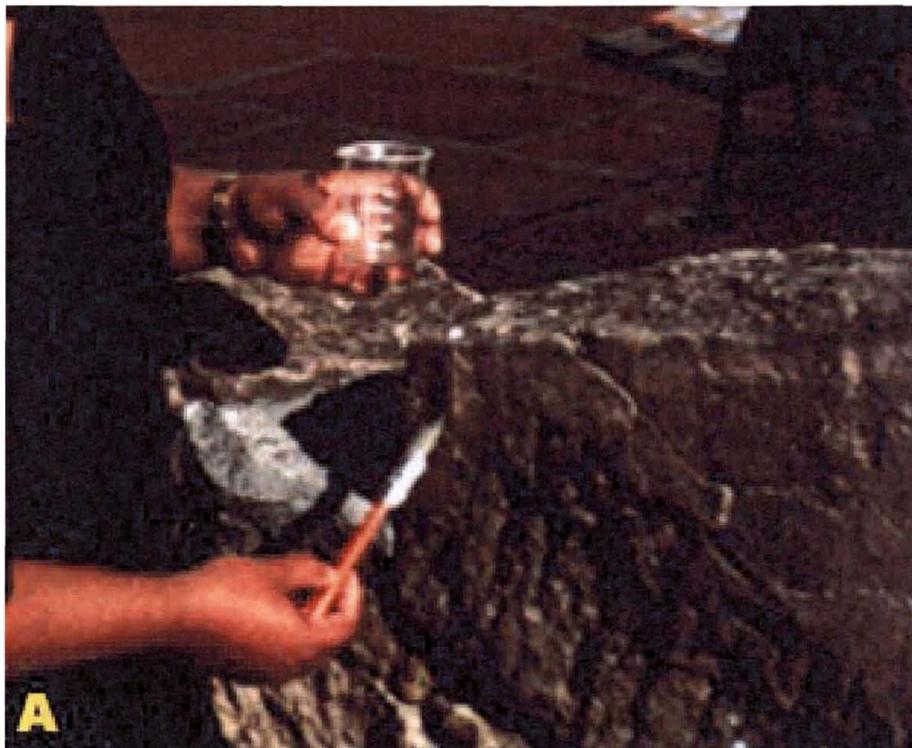
- a) biocidas utilizados: foram usadas soluções de sulfato de cobre (CuSO_4) e de zinco (ZnSO_4) em diferentes concentrações conforme descrito no item **c e d**;
- b) depois de escolhido o bloco em arenito da área em estudo para a implementação do experimento, riscou-se seis retângulos na rocha com o auxílio de um par de esquadros e de um lápis, na parede do teatro e sete retângulos na parede do muro, sendo que cada retângulo media 5cm x 12cm, equidistantes entre si 2cm, foi dividido em seis retângulos menores de 2cm cada um: os primeiros 2cm de cada retângulo foram denominados tempo zero, os quais foram raspados superficialmente com o auxílio de um bisturi (o material coletado foi acondicionado em tubos de ensaio esterilizados, etiquetados e, posteriormente, levados ao Laboratório de Biologia do Solo);

- c) a seguir, cada bloco de seis retângulos recebeu os tratamentos mediante sorteio, sendo que no teatro, os tratamentos ficaram assim distribuídos: T_1 = Solução de CuSO_4 2,5% + ZnSO_4 %; T_2 = Solução de CuSO_4 1,5% + ZnSO_4 2,5%; T_3 = Testemunha; T_4 = Solução de CuSO_4 5%; T_5 = Solução de ZnSO_4 5% e T_6 = Solução de CuSO_4 0,75% + ZnSO_4 2,5% ,conforme figura 4.
- d) na parede do muro da Casa da Cultura (biblioteca), foram utilizados os tratamentos: T_1 =Solução de CuSO_4 0,75 % + ZnSO_4 2,5 %; T_2 =Solução de CuSO_4 2,5 % + ZnSO_4 2,5 %; T_3 = =Solução de CuSO_4 5%; T_4 = Solução de CuSO_4 1,5 % + ZnSO_4 2,5 %; T_5 = Solução de CuSO_4 0,5 % + ZnSO_4 2,5 %; T_6 = Testemunha e T_7 =Solução de ZnSO_4 5%, conforme figura 5.

FIGURA 4 - ROCHA EM ARENITO DA PAREDE DO THEATRO SÃO JOÃO, APÓS RECEBER OS SEIS TRATAMENTOS



FIGURA 5 - MURO DA CASA DA CULTURA EM ARENITO, RECEBENDO TRATAMENTO COM BIOCIDAS



e) a aplicação das soluções foi realizada no dia 20 de outubro de 2001, com auxílio de pincéis, um para cada tratamento. Utilizaram-se 6 mL de cada solução para cada bloco, divididas em três etapas. Aplicaram-se 2 mL, esperou-se a superfície secar e repetiu-se o procedimento até perfazer o total de 6 mL, de cada solução numa área de 5cm por 12 cm ($0,12 \text{ mL/cm}^2$).

3.3.3 Análise do Efeito dos Tratamentos

Para a análise do efeito dos tratamentos foram observados os seguintes passos:

a) coleta de amostras: para a avaliar a eficácia dos tratamentos, procedeu-se à coleta de amostras no dia 21 de outubro de 2001, vinte e quatro horas (1d) após a aplicação dos biocidas, sendo que com auxílio de um bisturi foi raspada a superfície do arenito e o material coletado foi acondicionado

em tubos de ensaio previamente autoclavados, flambados, fechados com tampas rosqueáveis. Foram realizadas mais duas coletas, aos sete dias e aos 14 dias, repetindo-se o mesmo procedimento já descrito anteriormente. Todo o material coletado foi levado ao Laboratório de Biologia do Solo para posterior análise;

- b) determinação da população de fungos e bactérias: a eficácia de cada tratamento foi avaliada através de inoculações em meio de cultura para determinação da população de fungos e bactérias, foi utilizada a metodologia do “Número Mais Provável” (NMP) conforme WOOMER (1994), CARTER (1993) e SCHINNER (1996). Avaliaram-se as amostras coletadas aos 0, 1, 7 e 14 dias após os tratamentos, no Laboratório de Biologia do Solo da UFPR. Foram feitas diluições decimais em série até a diluição 10^{-6} . Para a diluição inicial foram transferidos 30 mg de rocha para um tubo de ensaio contendo 4 mL de solução salina (NaCl a 0,85%), diluição 10^{-2} ; desse tubo de ensaio foi retirado 1mL da solução e transferido para outro tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina (diluição 10^{-3}) e, assim, sucessivamente até formar a diluição 10^{-6} . Todas as diluições iniciais foram agitadas por 30 minutos a 100 rpm em agitador mecânico de movimentação circular. As diluições posteriores também foram agitadas para homogeneizar a suspensão antes de serem inoculadas;
- c) um mL de meio de cultura foi transferido para tubos de ensaio rosqueáveis e levado a autoclave para esterilização. Depois que estavam frios, foram arrumados em suportes para tubos de ensaio, em três fileiras de cinco tubos cada uma. Foram levados para a câmara de fluxo de ar vertical NUAIRE, modelo A/B3, onde foram inoculados;

- d) para a inoculação de fungos foram usadas as diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} e para as bactérias 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} . O meio de cultura preparado para os fungos recebeu a alíquota de 0,1 mL da diluição correspondente, depois de devidamente agitada. O mesmo procedimento foi adotado para as bactérias;
- e) os procedimentos de tomada e pesagem das alíquotas de solo, diluição decimal em série e inoculação em meio de cultura foram realizados em câmara de segurança biológica de fluxo laminar vertical;
- f) para os fungos foi utilizado o meio de Martin (MENZIES 1965), modificado como segue:
- 1000 mL de H₂O;
 - 1,0g de KH₂PO₄;
 - 0,5g de MgSO₄.7H₂O;
 - 5g de peptona;
 - 10g de sacarose;
 - 0,06g de rosa bengala;
 - 0,2g de estreptomicina;
- g) para as bactérias foi utilizado o meio de Martin (MENZIES 1965), modificado conforme segue:
- 1000 mL de H₂O destilada;
 - 1,0g de KH₂PO₄;
 - 0,5g de MgSO₄.7H₂O;
 - 5g de peptona;
 - 10g de glicose;
 - 0,04g de cicloheximida;
- h) depois de inoculados, os tubos foram fechados e incubados a 25°C durante sete dias, em estufa SHELL LAB modelo 2020. Após terem sido retirados da estufa, os tubos de ensaio sofreram leituras, que foram realizadas

observando-se o aspecto visual de cada tubo. Os tubos que no meio de cultura apresentaram uma aparência turva foram considerados positivos e aqueles cujo meio se mostrou límpido foram considerados negativos. Os dados das leituras foram compilados, e através da tabela de NMP proposta por COCHRAN (1950)⁷, citada por SCHINNER (1996), anexo 1, para uso da diluição decimal com 5 tubos por diluição. Assim, foram obtidos os valores das populações de fungos e bactérias. Os valores obtidos em cada leitura (Apêndices 1 e 2), de acordo com diluição, o valor tabelado de NMP (Anexo 1) e as correções da diluição em função da quantidade em gramas de rocha coletada (o cálculo inicial era 40 mg de rocha para 4 mL de solução salina e o valor pesado foi 30 mg de rocha para 4 mL de solução salina), conforme cálculo abaixo, deram origem a densidade populacional de fungos e bactérias.

$$NMP = P^b \times 1/P_2 \times 1/0,4 \times 1/0,1 \times 1/m$$

Onde:

P^b = Probabilidade - valor tabelado (Anexo 1)

P_2 = Diluição central

M = massa da amostra

Os valores 1/0,4 e 1/0,1 são fatores de correção. O primeiro refere-se à quantidade de água adicionada à amostra (-4 mL) e o segundo à alíquota utilizada em cada inoculação (0,1 mL).

⁷ COCHRAN, W. G. Estimation of bacterial densities by means of the "most probable number". *Biometrics*, v. 6, p. 105-116, 1950.

3.3.4 Identificação dos Fungos

Os tubos contendo as culturas com microrganismos permaneceram na estufa por sete dias. Foram retirados para a contagem do número de propágulos. Os tubos turvados que continham fungos foram plaqueados em meio de Martin (MENZIES, 1965) sólido. Utilizou-se o mesmo meio citado na subseção 3.3.3, acrescido de 15g de Agar. As placas foram levadas por sete dias à estufa para crescimento das colônias, conforme as figuras 6 e 7. Os fungos isolados destas placas foram repicados em tubos inclinados contendo Potato Dextrose Agar (PDA) e enviados ao Laboratório de Coleção de Culturas de Fungos do Instituto Oswaldo Cruz para identificação das espécies.

3.3.4.1 Procedimentos utilizados na identificação dos fungos pelo Instituto Oswaldo Cruz

Conforme a FUNDAÇÃO INSTITUTO OSWALDO CRUZ (2001), para identificação dos gêneros e espécies fúngicas, foram realizadas observações das características macroscópicas de cada fungo isolado. Fragmentos das colônias crescidas nos tubos de ensaio, foram transplantados com auxílio da alça de platina para placas de Petri, contendo 20 mL dos meios de cultura: PDA - Merck, Czapek Dox Agar (CZA) - Merck e Extract Malt Agar (EMA) - Merck, incubados em câmara climatizada tipo BOD com temperatura de 27°C, para reativação de suas características macromorfológicas e posterior identificação dos diversos gêneros, de acordo com os trabalhos de KENDRICK et al. (1980). A identificação foi confirmada através da preparação com fragmentos da colônia entre lâmina e lamínula juntamente com uma gota do corante Azul de algodão com Lactofenol (HAWKSWORTH, 1977). Foram examinados sob microscópio óptico NIKON modelo Labphot, com 400 vezes de aumento.

As características microscópicas para identificação das espécies, foram observadas através da técnica de microcultivo entre lâmina e lamínula (RIVALIER;

SYDEL, 1932). O material foi montado entre lâmina e lamínula com uma gota da solução de hidróxido de potássio (KOH) a 1% para os fungos filamentosos de pigmentação escura e o corante Lactofenol azul de algodão para os demais fungos filamentosos. A seguir, foram observados sob microscópio ótico com aumento de 400 vezes. A identificação das espécies foi realizada consultando os seguintes autores: ELLIS (1971, 1976) para os gêneros *Alternaria*; RAPER e FENNEL (1965); CHRISTENSEN e RAPER (1978) e CHISTENSEN (1981, 1982) para as espécies do gênero *Aspergillus*.

Todas as cepas identificadas foram preservadas nos seguintes métodos: bloco de ágar em água destilada estéril e óleo mineral Nujol (Shering-Plough) estéril.

3.3.4.2 Investigação em microscópio eletrônico de varredura

A contaminação da parte interior e superior das escamas da rocha contendo biofilme foram observadas e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura, PHILIPS SEM-505. As imagens foram obtidas por emissão de elétrons secundários.

3.3.4.3 Preparação das amostras

As amostras de arenitos selecionadas foram fixadas em solução de glutaraldeído 3% diluído em tampão cacodilato 0,2M por três horas. Receberam três lavagens de um minuto cada, com água destilada. Foram desidratadas da seguinte forma:

- a) álcool 50° - 15 minutos;
- b) álcool 70° - mínimo de 15 minutos;
- c) álcool 90° - 15 minutos;
- d) álcool 100° - 10 minutos;
- e) álcool 100° - 10 minutos.

A etapa seguinte foi a de fazer a desidratação do material em CO₂, no equipamento de Ponto Crítico, BALZERS CPD-010. Em seguida as amostras foram metalizadas no equipamento BALZERS SCD-030, recebendo um banho de ouro, com o intuito de tornar condutora a superfície a ser observada.

3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS

3.4.1 Fluorescência de Raios-X

A pérola citada na subseção 3.3.1.1, sofreu uma análise elementar pela fluorescência *X-ray fluorescence spectrometry* (XRF), técnica analítica usada para identificar e determinar a concentração de elementos químicos presentes em sólidos, amostras em pó e líquidas. A técnica XRF é capaz de medir todos os elementos químicos, de forma acurada, de berílio até urânio, além de medir traços dos elementos em partes por milhão (ppm). A análise é feita por comparação de padrões. Um computador controla todo o sistema, que é totalmente automático. Os resultados são emitidos em minutos e às vezes em segundos. Utilizou-se nesta pesquisa o equipamento PHILIPS modelo PW 2400.

3.4.2 Difração de Raios-X

A lâmina de esfregaço passou por uma caracterização mineralógica na difração de raios-x (*X-ray powder diffraction*), no Difractômetro PHILIPS, modelo PW 1830. A difração dos raios-X, uma versátil técnica analítica não destrutiva para identificação e quantificação de várias formas cristalinas, conhecidas como “fases” de componentes presentes em amostras sólidas ou em pó. As estruturas cristalinas são caracterizadas por possuírem um arranjo atômico sistemático e periódico nas suas três dimensões. Como cada cristal possui planos de arranjo atômico separados por distâncias constantes e características da espécie mineral, conhecendo-se

essas medidas é possível a identificação do mineral (KIEHL, 1979). A lâmina com o esfregaço foi colocada no aparelho. Fez-se incidir um feixe de raios-X na amostra, a qual girou lentamente em volta do eixo da câmara de difração. Como consequência, os raios emergentes dos diferentes planos refletoras do cristal, com diferentes valores do ângulo deram uma coleção de cones coaxiais, que foram registrados por um detector na forma de gráficos, denominados difratogramas. O número e a distância dos arcos permitem identificar o mineral através de comparações. O computador dispõe de uma biblioteca (*software*) com mais de 14 mil componentes (padrões de identificação), para comparar com a amostra e identificá-la.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ROCHA

Para a caracterização da rocha foi realizada a fluorescência e a difração de raios-X conforme descrito nas subseções 4.1.1 e 4.1.2.

4.1.1 Fluorescência de Raios-X

A fluorescência de raios-X foi realizada para confirmar se a rocha em estudo era mesmo um arenito e para verificar a porcentagem de óxidos presentes que em futuros estudos de acompanhamentos dos tratamentos efetuados podem indicar se os fungos e bactérias continuam intemperizando a rocha.

Os resultados obtidos com a fluorescência de raios-X se encontram nas tabelas 1A e 1B.

Encontrou-se 53,23% de óxido de sílica, resultado esperado, uma vez que o quartzo predomina em arenitos e 28,46% de óxido de alumínio. Os resultados confirmam a literatura que afirma serem os solos da Lapa extremamente ricos em sílica e alumínio trocável (BIGARELLA; BLASI; BREPHOL, 1997).

TABELA 1A - RESULTADOS DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X

ÓXIDOS	%
SiO ₂	53,23
Al ₂ O ₃	28,46
TiO ₂	1,5
Fe ₂ O ₃	3,46
MnO	0,02
CaO	0,3
Na ₂ O	0,7
K ₂ O	0,87
P ₂ O ₅	0,09
MgO	0,51
TOTAL	89,59

TABELA 1B - RESULTADOS DA FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X

ELEMENTOS	TRAÇOS (ppm)
Cu	<1
Rb	26
Sr	51
Y	16
Zr	250
Nb	19
Ba	1009

Os resultados da análise química e físico-química confirmaram a observação visual. Não evidenciaram presença de sulfatos e nem de nitratos. Estes resultados permitiram direcionar a investigação microbiológica para fungos e bactérias heterótrofas.

Os arenitos da Lapa caracterizam-se por apresentarem elevados teores de sílica, têm como granulometria principal a areia que de acordo com a escala de Wentworth, possuem diâmetro entre 1/6 mm até 2 mm, sendo por isso considerado um psamito. Sua matriz é constituída de silte e argila. Por possuírem óxido de ferro em seu cimento, apresentam uma coloração avermelhada. Possuem dureza aproximadamente igual a 7,0. A estrutura é plana e paralela e a origem é elástica. Os resultados da fluorescência de raios-X confirmaram que a rocha em estudo no muro da Casa da Cultura é um arenito.

Não foi possível caracterizar a rocha da parede do Theatro São João porque era necessário retirar 50 g de material pétreo e isto não foi autorizado pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN).

4.1.2 Difração de Raios-X

A difração de raios-X foi realizada para verificar o mineral mais abundante na amostra. De acordo com o difratograma obtido e mostrado no Apêndice 1, predominou o quartzo na amostra. Os resultados da difração aos raios-X oriundos da

amostra do muro da Casa da Cultura corroboraram com os resultados da fluorescência aos raios-X. Não foi realizada esta técnica no Theatro São João porque o procedimento não foi autorizado pelo IPHAN.

4.2 IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS

4.2.1 Fungos Isolados no Theatro São João

De acordo com o laudo fornecido pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC), as amostras oriundas do Theatro São João continha apenas o fungo *Aspergillus fumigatus* (figura 6 e anexo 3). Uma pesquisa realizada por ORTEGA-MORALES et al. (2001), em monumentos ao sul do México, também isolou e identificou *A. fumigatus*. Pesquisadores como HIRSCH, ECKHARDT e PALMER (1995), trabalharam isolando fungos em arenitos na Alemanha e também identificaram o *A. fumigatus*.

FIGURA 6 - FUNGOS ISOLADOS E REPICADOS EM MEIO DE MARTIN (MENZIES, 1965)



4.2.1.1 Descrição da colônia do gênero *Aspergillus*

Possui micélio septado e hialino, os conídios são produzidos em cabeças conidiais especializadas, presas por um conidióforo usualmente não septado. O conidióforo expande no ápice formando a vesícula em cuja superfície estão as fiálides e métulas que são produzidas simultaneamente (ALEXANDER, 1980).

As colônias *do Aspergillus fumigatus* possuem uma série de fiálides agrupadas sem métulas intermediárias, sem peritécios. Em princípio a colônia é quase incolor. Também podem se apresentar azuladas, verdes e cinza escuro. Os conidióforos são lisos e os conídios redondos. Cabeça conidial completamente colunar (RAPER; FENNEL, 1965).

4.2.2 Fungos Isolados do Muro da Casa da Cultura

O IOC identificou como *Alternaria alternata* e *A. fumigatus* os fungos isolados das amostras retiradas do muro da Casa da Cultura (figuras 7, 8 e 9). Este fungo também foi isolado de monumentos em Alcalá de Henares por GOMEZ-ALARCON et al. (1995). BECKER et al. (1994), investigando microrganismos no Complexo do Caraça em Minas Gerais também isolaram *Alternaria sp.* GARGIA e MARTIN (1996) isolaram microrganismos na Catedral Pamplona (Espanha), dos 24 fungos que encontraram um era a *Alternaria alternata*.

FIGURA 7 - FUNGOS ISOLADOS DAS AMOSTRAS COLETADAS APÓS OS TRATAMENTOS COM BIOCIDAS, SETE DIAS APÓS O PLAQUEAMENTO EM MEIO DE MARTIN (MENZIES, 1965)



FIGURA 8 - COLÔNIA DE *ALTERNARIA ALTERNATA* ISOLADA DO MURO DA CASA DA CULTURA

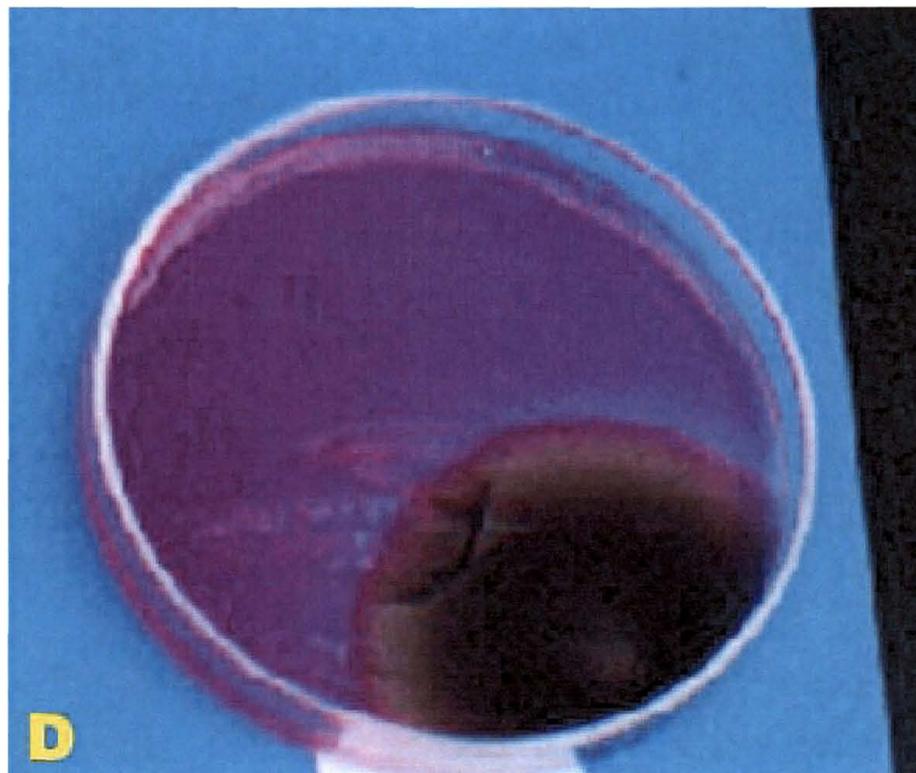


FIGURA 9 - COLÔNIAS DE *ASPERGILLUS FUMIGATUS* ISOLADAS DA TESTEMUNHA DO MURO DA CASA DA CULTURA



4.2.2.1 Descrição da colônia

As colônias são escuras, verde ou cinza. Os conidióforos são separados e não estão organizados em conidomas. As hifas e os conídios apresentam coloração escura. O aspecto da colônia é pulverulento.

4.3 RESULTADOS DO CONTROLE VISUAL

4.3.1 Avaliação Visual Realizada na Parede do Theatro São João

Os resultados obtidos com a avaliação visual se encontram na Tabela 2 e Apêndice 1. Foram feitas observações sistemáticas um e catorze dias após a aplicação dos tratamentos. As variações observadas e baseadas na mudança de coloração foram

classificadas em: sem variação (SV), pequena variação (PV), média variação (MV) e grande variação (GV):

- a) pequena variação: houve mudança na coloração escura para um tom de escuro acinzentado;
- b) média variação: houve mudança da coloração escura para um tom cinza intermediário;
- c) grande variação: a rocha ficou “limpa”, quase desapareceu o tom escuro observado antes da aplicação do tratamento.

TABELA 2 - RESULTADO DO CONTROLE VISUAL REALIZADO NO THEATRO SÃO JOÃO

THEATRO SÃO JOÃO	TRATAMENTO	VARIACÃO OBSERVADA	
		1º dia	14º dia
A1	CuSO ₄ 2,5%+ZnSO ₄ 2,5%	PV	GV
A2	CuSO ₄ 1,5%+ZnSO ₄ 2,5%	PV	MV
A3	Testemunha	SV	SV
A4	CuSO ₄ 5%	PV	GV
A5	ZnSO ₄ 5%	PV	GV
A6	CuSO ₄ 0,75%+ZnSO ₄ 2,5%	PV	MV

NOTA: PV= Pequena variação; SV= Sem variação; MV= Média variação; GV= Grande variação.

Os resultados da avaliação visual demonstraram que as maiores variações ocorreram nos locais onde foram aplicados os tratamentos 1 (CuSO₄ 2,5%+ ZnSO₄ 2,5%), 4 (CuSO₄ 5%) e 5 (ZnSO₄ 5%). Avaliações realizadas 90 dias após a aplicação dos tratamentos mostraram que as manchas escuras haviam retornado, indícios de uma reinfestação dos microrganismos.

4.3.2 Avaliação Visual Realizada no Muro da Casa da Cultura

Os resultados obtidos com as observações no muro da Casa da Cultura estão na Tabela 3. No primeiro dia após a aplicação dos tratamentos, poucas mudanças

foram observadas. Os locais que apresentaram os melhores resultados foram os que receberam tratamento 1 (CuSO_4 0,75% + ZnSO_4 2,5%), 2 (CuSO_4 2,5% + ZnSO_4 2,5%), 3 (CuSO_4 5%) e 7 (ZnSO_4 5%). Estes resultados permitiram uma avaliação parcial do efeito dos tratamentos. A análise microbiológica complementou o controle para avaliação do efeito dos tratamentos. Avaliações realizadas 90 dias após a aplicação dos tratamentos mostraram as manchas escuras reapareceram. Este fato sugere que embora o sulfato de cobre e de zinco apresente bons resultados para o controle de fungos e bactérias, há necessidade de avaliações constantes e reaplicações do produto de acordo com as necessidades. Pesquisadores que trabalharam com o sulfato de cobre em monumentos recomendam novas aplicações a cada dois ou três anos, conforme o caso (RESENDE, 2002).

TABELA 3 - RESULTADO DO CONTROLE VISUAL REALIZADO NO MURO DA CASA DA CULTURA

CASA DA CULTURA	TRATAMENTO	VARIACÃO		OBSERVADA	
		1º dia		14º dia	
B1	CuSO_4 0,75%+ ZnSO_4 2,5%	PV		GV	
B2	CuSO_4 2,5%+ ZnSO_4 2,5%	PV		GV	
B3	CuSO_4 5%	PV		GV	
B4	CuSO_4 1,5+ ZnSO_4 2,5%	PV		MV	
B5	CuSO_4 0,5%+ ZnSO_4 2,5%	PV		MV	
B6	Testemunha	SV		SV	
B7	ZnSO_4 5%	PV		GV	

NOTA: PV= pequena variação; SV= Sem variação; MV= Média variação; GV= Grande variação.

4.4 EFEITO DOS TRATAMENTOS NA POPULAÇÃO DE FUNGOS E BACTÉRIAS

4.4.1 No Theatro São João

4.4.1.1 Efeito dos tratamentos sobre a população de bactérias

Os resultados da avaliação da população de bactérias são mostrados na Tabela 4. Estes resultados foram corrigidos tendo por base TFSA⁸, a diluição e o peso da amostra.

TABELA 4 - RESULTADOS OBTIDOS NO CONTROLE DA POPULAÇÃO DE BACTÉRIAS, APÓS A APLICAÇÃO DOS SEIS TRATAMENTOS NO THEATRO SÃO JOÃO, EM FUNÇÃO DO TEMPO EM DIAS

TEMPO (d)	TRATAMENTOS					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
	UFC 10 ⁶ .g ⁻¹					
0	1,8	1,1625	1,6125	2,5875	1,3125	1,9875
1	0,96	0,6	1,275	0,225	0,15	0,135
7	0,66	0,30375	1,6125	0,4575	0,15	1,425
14	0,75375	0,31875	1,24125	0,29625	0,29625	0,57375

NOTAS: T₁= CuSO₄2,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₂= CuSO₄ 1,5% + ZnSO₄ 2,5% ; T₃= Testemunha; T₄= CuSO₄ 5%; T₅= ZnSO₄ 5% e T₆= CuSO₄ 0,75% + ZnSO₄ 2,5%.

*UFC (unidade formadora de colônias).

⁸ A amostra de terra natural é secada ao ar ou em estufa a 50°C e depois pesada para se obter a massa total; a amostra é socada. Posteriormente passada em peneira ASTM n.º 10, de tela com malhas de 2 mm de abertura, o material que passar pela tamis (malha) é considerado terra fina seca ao ar, representado pelas letras TFSA (KIEHL, 1979).

Observando os dados da Tabela 4, verifica-se que a menor densidade populacional das bactérias antes de receber o tratamento com as substâncias biocidas, estava na parte do experimento que recebeu o tratamento 2 (solução de sulfato de cobre 1,5%+ sulfato de zinco 2,5%), no qual foi observado $1,1 \times 10^6$ da Unidade Formadora de Colônias (UFC) por grama de rocha. Este valor foi superior ao menor valor encontrado por BECKER et al. (1994), entre 9×10^2 a $6,9 \times 10^5$ UFC por grama de rocha. Porém, maior densidade populacional de bactérias, $2,5 \times 10^6$ UFC por grama de rocha.

As densidades populacionais bacterianas apresentaram grande variabilidade (Tabela 4). Destacaram-se os locais que receberam os tratamentos 2 (sulfato de cobre 1,5% mais sulfato de zinco 2,5%) e o tratamento 4 (sulfato de cobre 5%). Uma das explicações possíveis para essas variações reside no seguinte fato: ao se agitar as suspensões para fazer as diluições, células podem ser destruídas e não germinarão. Outras vezes, por mais que se tome cuidado, os esporos bacterianos poderão ficar aderidos às paredes dos tubos de ensaio e não germinarão.

TABELA 5 - EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A POPULAÇÃO DE BACTÉRIAS QUATORZE DIAS APÓS A APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS

TEMPO (d)	TRATAMENTO	*UFCx10 ⁵ .g ⁻¹	DECLÍNIO %
14	T ₁	7,5	58
14	T ₂	3,1	72
14	T ₃	12,4	23
14	T ₄	2,9	88
14	T ₅	2,9	77
14	T ₆	5,7	71

NOTAS: T₁=CuSO₄ 2,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₂=CuSO₄ 1,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₃=Testemunha; T₄= CuSO₄ 5%; T₅ = ZnSO₄ 5% e T₆= CuSO₄ 0,75% + ZnSO₄ 2,5%.

*UFC = Unidade Formadora de Colônias

A Tabela 5 e o Apêndice 2 apresentam o declínio da população bacteriana em porcentagens. Observa-se que o melhor resultado para controlar a densidade populacional das bactérias foi obtido pelo tratamento 4 (solução de sulfato de cobre 5%). Antes da aplicação do tratamento a população bacteriana era de $2,5 \times 10^6$ UFC por grama de rocha e, foi reduzida para $0,2 \times 10^6$ UFC por grama de rocha (Tabela 4), o que representou um declínio de 88% da população de bactérias (Tabela 5). O sulfato de cobre e outros metais pesados, quando em solução forma íons que se combinam com as proteínas celulares bacterianas, causando sua desnaturação. Os sais de metais pesados são também precipitantes de proteínas e, em elevadas concentrações podem causar morte da célula (PELCZAR; REID; CHAN, 1980).

O tratamento 5 (solução de sulfato de zinco 5%), também apresentou um bom controle para a população de bactérias que antes da aplicação do tratamento era de $1,3 \times 10^6$ UFC por grama de rocha e passou para $0,2 \times 10^6$ UFC por grama de rocha (Tabela 4). O declínio da foi de 77% (Tabela 5). O tratamento 2 (solução de sulfato de cobre 1,5% mais sulfato de cobre 2,5%) também se mostrou eficiente pois reduziu a população bacteriana de $1,1 \times 10^6$ UFC para $0,3 \times 10^6$ UFC por grama de rocha. Os resultados obtidos no controle visual foram semelhantes aos obtidos na análise microbiológica. Para decidir qual dos tratamentos deve ser aplicado para controlar o crescimento de bactérias sobre a parede do Theatro São João outros fatores devem ser considerados, por exemplo:

- a) para obter resultados mais eficientes, a população de bactérias deve atingir valores entre 10^3 e 2×10^3 UFC por grama de rocha, valores que segundo ORIAL e MARIE-VICTORIE (1997), correspondem ao biotipo normal de rochas para bactérias quimiorganotróficas, isto sugere que os tratamentos devem ser repetidos;
- b) que o cobre e o zinco são recursos naturais e devem ser usados com parcimônia;

- c) que o cobre e o zinco quando diluídos formam íons que podem comprometer a rede cristalina da rocha e, portanto devem ser usados de acordo com a teoria oligodinâmica;
- d) que o cobre e o zinco são substâncias biocidas, e, se forem usadas em doses excessivas podem causar desequilíbrio ambiental.

Em estudo realizado na Catedral Pamplona sobre o intemperismo em rochas de monumentos associados a microrganismos, GARCIA e MARTIN (1996), encontraram $4,4 \times 10^6$ unidades formadoras de colônias de fungos por grama de rocha. Uma pesquisa realizada no Sul do México por ORTEGA-MORALES et al. (2001) em arenitos de monumentos históricos encontrou populações de fungos variando entre 10^2 e 10^5 unidades formadoras de colônias por grama de rocha. HIRSCH, ECKHARDT e PALMER (1995) estudaram fungos em arenitos de monumentos na Alemanha, encontraram uma população de $1,6 \times 10^4$ UFC por grama de rocha. BECKER et al. (1994) fizeram um estudo no Complexo do Caraça em Minas Gerais usando solução de sulfato de cobre 1,5% para controlar a população de fungos. Conseguiram uma redução da densidade populacional em 95%.

4.4.1.2 Efeito dos tratamentos sobre a população de fungos

A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos com os tratamentos usados no controle da população de fungos. Os valores apresentados em UFC foram corrigidos considerando TFSA, a diluição usada e o peso da amostra. Nota-se uma variação na densidade populacional dos fungos. A menor população foi encontrada no local que recebeu o tratamento 4 (solução de sulfato de zinco 5%), com $1,7 \times 10^4$ UFC por grama de rocha e a maior densidade populacional encontrada foi 137×10^4 UFC por grama de rocha, no local onde foi aplicado o tratamento 1 (solução de sulfato de cobre 2,5% mais sulfato de zinco 2,5%). Os valores encontrados para as populações fúngicas são superiores aos valores encontrados por HIRSCH et al. (1995) que estudando arenitos na Alemanha encontrou $1,6 \times 10^4$ UFC por grama de rocha, porém, foram

semelhantes aos valores obtidos por BECKER et al. (1994) que em estudos conduzidos na Catedral de Aachen (Alemanha) encontrou populações fúngicas variando entre $1,8 \times 10^3$ a $1,9 \times 10^5$ por grama de rocha.

TABELA 6 - RESULTADOS OBTIDOS NO CONTROLE DA POPULAÇÃO DE FUNGOS, APÓS A APLICAÇÃO DOS SEIS TRATAMENTOS NO THEATRO SÃO JOÃO

TEMPO (d)	TRATAMENTOS					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
	UFC $10^4 \cdot g^{-1}$					
0	137,625	3,6	1,9875	1,725	6,375	9,375
1	0,34875	0,42	1,9875	0,6	0,3675	0,42375
7	1,27875	0,4575	1,9875	0,4575	2,4	2,775
14	0,37875	0,355	2,1	0,4725	0,6	0,67875

NOTAS: T₁= CuSO₄ 2,5% + ZnSO₄ 2,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₂= CuSO₄ 1,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₃= Testemunha;

T₄= CuSO₄ 5%; T₅= ZnSO₄ 5% e T₆= CuSO₄ 0,75% + ZnSO₄ 2,5%.

* UFC = (Unidade Formadora de Colônia).

As densidades populacionais fúngicas apresentaram diferenças antes da aplicação dos tratamentos. Merecem destaques os locais que receberam o tratamento 5 (solução de sulfato de zinco 5%), o tratamento 2 (solução de sulfato de cobre 1,5% mais sulfato de zinco 2,5%) e o tratamento 6 (solução de sulfato de cobre 0,75% mais sulfato de zinco 2,5%) e o tratamento 1 (solução de sulfato de cobre 2,5% mais sulfato de zinco 2,5%). Essas variações podem ser explicadas da mesma forma que foram explicadas as variabilidades bacterianas. Os fungos presentes nas rochas podem apresentar formas vegetativas (as hifas) ou esporos. É possível que algumas hifas tenham sido destruídas ao se agitar as suspensões, antes de proceder às inoculações e por isso não germinaram. É possível também que em algumas inoculações os esporos tenham aderido às paredes dos tubos de ensaio e não germinaram.

A Tabela 7 apresenta em porcentagem os valores obtidos para o declínio ou aumento da população de fungos, 14 dias após a aplicação dos tratamentos.

TABELA 7 - EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A POPULAÇÃO DE FUNGOS

TEMPO (d)	TRATAMENTO	*UFCx10 ³ .g ⁻¹	DECLÍNIO %	AUMENTO %
14	T ₁	3,7	98	
14	T ₂	3,5	88	
14	T ₃	21	0	5,6
14	T ₄	4,7	72	
14	T ₅	6	85	
14	T ₆	6,7	92	

NOTAS: T₁= CuSO₄ 2,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₂= CuSO₄ 1,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₃= Testemunha; T₄=ZnSO₄ 5%; T₅= CuSO₄; T₆= CuSO₄ 0,75% + ZnSO₄ 2,5%.

Ao se observar a Tabela 6, verifica-se que o tratamento 1 (solução de sulfato de cobre 2,5% mais sulfato de zinco 2,5%) foi o que melhor controlou a população de fungos no Teatro São João. A Tabela 7 mostra que após receber o tratamento a densidade populacional dos fungos declinou 98%. Os tratamentos 2, 5 e 6 também se mostraram eficientes. Entretanto, a decisão quanto ao tratamento mais indicado para controlar a população fúngica deve levar em consideração, além dos fatores observados na discussão para a população de bactérias o fato de que fungos e bactérias se encontram juntos no mesmo biofilme, formando o mesmo nicho ecológico e, portanto, o produto que as controlar deve controlar também a população de bactérias. Por considerar:

- a) que o tratamento 2 apresentou um bom controle para fungos 88% e um bom controle para bactérias 72%;

b) que os tratamentos devem que ser repetidos para baixar a densidade populacional dos microrganismos à níveis que não causem danos à rocha, é possível que o tratamento 2 seja o melhor indicado para controlar fungos e bactérias quimiorganotróficas nas paredes do Theatro São João.

4.4.2 No Muro da Casa da Cultura

4.4.2.1 Efeito dos tratamentos sobre a população de bactérias

Os resultados obtidos com os tratamentos com os sulfatos de cobre e de zinco estão na Tabela 8.

TABELA 8 - RESULTADOS OBTIDOS NO CONTROLE DA POPULAÇÃO DE BACTÉRIAS, APÓS A APLICAÇÃO DOS SETE TRATAMENTOS NO MURO DA CASA DA CULTURA

TEMPO (d)	TRATAMENTOS						
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	UFC 10 ⁶ .g ⁻¹						
0	4,5375	2,2125	1,1625	1,125	1,725	0,9375	1,8
1	0,285	0,285	0,6	0,6	1,9875	0,9375	0,135
7	0,135	0,1425	0,3375	0,3375	0,29625	0,9375	0,1425
14	0,1425	0,15	0,1425	0,1425	0,15	1,05	0,225

NOTAS: T₁= CuSO₄ 0,75% + ZnSO₄ 2,5%; T₂= CuSO₄ 2,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₃= CuSO₄ 5%; T₄=CuSO₄ 1,5% + ZnSO₄ 1,5%; T₅= CuSO₄ 0,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₆= Testemunha; T₇= ZnSO₄ 5%.

*UFC = Unidade formadora de colônia.

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos com os tratamentos sulfato de cobre e de zinco sobre a população de bactérias. Antes dos tratamentos a menor densidade populacional de bactérias era de 0,9 x 10⁶ UFC e a maior densidade populacional era de 4,5 x 10⁶ UFC por grama de rocha, valor superior aos valores

encontrados nas amostras do Theatro São João (Tabela 5). Segundo DUCHAUFOR (1979),⁹ citado por BIGARELLA, BLASI e BREPHOL (1997) é provável que pelo fato da rocha em estudo se encontrar ao ar livre sofre influência das chuvas carregadas de gás carbônico o que acarreta o desagregamento da rede cristalina da rocha, e em consequência fornece nutrientes para as bactérias. Este fato contribuiu para este resultado. Por outro lado as rochas ao ar livre também estão sujeitas a receberem matéria orgânica oriunda da poluição do ar, de excremento de pássaros, entre outros, que podem contribuir para o aumento da densidade populacional das bactérias.

TABELA 9 - EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A POPULAÇÃO DE BACTÉRIAS

TEMPO (d)	TRATAMENTO	*UFCx10 ⁵	DECLÍNIO %	AUMENTO %
14	T ₁	1,4	96	
14	T ₂	1,5	32	
14	T ₃	1,4	87	
14	T ₄	1,4	87	
14	T ₅	1,4	91	
14	T ₆	10,5		12
14	T ₇	1,5	87	

NOTAS: T₁= CuSO₄ 0,75% + ZnSO₄ 2,5%; T₂= CuSO₄ 2,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₃= CuSO₄ 5%; T₄= CuSO₄ 1,5% + ZnSO₄ 1,5%; T₅= CuSO₄ 0,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₆= Testemunha; T₇= ZnSO₄ 5%.

*UFC = Unidade formadora de colônia.

A Tabela 9 apresenta o declínio e o aumento da densidade populacional das bactérias em porcentagem. Os melhores resultados para controlar a população de

⁹ DUCHAUFOR, P. Pédogênese et classification. In: DUCHAUFOR, P.; SOUCHIER, B. Pédologie, 1979. v. 1.

bactérias foram obtidos pelos tratamentos 1 (solução de sulfato de cobre 0,75% mais sulfato de zinco 2,5%), controle de 96%, 5 (solução de sulfato de cobre 0,5% mais sulfato de zinco 2,5%), controle de 91%, o tratamento 3 (solução de sulfato de cobre 5%), controle 87%, 4 (solução de sulfato de cobre 1,5% mais sulfato de zinco 2,5%), controle de 87% e 7 (solução de sulfato de zinco 5%), controle de 87%. A densidade populacional do tratamento testemunha apresentou um aumento de 12%. Os resultados obtidos na análise microbiológica confirmaram aqueles obtidos com o controle visual.

Dentre os tratamentos aplicados para controle bactérias no muro da Casa da Cultura merece destaque o tratamento 1 (solução de sulfato de cobre 0,75% + sulfato de zinco 2,5%). Antes da aplicação do tratamento havia $4,5 \times 10^6$ UFC colonizando cada grama de rocha. O tratamento reduziu a densidade populacional para $1,4 \times 10^6$ UFC por grama de rocha, com uma eficiência de 96%.

4.4.2.2 Efeito sobre a população de fungos

A Tabela 10 mostra os resultados obtidos com os tratamentos usados para controle população de fungos no muro da Casa da Cultura. As densidades populacionais fúngicas apresentaram bastante variabilidade. A menor densidade populacional foi constatada no local que recebeu o tratamento 5 (solução de sulfato de cobre 0,5% mais sulfato de zinco 2,5%) e verificou-se que a maior densidade populacional ocorreu no local que recebeu o tratamento 2 (sulfato de cobre 2,5% mais sulfato de zinco 2,5%), que foram respectivamente, $0,7 \times 10^4$ e 11×10^4 UFC por grama de rocha.

TABELA 10 - RESULTADOS OBTIDOS NO CONTROLE DA POPULAÇÃO DE FUNGOS, APÓS A APLICAÇÃO DOS SETE TRATAMENTOS NO MURO DA CASA DA CULTURA

TEMPO (d)	TRATAMENTOS						
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	UFC 10 ⁴ .g ⁻¹						
0	2,925	11,1375	1,05	1,3875	0,705	0,9375	1,7625
1	0,4575	0,27	1,1625	2,5875	1,95	0,9375	0,1425
7	0,225	0,1425	0,34125	0,75	0,1425	0,9375	0,37875
14	0,135	0,15	0,15	0,15	0,15	0,9375	0,225

NOTAS: T₁= CuSO₄ 0,75% + ZnSO₄ 2,5%; T₂= CuSO₄ 2,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₃= CuSO₄ 5%; T₄=CuSO₄ 1,5% + ZnSO₄ 1,5%; T₅= CuSO₄ 0,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₆= Testemunha; T₇= ZnSO₄ 5%.

*UFC = Unidade formadora de colônia.

Os valores encontrados para a população de fungos no muro da Casa da Cultura são superiores aos valores encontrados no Theatro São João, exceto no local onde foi aplicado o tratamento 1 (Tabela 8). Autores como RESENDE (1997), sustentam que é comum encontrar na superfície de rochas e de monumentos densidades populacionais fúngicas entre 10⁴ a 10⁶ UFC por grama de rocha.

Os melhores resultados para o controle dos fungos foram obtidos pelos tratamentos 1 (solução de sulfato de cobre 0,75% mais sulfato de zinco 2,5%), 2 (solução de sulfato de cobre 2,5% mais sulfato de zinco 2,5%) e 3 (solução de sulfato de cobre 5%). Estes resultados confirmaram as observações visuais.

A Tabela 11 apresenta o declínio e a estabilização da população fúngica em porcentagens. Verificou-se que o tratamento 2 promoveu a queda da população fúngica em 98%; o tratamento 1 apresentou o segundo melhor resultado com 95% de declínio da população; o tratamento 4 reduziu a população em 89% e os tratamentos 3 e 7 apresentaram valores próximos 85 e 87%, respectivamente. Observou-se que os tratamentos foram mais eficientes para fungos do que bactérias. As formas vegetativas dos microrganismos são mais suscetíveis aos produtos químicos. Nas espécies

esporuladas são muito mais sensíveis. Os esporos bacterianos são mais resistentes que qualquer outro organismo vivo em sua capacidade de sobreviver sob condições químicas adversas (PELCZAR; REID; CHAN, 1980).

TABELA 11 - EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A POPULAÇÃO DE FUNGOS

TEMPO (d)	TRATAMENTO	*UFCx10 ³	DECLÍNIO %	ESTABILIZAÇÃO
14	T ₁	1,3	95	
14	T ₂	1,5	98	
14	T ₃	1,5	85	
14	T ₄	1,5	89	
14	T ₅	1,5	78	
14	T ₆	9,3	0	100
14	T ₇	2,2	87	

NOTAS: T₁= CuSO₄ 0,75% + ZnSO₄ 2,5%; T₂= CuSO₄ 2,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₃= CuSO₄ 5%; T₄= CuSO₄ 1,5% + ZnSO₄ 1,5%; T₅= CuSO₄ 0,5% + ZnSO₄ 2,5%; T₆= Testemunha; T₇= ZnSO₄ 5%.

*UFC = Unidade formadora de colônia.

Constatou-se que dentre os tratamentos utilizados vários se mostraram eficientes no controle da população fúngica. Não obstante, os tratamentos devem ser repetidos até que o número de UFC de fungos e bactérias presentes na rocha não provoque danos na mesma. Para escolher o tratamento que pode ser usado no muro da Casa da Cultura, sugere-se os mesmos procedimentos já discutidos para o Theatro São João. Sendo assim, sugere-se o tratamento 1 (solução de sulfato de cobre 0,75% mais sulfato de cobre 2,5%), pensando na otimização do uso do produto.

O uso de metais pesados como, por exemplo, o cobre apresenta vantagens e desvantagens. As pessoas que vão trabalhar com esses produtos devem estar cientes. Dentre as desvantagens pode-se citar:

- a) permanência desses metais no meio ambiente;

- b) toxicidade para as pessoas e animais (quando os devidos cuidados não são tomados);
- c) o fato de ocorrerem reinfestações de microrganismos nas áreas já tratadas exigindo novas aplicações do produto a cada dois ou três anos (RESENDE, 2002).

O uso do sulfato de cobre e de zinco apresenta como vantagens:

- a) serem baratos;
- b) serem solúveis em água (facilitando a aplicação);
- c) controlarem em quantidades bem pequenas, tanto a população de fungos como a de bactérias.

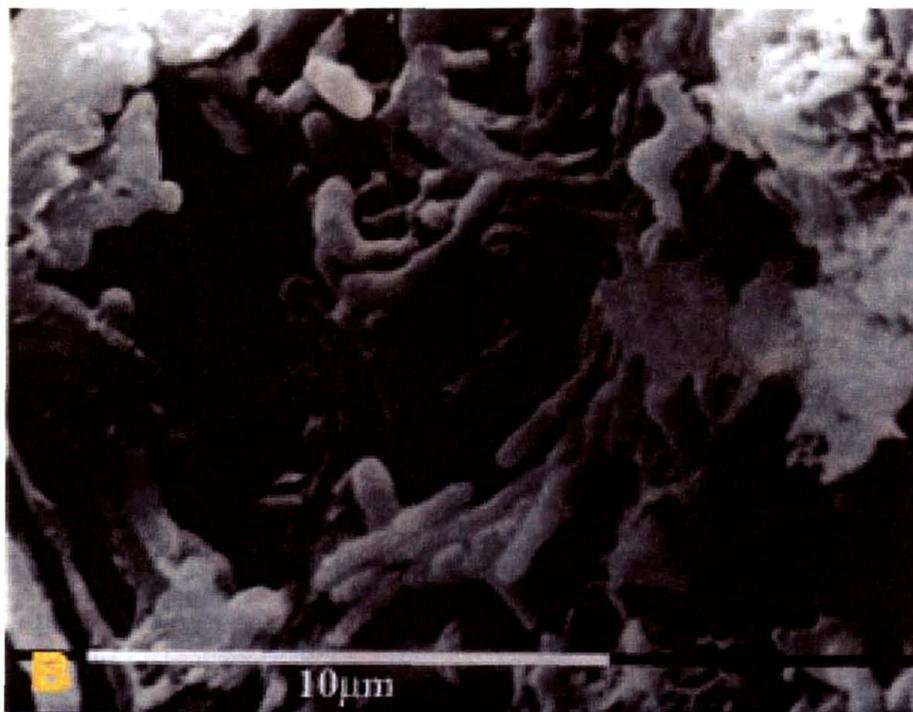
O fenômeno pelo qual os metais pesados, como por exemplo: o cobre exerce efeito letal sobre microrganismos, em quantidades extremamente pequenas é chamado de ação oligodinâmica. O sulfato de cobre é tão efetivo contra microrganismos (algas, fungos, bactérias, entre outros) que bastam 2 ppm em piscinas e reservatórios de água abertos, para inibir o crescimento de microrganismos.

4.5 RESULTADOS OBTIDOS COM A INVESTIGAÇÃO EM MICROSCOPIA DE VARREDURA NO THEATRO SÃO JOÃO E NO MURO DA CASA DA CULTURA

4.5.1 No Theatro São João

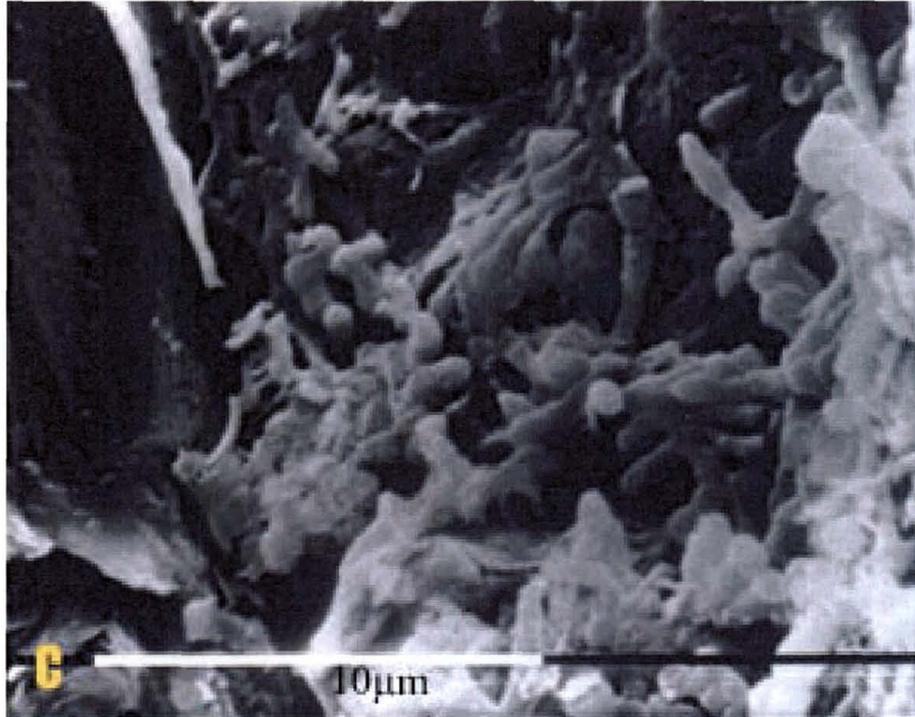
Os exemplares resultantes da investigação microscópica de varredura (MEV), são apresentados nas figuras 10 e 11. Observa-se uma alta contaminação por fungos e bactérias.

FIGURA 10 - FUNGOS E BACTÉRIAS COLONIZANDO ARENITO NO THEATRO SÃO JOÃO



Constataram-se alterações na rocha como resultado da atividade intensa de fungos e bactérias. Organismos de vários aspectos foram observados: indivíduos isolados, com hifas soltas e entrelaçadas e formas arredondadas. A figura 10 mostra o biofilme formado pela presença de fungos no substrato. As alterações observadas causam danos estéticos ao monumento. A penetração das hifas nas irregularidades da rocha e nas microfissuras provocam intemperismo devido à ação das substâncias químicas liberadas pelos fungos e bactérias.

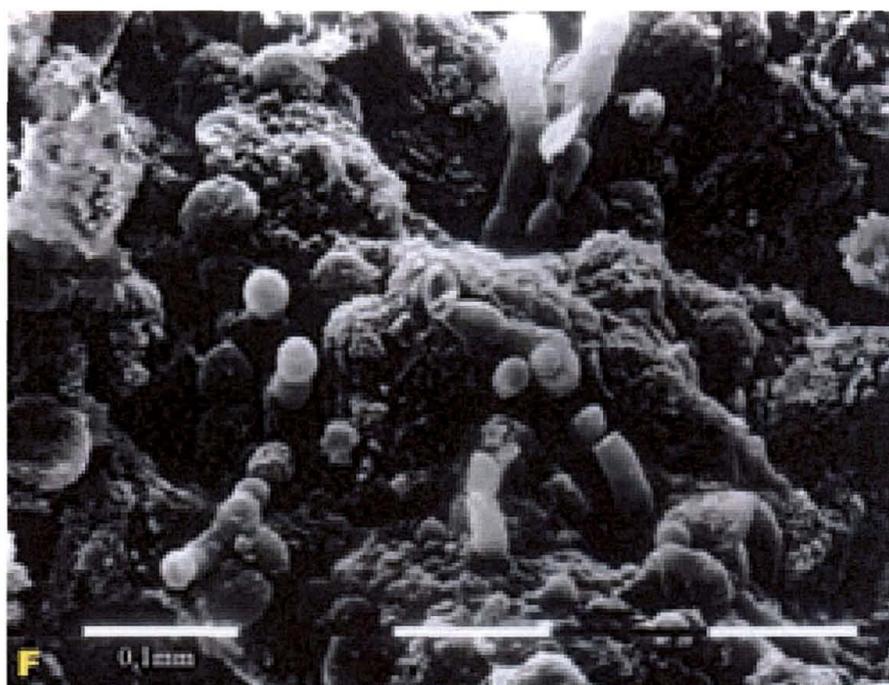
FIGURA 11 - FUNGOS NA SUPERFÍCIE DO ARENITO



Na figura 11 aparece o biofilme formado por fungos e bactérias quimiorganotróficas dissolvendo os minerais do arenito. Esses microrganismos são capazes de metabolizar componentes da rocha para usá-los como fonte de energia. Autores como WARSCHEID, OELTING e KRUMBEIN (1991) estudando a contaminação e colonização de superfícies de rochas por bactérias quimiorganotróficas, concluíram que as propriedades físico-químicas da rocha são alteradas pela microbiota e sugeriram mais pesquisas neste campo. WARSCHEID, PETERSEN e KRUMBEIN (1988) fizeram uma caracterização fisiológica de bactérias quimiorganotróficas isoladas de arenitos, concluíram que estas bactérias são capazes de usar nutrientes de diferentes fontes para crescer e interagir com o substrato mineral, além de terem considerável participação na desintegração dos arenitos.

4.5.2 No Muro da Casa da Cultura

FIGURA 12 - FUNGOS DESTRUINDO O ARENITO



A figura 12 mostra a superfície do arenito sendo colonizada por fungos. HIRSCH, ECKHARDT e PALMER (1995) verificaram que os fungos normalmente encontrados em rochas de monumentos produzem os seguintes ácidos: glutamato,, piruvato, malato, oxalato, entre outros. GOMEZ-ALARCON et al. (1994) estudaram mecanismos bioquímicos de alterações de várias pedras, inclusive arenitos. Descobriram que as substâncias produzidas pelos fungos são capazes de deteriorar silicatos, micas e feldspatos de arenitos e granitos.

FIGURA 13 - FUNGOS E OUTROS MICRORGANISMOS COLONIZANDO A ROCHA



LEWIS, MAY e GREENWOOD (1998), isolaram 185 espécies de bactérias e inocularam em arenitos esterilizados. Concluíram que as bactérias foram capazes de baixar o pH, indicando a produção de ácidos. Tanto as quimiolitotróficas como quimiorganotróficas causaram solubilização do componente cálcio da rocha, sugerindo que grande quantidade de silicatos do material foi atacada. É provável que haja uma aparente correlação entre o nível de colonização de microrganismos no arenito e a gravidade da desagregação dos minerais de rocha.

5 CONCLUSÕES

Os experimentos realizados neste trabalho para estudar o efeito do sulfato de cobre e de zinco no controle da população de fungos e bactérias causadoras de intemperismos permitiram concluir que:

1. Foram encontradas manchas escuras tanto na rocha do Theatro São João quanto nas rochas do muro da Casa da Cultura que são indicativas de fungos e bactérias. As análises microbiológicas confirmaram a presença desses microrganismos. As rochas estudadas foram classificadas com um grau de intemperismo médio.

2. A rocha estudada é composta por SiO_2 53,23%, Al_2O_3 28,46%, TiO_2 1,5%, Fe_2O_3 3,46%, MnO 0,02%, CaO 0,3%, Na_2O 0,7%, K_2O 0,87%, P_2O_5 0,09%, MgO 0,51%, caracterizando um arenito.

3. Dentre os fungos encontrados no Theatro São João foi identificado o *Aspergillus fumigatus* e, no muro da Casa da Cultura foram identificados os fungos *Aspergillus fumigatus* e *Alternaria alternata*.

4. Dentre os tratamentos utilizados no Theatro São João, o que se destacou no controle de fungos foi a solução de sulfato de cobre 2,5% mais sulfato de cobre 2,5% e o que melhor controlou a população de bactérias foi sulfato de cobre 5%.

5. Dos tratamentos aplicados no muro da Casa da Cultura, o que melhor controlou a população fúngica foi sulfato de cobre 2,5% mais sulfato de zinco 2,5%.

6. Dos tratamentos aplicados no muro da Casa da Cultura a população de bactérias foi melhor controlada por sulfato de cobre 0,75% mais sulfato de zinco 2,5%.

7. De acordo com os dados da literatura, o clima da Lapa é do tipo **Cfb** – clima temperado propriamente dito; temperatura média do mês mais frio abaixo de 18°C (mesotérmico), com verões frescos, temperatura média do mês mais quente abaixo de 22°C. As precipitações variam entre 1400 a 1600 mm. O clima da Lapa pode ser considerado um dos fatores que contribuem para o intemperismo das rochas dos monumentos, principalmente devido a umidade relativa do ar que se situa entre 80 e 85%.

Tendo em vista os resultados obtidos no Theatro São João, sugere-se para o tratamento das paredes, cujas as rochas estão colonizadas por microrganismos, o tratamento sulfato de cobre 2,5% mais sulfato de zinco 2,5% e para controlar fungos e bactérias no muro da Casa da Cultura, sugere-se a aplicação do sulfato de cobre 0,75% mais sulfato de cobre 2,5%.

As recomendações estão considerando que os fungos e bactérias estão juntos, sendo assim, o tratamento escolhido deve controlar os dois. Para recomendar o produto em dose mais baixa, leva-se em conta a questão ambiental e a otimização tanto do cobre, quanto do zinco, que são recursos naturais e devem ser usados com moderação.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos nesta investigação permitiram esclarecer várias questões sobre os fungos e bactérias que colonizam as rochas de prédios históricos. Embora tenha sido um trabalho importante foi um estudo preliminar. Assim, trabalhos futuros poderão abordar temas, como por exemplo:

- a) análise microbiológica de bactérias quimiolitotróficas e cianobactérias presentes no Theatro São João e no muro da Casa da Cultura;
- b) dosagem de proteínas do biofilme: que dá uma substância gelatinosa formada pelos microrganismos;
- c) pesquisa da produção de ácidos pelos fungos por meio de HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência) e GLC (cromatografia-gás-líquida);
- d) investigação de outras patologias como: florescências, erosão alveolar, umidade ascendente, entre outros;
- e) uso de outros meios de cultura para isolar e identificar o maior número possível de microrganismos.
- f) acompanhamento dos tratamentos para evitar sua eficácia na prevenção;
- g) repetição dos tratamentos com concentrações diferentes até encontrar uma solução única que seja eficiente para fungos e bactérias;
- h) aplicação dos tratamentos aqui descritos em outros monumentos com problemas de intemperismo e comparação dos resultados.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tomo a liberdade de falar na primeira pessoa do singular, ao fazer estas considerações finais. Sou professora do Ensino Médio há quinze anos. Decidi fazer mestrado porque vislumbrei, dentro desta linha de pesquisa, uma possibilidade de emancipação intelectual e de produção própria. Sabe-se que a o questionamento e a capacidade de intervir na realidade, efetivando mudanças qualitativas, são considerados ápices da Ciência e da Educação.

A Educação tem como objetivo maior a emancipação de sujeitos históricos capazes de elaboração própria. Assim, cabe ao professor ser um mediador neste processo. Para tanto, o professor deverá ir muito além da aula. O professor precisa ser um pesquisador.

A partir de sua capacidade de produção própria o professor poderá mostrar ao aluno como e onde buscar o conhecimento científico. Como poderia orientar meus alunos na tarefa de se tornarem sujeitos capazes de produção própria, quando eu mesma não tinha cumprido esta tarefa?

Por isso, busquei o domínio da técnica e o aprendizado do método, visando me instrumentalizar para desempenhar com eficiência minha profissão.

Este trabalho de pesquisa e o curso de mestrado, como um todo proporcionaram-me inúmeras oportunidades de crescimento pessoal, acadêmico e profissional.

REFERÊNCIAS

- AIRES-BARROS, L. **Alteração e alterabilidade de rochas**. Lisboa: Centro de Petrologia e Geoquímica da Universidade Técnica Lisboa, 1991.
- ALEXANDER, M. **Introducción a la microbiología del suelo**. México: Libros Editoriales, 1980.
- ANDRADE, D. S.; HAMAKAWA, J. Estimativa do número de células viáveis de rizóbio no solo e em inoculantes por infecção em plantas. In: HUNGRIA, E. M.; ARAÚJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994.
- ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. **Microorganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-CNPAP, 1994. 296 p.
- BECKER, T. W. et al. Investigations into microbiology. In: INVESTIGATIONS into devices against environments attack on stones. Hamburg: GKSS-Forschungszens Geesthacht GmbH, 1994.
- BERTHELIN, J.; TOUTAIN, F. Biologie des sols. In: DUCHAUFOR, P.; SOUCHIER, B. **Pédologie**. Paris: Masson, 1979. v. 2.
- BIGARELLA, J. J.; LEPREVOST, A.; BOLSANELLO, A. **Rochas do Brasil**. Rio de Janeiro: LTC, 1985.
- BIGARELLA, J. J.; BECKER, R. D.; PASSOS, E. **Estrutura e origem das paisagens tropicais e subtropicais**. Florianópolis: Ed. da UFSC, 1996. v. 2
- BIGARELLA, J. J.; BLASI, O.; BREPOHL, D. **Lapinha: natureza da Lapa**. Lapa: Lap Lapeano de Saúde, 1997.
- BONONI, V. L. (Org.). **Zigomicetos, basidiomicetos e deuteromitos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas**. São Paulo: Instituto de Botânica. Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 1998.
- BRANDÃO, E. M. Os componentes da comunidade microbiano do solo. In: CARDOSO, E. J. B., N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992.
- BUNT, J. S.; ROVIRA, A. D. Microbiological studies of some subantarctic soils. **J. Soil Sci.**, v.6, p. 119-128, 1955.
- CANEVA, G.; NUGARI, M. P.; SALVADORI, O. **Biology in the conservation of works of art**. Rome: International Centre for the Study of the Preservation and Restauration of Cultural Property, 1991.
- CARTER, M. R. **Soil sampling and methods of analysis**. Boca Raton: Corporte Blvd, 1993.
- CHRISTENSEN, M. A synoptic key and evaluation of species in the *Aspergillus flavus* groups. **Mycologia**, n. 73, p. 1056-1084, 1981.

- CHRISTENSEN, M. The *Aspergillus ochraceus* group: two new species from Western soils and a synoptic key. *Mycologia*, n. 74, p. 210-215, 1982.
- CHRISTENSEN, M.; RAPER, K. B. *Aspergillus robustus*, a new species in the *Aspergillus ochraceus* group. *Mycologia*, n. 70, p. 200-205, 1978.
- COMPÊNDIO de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola. São Paulo: Andrei, 1993. 448 p.
- DI BENEDETTI, V. Esculturas em pedra, agentes de degradação e seus mecanismos. *Rochas de Qualidade*, n. 156, p. 56-59, jan./fev., 2001.
- ELLIS, M. B. *Dematiaceus hyphomycetes*. 2nd ed. London: CAB, 1971. 608 p.
- ELLIS, M. B. *More dematiaceus hyphomycetes*. 2nd ed. London: CAB, 1976. 507 p.
- FUNDAÇÃO INSTITUTO OSWALDO CRUZ. **Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e ou recombinantes na FIOCRUZ**: Comissão Técnica de Biossegurança da FIOCRUZ, 1998/2000. Rio de Janeiro, 2001.
- GALLI, F. et al. **Manual de fitopatologia**. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1978. v.1: Princípios e conceitos.
- GARGIA, M. S.; MARTIN, A. P. Bioalteration of stone associated to presence of microorganisms in the Pamplona Cathedral (Spain). In: INTERNATIONAL CONGRESS ON DETERIORATION AND CONSERVATION OF STONE, 1996. **Proceedings**. Berlin, 1996. v. 2, p. 661-668.
- GOMEZ-ALARCON, G. et al. The effect of filamentous fungi on stone monuments: the Spanish experience. **Building-Micology: management of decay and health in buildings**. London: E & F Spon, 1994. p. 295-309.
- GOMEZ-ALARCON, G. et al. Microbial communities and alteration processes in monuments at Alcala de Henares, Spain. *Science of the Total Environment*, n.167, p. 1-3, 231-239, 1995.
- HAWKWORTH, D. L. **Mycologist's handbook**. 2nd ed. Key Surrey: CAB, 1977. 231 p.
- HIRSCH, P.; ECKHARDT, F.; PALMER JR., R. J. Fungi active in weathering of rock and stone monuments. *Canadian Journal of Botany*, n. 73(suppl. 1), S1384-S1390, 1995.
- IAPAR. **Cartas climáticas do Paraná**. Curitiba, 2000. 1 CD.
- KENDRICK, W. B. et al. **Genera of hyphomycetes**. Alberta: The University of Alberta Press, 1980. 387 p.
- KIEHL, J. E. **Manual de edafologia: relações solo-planta**. São Paulo: Ceres, 1979. 262 p.
- KIMATI, H. Princípios gerais de controle de doenças de plantas. In: MANUAL de fitopatologia. Piracicaba; Agronômica Ceres, 1978.
- KRUMBEIN, W. E. Biotransfer in monuments-socio-biological study. **Durability Building Materials**, n. 5, p. 359-382, 1988.
- KUROCZKIN, B.; PETERSEN, K.; KRUMBEIN, W.E. Some physiological characteristics of fungi isolated from sanstones. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON

DETERIORATION AND CONSERVATION OF STONE, 6., 1988, Torún. **Supplementary acts**. Torún: Nicolau Copernicus University, 1988.

LA PASTINA FILHO, J.; PARCHEN, R. C. A. Preservação do Centro Histórico da cidade da Lapa. In: ENCONTRO SOBRE CONSERVAÇÃO E REABILITAÇÃO DE EDIFÍCIOS, 2., 1994, Lisboa. **Comunicações**. Lisboa, 1995. v. 1, p. 551-556.

LACERDA, M. T. B. **Subsídios para a história do Teatro do Paraná**. Curitiba: Instituto Histórico e Etnográfico Paranaense, 1980.

LEWIS, F. J; MAY, E.; GREENWOOD, R. A laboratory method for assessing the potencial of bacteria to cause decay of building stone. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON DETERIORATION AND CONSERVATION OF STONE, 6., 1988, Torún. **Proceedings of the...** Torún: Nicholas Copernicus University , 1998. Suplemento do Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.

LORENZI, L. **La pulitura dei materiali lapidei da costruzione e scultura: metodi industriali e di restauro**. Padova: CEDAM, 1981.

MARTIN, J. P. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the planet method for estimating soil fungi. **Soil Science**, n. 69, p. 215-232, 1950.

MENZIES, J. D. Fungi. In: BLACK, C. A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1965. v.2, cap. 107, p. 1502-1505.

OLLIER, C. D. **Weathering**. London: Longman Grarp, 1975. 304 p.

ORIAL, G.; MARIE-VICTORIE, E. Techniques analytiques utilisees dans la recherche des mecanismes d'alteration biologique de la pierre. In: INTERNATIONAL SEMINAR: DETERIORATION OF CONCRETE AND NATURAL STONE OF HISTORICAL MONUMENTS, 1997, Brasília. **Proceedings**. Brasília: Universidade de Brasília, Departamento de Engenharia Civil, 1997.

ORTEGA-MORALES, O. et al. Fungal deterioration of limestone mayan mouments in Southern Mexico. In: LABS 4 - LATIN-AMERICAN BIODETERIORATION AND BIODEGRADATION SYMPOSIUM, 4., 2001, Buenos Aires. **Abstracts book**. Buenos Aires, 2001.

PELCZAR, M.; REID, R. D.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1980. 566 p.

PENTEADO, S. R. **Controle alternativo de pragas e doenças com as caldas bordalesa, sulfocálcica e viçosa**. Campinas: Bueno Mendes, 2000.

PETERSEN, K. et al. Distribution and effects of fungi on and sandstones. In: HOUGHTON, D. R.; SMITH, R. N.; EGGINS, H. D. W. (Ed.). **Biodeterioration**. 7th ed. London: Elsevier Applied Science, 1988.

PINTO, R. B. X. **Entrevista concedida em 20 de março de 2002, Secretaria do Departamento de Cultura**.

POPP, J. H. **Geologia geral**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1998. 376 p.

RAPER, K. B.; FENNEL, D. I. **The genus aspergillus**. Baltimore: The Willians & Wilks, 1965. 686 p.

RESENDE, M. A. Biodeterioração de monumentos históricos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1997.

RESENDE, M. A. **Entrevista concedida pela Dr.^a Maria Aparecida, professora do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais**. Belo Horizonte, 01 de junho de 2002.

RIVALIER, E.; SYDEL, S. Nouveau procédé de culture sur lames géologiques appliqué a l'étude microscopique des champignons deteignes. **Ann. Parasitol.**, v. 10, n. 5, p. 444-452, 1932.

SCHINNER, F. **Methods in soil biology**. New York: Springer, 1996.

THORTON, H. G. On the development of a standardized azar medium for counting soil bacteria with special regard to the repression of opreading colonies. **Annals of Applied Biology**, Cambrige, v.9, p. p.241-274, 1922.

WARSCHEID, T.; PETERSEN, K.; KRUMBEIN, W. E. Physiological characterization of chemoorganotrophic bacteria isolated from sandstones. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON DETETERIORATION AND CONSERVATION OF STONE, 6., 1988, Torún. **Proceedings of the...** Torún: Nicholas Copernicus University, 1988. Suplemento do Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.

WARSCHEID, T.; OELTING, M.; KRUMBEIN, W. E. Physico-chemical aspects of biodeterioration processes on rocks with special regard to organic pollutants. **International Biodeterioration**, v. 28, p.37-48, 1991.

WEBLEY, D. M.; HENDERSON, M. E. K; TAYLOR. I. F. The microbiology of rocks and weathered stones. **J. Soil Sci.**, v. 14, p. 102-112, 1963..

WELLINGTON, E. M. H. et al. Indirect approaches for studying soil microorganisms based on cell extractive and culturing. In: ELSAS, J. D. VAN; TREVORS, J. T.; WELLINGTON, E. M. H. **Modern soil microbiology**. New York: M. Dekker, 1997.

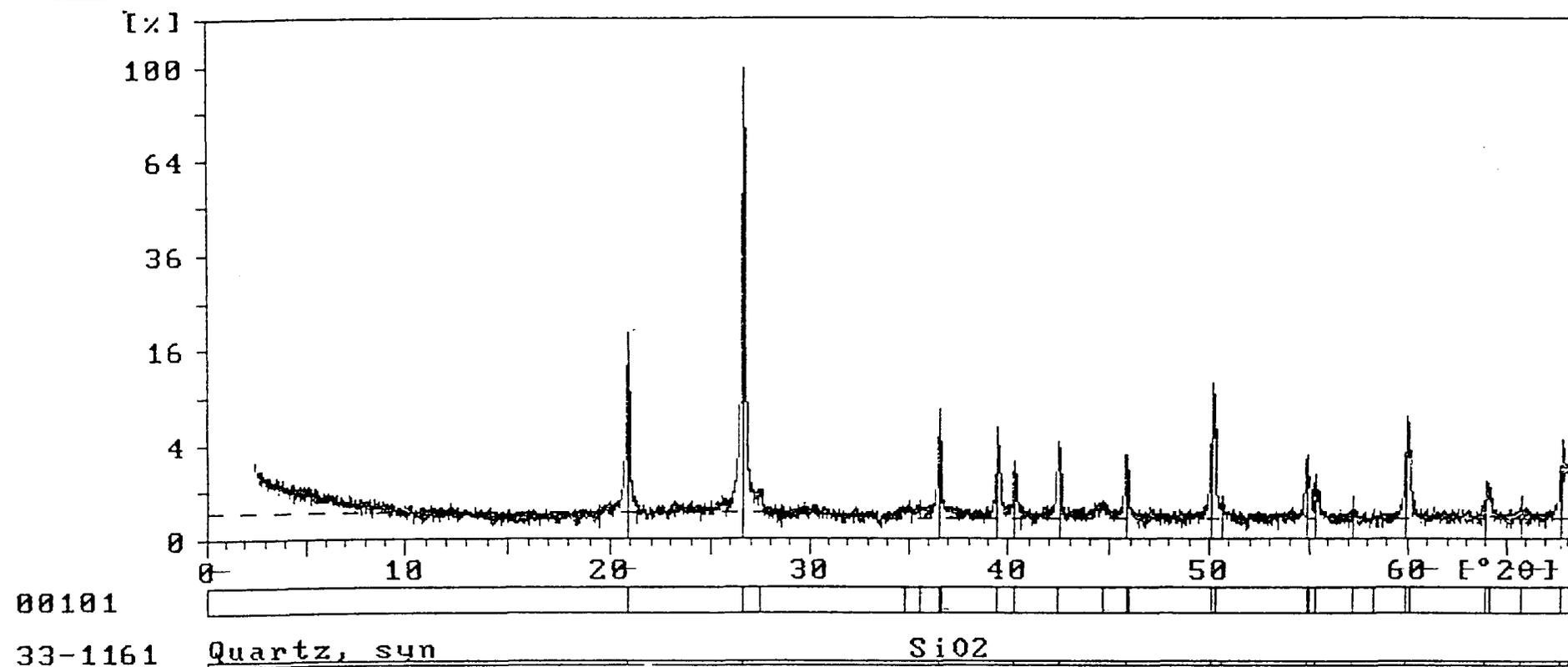
WOOMER, P. L. Most probable number counts. In: WEAVER, R. W. et al. **Methods of soil analysis**. Madison: SSSA, 1994. Part 2: Microbial and biochemical properties.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - RESULTADOS DO DIFRATOGRAMA DE RAIOS-X.....	75
APÊNDICE 2 - VALORES DAS LEITURAS DE ACORDO COM O TEMPO DE CADA TRATAMENTO, SEGUIDO DO VALOR NMP E DOS VALORES CORRIGIDOS PELA DILUIÇÃO E PESO DA AMOSTRAS – THEATRO SÃO JOÃO.....	76
APÊNDICE 3 - VALORES DAS LEITURAS DE ACORDO COM O TEMPO DE CADA TRATAMENTO, SEGUIDO DO VALOR NMP E DOS VALORES CORRIGIDOS PELA DILUIÇÃO E PESO DA AMOSTRAS – THEATRO SÃO JOÃO	78

APÊNDICE 1 - RESULTADOS DO DIFRATOGRAMA DE RAIOS-X

Sample ident.: 001/01



APÊNDICE 2 - VALORES DAS LEITURAS DE ACORDO COM O TEMPO DE CADA TRATAMENTO, SEGUIDO DO VALOR NMP E DOS VALORES CORRIGIDOS PELA DILUIÇÃO E PESO DA AMOSTRAS – THEATRO SÃO JOÃO

continua

Teatro São João (antes dos tratamentos)				Teatro São João (antes dos tratamentos)			
BACTÉRIAS				FUNGOS			
Tratament	Diluições	Tabela	Peso (g) C. Diluição	Tratament	Diluições	Tabela	Peso (g) C. Diluição
	4 5 6				2 3 4		
T1	4 2 1	0,26	0,03 1950000	T1	5 4 4	3,5	0,03 2625000
T1	4 2 0	0,22	0,03 1650000	T1	5 4 1	1,7	0,03 127500
T2	3 2 1	0,17	0,03 1275000	T2	4 4 4	0,62	0,03 46500
T2	3 1 1	0,14	0,03 1050000	T2	4 4 0	0,34	0,03 25500
T3	4 2 0	0,22	0,03 1650000	T3	3 5 0	0,25	0,03 18750
T3	4 1 1	0,21	0,03 1575000	T3	3 3 3	0,28	0,03 21000
T4	5 0 0	0,23	0,03 1725000	T4	4 3 1	0,33	0,03 24750
T4	5 1 1	0,46	0,03 3450000	T4	4 0 0	0,13	0,03 9750
T5	3 3 2	0,24	0,03 1800000	T5	5 5 5	0	0,03 0
T5	3 1 0	0,11	0,03 825000	T5	5 4 1	1,7	0,03 127500
T6	3 2 5	0,31	0,03 2325000	T6	5 3 2	1,4	0,03 105000
T6	4 2 0	0,22	0,03 1650000	T6	5 3 1	1,1	0,03 82500

Teatro São João (para 1 d após os tratamentos)				Teatro São João (1 d após os tratamentos)			
BACTÉRIAS				FUNGOS			
Tratament	Diluições	Tabela	Peso (g) C. Diluição	Tratament	Diluições	Tabela	Peso (g) C. Diluição
	4 5 6				2 3 4		
T1	0 1 0	0,036	0,03 270.000	T1	0 1 3	0,073	0,03 5475
T1	2 2 2	0,14	0,03 1.050.000	T1	1 0 0	0,02	0,03 1500
T2	1 0 0	0,02	0,03 150.000	T2	1 0 0	0,02	0,03 1500
T2	1 1 0	0,061	0,03 457.500	T2	2 1 1	0,092	0,03 6900
T3	4 0 0	0,13	0,03 975.000	T3	3 5 0	0,25	0,03 18750
T3	4 1 1	0,21	0,03 1.575.000	T3	3 3 3	0,28	0,03 21000
T4	1 0 0	0,02	0,03 150.000	T4	2 1 1	0,092	0,03 6900
T4	1 1 0	0,04	0,03 300.000	T4	2 1 0	0,068	0,03 5100
T5	1 0 0	0,02	0,03 150.000	T5	1 0 0	0,02	0,03 1500
T5	1 0 0	0,02	0,03 150.000	T5	3 0 0	0,078	0,03 5850
T6	0 0 1	0,018	0,03 135.000	T6	2 0 0	0,045	0,03 3375
T6	0 1 0	0,018	0,03 135.000	T6	2 1 0	0,068	0,03 5100

APÊNDICE 2 - VALORES DAS LEITURAS DE ACORDO COM O TEMPO DE CADA
TRATAMENTO, SEGUIDO DO VALOR NMP E DOS VALORES
CORRIGIDOS PELA DILUIÇÃO E PESO DA AMOSTRAS -
THEATRO SÃO JOÃO

conclusão

Teatro São João (7 d após os tratamentos)					Teatro São João (7 d após os tratamentos)				
Tratamentos	BACTÉRIAS			C. Diluição	Tratamentos	FUNGOS			C. Diluição
	Diluições 4 5 6	Tabela	Peso (g)			Diluições 2 3 4	Tabela	Peso (g)	
T1	1 1 1	0,061	0,03	457500 T1	1 1 1	0,061	0,03	4575	
T1	1 1 1	0,061	0,03	457500 T1	1 0 0	0,02	0,03	1500	
T2	1 0 1	0,04	0,03	300000 T2	1 1 1	0,061	0,03	4575	
T2	2 0 0	0,045	0,03	337500 T2	1 0 0	0,061	0,03	4575	
T3	4 2 1	0,26	0,03	1950000 T3	3 5 0	0,25	0,03	18750	
T3	4 0 1	0,17	0,03	1275000 T3	3 3 3	0,28	0,03	21000	
T4	1 1 1	0,061	0,03	457500 T4	1 1 1	0,061	0,03	4575	
T4	1 1 1	0,061	0,03	457500 T4	1 1 1	0,061	0,03	4575	
T5	1 0 0	0,02	0,03	150000 T5	1 0 0	0,02	0,03	1500	
T5	1 0 0	0,02	0,03	150000 T5	4 4 4	0,62	0,03	46500	
T6	2 2 2	0,14	0,03	1050000 T6	1 1 4	0,12	0,03	9000	
T6	3 2 3	0,24	0,03	1800000 T6	4 4 4	0,62	0,03	46500	

Teatro São João 14 d após os tratamentos					Teatro São João (14 d após os tratamentos)				
Tratamentos	BACTÉRIAS			C. Diluição	Tratamentos	FUNGOS			C. Diluição
	Diluições 4 5 6	Tabela	Peso (g)			Diluições 2 3 4	Tabela	Peso (g)	
T1	1 0 1	0,04	0,03	300000 T1	1 1 1	0,061	0,03	4575	
T1	1 2 1	0,082	0,03	615000 T1	1 0 1	0,04	0,03	3000	
T2	1 1 1	0,061	0,03	457500 T2	2 1 1	0,092	0,03	6900	
T2	2 1 1	0,092	0,03	690000 T2	1 0 0	0,02	0,03	1500	
T3	4 3 0	0,27	0,03	2025000 T3	3 3 3	0,28	0,03	21000	
T3	1 1 1	0,061	0,03	457500 T3	3 3 3	0,28	0,03	21000	
T4	0 0 1	0,018	0,03	135000 T4	1 1 2	0,081	0,03	6075	
T4	1 1 1	0,061	0,03	457500 T4	2 0 0	0,045	0,03	3375	
T5	1 1 1	0,061	0,03	457500 T5	1 0 0	0,02	0,03	1500	
T5	0 0 1	0,018	0,03	135000 T5	3 1 1	0,14	0,03	10500	
T6	2 1 1	0,092	0,03	690000 T6	1 1 4	0,12	0,03	9000	
T6	1 1 1	0,061	0,03	457500 T6	1 1 1	0,061	0,03	4575	

APÊNDICE 3 - VALORES DAS LEITURAS DE ACORDO COM O TEMPO DE CADA TRATAMENTO, SEGUIDO DO VALOR NMP E DOS VALORES CORRIGIDOS PELA DILUIÇÃO E PESO DA AMOSTRAS - CASA DA CULTURA

continua

Casa da Cultura (antes dos tratamentos)					Casa da Cultura (antes dos tratamentos)				
Tratamentos	BACTÉRIAS			C.Diluição	Tratamentos	FUNGOS			C.Diluição
	Diluições 4 5 6	Tabela	Peso (g)			Diluições 2 3 4	Tabela	Peso (g)	
T1	4 4 4	0,62	0,03	4650000	T1	4 3 2	0,39	0,03	29250
T1	4 3 5	0,59	0,03	4425000	T1	4 3 2	0,39	0,03	29250
T2	4 3 1	0,33	0,03	2475000	T2	5 4 3	2,8	0,03	210000
T2	4 1 2	0,26	0,03	1950000	T2	3 2 1	0,17	0,03	12750
T3	3 2 0	0,14	0,03	1050000	T3	3 2 0	0,14	0,03	10500
T3	3 2 1	0,17	0,03	1275000	T3	3 1 1	0,14	0,03	10500
T4	4 1 0	0,17	0,03	1275000	T4	3 1 0	0,11	0,03	8250
T4	4 0 0	0,13	0,03	975000	T4	4 2 1	0,26	0,03	19500
T5	4 3 1	0,33	0,03	2475000	T5	3 0 0	0,078	0,03	5850
T5	4 0 0	0,13	0,03	975000	T5	3 1 0	0,11	0,03	8250
T6	3 2 0	0,14	0,03	1050000	T6	3 2 0	0,14	0,03	10500
T6	3 1 0	0,11	0,03	825000	T6	3 0 1	0,11	0,03	8250
T7	4 2 1	0,26	0,03	1950000	T7	4 1 1	0,21	0,03	15750
T7	4 2 0	0,22	0,03	1650000	T7	4 2 1	0,26	0,03	19500

Casa da Cultura (1 d após os tratamentos)					Casa da Cultura (1 d após os tratamentos)				
Tratamentos	BACTÉRIAS			C.Diluição	Tratamentos	FUNGOS			C. Diluição
	Diluições 4 5 6	Tabela	Peso (g)			Diluições 2 3 4	Tabela	Peso (g)	
T1	1 1 0	0,04	0,03	300000	T1	1 1 1	0,061	0,03	4575
T1	0 1 1	0,036	0,03	270000	T1	1 1 1	0,061	0,03	4575
T2	1 1 0	0,04	0,03	300000	T2	0 1 1	0,036	0,03	2700
T2	0 1 1	0,036	0,03	270000	T2	0 1 1	0,036	0,03	2700
T3	2 1 1	0,092	0,03	690000	T3	3 2 2	0,2	0,03	15000
T3	2 1 0	0,068	0,03	510000	T3	3 1 0	0,11	0,03	8250
T4	4 4 4	0,62	0,03	4650000	T4	4 4 3	0,54	0,03	40500
T4	3 0 0	0,078	0,03	585000	T4	1 4 2	0,15	0,03	11250
T5	4 0 0	0,13	0,03	975000	T5	3 1 4	0,23	0,03	17250
T5	3 4 5	0,4	0,03	3000000	T5	2 5 4	0,29	0,03	21750
T6	3 2 0	0,14	0,03	1050000	T6	3 2 0	0,14	0,03	10500
T6	3 0 1	0,11	0,03	825000	T6	3 0 1	0,11	0,03	8250
T7	0 1 0	0,018	0,03	135000	T7	0 1 0	0,018	0,03	1350
T7	0 1 0	0,018	0,03	135000	T7	1 0 0	0,02	0,03	1500

APÊNDICE 3 - VALORES DAS LEITURAS DE ACORDO COM O TEMPO DE CADA TRATAMENTO, SEGUIDO DO VALOR NMP E DOS VALORES CORRIGIDOS PELA DILUIÇÃO E PESO DA AMOSTRAS - CASA DA CULTURA

conclusão

Casa da Cultura (7 d após os tratamentos)					Casa da Cultura (7 d após os tratamentos)								
Tratamentos	BACTÉRIAS			C. Diluição	Tratamentos	FUNGOS			C. Diluição				
	Diluições	Tabela	Peso(g)			Diluições	Tabela	Peso (g)					
	4	5	6		2	3	4						
T1	0	1	0	0,018	0,03	135000	T1	1	0	0	0,02	0,03	1500
T1	0	1	0	0,018	0,03	135000	T1	1	0	1	0,04	0,03	3000
T2	1	0	0	0,02	0,03	150000	T2	0	0	1	0,018	0,03	1350
T2	0	1	0	0,018	0,03	135000	T2	1	0	0	0,02	0,03	1500
T3	2	0	0	0,045	0,03	337500	T3	0	1	1	0,036	0,03	2700
T3	2	0	0	0,045	0,03	337500	T3	0	1	2	0,055	0,03	4125
T4	0	0	1	0,018	0,03	135000	T4	1	0	0	0,02	0,03	1500
T4	1	0	0	0,02	0,03	150000	T4	0	1	0	0,18	0,03	13500
T5	1	1	1	0,061	0,03	457500	T5	1	0	0	0,02	0,03	1500
T5	0	0	1	0,018	0,03	135000	T5	0	1	0	0,018	0,03	1350
T6	3	2	0	0,14	0,03	1050000	T6	3	0	2	0,14	0,03	10500
T6	3	1	0	0,11	0,03	825000	T6	3	1	0	0,11	0,03	8250
T7	1	0	0	0,02	0,03	150000	T7	1	1	1	0,061	0,03	4575
T7	0	0	1	0,018	0,03	135000	T7	1	0	1	0,04	0,03	3000

Casa da Cultura (14 após os tratamentos)					Casa da Cultura (14 dias após os tratamentos)								
Tratamentos	BACTÉRIAS			C. diluição	Tratamentos	FUNGOS			C. Diluição				
	Diluições	Tabela	Peso (g)			Diluições	Tabela	Peso (g)					
	4	5	6		2	3	4						
T1	0	0	1	0,018	0,03	135000	T1	0	1	0	0,018	0,03	1350
T1	1	0	0	0,02	0,03	150000	T1	0	1	0	0,018	0,03	1350
T2	1	0	0	0,02	0,03	150000	T2	1	0	0	0,02	0,03	1500
T2	1	0	0	0,02	0,03	150000	T2	1	0	0	0,02	0,03	1500
T3	1	0	0	0,02	0,03	150000	T3	1	0	0	0,02	0,03	1500
T3	0	1	0	0,018	0,03	135000	T3	1	0	0	0,02	0,03	1500
T4	1	0	0	0,045	0,03	337500	T4	1	0	0	0,02	0,03	1500
T4	1	0	0	0,02	0,03	150000	T4	1	0	0	0,02	0,03	1500
T5	1	0	0	0,02	0,03	150000	T5	1	0	0	0,02	0,03	1500
T5	1	0	0	0,02	0,03	150000	T5	1	0	0	0,02	0,03	1500
T6	3	2	0	0,14	0,03	1050000	T6	3	2	0	0,14	0,03	10500
T6	3	2	0	0,14	0,03	1050000	T6	3	1	0	0,11	0,03	8250
T7	1	1	0	0,04	0,03	300000	T7	1	0	1	0,04	0,03	3000
T7	1	0	0	0,02	0,03	150000	T7	1	0	0	0,02	0,03	1500

ANEXOS

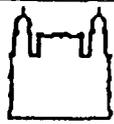
ANEXO 1 - TABELA DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL UTILIZADA NO EXPERIMENTO PARA CINCO TUBOS POR DIULUIÇÃO, SENDO P ₁ , P ₂ , E P ₃ O NÚMERO DE TUBOS POSITIVOS NAS DILUIÇÕES SUBSEQÜENTES	81
ANEXO 2 - LAUDO DE AMOSTRAS DE FUNGOS ENVIADOS PARA IDENTIFICAÇÃO NO LABORATÓRIO DE COLEÇÃO DE CULTURAS DE FUNGOS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ - 26 DE DEZEMBRO DE 2001	82
ANEXO 3 - LAUDO DE AMOSTRAS DE FUNGOS ENVIADOS PARA IDENTIFICAÇÃO NO LABORATÓRIO DE COLEÇÃO DE CULTURAS DE FUNGOS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ - 12 DE MARÇO DE 2002	83
ANEXO 4 - AUTORIZAÇÃO DO IPHAN/PR PARA A INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO NO THEATRO SÃO JOÃO	84

ANEXO 1 - TABELA DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL UTILIZADA NO EXPERIMENTO PARA CINCO TUBOS POR DILUIÇÃO, SENDO P_1 , P_2 , E P_3 O NÚMERO DE TUBOS POSITIVOS NAS DILUIÇÕES SUBSEQÜENTES

P_1	P_2	P_3					
		0	1	2	3	4	5
0	0	-	0,018	0,036	0,054	0,072	0,090
0	1	0,018	0,036	0,055	0,073	0,091	0,11
0	2	0,037	0,055	0,074	0,092	0,11	0,13
0	3	0,056	0,074	0,093	0,11	0,13	0,15
0	4	0,075	0,094	0,11	0,13	0,15	0,17
0	5	0,094	0,11	0,13	0,15	0,17	0,19
1	0	0,020	0,040	0,060	0,080	0,10	0,12
1	1	0,040	0,061	0,081	0,10	0,12	0,14
1	2	0,061	0,082	0,10	0,12	0,15	0,17
1	3	0,083	0,10	0,13	0,15	0,17	0,19
1	4	0,11	0,13	0,15	0,17	0,19	0,22
1	5	0,13	0,15	0,17	0,19	0,22	0,24
2	0	0,45	0,068	0,091	0,12	0,14	0,16
2	1	0,068	0,092	0,12	0,14	0,17	0,19
2	2	0,093	0,12	0,14	0,17	0,19	0,22
2	3	0,12	0,14	0,17	0,20	0,22	0,25
2	4	0,15	0,17	0,20	0,23	0,25	0,28
2	5	0,17	0,20	0,23	0,26	0,29	0,32
3	0	0,078	0,11	0,13	0,16	0,20	0,23
3	1	0,11	0,14	0,17	0,20	0,23	0,27
3	2	0,14	0,17	0,20	0,24	0,27	0,31
3	3	0,17	0,21	0,24	0,28	0,31	0,35
3	4	0,21	0,24	0,28	0,32	0,36	0,40
3	5	0,25	0,29	0,32	0,37	0,41	0,45
4	0	0,13	0,17	0,21	0,25	0,30	0,36
4	1	0,17	0,21	0,26	0,31	0,36	0,42
4	2	0,22	0,26	0,32	0,38	0,44	0,50
4	3	0,27	0,33	0,39	0,45	0,52	0,59
4	4	0,34	0,40	0,47	0,54	0,62	0,69
4	5	0,41	0,48	0,56	0,64	0,72	0,81
5	0	0,23	0,31	0,43	0,58	0,76	0,95
5	1	0,33	0,46	0,64	0,84	1,1	1,3
5	2	0,49	0,70	0,95	1,2	1,5	1,8
5	3	0,79	1,1	1,4	1,8	2,1	2,5
5	4	1,3	1,7	2,2	2,8	3,5	4,3
5	5	2,4	3,5	5,4	9,2	16	-

FONTE: SCHINNER, F. *Methods in soil biology*. New York: Springer, 1996.

ANEXO 2 - LAUDO DE AMOSTRAS DE FUNGOS ENVIADOS PARA IDENTIFICAÇÃO NO LABORATÓRIO DE
COLEÇÃO DE CULTURAS DE FUNGOS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ - 26 DE DEZEMBRO
DE 2001



Ministério da Saúde Laboratório de Coleção de Culturas de Fungos do Instituto
Oswaldo Cruz
Fundação Oswaldo Cruz Laudo de amostras de fungos enviados para identificação
Cruz

Data: Rio de Janeiro, 26 de dezembro de 2001

Prezada Prof. Nadia Krieger

Venho através desse laudo informar que as cepas fúngicas nos enviada para caracterização taxonômica, foram identificadas segundo todas as técnicas laboratoriais de segurança e micológicas e tiveram os seguintes resultados:

Cepas A 22 (amostra 1 e amostra 2) e **Cepa A 09** (amostra 3) isoladas de rocha carbonática do Perú, repicada em 28/09 em meio BDA.

Amostra 1 – apresentou col. filamentosa verde com pigmento avermelhado –
Aspergillus versicolor

Amostra 2 – apresentou col. filamentosa verde com pigmento avermelhado –
Aspergillus versicolor

Amostra 3 – apresentou col filamentosa arenosa verde escuro – *Aspergillus fumigatus*

Cepa referente ao Tubo 4, (amostra 4), isolada de arenito da Lapa, PR, repique em 03/10, meio BDA

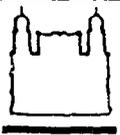
Amostra 4 – apresentou col. filamentosa arenosa verde escuro – *Aspergillus fumigatus*

Gisela Lara da Costa

LCCF- IOC- Dept. de Micologia

GISELA LARA DA COSTA
Pesquisadora Micologia
MAY 0164218.8

ANEXO 3 - LAUDO DE AMOSTRAS DE FUNGOS ENVIADOS PARA IDENTIFICAÇÃO NO LABORATÓRIO DE
COLEÇÃO DE CULTURAS DE FUNGOS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ – 12 DE MARÇO DE
2002

	Ministério da Saúde	Laboratório de Coleção de Culturas de Fungos do Instituto Oswaldo Cruz
	Fundação Oswaldo Cruz	Laudo de amostras de fungos enviados para identificação
		Data: Rio de Janeiro, 12 de março de 2002

Prof. Claudemira Lopes

Venho através desse laudo informar que as cepas fúngicas nos enviada para caracterização taxonômica, foram identificadas segundo todas as técnicas laboratoriais de segurança e micológicas e tiveram os seguintes resultados:

Teatro 7d – T210² 1/12 cod. 03 – *Aspergillus fumigatus*

Teatro 24hs – T110² 1/12 cod.07 - *Aspergillus fumigatus*

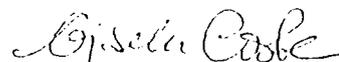
Igreja 10⁴ 0h – 14/12 cod. 02 – *Acremonium sp*

Igreja T1 10⁴ 7d – 14/12 cod. 04 – contaminado com ácaro

Igreja T2 10² 24h – 14/12 cod. 01 – *Trichoderma sp*

Muro externo 10⁴ 0hs – 7/12 cod. 05 col. Escura – *Alternaria alternata*

Cod. 06 col. Branca – sem esporulação

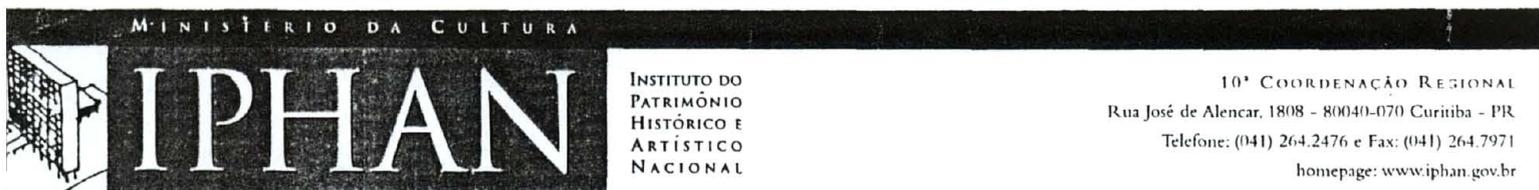


Gisela Lara da Costa

LCCF- IOC- Dept. de Micologia

GISELA LARA DA COSTA
Pesquisadora Associada
MANTOBRAS

ANEXO 4 - AUTORIZAÇÃO DO IPHAN/PR PARA A INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO NO THEATRO SÃO JOÃO



Ofício n.º 104/01

Curitiba, 20 de setembro de 2001.

Da: 10ª Superintendência Regional do IPHAN
Para: Vander de Freitas Melo
Coordenador do Curso
Departamento de Solos - UFPR

Senhor Coordenador,

Em atenção à correspondência recebida de 19 de setembro p.p., autorizamos o experimento de Claudemira Vieira Gusmão Lopes, aluna do programa de pós-graduação, no Theatro São João, na cidade da Lapa, PR.

Atenciosamente,

José La Pastina Filho
Superintendente Regional
10ª. SR do IPHAN/PR